

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



Ricardo de Toledo Cesco

Cirurgião Dentista

**Avaliação Clínica e Microbiológica da Periodontite e
Peri-implantite Induzidas. Estudo em cães.**

Orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior

Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Roberto Peres Line

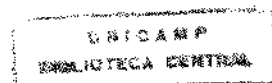
Este exemplar foi corrigido,
de acordo com a Resolução CPG-086/93

Francisco H. Nociti Jr.
Assinatura do Orientador

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, Universidade de
Campinas, para obtenção do Título de MESTRE
em Clínica Odontológica - Área de
Concentração em Periodontia.

PIRACICABA – SP

1999



UNICAMP	BC
N.º CHAMADA:	
V	
1.º	39929
PROJ.	278/02
C	
PVCO	R\$ 11,00
DACS	12/01/02
N.º GPU	

CM-00137827-7

Ficha Catalográfica

C337a Cesco, Ricardo de Toledo.
Avaliação clínica e microbiológica da periodontite e peri-implantite induzidas : estudo em cães. / Ricardo de Toledo Cesco. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1999.
83 p. : il.

Orientadores : Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, Prof. Dr. Sérgio Roberto Peres Line.

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

1. Doença periodontal. 2. Periodontite. 3. Implantações dentárias. 4. Estudos experimentais. 5. Microbiologia. 6. Biologia molecular. 7. Bactérias. I. Nociti Júnior, Francisco Humberto. II. Line, Sérgio Roberto Peres. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 – 6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



UNICAMP

Ricardo de Toledo Cesco

Cirurgião Dentista

**Avaliação Clínica e Microbiológica da Periodontite e
Peri-implantite Induzidas. Estudo em cães.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, Universidade de
Campinas, para obtenção do Título de MESTRE
em Clínica Odontológica - Área de
Concentração em Periodontia.

PIRACICABA – SP

1999



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 22 de Julho de 1999, considerou o candidato RICARDO DE TOLEDO CESCO aprovado.

1. Prof. Dr. FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JR

2. Profa. Dra. IZABEL YOKO ITO

3. Prof. Dr. ANTONIO WILSON SALLUM

DEDICATÓRIAS

Dedico esta dissertação de Mestrado

Ao meu Pai e minha Mãe, Danillo e Nelly, grandes seres humanos que com muito Amor e Respeito, me ensinaram e permitiram o questionar, alicerce para um pesquisador.

À minha Esposa, amada, amiga e companheira, Flávia Tereza, com muito Amor sempre incentivando meus ideais.

Ao Duda, Toninho, Vitor Luiz e Maria Cristina, mesmo com a convivência dificultada pela distância um forte sentimento nos une.

À minha Mestra, Professora Dr^a. Izabel Yoko Ito, uma fonte de luz, exemplo e admiração.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Absoluto e Infinito...

Agradecimentos em especial

Ao Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior, meu Orientador neste curso de Mestrado, por sua força de vontade em superar os obstáculos, sempre disponível a me ajudar.

Ao Prof. Dr. Sérgio Roberto Peres Line, Co-Orientador, pela receptividade e atenção.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves, por sua dedicação e inestimável ajuda para a viabilização desta dissertação de Mestrado.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Hermano de Medeiros Ferreira Tavares, Magnífico Reitor da UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Digníssimo Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

À Prof^a. Dr^a. Altair Antoninha Del Bel Cury, Coordenadora de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

À Prof^a. Dr^a. Mônica Campos Serra, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP.

Aos Professores da Disciplina de Periodontia da FOP/UNICAMP, Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Prof. Dr. Sérgio de Toledo, Prof. Dr. Antônio Fernando Martoreli de Lima, Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum.

À Prof^a. Dr^a. Glauca M. Bovi Ambrosano, responsável pelas análises estatísticas desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Márcio Fernando de Moraes Grisi, pelos ensinamentos e confiança.

Aos Amigos Vicente, Alessandro, Joly e Lúcio pela convivência feliz durante o curso.

À Cristine e Maria Ângela, meus sinceros agradecimentos pelo trabalho em equipe, sem o qual, esse experimento tornar-se-ia ainda mais trabalhoso.

Aos Colegas do Curso de Mestrado em Clínica Odontológica, Área de Concentração – Periodontia pelo aprendizado em conjunto.

À Paula, em especial, Ana Paula, Raquel G. e Raquel S. pelo carinho em me ajudar mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao Paulo, Ana Luíza e Débora, meu eterno agradecimento pela verdadeira amizade e apoio durante a realização de mais uma etapa em minha vida.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desta dissertação.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar, em cães, a perda dos níveis de inserção relativa ao redor de dentes e implantes dentais, anterior e posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar por meio de ligaduras com fio de algodão; além de verificar durante a evolução da periodontite e peri-implantite experimental a presença das bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomyces-comitans*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* por meio da técnica de PCR.

Cinco cães foram submetidos à extração dos P₂, P₃ e P₄ inferiores bilaterais e, após três meses, à colocação de três implantes dentais osseointegrados (NAPIO-Bauru/SP) em cada lado da mandíbula. Três meses mais tarde os intermediários foram conectados aos implantes e os cães submetidos por 15 dias a um controle diário do biofilme bacteriano sobre os dentes e implantes pelas aplicações da solução de gluconato de clorexidina 0,12% (Periogard ® Colgate-Palmolive Ltda – SP) e escovações dos mesmos. Em seguida, a periodontite e a peri-implantite foram induzidas por meio de ligaduras de fio de algodão colocadas por um período de um mês ao redor da junção cimento-esmalte dos P₂ e P₃ superiores e ao redor dos intermediários dos implantes dentais bilaterais. Amostras da microbiota subgengival e medidas clínicas foram obtidas anterior e posterior à indução das doenças.

As amostras microbiológicas foram obtidas de dois implantes de cada lado (selecionados aleatoriamente) e dos P₂ e P₃ superiores bilaterais, com auxílio de duas pontas de papel (endodôntico) #60 ou 70 esterilizadas, mantidas subgengivalmente por 10 segundos nos sítios preestabelecidos, acondicionados em tubos tipo Eppendorf com PBS e congelados (- 20°C) para posterior análise microbiológica. Previamente a reação de PCR, os tubos com as amostras foram descongelados (temperatura ambiente), submetidos ao vortex (1 min), as pontas de papel foram removidas e, então, submeteu-se a um banho de fervura (10 min) finalizando a preparação da

amostra. Para a reação de PCR, 5,0 µL da amostra foi adicionada à 45,0µL de uma mistura de reagentes, e submetidos ao aparelho termociclador convencional (GeneAmp ® PCR-System 2400, Perkin Elmer – USA). A presença do DNA amplificado foi checada com auxílio de um transiluminador de luz ultravioleta em gel de agarose a 1% em eletroforese (corado com brometo de etídio).

Para a avaliação do parâmetro clínico foram obtidas as medidas do nível de inserção relativa nos dentes e implantes com auxílio de um fio de aço, um *top* (endodôntico), um paquímetro digital e um guia de sondagem previamente confeccionado.

Os resultados da análise microbiológica demonstraram que os microrganismos *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* não foram detectados no presente experimento. E, somente após a indução das doenças periodontal e peri-implantar, foi constatada a presença de *Porphyromonas gingivalis* em 95% dos implantes dentais e em 85% dos dentes, e de *Bacteroides forsythus* em 80% dos implantes e em 85% dos dentes. Os resultados das avaliações clínicas revelaram que a progressão da perda do nível de inserção relativa aumentou significativamente nos dentes ($P=6,33 \times 10^{-18}$) e nos implantes dentais ($P=1,55 \times 10^{-16}$) após a indução das doenças periodontal e peri-implantar.

Os resultados do presente experimento permite concluir que não houve diferença significativa ($P= 0,70$) entre a evolução das doenças periodontal e peri-implantar induzidas em cães por um período de um mês; e que os microrganismos *Porphyromonas gingivalis* e *Bacteroides forsythus* estão associados à evolução das doenças periodontal e peri-implantar induzidas.

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate and to compare the progression of experimental periodontitis and peri-implantitis induced by ligature technique in five dogs and was used the PCR detection method to investigated the presence of *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* and *P. nigrescens*, before and after periodontitis and peri-implantitis induced experimentally. The mandibular P₂, P₃ and P₄ were extracted and 3 implants were placed in the edentulous area. After the abutment connection was installed, chemical and mechanical plaque control were performed once a day for two weeks by the application of 0,12% chlorhexidine gluconate solution and the use of toothbrush. Thereafter, peri-implantitis and periodontitis were induced by placing cotton floss ligatures around the implants and upper P₂ and P₃ for one month. Subgingival microbiologic samples and clinical examination were performed just before and after disease induction. Microbiological analysis showed that *P. gingivalis* was present at 95% of the dental implants and 85% of the teeth and *B. forsythus* was present at 80% of the dental implants and 85% of the teeth, only after disease induction. The other three bacteria were not identified in this experiment. Clinical analysis revealed significant loss of attachment level in implants ($P=1,55 \times 10^{-16}$) and teeth ($P=6,33 \times 10^{-18}$) after disease induction by ligatures. In conclusion, no statistically significant difference ($P= 0,7$) was found between the progression of experimental periodontitis and peri-implantitis induced by the ligature technique in dogs; and *P. gingivalis* and *B. forsythus* are associated with the progression of experimental peri-implantitis and periodontitis.

SUMÁRIO

CAPÍTULO	PÁGINA
I – LISTAS.....	1
I .1 – Lista de Figuras.....	2
I .2 – Lista de Tabelas.....	4
I .3 – Lista de Siglas e Abreviaturas.....	5
II – INTRODUÇÃO.....	7
III – REVISTA DA LITERATURA.....	11
III .1 – Microbiota Bucal – Considerações Gerais.....	12
III .2 – Peri-Implantite - Considerações Gerais.....	14
III .3 – Microbiota Associada aos Implantes Dentais.....	16
III .4 – Modelos Experimentais de Indução das Doenças Periodontal e Peri-Implantar em Animais.....	20
III .5 – Periodontite e Peri-Implantite em Cães.....	23
IV – PROPOSIÇÃO.....	27
V – MATERIAL E MÉTODOS.....	29
V .1 – Seleção dos animais.....	30
V .2 – Anestesia.....	30
V .3 – Procedimentos Cirúrgicos.....	30
V .4 – Controle do Biofilme Bacteriano nos Dentes e Implantes Dentais.....	34
V .5 – Confecção dos Guias de Sondagens.....	35
V .6 – Obtenção do Nível de Inserção Relativa.....	35
V .7 – Indução das Doenças Periodontal e Peri-implantar.....	36

CAPÍTULO	PÁGINA
V .8 – Colheita do Material.....	37
V .9 – Análise Microbiológica.....	39
V .9 .1 –Seleção e Síntese dos Oligonucleotídeos.....	40
V .9 .2 – A Reação de PCR.....	45
V .9 .3 – Eletroforese.....	46
V .9 .4 – Documentação.....	46
V .10 – Análise Estatística.....	46
VI – RESULTADOS.....	47
VI .1 – Resultados Clínicos.....	48
VI .2 – Resultados Microbiológicos.....	50
VII – DISCUSSÃO.....	55
VII .1 – Análise dos Resultados Clínicos.....	56
VII .2 – Análise dos Resultados Microbiológicos.....	58
VIII – CONCLUSÕES GERAIS.....	67
IX – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
X – APÊNDICES.....	79

I – LISTAS

I – LISTAS

I.1 – Lista de Figuras

- Figura 1** – Hemi-seccionamento dos P₂, P₃ e P₄ inferiores até a bifurcação de suas raízes para a extração dos mesmos. p.31
- Figura 2** – Alvéolos pós extração curetados e irrigados com solução fisiológica esterilizada. p.32
- Figura 3** – Leitos cirúrgicos para a colocação dos implantes dentais preparados com brocas seriadas em motor elétrico e contra-ângulo redutor, e irrigados com solução fisiológica esterilizada. p.33
- Figura 4** – Colocação dos implantes dentais no interior do tecido ósseo e irrigação com solução fisiológica esterilizada durante este procedimento. p.33
- Figura 5** – Implantes dentais colocados e vedados com parafusos de cobertura. p.34
- Figura 6** – Registro do nível de inserção relativa nos implantes dentais, medido pela distância entre a parte externa do guia de sondagem e o fundo do sulco peri-implantar, com auxílio de um fio de aço de 0,5mm de Ø e um *top* (endodôntico). p.36
- Figura 7** – Ligaduras de fio de algodão ao redor dos implantes dentais após 1 mês em posição. p.37
- Figura 8** – Após 30 dias da indução, colheita da amostra da microbiota subgengival do P₂ com auxílio de uma ponta de papel # 70 esterilizada, mantida subgengivalmente em cada face por 10s. p.38
- Figura 9** – Após 30 dias da indução, colheita da amostra da microbiota submarginal do implante com auxílio de uma ponta de papel # 70 esterilizada, mantida submarginalmente em cada face por 10s. p.39

Figura 10 – Reações positivas das amostras de cada uma das cinco bactérias pesquisadas neste estudo demonstrando a eficácia de cada par de oligonucleotídeo. p.42

Figura 11 – Reações de PCR com oligonucleotídeo para *Porphyromonas gingivalis*, proposto por BENKIRANE⁹ et al. (1995), demonstrando reações positivas para solução com DNA de *P. gingivalis* diluído a 1/1000 (2) e para amostra de *P. gingivalis* (3); e reações negativas para amostras de *P. endodontalis* (4), *P. circundentaria* (5), *P. asaccharolytica* (6), *P. salivosa* (7), *P. intermedia* (8), solução *mix* - contendo amostras dessas cinco *Porphyromonas* antes citadas (1) e controle-negativo/água (9). Reações com oligonucleotídeo para *P. gingivalis*, proposto por SLOTS⁶¹ et al. (1995), demonstrando reações positivas para a solução *mix* previamente descrita (10), para a solução com DNA de *P. gingivalis* diluído a 1/1000 (11) e para amostras de *P. gingivalis* (12), *P. endodontalis* (13), *P. circundentaria* (14), *P. asaccharolytica* (15); e reações negativas para *P. intermedia* (16) e controle-negativo/água (17). p.43

Figura 12 – Reações de PCR com oligonucleotídeo para *Bacteroides forsythus* proposto por SLOTS⁶¹ et al. (1995) demonstrando reações positivas para amostra dessa bactéria (1), solução *mix* contendo amostras de todas as bactérias-controle citadas anteriormente – incluindo *B. forsythus* (2), solução com DNA de *Bacteroides forsythus* diluído a 1/1000 (4), amostra de *Bacteroides vulgatus* (11), amostras das placas subgengivais de um dente (16) e um implante dental (17) posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar; e reações negativas para amostras de *P. gingivalis* (3), *P. intermedia* (5), *P. nigrescens* (6), *B. merdae* (7), *B. levii* (8), *B. fragilis* (9), *B. thetaiotaomicron* (10), *B. macacae* (12), controle-negativo/água (13), amostras da placa subgengival de um dente (14) e placa submarginal de um implante dental (15) anterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar. p.44

Figura 13 – Níveis de inserção relativa em milímetros, antes e após a indução das doenças periodontal e peri-implantar. p.49

Figura 14 – Resultados da análise microbiológica das amostras coletadas anteriormente dos dentes (9 a 11) e dos implantes dentais (12 a 14), e posteriormente à indução das doenças – dos dentes (1 a 4) e dos implantes (5 a 8) – submetidas à reação de PCR com oligonucleotídeo para *Porphyromonas gingivalis* p.51

Figura 15 – Resultados da análise microbiológica das amostras coletadas anteriormente dos dentes (1 e 2) e dos implantes dentais (3 e 4), e posteriormente à indução das doenças – dos dentes (5 a 8) e dos implantes (9 e 12) - submetidas à reação de PCR com oligonucleotídeo para *Bacteroides forsythus*. p.52

Figura 16 – Frequência dos microrganismos pesquisados em percentagem nos implantes dentais após a indução da doença. P.52

Figura 17 – Frequência dos microrganismos pesquisados em percentagem nos dentes após a indução da doença. p.53

1.2 – Lista de Tabelas

Tabela 1 – Média das medidas dos níveis de inserção relativa em milímetros, nos sítios preestabelecidos (V, MV, DV, L, ML, DL), anterior e posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais em cães. p.48

Tabela 2 – Níveis de inserção relativa em milímetros, antes e após a indução da periodontite e peri-implantite respectivamente nos dentes e implantes dentais em cães. p.49

Tabela 3 – Identificação do microrganismo *Porphyromonas gingivalis* em sítios de dentes e implantes anterior e posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar. p.50

Tabela 4 – Identificação do microrganismo *Bacteroides forsythus* em sítios de dentes e implantes anterior e posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar. p.51

I.3 – Lista de Siglas e Abreviaturas

<i>P. gingivalis</i>	- <i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. asaccharolytica</i>	- <i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>P. endodontalis</i>	- <i>Porphyromonas endodontalis</i>
<i>P. circudentaria</i>	- <i>Porphyromonas circudentaria</i>
<i>P. salivosa</i>	- <i>Porphyromonas salivosa</i>
<i>B. forsythus</i>	- <i>Bacteroides forsythus</i>
<i>B. levii</i>	- <i>Bacteroides levii</i>
<i>B. vulgatus</i>	- <i>Bacteroides vulgatus</i>
<i>B. macacae</i>	- <i>Bacteroides macacae</i>
<i>P. intermedia</i>	- <i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. nigrescens</i>	- <i>Prevotella nigrescens</i>
<i>E. coli</i>	- <i>Escherichia coli</i>
<i>F. nucleatum</i>	- <i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>P. aeruginosas</i>	- <i>Pseudomonas aeruginosas</i>
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	- <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
PCR	– reação de polimerase em cadeia
<i>et al.</i>	– <i>et alli</i>
UFC	– unidade formadora de colônias
sp.	– espécies
ss.	– subespécies
P ₂	– 2º pré-molar
P ₃	– 3º pré-molar
P ₄	– 4º pré-molar

M ₁	– 1º molar
V	– vestibular
MV	– mésio-vestibular
DV	– disto-vestibular
L	– lingual/palatina
ML	– mésio-lingual/palatina
DL	– disto- lingual/palatina
%	– por cento
#	– número
mM	– mili-molar
µM	– micro-molar
mm	– milímetro
kg	– quilograma
mL	– mililitro
µL	– micro-litro
Ø	– diâmetro
° C	– grau Celsius
s	– segundo
min	– minuto
rpm	– rotações por minuto
Ltda	– limitada
pb	– pares de base
kb	– mil pares de base
s.r.d.	– sem raça definida

II – INTRODUÇÃO

II - INTRODUÇÃO

Os implantes dentais osseointegrados vêm se revelando soluções eficazes em tratamentos odontológicos, com altos índices de sucessos quando corretamente indicados e executados (BRÄNEMARK¹³ *et al.*, 1985; ALBREKTSSON² *et al.*, 1988).

Todavia, respondem pelos maiores índices dos insucessos dos implantes osseointegrados a desarmonia oclusal e a infecção por patógenos periodontais (NEWMAN & FLEMMING⁴⁵, 1988; RAPLEY⁵² *et al.*, 1990; LISTGARTEN³⁷, 1988; ONG⁴⁶ *et al.*, 1992; SBORDONE⁵⁹ *et al.*, 1995).

VAN-STEENBERGHE⁶⁴ *et al.* (1993) ao avaliarem os parâmetros clínicos ao redor de dentes e implantes dentais em 159 pacientes, observaram que os insucessos dos implantes estavam concentrados nos pacientes com altos índices de placa bacteriana. Segundo NEWMAN & FLEMMING⁴⁵ (1988), o sangramento à sondagem, importante sinal de doença periodontal, tem um grande valor na monitorização da saúde dos tecidos peri-implantares.

No estudo de ERICSSON & LINDHE²² (1993) em cães, os autores relataram uma maior resistência à sondagem oferecida pela gengiva em relação à resistência da mucosa peri-implantar e, conseqüentemente, uma maior profundidade de sondagem ao redor dos implantes dentais (média de 2,00mm) em relação aos dentes (média de 0,7mm). A diferença na profundidade de sondagem entre dentes e implantes dentais em humanos foi relatada por BRÄGGER¹¹ *et al.* (1997), que relacionaram os parâmetros clínicos ao redor de dentes e implantes dentais após um ano da colocação dos implantes, tendo os resultados demonstrado uma diferença significativa entre os implantes e os dentes em relação à média de profundidade de sondagem (2,55mm nos implantes e 2,02mm nos dentes).

Estudos microbiológicos demonstraram haver similaridade entre a microbiota dos implantes dentais, com estabilidade, com a microbiota na saúde dental, e entre a história de insucesso dos implantes com a microbiota associada à periodontite, respectivamente (PAPAIIOANNOU⁴⁷ *et al.*, 1995; MOMBELLI⁴³ *et al.*, 1995; SALCETTI⁵⁷ *et al.*, 1997).

A presença de bactérias periodonto-patogênicas nos sulcos peri-implantares e/ou a presença de dentes com periodontite próximo aos implantes dentais são considerados fatores de risco para o sucesso dos implantes dentais (GOUVOUSSIS²⁶ *et al.*, 1997; SAITO⁵⁶ *et al.*, 1997).

A monitorização da microbiota dos implantes dentais e dentes adjacentes, quando possível, vem sendo sugerida como medida de prevenção. Dentre as técnicas para a identificação bacteriana, a técnica de PCR vem sendo amplamente empregada nos estudos microbiológicos em decorrência de uma metodologia mais simples e mais rápida quando comparada às técnicas de cultura convencionais, o que pode ser constatado nos trabalhos de SAVITT⁵⁸ *et al.* (1988), LOTUFO³⁸ *et al.* (1994) e PAPAPANOU⁴⁸ *et al.* (1997). Essa técnica tem como vantagem não ser necessário a preservação da viabilidade dos microrganismos, que estaria vinculada a condição de transporte das amostras (FRENCH²⁴ *et al.*, 1986).

No entanto, poucos estudos monitorizaram e compararam simultaneamente a perda do nível de inserção e o processo de colonização por microrganismos periodonto-patogênicos, nos dentes e implantes dentais, durante a progressão da doença dos tecidos periodontais e peri-implantares (LEONHARDT³⁶ *et al.*, 1992; EKE¹⁹ *et al.*, 1998) - informações essas que seriam de grande valia para a extensão dos conhecimentos sobre a doença peri-implantar.

III – REVISTA DA LITERATURA

III – REVISTA DA LITERATURA

III.1 - Microbiota Bucal - Considerações Gerais

MAGNUSSON³⁹ *et al.* (1984) avaliaram o processo da recolonização subgengival após a raspagem dental em sítios com bolsas profundas. Os resultados demonstraram o papel determinante da placa supragengival para o restabelecimento de uma microbiota subgengival composta por espiroquetas e bastonetes móveis.

GENCO²⁵ *et al.* (1988) procuraram estabelecer a origem dos patógenos nos processos infecciosos, com ênfase na fonte dos microrganismos periodonto-patogênicos. Classificaram os microrganismos em endógenos ou residentes como habitantes da cavidade bucal, independentemente do seu potencial patogênico; e patógenos bucais exógenos como membros transitórios da microbiota, estando estes associados à condição de doença. Consideraram que os patógenos exógenos apresentam vários graus de virulência, e que são transmitidos de seus habitats naturais para sítios bucais não infectados, desenvolvendo a doença. Segundo os autores, têm sido documentadas diferenças claras entre a microbiota subgengival na saúde e a associada à doença, destacando-se a presença de cocos Gram-positivos numa condição de saúde; a presença de *Bacteroides intermedius* relacionada com gengivite; e os microrganismos: - *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium timidum*, *Bacteroides capillus*, *Haemophilus* sp, *Wolinella* sp, *Selenomonas sputigena*, *Eikenella corrodens* e espiroquetas associados à periodontite do adulto. O microrganismo *Actinobacillus actinomycetemcomitans* estaria associado à periodontite juvenil.

HAFFAJEE²⁸ *et al.* (1991) avaliaram a frequência de espécies subgengivais na saúde e subsequente à profundidade de sondagens maiores que 3,0mm em decorrência de doença periodontal. Os resultados da análise microbiológica por sonda de DNA demonstraram uma significativa incidência de *Porphyromonas gingivalis* e *Wolinella recta* em sítios com saúde que

posteriormente desenvolveram a doença. Quando os autores compararam as manifestações da doença em sítios localizados com as manifestações generalizadas, observaram uma grande incidência de *Porphyromonas gingivalis* e *Bacteroides intermedius* nos processos localizados e de *Peptostreptococcus micros* e *Wolinella recta*, nos generalizados. Os autores sugeriram que os níveis de frequência de microrganismos podem ser utilizados como indicador para uma provável perda do nível de inserção nos dentes.

KOLENBRANDER & LONDON³⁴ (1993) descreveram os meios de adesão das bactérias na película adquirida, as relações entre si e o papel de cada uma na agregação e formação da placa bacteriana. Relataram o processo de mudança do perfil de uma microbiota Gram-positiva e aeróbia na saúde para uma microbiota Gram-negativa e anaeróbia associada à doença periodontal.

CASTILLO & LIÉBANA¹⁷ (1994) definiram colonização bacteriana como a instalação e a estabilização de microrganismos no sulco gengival; invasão como a capacidade bacteriana de alcançar o tecido conjuntivo e o osso alveolar, e associaram a capacidade de multiplicação e o poder de destruição das bactérias como fatores microbiológicos envolvidos com a gênese da doença periodontal.

DARVEAU¹⁸ *et al.* (1997) relataram que a mudança da microbiota na saúde para uma microbiota associada à periodontite altera a composição dos subprodutos bacterianos liberados, com uma conseqüente alteração da resposta do hospedeiro. Descreveram a periodontite como uma resposta inflamatória destrutiva dos tecidos periodontais frente à presença de uma microbiota subgengival específica e composta por várias espécies diferentes. A combinação dessas bactérias, e não apenas de uma espécie, favorece o crescimento da placa subgengival e o conseqüente desenvolvimento da doença periodontal. No entanto, a presença de patógenos de maior virulência, tais como: *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e

Bacteroides forsythus proporcionam diferenças significativas no desenvolvimento, com evolução mais rápida do processo infeccioso.

III.2 – Peri-Implantite - Considerações Gerais

NEWMAN & FLEMMING⁴⁵ (1988) relataram existir evidências para considerar as infecções e o estresse oclusal como causas principais do insucesso dos implantes dentais osseointegrados. Sugeriram que as microbiotas associadas ao sucesso ou ao insucesso dos implantes dentais seriam respectivamente, similares à microbiota dos dentes com saúde ou à doença periodontal. Consideraram o estresse oclusal, tais como as cargas funcionais excessivas sobre os implantes dentais, fatores indutores da degeneração do osso peri-implantar e conseqüente esfoliação do implante.

BUSER¹⁶ *et al.* (1992) descreveram a anatomia ao redor dos implantes dentais, evidenciando a existência de um fino colar de fibras colágenas arranjadas circunferencialmente e de uma mínima vascularização. Os autores consideraram que esta vascularização reduzida, adjacente aos implantes dentais, poderia afetar o mecanismo natural de defesa contra patógenos, atuando com menor eficácia quando comparada ao mecanismo de defesa do periodonto.

JOVANOVIĆ³⁰ (1993) definiu as mudanças patológicas dos tecidos peri-implantares como doença peri-implantar. Descreveu a peri-implantite como uma progressiva perda óssea peri-implantar associada à inflamação dos tecidos moles adjacentes aos implantes dentais. Segundo o autor, os tecidos moles e duros ao redor dos implantes dentais têm constituição similar a do periodonto; no entanto, ressalta as seguintes diferenças importantes: - ausência de estruturas semelhantes ao ligamento periodontal na região peri-implantar; a orientação das fibras do tecido mole ao redor dos implantes apresenta-se paralelas à superfície dos implantes e não aderidas, enquanto as fibras gengivais ao redor dos dentes apresentam-se perpendiculares e aderidas ao cimento radicular, além de diferenças quanto à resposta contra agressões.

MEFFERT⁴¹ (1993) definiu a peri-implantite como um processo infeccioso envolvendo os tecidos mole e duro de sustentação dos implantes dentais associado a bactérias Gram-negativas anaeróbias. Segundo o autor, esse processo poderia ocorrer em virtude de falhas no controle da placa bacteriana por parte do paciente ou pela reduzida faixa de mucosa queratinizada, que não proporcionaria no implante dental uma adesão eficaz do tecido peri-implantar. O autor também descreveu a peri-implantite por falha traumática, ou seja, microfraturas no osso alveolar ao redor dos implantes dentais, em decorrência de sobrecargas das forças oclusais e/ou laterais submetidas aos implantes. Essa condição não envolve infecção bacteriana num primeiro momento, e pode ser constatada a saúde gengival concomitante a uma perda óssea avaliada radiograficamente.

VAN-STEENBERGHE⁶⁴ *et al.* (1993), em um estudo longitudinal, avaliaram os parâmetros clínicos ao redor de dentes naturais e implantes dentais osseointegrados em 159 pacientes. Os resultados demonstraram um índice de sucesso dos implantes na ordem de 94,3%, após 2 anos, e de 93,9%, após 3 anos, sendo que os insucessos dos implantes estavam concentrados nos pacientes com alto índice de placa bacteriana. Os índices de placa bacteriana e sangramento à sondagem apresentaram-se similares nos dentes e implantes avaliados.

BRÄGGER¹¹ *et al.* (1997) relacionaram os parâmetros clínicos ao redor de 253 dentes e 258 implantes dentais após um ano da colocação destes. Para o estudo foram selecionados 127 pacientes parcialmente edentados, submetidos periodicamente a sessões de manutenção da saúde periodontal e peri-implantar. Decorrido um ano com os implantes em função, os pacientes foram avaliados quanto aos parâmetros clínicos. Os resultados demonstraram uma diferença significativa entre os implantes e os dentes em relação à média de profundidade de sondagem (2,55mm nos implantes e 2,02mm nos dentes), sangramento à sondagem (média de 24% e 12%, respectivamente); no entanto, as médias de índice de placa (0,22 e 0,30), índice de sangramento gengival (0,35 e 0,44) e médias de recessão (-0,42mm e -0,51mm), respectivamente, não

apresentaram diferenças estatísticas significativas. Os autores sugeriram que as condições clínicas periodontais dos dentes remanescentes poderiam influenciar as condições clínicas dos implantes dentais, reforçando a necessidade de priorizar o tratamento periodontal anterior e a manutenção periodontal posterior à colocação de implantes dentais osseointegrados.

MOMBELLI⁴⁴ *et al.* (1997) relataram a necessidade do diagnóstico precoce da peri-implantite para possibilitar uma intervenção de modo a evitar perdas significativas do osso de sustentação. Como procedimento de diagnóstico sugeriram parâmetros subjetivos para a determinação dos sinais e sintomas de infecção e perda de inserção clínica, e incluíram o acompanhamento radiográfico e a avaliação da mobilidade e da sondagem peri-implantar como método de diagnóstico. Segundo os autores, a sondagem permite avaliar os seguintes parâmetros: - profundidade de sondagem do sulco/bolsa peri-implantar; distância entre a margem de tecido mole e um ponto de referência no implante (aumento gengival ou recessão); sangramento à sondagem, e a presença de exsudato purulento.

III.3 - Microbiota Associada aos Implantes Dentais

MOMBELLI⁴² *et al.* (1987) analisaram e compararam a composição da microbiota associada aos sucessos e insucessos de implantes dentais osseointegrados. Os resultados da análise microbiológica demonstraram uma microbiota complexa associada aos insucessos, composta por uma grande frequência de bactérias Gram-negativas e anaeróbias. A microbiota associada aos sucessos dos implantes foi caracterizada por um baixo número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

LISTGARTEN³⁷ (1988) considerou evidente o papel da placa bacteriana como fator determinante na condição de saúde ou doença ao redor dos implantes dentais. O autor relatou que essa condição de doença representa uma infecção oportunista, e também que seria de muito

interesse a avaliação da colonização das superfícies dos implantes, assim como a caracterização da microbiota submarginal associada à manutenção ou a insucessos dos implantes dentais.

APSE⁵ *et al.* (1989) analisaram a microbiota presente nos tecidos adjacentes a 28 implantes dentais osseointegrados em pacientes parcialmente edentados, comparando-a com a microbiota de 19 sítios periodontais dos seus dentes remanescentes e de 13 implantes dentais de pacientes totalmente edentados. Os resultados da análise microbiológica por microscopia de campo escuro demonstraram uma alta frequência de cocos nos dentes (84%) e nos implantes de pacientes parcialmente edentados e de edentados totais (88%). A identificação microbiana em meios de cultura demonstrou a presença, em pacientes parcialmente edentados, de *Porphyromonas gingivalis* em 17,9% dos implantes e em 5,3% dos dentes; *Treponema denticola* em 21,4% dos implantes e em 15,8% dos dentes; *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em 3,6% dos implantes e em 15,8% dos dentes. Tais microrganismos não foram detectados nos implantes dos pacientes totalmente edentados. Segundo os autores, as diferenças microbianas na colonização dos implantes de pacientes totalmente e parcialmente edentados, foram consequência da presença de bolsas periodontais ao redor dos dentes, infectados por uma grande variedade de microrganismos e servindo como reservatórios de patógenos periodontais para a contaminação dos tecidos peri-implantares adjacentes.

BAUMAN⁷ *et al.* (1992) estabeleceram uma relação de similaridade entre os microrganismos presentes nos sulcos periodontais saudáveis e nos sulcos peri-implantares de implantes dentais com sucesso. A microbiota associada ao insucesso dos implantes dentais seria composta por microrganismos periodonto-patogênicos, os mesmos que agem nos sítios de dentes com doença periodontal.

SBORDONE⁵⁹ *et al.* (1995) analisaram a microbiota subgengival associada ao insucesso dos implantes dentais. Avaliaram 19 implantes dentais com insucesso em 13 pacientes parcialmente edentados, pesquisando a presença dos seguintes microrganismos: *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. Os resultados da análise da microbiota dos implantes dentais demonstraram uma grande frequência de bacilos Gram-negativos anaeróbios (50,0% da microbiota), com prevalência dos microrganismos *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*.

MOMBELLI⁴³ *et al.* (1995) estudaram a relação entre a microbiota subgengival nos dentes de pacientes parcialmente edentados, com história de terapia periodontal, com a microbiota encontrada em implantes osseointegrados desses pacientes. Nesse estudo, 20 pacientes foram tratados com terapia periodontal e sessões de manutenção regulares, e submetidos à colocação de implantes dentais osseointegrados. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que os microrganismos *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium* sp. estavam presentes em elevada proporção nas amostras após o tratamento dos dentes e também nos implantes após 3 meses da exposição ao meio. Os autores observaram neste estudo uma alta prevalência no sulco peri-implantar de patógenos periodontais anaeróbios pesquisados após 3 e 6 meses da exposição do implante ao meio bucal.

PAPAIOANNOU⁴⁷ *et al.* (1995) avaliaram o efeito dos parâmetros clínicos periodontais sobre a microbiota submarginal ao redor de implantes dentais. Amostras de placa submarginal foram obtidas de 561 implantes dentais com história de sucesso, em 297 pacientes, parcial e totalmente edentados. As análises microbiológicas foram processadas por meio de microscopia de campo escuro e comparadas quanto aos parâmetros de profundidade de sondagem, sangramento à sondagem e índices gengival e de placa. Os resultados demonstraram a relação do aumento da

profundidade de sondagem com a diminuição significativa de cocos, e um aumento significativo de bastonetes móveis, espiroquetas, bem como do número total de bactérias contadas. Segundo os autores, os pacientes parcialmente edentados apresentam uma tendência ao aumento de espiroquetas e microrganismos móveis com o tempo de exposição do implante ao meio bucal. Os autores enfatizaram a importância na manutenção da saúde periodontal dos dentes remanescentes de pacientes com implantes dentais, que atuariam como possíveis reservatórios de microrganismos patogênicos.

SALCETTI⁵⁷ *et al.* (1997) compararam em 29 pacientes parcialmente edentados a microbiota associada aos insucessos dos implantes dentais com a microbiota dos implantes dentais apresentando tecidos peri-implantares clinicamente saudáveis. Para análise da microbiota subgingival utilizaram a técnica de PCR para pesquisa de 40 microrganismos, concluindo que os microrganismos *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum* ss. *nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum* ss. *vincentii* estariam associados ao insucesso dos implantes dentais. Os autores propuseram uma nova ênfase quanto ao potencial patogênico dos microrganismos *Prevotella nigrescens* e *Peptostreptococcus micros*, e consideraram os pacientes que apresentam doença periodontal e/ou insucesso de implantes dentais como condição de risco para implantes saudáveis ou futuras implantações.

GOUVOUSSIS²⁶ *et al.* (1997) estudaram a possibilidade da infecção cruzada entre dentes com periodontite e implantes numa mesma boca. Para o experimento, 25 sítios de 9 pacientes parcialmente edentados com dentes periodontalmente comprometidos, e portadores de implantes dentais, foram avaliados quanto à presença dos seguintes microrganismos: *-Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola* e *Campylobacter recta*. As análises microbiológicas demonstraram que, quando *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum*

estavam presentes nos dentes, existia uma probabilidade de 83% destes também serem detectados nos implantes dentais adjacentes. Quando *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Eikenella corrodens* foram detectados em sítios com periodontite, tais microrganismos foram detectados em todos os implantes de uma mesma boca (100%). *Porphyromonas gingivalis* estavam presentes nos implantes em apenas 75% das vezes em que foram detectadas em dentes de uma mesma boca. Os resultados demonstraram a probabilidade da transmissão de microrganismos dos dentes com periodontite para os implantes dentais de um mesmo paciente.

III.4 – Modelos Experimentais de Indução das Doenças Periodontal e

Peri-Implantar em Animais

KENNEDY & POLSON³¹ (1973) estudaram um modelo de indução da inflamação periodontal em macacos (*Saimiri sciureus*), posicionando ligaduras de fio de seda 3-0 ao redor de 62 dentes. Os resultados demonstraram que após 2 a 3 semanas com as ligaduras, as margens gengivais apresentavam-se vermelhas e edemaciadas, e após 10 semanas foi observada a perda da adesão gengival, tendo essas características clínicas persistido até o fim do experimento (52 semanas). Em contraste com os dentes-controle, os com ligadura apresentavam um grande acúmulo de placa bacteriana. As análises histológicas e histométricas indicaram que ligaduras de fio de seda 3-0 ao redor de dentes induzem uma periodontite marginal progressiva e caracterizada pela migração apical do epitélio juncional com perda do osso alveolar.

ERICSSON²⁰ *et al.* (1975) descreveram um método de indução rápida e progressão para produzir lesões periodontais ao redor de dentes selecionados em cães. O experimento foi realizado em 10 cães *beagles* submetidos a uma dieta pastosa, favorecendo o acúmulo de placa bacteriana. Ligaduras de fio de algodão foram colocadas ao redor dos dentes P₃ e P₄ na junção cimento-esmalte. Análises radiográfica e histológica a 230 dias após o início do processo

revelaram a ocorrência de uma progressiva perda de inserção dos tecidos periodontais, com uma média de perda óssea de 2,4mm.

KORNMAN³³ *et al.* (1981) monitorizaram a microbiota subgengival durante a indução e progressão da gengivite para periodontite por meio do uso de ligaduras de fio de algodão colocadas ao redor dos dentes de 4 macacos *cynomolgus*. Segundo os resultados desse experimento, os autores concluíram que a microbiota associada à periodontite induzida em macacos assemelha-se à microbiota associada à doença periodontal em humanos, e que o aumento da profundidade de sondagem estava associado à presença de microrganismos Gram-negativos anaeróbios.

WARRER⁶⁵ *et al.* (1995) estudaram modelos de peri-implantite induzida por placa bacteriana na presença ou ausência de mucosa queratinizada em 5 macacos. Para a indução da peri-implantite utilizaram ligaduras de fio de algodão posicionadas passivamente na entrada do sulco peri-implantar para retenção da placa bacteriana. Essa ligadura foi mantida em posição pelo uso de um cicatrizador ligeiramente mais largo do que o implante dental. Os resultados demonstraram uma perda óssea significativamente maior nos implantes com ligaduras em relação aos implantes submetidos ao acúmulo natural de placa bacteriana.

MARINELLO⁴⁰ *et al.* (1995) estudaram as alterações teciduais em decorrência da evolução da peri-implantite induzida em 5 cães. Para a indução da peri-implantite foram colocadas ligaduras com fio de algodão em posição submarginal ao redor dos intermediários dos implantes dentais. Essas ligaduras foram posicionadas apical à margem da mucosa peri-implantar, e os cães submetidos à dieta pastosa e ausência de procedimentos de higiene bucal durante o experimento. Após 4 a 6 semanas, os resultados evidenciaram uma redução de 25% na altura óssea inicial.

PERSSON⁴⁹ *et al.* (1996) estudaram em cães o tratamento da peri-implantite com o uso de regeneração óssea guiada, sendo esta peri-implantite experimental alcançada por meio da colocação de ligaduras de fio de algodão ao redor dos intermediários, submarginalmente, seguida da supressão de medidas de controle da placa bacteriana. Após 6 semanas de indução, os autores constataram, radiograficamente, uma destruição óssea aproximada de 20% dos tecidos de sustentação, e clinicamente, uma contínua deposição da placa bacteriana, mesmo após a remoção das ligaduras.

SCHOU⁶⁰ *et al.* (1996) avaliaram em 8 macacos a microbiota associada à inflamação ao redor de implantes dentais osseointegrados, dentes normais (grupo-controle) e anquilosados, submetidos à indução por meio de ligaduras de fio de algodão. Amostras das placas subgingival e submarginal foram coletadas antes da indução e após 7 semanas. Os resultados das análises microbiológicas - microscopia de contraste e cultura bacteriana - demonstraram uma mudança na constituição da microbiota subgingival após as 7 semanas da indução. O número total de bactérias cultivadas e a proporção de bastonetes móveis, bactérias Gram-negativas anaeróbias, principalmente *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*, aumentaram significativamente ao redor dos implantes, dos dentes anquilosados e dos dentes-controle após a indução. Durante o experimento, nenhuma diferença significativa foi observada entre os implantes dentais, dentes-controle e anquilosados, exceto por uma alta significativa na proporção de cocos Gram-positivos ao redor dos implantes no final do experimento em relação aos dentes-controle e aos anquilosados. Os autores observaram a similaridade das microbiotas associadas à inflamação ao redor dos implantes dentais, dos dentes normais e dos anquilosados em macacos cynomolgus.

III.5 – Periodontite e Peri-Implantite em Cães

LEONHARDT³⁶ *et al.* (1992) analisaram em 4 cães *beagles* a presença de patógenos periodontais associados aos dentes e implantes dentais com saúde, gengivite e submetidos à indução da periodontite e peri-implantite, por meio da colocação de ligaduras de fio de algodão por um período de 42 dias. Os resultados revelaram não haver diferença estatística significativa entre as microbiotas dos dentes e dos implantes dentais numa condição de saúde, gengivite ou periodontite e peri-implantite. O número de microrganismos aumentou 10 vezes nos implantes e nos dentes no decorrer desse experimento. Os microrganismos *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* foram isoladas em uma frequência muito baixa no início do experimento, aumentando com a manifestação da gengivite nos implantes e nos dentes (37,4% e 21,0%, respectivamente), estabilizando-se em 25,0% com a manifestação da periodontite e peri-implantite. Os autores concluíram que a colonização inicial e a estabilização das microbiotas associadas aos implantes dentais com saúde gengival, gengivite e peri-implantite experimental apresentam o mesmo padrão quando comparadas às dos dentes em condições clínicas semelhantes.

ERICSSON & LINDHE²² (1993) compararam a resistência à sondagem mecânica entre a gengiva ao redor de dentes e a mucosa peri-implantar ao redor de implantes dentais osseointegrados. Para o experimento, 5 cães da raça *beagles* foram submetidos à extração dos P₂, P₃, e M₁ inferiores bilaterais, sendo posteriormente substituídos por implantes dentais osseointegrados. O P₄ direito e os implantes dentais foram mantidos com saúde, sendo o P₄ esquerdo submetido à indução da periodontite experimental com ligaduras de fio de algodão por um período de 4 meses, resultando em uma perda média de 25% dos tecidos ósseos. Esses dentes com periodontite foram tratados e os parâmetros clínicos avaliados. Por um período de 360 dias

os dentes e implantes dentais foram submetidos ao controle da placa bacteriana, sendo então, processada uma nova avaliação clínica. Os resultados demonstraram diferenças quanto à composição e à organização dos tecidos periodontais e peri-implantares, e diferenças no processo de adesão dos tecidos gengivais à superfície radicular e ao implante dental. Segundo os autores, essas diferenças influenciariam numa maior resistência à sondagem oferecida pela gengiva em relação à mucosa peri-implantar, resultando em uma maior profundidade de sondagem ao redor dos implantes dentais (média de 2,00mm) em relação aos dentes (média de 0,7mm), nesse experimento.

ERICSSON²³ *et al.* (1993) avaliaram a progressão da destruição dos tecidos periodontais em dentes imobilizados e sem imobilização, submetidos à indução da periodontite por meio de ligaduras de fio de algodão. Para o experimento, 5 cães *beagles* foram submetidos à extração dos P₂, P₃, M₁ inferiores e à colocação de implantes dentais, anterior e posterior ao P₄ inferior direito, e que atuaram como pilares para a imobilização desse dente. O P₄ contra-lateral não foi imobilizado, atuando como grupo-controle. Os dois P₄ inferiores foram submetidos à indução da doença periodontal com ligaduras de fio de algodão, e após 180 dias, radiografias dos dentes foram tiradas e os animais sacrificados para a análise histológica. O resultado desse experimento demonstraram que a colocação das ligaduras ao redor de dentes resultaram na indução da periodontite de maneira similar nos dentes imobilizados e não imobilizados. Os autores sugeriram que a imobilização de dentes não previne ou retarda a perda dos tecidos de sustentação dos mesmos.

BIANCU¹⁰ *et al.* (1995) analisaram os tecidos periodontais adjacentes a dentes imobilizados e unidos a implantes dentais osseointegrados. Para o experimento, 10 cães *beagles* foram submetidos à extração dos P₂, P₃, M₁ inferiores e à colocação de implantes dentais, anterior e posterior ao P₄ inferior direito, e que serviram como pilares para a imobilização desse dente. O

P₄ contra-lateral não imobilizado atuou como controle. Divididos em 2 grupos de cinco, os cães do grupo A foram submetidos a um programa de controle da placa durante os 180 dias do experimento, e os do grupo B submetidos à indução da doença periodontal com ligaduras de fio de algodão por 4 meses, sendo processadas cirurgias periodontais com posicionamento apical do retalho e controle da placa bacteriana nos dois meses finais. Os resultados demonstraram ausência de placa bacteriana visível, sinais de inflamação gengival e sangramento à sondagem ao redor dos implantes dentais e dos dentes após os 180 dias. Durante esse período não foram observadas diferenças significativas referentes à altura do osso alveolar ao redor dos P₄ direito e esquerdo, em cada um dos grupos.

RENVERT⁵³ *et al.* (1996), num estudo com 6 cães, analisaram e compararam os níveis de microrganismos patogênicos em sítios de dentes saudáveis, em sítios com gengivite e em sítios com doença periodontal. Para induzir a perda do nível de inserção nos dentes do grupo com doença periodontal foram colocadas ligaduras de fio de algodão no interior do sulco gengival, que permaneceram em posição por 57 dias. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram números maiores de UFC nos sítios com ligadura em relação aos sítios com saúde e associados à gengivite; e a proporção de microrganismos aumentou com a evolução da perda dos tecidos de sustentação. Os níveis de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* aumentaram, significativamente, com a mudança do estado clínico de saúde para a doença periodontal. Segundo os autores, a presença dessas bactérias estariam relacionadas a um aumento da profundidade de sondagem.

TILLMANNS⁶³ *et al.* (1997) avaliaram e compararam, clinicamente, em 14 cães *beagles*, a evolução da peri-implantite induzida por ligaduras de fio de algodão ao redor de três diferentes tipos de implantes dentais. Para a indução da peri-implantite foram posicionadas submarginalmente as ligaduras ao redor dos implantes. Os resultados após 3 e 6 meses de indução

demonstraram um grande aumento da profundidade de sondagem nos três tipos de implantes submetidos à indução da peri-implantite, sem diferença estatística significativa dos níveis de perda de inserção entre os mesmos. Os autores consideraram os implantes dentais pesquisados igualmente suscetíveis à indução da peri-implantite por meio de ligaduras de fio de algodão.

SAITO⁵⁶ *et al.* (1997) estudaram os efeitos do acúmulo natural da placa bacteriana sobre os tecidos periodontais e peri-implantares, avaliando as respostas desses tecidos quanto aos aspectos clínicos e microbiológicos. No experimento, 4 cães foram submetidos à extração dos P₃ e P₄ inferiores bilaterais e à reabilitação protética pela colocação de 4 implantes dentais. Os implantes dentais e o dente M₁ (grupo-controle) foram avaliados quanto aos parâmetros clínicos e microbiológicos, imediatamente após a colocação das próteses, em 90 e 180 dias, período em que não foi realizada nenhuma forma de controle bacteriano. Nesse estudo, não foram observadas perdas significativas no tecido de sustentação durante os 180 dias. Os resultados demonstraram não haver diferença estatística significativa quanto à profundidade de sondagem entre os implantes e os dentes, no entanto, os implantes acumularam uma maior quantidade de placa bacteriana em relação aos dentes. O resultado da cultura microbiana após os 180 dias evidenciou um aumento significativo da presença de *Porphyromonas gingivalis* nos dentes e implantes dentais, mas sem diferença estatística significativa desse aumento entre os mesmos. O microrganismo *Actinobacillus actinomycetemcomitans* não foi isolado nesse experimento. Os autores concluíram que o acúmulo natural de placa bacteriana, sob as condições desse experimento, não induziu à destruição dos tecidos periodontais e peri-implantares. Consideraram os tecidos peri-implantares mais suscetíveis ao acúmulo da placa bacteriana em relação aos tecidos periodontais e que os dentes adjacentes aos implantes dentais podem servir como reservatórios para a colonização bacteriana do sulco implantar.

IV – PROPOSIÇÃO

IV – PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve por objetivos:

- avaliar em cães, a perda dos níveis de inserção relativa ao redor de dentes e implantes dentais, anterior e posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar por meio de ligaduras com fio de algodão;
- verificar, anterior e posterior à indução de tais doenças, a presença das bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomyces*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* por meio da técnica da reação de polimerase em cadeia (PCR).

V - MATERIAL E MÉTODOS

V - MATERIAL E MÉTODOS

V.1 - Seleção dos animais

Cinco cães com idade em torno de dois anos, pesando 15kg, em média, sem raça definida (s.r.d.), apresentando boa saúde geral e com dentição completa foram utilizados neste estudo. Os animais foram submetidos a um tratamento profilático, incluindo vacinação, dieta e higiene, de acordo com as orientações do Biotério Central da UNICAMP.

V.2 - Anestesia

Os cães foram sedados previamente com solução de cloridrato de dihidrotiazina^{*}, aplicados por via intramuscular na dose de 1,5mL/10 kg de peso corpóreo. A anestesia geral foi atingida por meio da administração de 1,0mL/kg de solução de tiopental sódico[♂] a 2,5%, via intravenosa. Para complementação anestésica foi aplicada anestesia local com cloridrato de lidocaína[♂] a 2,0%. O aparato de administração foi mantido com soro fisiológico durante o ato cirúrgico, para possibilitar doses de reforço e hidratação do animal.

V.3 - Procedimentos Cirúrgicos

Incisões intrasulculares foram realizadas por vestibular e por lingual, estendendo-se da distal do P₁ até a mesial dos M₁ inferiores direitos e esquerdos. Pequenas incisões relaxantes foram feitas nas extremidades distal e mesial do retalho. Procedeu-se então à elevação de um retalho de espessura total e o hemi-seccionamento dos P₂, P₃ e P₄ inferiores bilaterais até a bifurcação de suas raízes (Figura 1), com auxílio de brocas^α em alta rotação e sob irrigação com solução fisiológica esterilizada^θ.

^{*} Rompum®, Bayer do Brasil S.A., São Paulo/S.P. - Brasil.

[♂] Tiopental®, Cristália Produtos Químicos e Farm. Ltda., Itirapina/S.P. - Brasil.

[♂] Xilocaina®, Merrel Lepetit Farm. Ltda., Santo Amaro/S.P. - Brasil.

^α Carbide FG 701 - SS White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro/R.J. - Brasil.

^θ Glicolabor® - Ind. Farmacêutica Ltda., Ribeirão Preto/S.P. - Brasil.



Figura 1 – Hemi-seccionamento dos P₂, P₃ e P₄ inferiores até a bifurcação de suas raízes para a extração dos mesmos.

As raízes mesiais e distais foram removidas separadamente (BECKER⁸ *et al.*, 1995), e os alvéolos curetados (Figura 2). Os tecidos gengivais foram suturados em posição, com fio de mononylon^{**}, e removidos após 7 dias.

Três meses após a extração dos dentes (HÜRZELER²⁹ *et al.*, 1995) foi realizada uma incisão sobre o rebordo ósseo estendendo-se da distal do P₁ até a mesial do M₁, e um retalho de espessura total foi elevado com a finalidade de expor o tecido ósseo subjacente. Utilizando-se de um motor elétrico^δ, um contra-ângulo redutor[&] e brocas seriadas foram preparados os leitos para a colocação de três implantes de titânio comercialmente puro para cada lado da mandíbula (comprimento de 8,5mm e diâmetro de 3,75mm), conforme recomendações fornecidas pelo

^{**} ETHICON ®- Mono Nylon 3-0 Johnson & Johnson, São José dos Campos/SP - Brasil.

^δ BLM 500 Slim/Honda. VC DRILLER Equipamentos Eletrônicos Ltda., São Paulo/SP - Brasil.

[&] KAVO Dentale Medizinische. Biberach/Riss - República Federal da Alemanha.

fabricante*. Foi observado o protocolo para que durante esse procedimento a velocidade das brocas não ultrapassasse 1500 rpm e que estas fossem abundantemente irrigadas com solução fisiológica esterilizada^θ à temperatura ambiente (BRÄNEMARK¹² *et al.*, 1969; ADELL¹ *et al.*, 1981). Após o preparo dos leitos cirúrgicos (Figura 3), estes foram, cuidadosamente, irrigados com solução fisiológica com o objetivo de remover os fragmentos que porventura pudessem interferir na posterior adaptação do implante. Em sequência aos procedimentos preparatórios, os implantes foram colocados até que suas roscas estivessem totalmente inseridas no interior do tecido ósseo (Figura 4), sendo então vedados por meio da colocação dos parafusos de cobertura (Figura 5). O retalho foi suturado em posição com pontos interrompidos por meio de fio de mononylon^{**}.

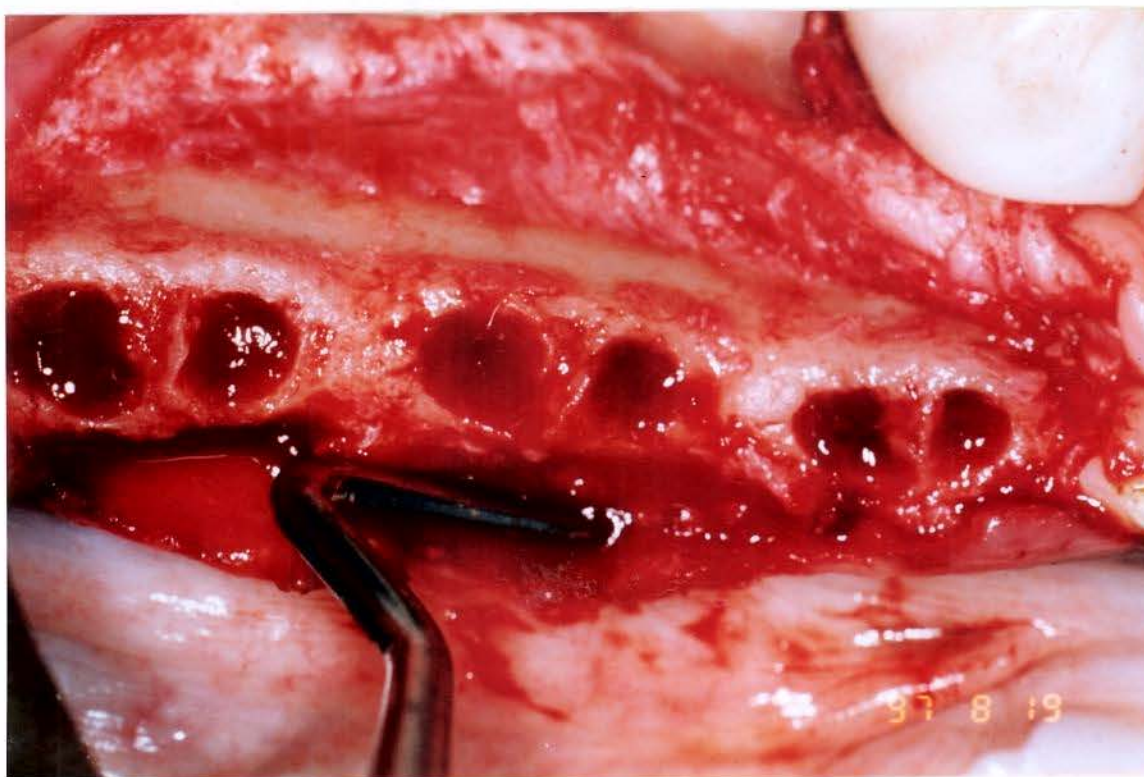


Figura 2 – Alvéolos pós extração curetados e irrigados com solução fisiológica esterilizada.

* NAPIO - BAURU/SP - Brasil.

^θ Glicolabor® - Ind. Farmacêutica Ltda., Ribeirão Preto/SP - Brasil.

^{**} ETHICON ®- Mono Nylon 3-0 Johnson & Johnson, São José dos Campos/SP - Brasil.

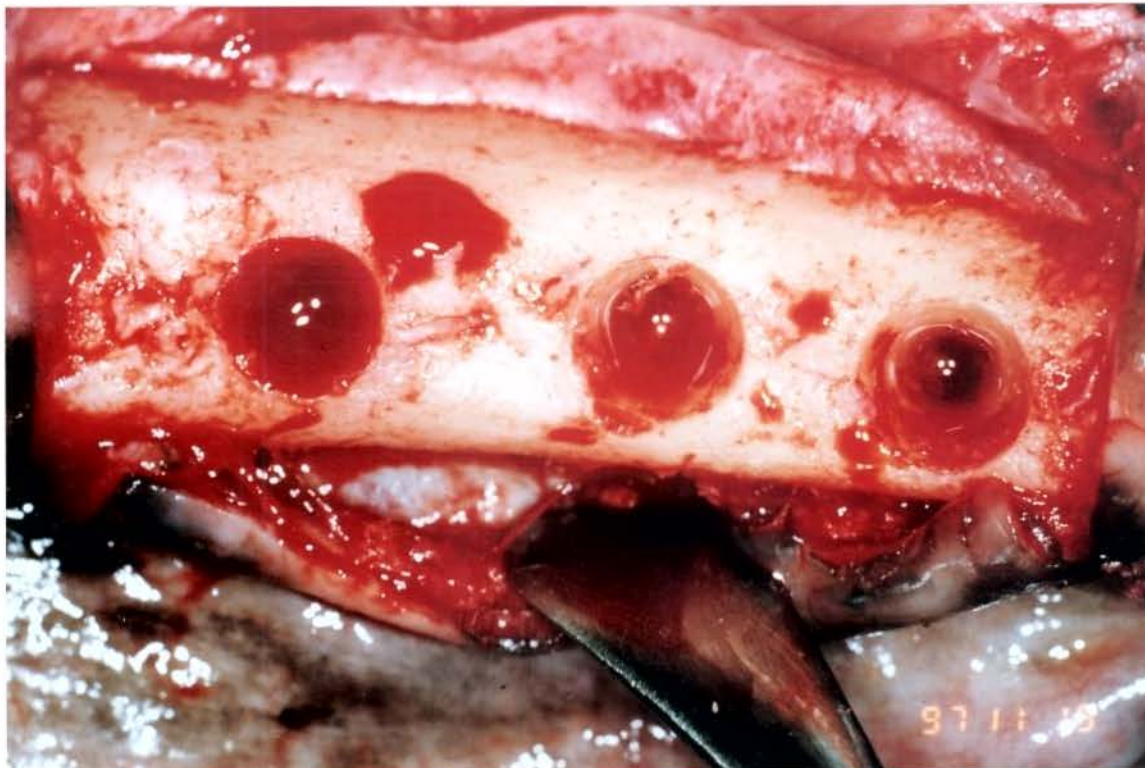


Figura 3 - Leitos cirúrgicos para a colocação dos implantes dentais preparados com brocas seriadas em motor elétrico e contra-ângulo redutor, e irrigados com solução fisiológica esterilizada

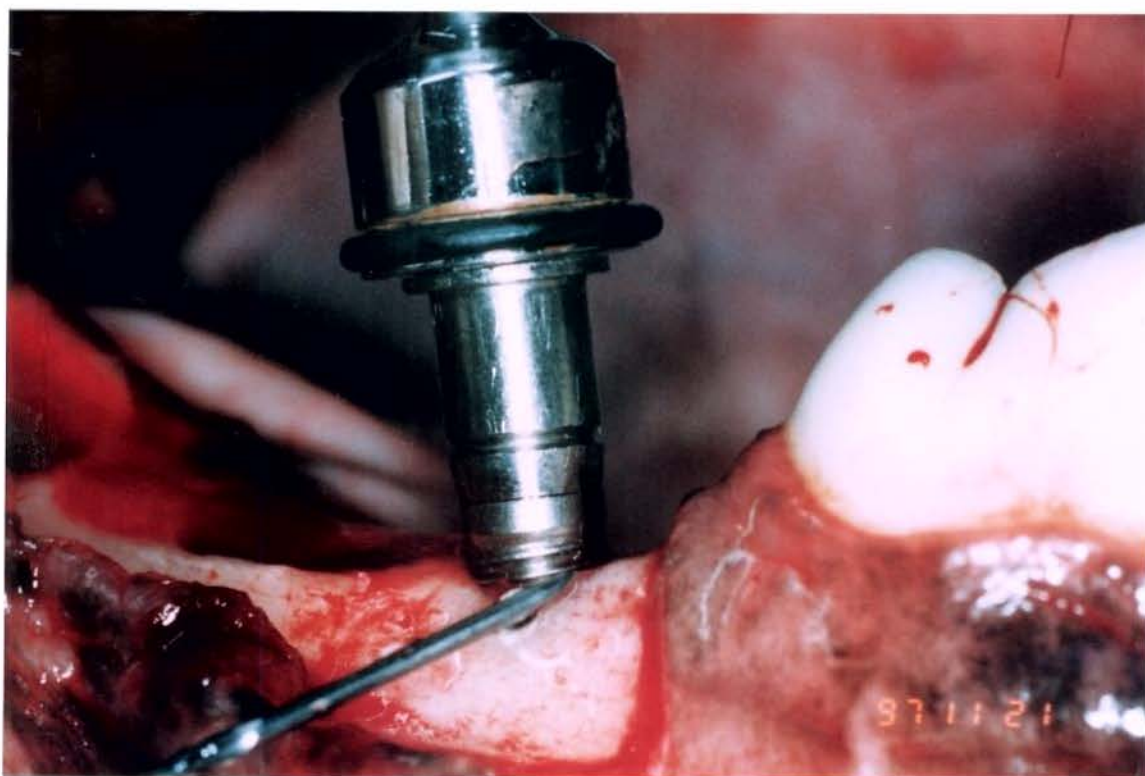


Figura 4 – Colocação dos implantes dentais no interior do tecido ósseo e irrigação com solução fisiológica esterilizada durante este procedimento.

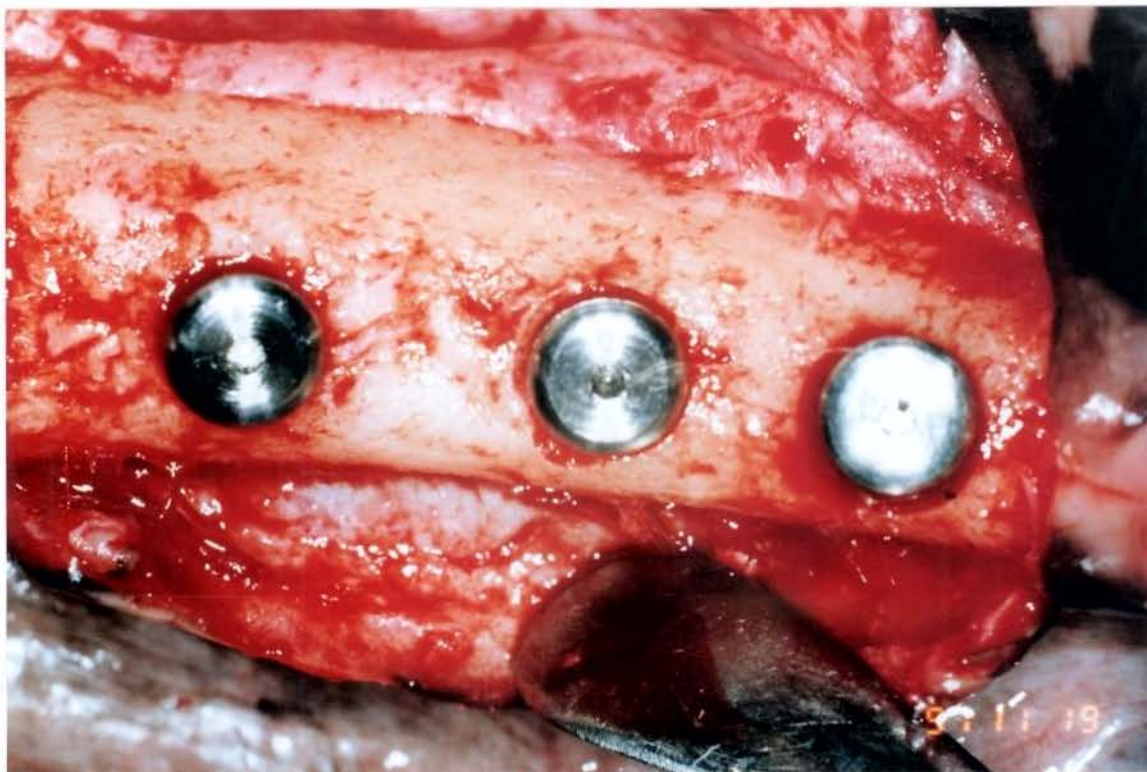


Figura 5 – Implantes dentais colocados e vedados com parafusos de cobertura.

Três meses mais tarde, foi realizada uma nova incisão sobre o rebordo para a elevação de um retalho total, os intermediários foram conectados aos implantes e os tecidos reposicionados e suturados.

V.4 - Controle do Biofilme Bacteriano nos Dentes e Implantes

Durante os 15 dias seguintes à colocação dos intermediários os cães foram submetidos a um rigoroso controle diário do biofilme bacteriano sobre os dentes e implantes (uma vez por dia), pelas aplicações tópicas da solução de gluconato de clorexidina a 0,12%^Ω e escovações dos mesmos.

^Ω Periogard ® - Colgate-Palmolive Ltda., Osasco/SP - Brasil.

V.5 - Confeção dos Guias de Sondagens

Na segunda semana de controle do biofilme bacteriano, os cães foram sedados por meio da administração via intramuscular da associação das soluções de quetamina (1,5mL/10kg) e acepran (0,5mL/10kg), e processadas as moldagens dos cicatrizadores e dos pré-molares superiores, utilizando moldeiras parciais perfuradas e hidrocolóide irreversível^o. Os modelos de trabalho foram confeccionados em gesso pedra[□] e submetidos à plastificação por meio de um plastificador à vácuo[&] e placas de PCV[&] circulares (2,0mm de espessura) que foram recortadas, perfuradas e utilizadas como guias de sondagens (WATTS⁶⁵ *et al.*, 1987).

V.6 - Obtenção do Nível de Inserção Relativa

Considerou-se como nível de inserção relativa a distância entre a parte externa do guia de sondagem e o fundo do sulco/bolsa periodontal e peri-implantar. As medidas foram obtidas com auxílio de um fio de aço (0,5mm de Ø) com extremidade arredondada, um *top* - endodôntico - (Figura 6) e um paquímetro digital, avaliando o nível de inserção relativa em 6 sítios preestabelecidos (sítios mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual, disto-vestibular) nos P₂ e P₃ superiores e nos dois implantes bilaterais (selecionados aleatoriamente), anterior e posterior à indução da periodontite e peri-implantite.

^o Jeltrate ® - Dentsply Ind. e Com. Ltda., Petrópolis/RJ - Brasil.

[□] Herodent ® - Vigodent, Rio de Janeiro/RJ - Brasil.

[&] Bio-art ® Equipamentos Odontológicos, São Paulo/SP – Brasil.

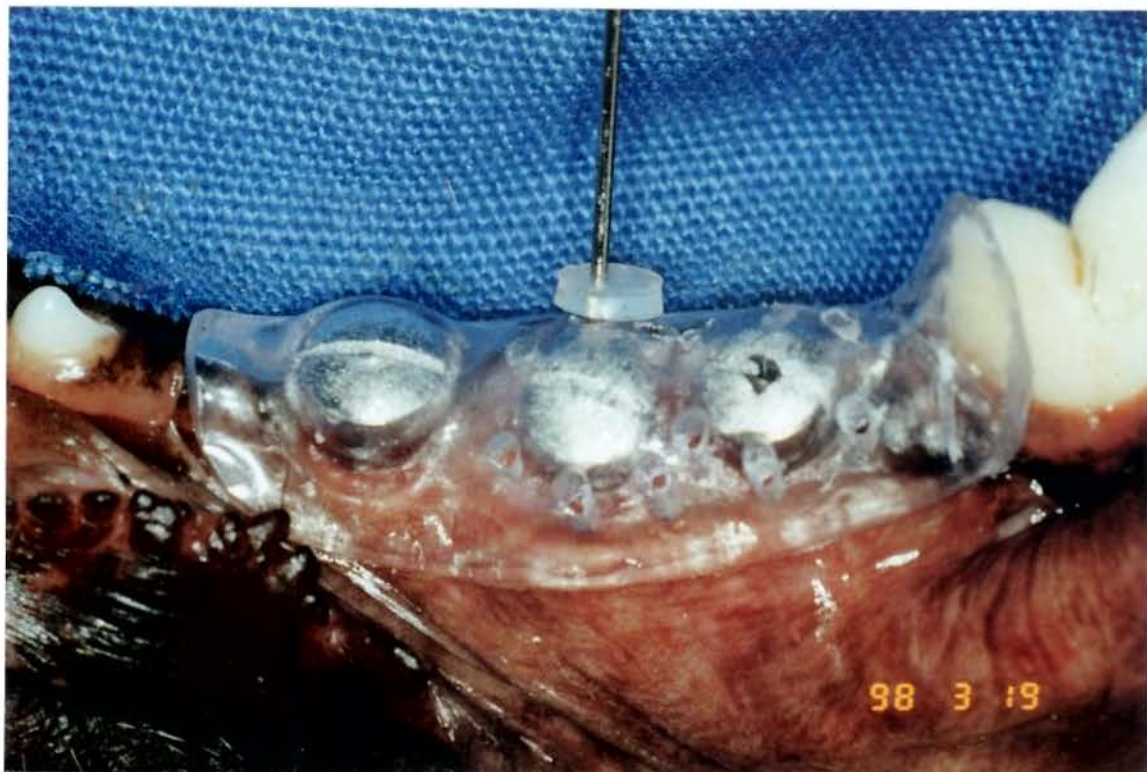


Figura 6 – Registro do nível de inserção relativa nos implantes dentais, medido pela distância entre a parte externa do guia de sondagem e o fundo do sulco peri-implantar, com auxílio de um fio de aço de 0,5mm de Ø, um *top* (endodôntico).

V.7 - Indução das Doenças Periodontal e Peri-implantar

Ao final do período de 15 dias do regime de controle do biofilme bacteriano, ligaduras de fio de algodão^λ foram colocadas ao redor da junção cimento–esmalte dos P₂ e P₃ superiores e ao redor dos intermediários dos implantes dentais (Figura 7) bilaterais, por um período de um mês, com o objetivo de induzir a periodontite (KENNEDY & POLSON³¹, 1973; ERICSSON²⁰ *et al.*, 1975; RENVERT⁵³ *et al.*, 1996) e a peri-implantite (MARINELLO⁴⁰ *et al.*, 1995; WARRER⁶⁵ *et al.*, 1995; PERSSON⁴⁹ *et al.*, 1996). Os animais foram submetidos a uma dieta pastosa favorecendo o acúmulo do biofilme bacteriano, e nenhum procedimento de higiene bucal foi realizado durante esta fase do experimento.

^λ Linha Corrente ® nº 10, 100% algodão, São Paulo/SP – Brasil.



Figura 7 – Ligaduras de fio de algodão ao redor dos implantes dentais após 1 mês em posição.

V.8 - Colheita do Material

Foram realizadas as colheitas das amostras microbiológicas nos sítios preestabelecidos após as duas semanas do controle do biofilme bacteriano, anterior a colocação das ligaduras (tempo 0), e imediatamente após a remoção das ligaduras (30 dias).

Anterior à colheita da microbiota subgingival, o biofilme bacteriano supra gengival foi removido cuidadosamente com uma cureta^º n° 7-8 de aço inox e uma de teflon, ao redor dos dentes e implantes, respectivamente (QUIRYNEM⁵¹ *et al.*, 1993). A colheita das amostras da microbiota subgingival de cada elemento (P₂ e P₃ superiores e dois implantes bilaterais aleatórios) foi obtida com auxílio de duas pontas de papel (endodôntico) # 60 ou 70 esterilizadas, mantidas subgingivalmente (Figura 8 e 9) em cada face (MV, V, DV, ML, L, DL) por 10s. (SAVITT⁵⁸ *et al.*, 1988; QUIRYNEM⁵¹ *et al.*, 1993), sendo imediatamente colocados em um

^º Hu-Friedy Co., Chicago - USA.

tubo tipo Eppendorf, com capacidade de 1,5mL, contendo 300 μ L de uma solução tampão (PBS) esterilizada (PAPAPANOU⁴⁸ *et al.*,1997). As amostras foram enviadas ao laboratório onde foram congeladas a -20°C para posterior análise microbiológica.

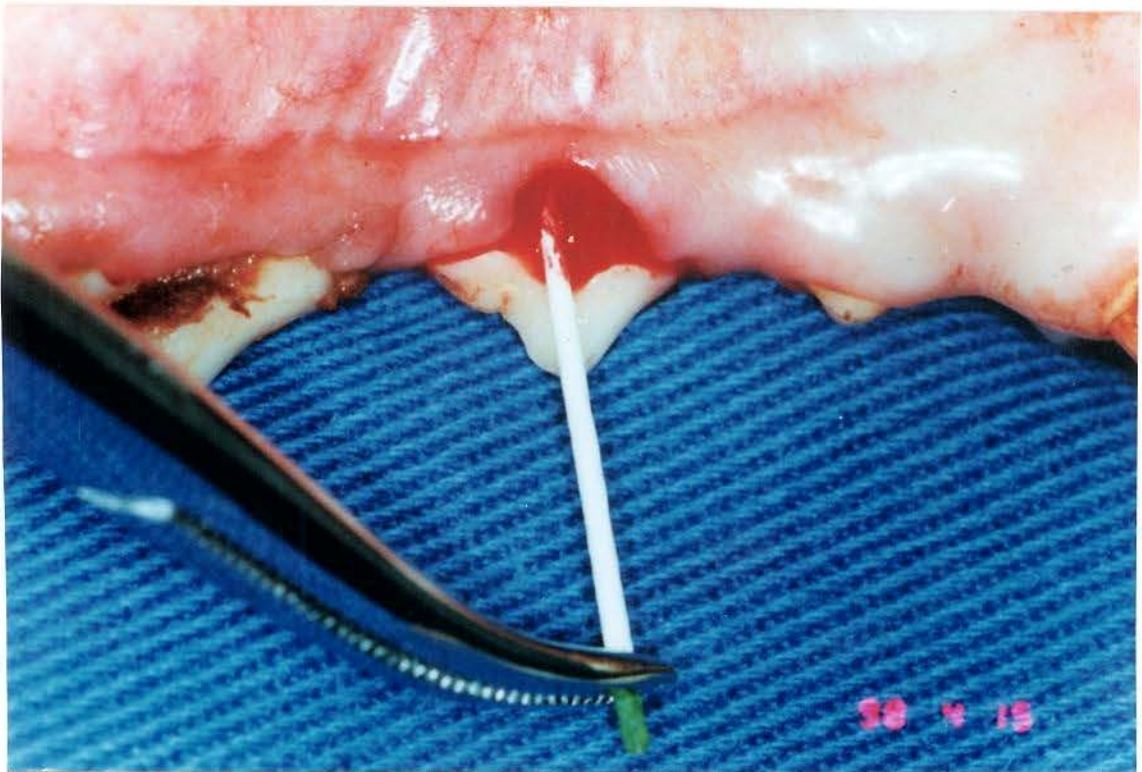


Figura 8 – Após 30 dias da indução, colheita da amostra da microbiota subgengival do P₂ com auxílio de uma ponta de papel # 70 esterilizada, mantida subgengivalmente em cada face por 10s.

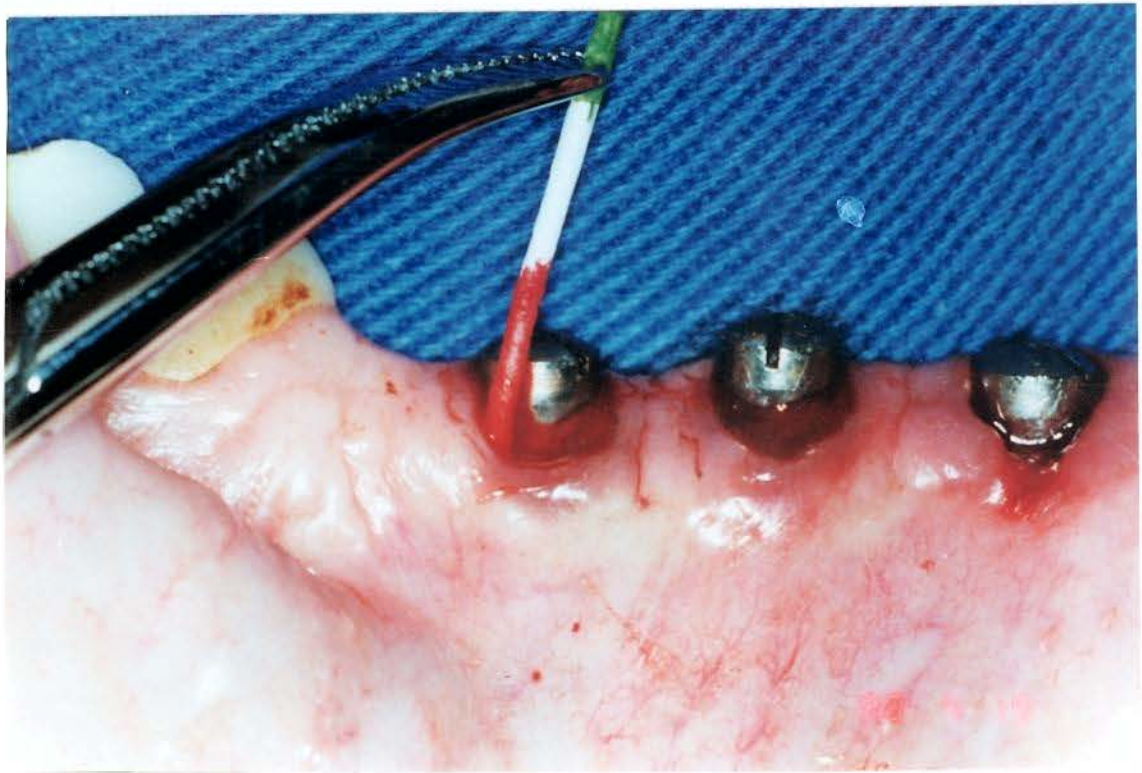


Figura 9 – Após 30 dias da indução, colheita da amostra da microbiota submarginal do implante com auxílio de uma ponta de papel # 70 esterilizada, mantida submarginalmente em cada face por 10s.

V.9 - Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi processada utilizando a técnica da reação de polimerase em cadeia - PCR - descrita por SAIKI⁵⁴⁻⁵⁵ *et al.* (1985, 1988).

Essa técnica baseia-se em reações enzimáticas cíclicas de desnaturação pelo calor, hibridização dos oligonucleotídeos e síntese enzimática de DNA, resultando na amplificação exponencial da sequência de DNA desejado, permitindo a identificação de sequências de genes específicos, tais como genes de espécies bacterianas (SLOTS⁶¹ *et al.*, 1995). Neste trabalho foi pesquisada a presença das seguintes bactérias: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigescens*

V.9.1 – Seleção e Síntese dos Oligonucleotídeos

Os pares de oligonucleotídeos (5'-3') – *primers* - específicos respectivamente para *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Prevotella intermedia* foram sintetizados pela Life Technologies do Brasil Ltda.- SP, segundo as seqüências propostas por SLOTS⁶¹ *et al.*(1995) e ASHIMOTO⁶ *et al.* (1996) e descritas a seguir:

Porphyromonas gingivalis (404 pb)

5' AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG 3'

5' ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT 3'

Bacteroides forsythus (641 pb)

5' GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA 3'

5' TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T 3'

Actinobacillus actinomycetemcomitans (557 pb)

5' AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC 3'

5' ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT 3'

Prevotella intermedia (575 pb)

5' TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG 3'

5' TAC ACA TCT CTG TAT CCT GCG T 3'

Outro oligonucleotídeo específico para *Porphyromonas gingivalis* foi sintetizado segundo a seqüência descrita por BENKIRANE⁹ *et al.* (1995) e o específico para *Prevotella nigrescens* segundo a seqüência descrita por GUILLOT & MOUTON²⁷ (1997):

Porphyromonas gingivalis (593 pb)

5' AAT CGT AAC GGG CGA CAC AC 3'

5' GGG TTG CTC CTT CAT CAC AC 3'

Prevotella nigrescens (1100 pb)

5' TTA TGT TAC CCG TTA TGA TGG AAG 3'

5' ATG GCG AAA TAG GAA TGA AAG TTA 3'

Os oligonucleotídeos foram dissolvidos em uma solução de T.E. (10 mM Tris HCl – pH 7,6 ; 1 mM EDTA – pH 8,0) num volume calculado para atingir a concentração de 25µM.

Experimentos pilotos foram realizados com o objetivo de testar a especificidade dos oligonucleotídeos utilizados neste trabalho, processando reações de PCR com amostras das bactérias *Bacteroides forsythus* (ATCC 43037), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *Prevotella intermedia* (ATCC 25611) e *Prevotella nigrescens* (NCTC 9336) com seus respectivos pares de oligonucleotídeos. Os resultados demonstraram reações positivas para essas bactérias atestando a eficácia de cada um dos pares de oligonucleotídeos (Figura 10).

Reações de PCR com oligonucleotídeos específicos para cada uma das cinco bactérias pesquisadas neste estudo foram processadas utilizando-se amostras de cada uma das bactérias pesquisadas como controle positivo e amostras das bactérias: - *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260), *Porphyromonas endodontalis* (ATCC 35406), *Porphyromonas circudentaria* (ATCC 3325), *Porphyromonas salivosa* (NCTC 11632), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 10953), *Prevotella oulora* (ATCC 43324), *Prevotella nigrescens* (NCTC 9336), *Escherichia coli* (ATCC 12795), *Bacteroides merdae* (M-36), *Bacteroides levii* (ATCC 29147), *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285), *Bacteroides thetaiotaomicron* (ATCC 29741), *Bacteroides macacae* (ATCC 33141), *Pseudomonas aeruginosas* (ATCC 10145) e água como controle negativo avaliando a possibilidade de reações cruzadas

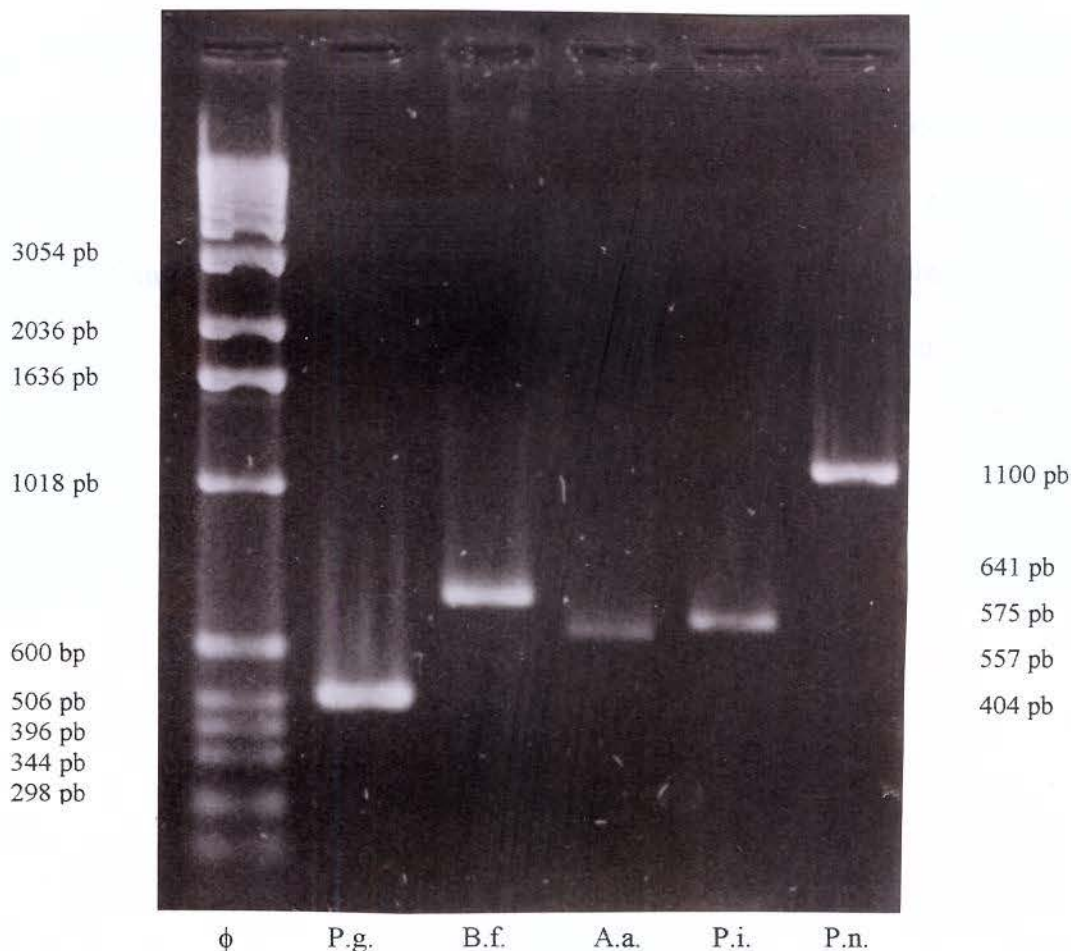


Figura 10 - Reações positivas das amostras de cada uma das cinco bactérias pesquisadas neste estudo demonstrando a eficácia de cada par de oligonucleotídeo. Onde ϕ : padrão de peso molecular - 1 kb (Gibco), P.g.: *P. gingivalis*, B.f.: *B. forsythus*, A.a.: *A. actinomycetemcomitans*, P.i.: *P. intermedia* e P.n.: *P. nigrescens*.

Os resultados das reações com o oligonucleotídeo para *Porphyromonas gingivalis*, proposto por SLOTS⁶¹ *et al.* (1995), demonstraram reação positiva para *Porphyromonas gingivalis* e reações cruzadas com amostras de *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas circudentaria*, *Porphyromonas salivosa*, *Prevotella oulora*, *Bacteroides merdae*, *Bacteroides levii*, *Bacteroides vulgatus* e *Bacteroides fragilis* (Figura 11).

Processaram-se, sob as mesmas condições descritas anteriormente, reações de PCR com oligonucleotídeo específico para *Porphyromonas gingivalis* proposto por BENKIRANE⁹ *et al.* (1995). Os resultados evidenciaram reação positiva apenas para *Porphyromonas gingivalis*, demonstrando não haver reações cruzadas quando da utilização desse oligonucleotídeo em reações com as mesmas amostras citadas anteriormente (Figura 11).



Figura 11 - Reações de PCR com oligonucleotídeo para *Porphyromonas gingivalis*, proposto por BENKIRANE⁹ *et al.* (1995), demonstrando reações positivas para solução com DNA de *P. gingivalis* diluído a 1/1000 (2) e para amostra de *P. gingivalis* (3); e reações negativas para amostras de *P. endodontalis* (4), *P. circundentaria* (5), *P. asaccharolytica* (6), *P. salivosa* (7), *P. intermedia* (8), solução *mix* - contendo amostras dessas cinco *Porphyromonas* antes citadas (1) e controle-negativo/água (9). Reações com oligonucleotídeo para *P. gingivalis*, proposto por SLOTS⁶¹ *et al.* (1995), demonstrando reações positivas para a solução *mix* previamente descrita (10), para a solução com DNA de *P. gingivalis* diluído a 1/1000 (11) e para amostras de *P. gingivalis* (12), *P. endodontalis* (13), *P. circundentaria* (14), *P. asaccharolytica* (15); e reações negativas para *P. intermedia* (16) e controle-negativo/água (17). Onde ϕ : padrão de peso molecular – 100 pb (Gibco).

Experimentos com oligonucleotídeo para *Bacteroides forsythus* apresentaram reação positiva para essa bactéria e reação cruzada para *Bacteroides vulgatus* (Figura 12).

Nas reações com os demais oligonucleotídeos- *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* - os resultados demonstraram a especificidade de cada oligonucleotídeo por meio da evidênciação dos controles positivos e da não constatação de reações cruzadas com as bactérias-controle citadas anteriormente.

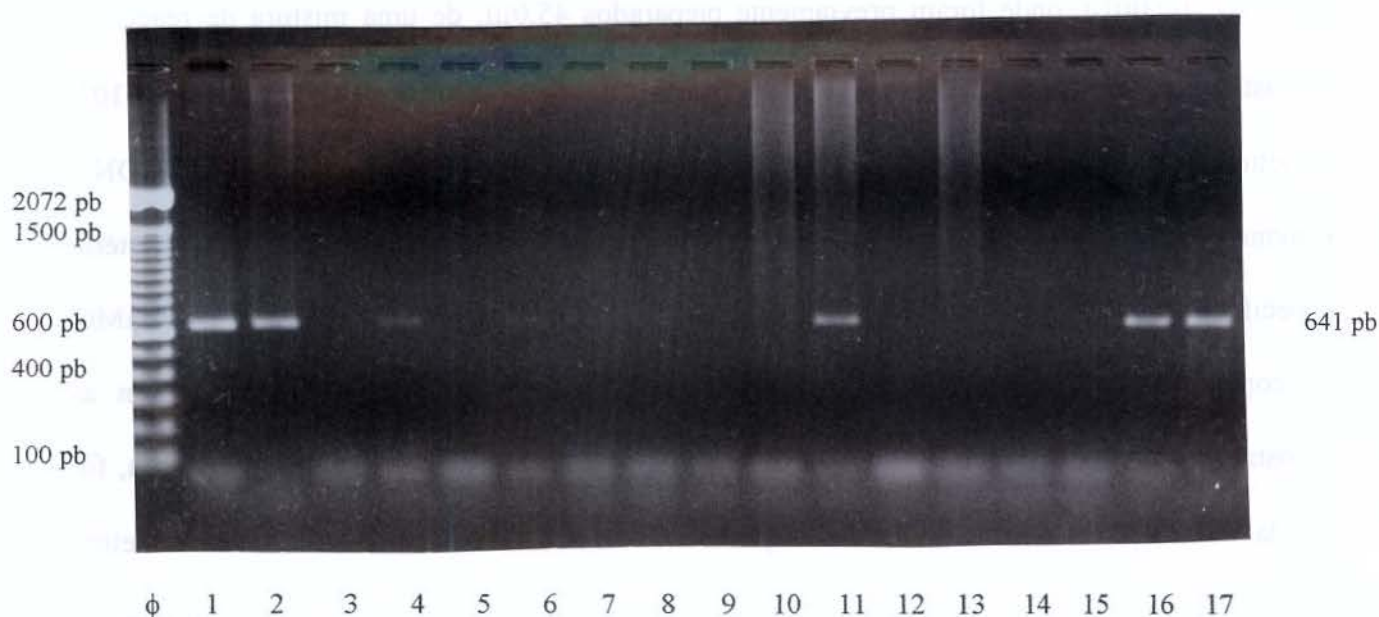


Figura 12 - Reações de PCR com oligonucleotídeo para *Bacteroides forsythus* proposto por SLOTS⁶¹ *et al.* (1995) demonstrando reações positivas para amostra dessa bactéria (1), solução *mix* contendo amostras de todas as bactérias-controle citadas anteriormente – incluindo *B. forsythus* (2), solução com DNA de *Bacteroides forsythus* diluído a 1/1000 (4), amostra de *Bacteroides vulgatus* (11), amostras das placas subgengivais de um dente (16) e um implante dental (17) posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar; e reações negativas para amostras de *P. gingivalis* (3), *P. intermedia* (5), *P. nigrescens* (6), *B. merdae* (7), *B. levii* (8), *B. fragilis* (9), *B. thetaiotaomicron* (10), *B. macacae* (12), controle-negativo/água (13), amostras das placas subgengivais de um dente (14) e um implante dental (15) anterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar. Onde φ: padrão de peso molecular – 100 pb (Gibco).

V.9.2 – A Reação de PCR

Os tubos de Eppendorf com as amostras, contendo 300µl de PBS com as duas pontas de papel, foram descongeladas à temperatura ambiente, submetidos ao vortex por um minuto, e na sequência, as pontas foram removidas com auxílio de uma pinça clínica esterilizada, comprimindo-os entre a tampa e o tubo. Submeteu-se então a um banho de fervura por 10 min para a extração do DNA bacteriano, finalizando a preparação da amostra.

Para a reação de PCR foram utilizados tubos de Eppendorf específicos (MicroAmp™ Reaction 100,0µL), onde foram previamente preparados 45,0µL de uma mistura de reagentes (“Master Mix”) contendo 31,2µL de água deionizada bi-destilada, 5,0µL de solução tampão (10X Reaction Buffer Taq/rTaq DNA Polymerase – Pharmacia Biotech), 0,4µL de DNTp (DNA Polymerization Mix– Pharmacia Biotech), 4,0µL do 1º oligonucleotídeo de uma bactéria específica (25µMol de concentração), 4,0µL do 2º oligonucleotídeo da mesma bactéria (25µMol de concentração), 0,4µL de Taq DNA Polymerase (Pharmacia Biotech). Os tubos com as amostras foram submetidos ao vortex por 5s para a homogeneização do meio e, em seguida, foi obtida uma alíquota de 5,0 µL da amostra que foi adicionada à mistura de reagentes e submetida ao aparelho termociclador^Δ convencional segundo a seguinte programação: - a reação foi iniciada com a desnaturação a 95°C por 2 minutos, seguida de 36 ciclos – fase de desnaturação a 95°C por 30s, fase de *annealing* dos oligonucleotídeos a 65°C por 1 min, e fase de extensão a 72°C por 1 min – finalizando a reação a 72°C por 2 minutos.

^Δ GeneAmp® PCR System 2400, Perkin Elmer, New Jersey – USA.

V.9.3 – Eletroforese

A presença do DNA amplificado foi checada em gel de agarose a 1% em eletroforese. Os géis de agarose a 1% foram preparados com agarose ultra pura (Gibco BRL – Life Technology) em solução tamponante TBE 1X (tampão Tris-borato-EDTA – pH 8,5).

Para a corrida eletroforética, 5µl da solução após a reação de PCR foram acrescidos de 5µL de uma solução corante de azul de bromofenol e 5µL de água. Após a homogeneização desses 15µL da solução, foram aplicados 5µL nas canaletas do gel acondicionado numa pequena cuba para corrida eletroforética horizontal^{II} conectada a uma fonte de eletroforese^{III}, e submerso em solução tamponante TBE 1X (tampão Tris-borato-EDTA). As corridas eletroforéticas foram submetidas a uma corrente contínua de 50 volts por 4 horas. Após o término de cada corrida, o gel foi corado com brometo de etídio (1µg/mL) durante 15 minutos, ao abrigo da luz, e submerso em água por 15 minutos, e então as bandas no gel foram observadas imediatamente com auxílio de um transiluminador^{IV} de luz ultravioleta e fotografadas a seguir.

VI.9.4 – Documentação

A documentação fotográfica foi obtida com filme polaróide 667 por uma máquina Polaroid Gel Cam, diretamente sobre o transiluminador de luz ultravioleta.

VI.10 - Análise Estatística

Para análise estatística das medidas (iniciais e finais) dos períodos de indução das doenças nos implantes e nos dentes foi utilizado o teste t de Student pareado. Esse mesmo teste também foi empregado para análise estatística da diferença entre as medidas da perda de inserção nos implantes e nos dentes.

^{II} GNA 100 - Pharmacia Biotechnology .

^{III} Bio RAD Power Pac 300.

^{IV} LKB – Pharmacia Biotechnology – Sweden.

VI – RESULTADOS

VI – RESULTADOS

VI.1 – Resultados Clínicos

Os resultados da avaliação dos níveis de inserção relativa nos dentes e implantes dentais estão apresentados na Tabela 1 e 2, e na figura 13.

Tabela 1 – Média das medidas dos níveis de inserção relativa em milímetros, nos sítios preestabelecidos (V, MV, DV, L, ML, DL), anterior e posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais em cães.

	Implantes Dentais				Dentes			
Cão 1	nº 1	nº 2	nº 3	nº 4	nº 1	nº 2	nº 3	nº 4
Antes	3,60	4,02	4,39	4,37	3,56	3,56	2,95	3,01
Após	8,25	7,51	7,76	8,86	5,89	7,01	7,35	7,11
Cão 2								
Antes	6,12	6,55	4,75	4,13	4,31	5,48	2,94	3,61
Após	8,83	8,13	10,09	9,37	6,36	6,54	7,81	8,90
Cão 3								
Antes	5,36	5,31	4,40	5,57	2,87	3,22	3,10	3,69
Após	9,21	10,12	8,61	10,30	8,57	7,99	7,52	7,84
Cão 4								
Antes	4,60	4,68	5,22	5,33	3,04	3,42	3,87	3,80
Após	8,18	7,79	8,97	8,27	6,56	6,43	6,78	7,48
Cão 5								
Antes	4,67	4,58	4,93	4,46	3,71	3,73	4,18	3,81
Após	6,96	7,16	8,63	7,93	5,92	6,35	7,81	6,90

As avaliações clínicas dos níveis de inserção relativa nos implantes dentais apresentaram médias de 4,85mm e 8,55mm, antes e após a indução da peri-implantite, respectivamente (estes valores incluem a medida do guia de sondagem). A análise estatística revela uma diferença significativa entre as médias ($P=1,55 \times 10^{-16}$).

As avaliações clínicas dos níveis de inserção relativa nos dentes apresentaram médias de 3,59mm e 7,16mm, antes e após a indução da periodontite, respectivamente (incluindo as medidas do guia de sondagem). A análise estatística revela diferença significativa entre as médias ($P=6,33 \times 10^{-18}$).

Ao comparar as medidas das perdas dos níveis de inserção relativa entre os implantes dentais e os dentes, a análise estatística não revela diferença significativa entre as médias ($P=0,706119$).

Tabela 2 - Níveis de inserção relativa em milímetros, antes e após a indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais em cães.

	antes	após
Implantes Dentais	4,85 Aa	8,55 Ba
Dentes	3,59 Aa	7,16 Ba

Obs.: As médias seguidas de letras iguais maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem entre si pelo teste t de Student Pareado.

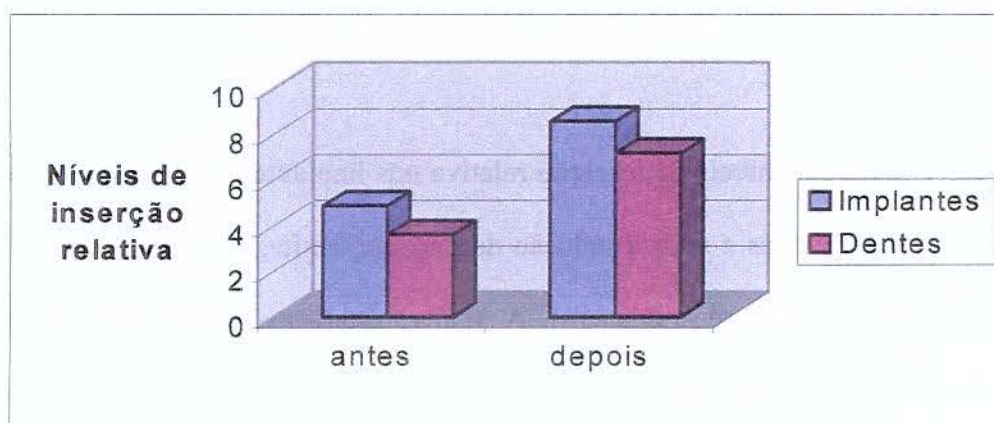


Figura 13 - Níveis de inserção relativa em milímetros, antes e após a indução das doenças periodontal e peri-implantar.

VI.2 – Resultados Microbiológicos

Segundo os resultados da análise microbiológica, as cinco bactérias pesquisadas no presente experimento não foram identificadas nos sítios dos dentes e implantes dentais, anterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar.

Após a indução das doenças periodontal e peri-implantar foi constatada a presença de *Porphyromonas gingivalis* (Tabela 3 e Figura 14) em 95% dos implantes dentais e em 85% dos dentes, e de *Bacteroides forsythus* (Tabela 4 e Figura 15) em 80% dos implantes e em 85% dos dentes. Os microrganismos *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* não foram detectados no presente experimento.

Tabela 3 - Identificação do microrganismo *Porphyromonas gingivalis* em sítios de dentes e implantes anterior e posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar.

	Implantes Dentais				Dentes			
	nº 1	nº 2	nº 3	nº 4	nº 1	nº 2	nº 3	nº 4
Cão 1								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	+	+	+	-	-	+
Cão 2								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	-	+	+	+	+	+	+
Cão 3								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	+	+	+	+	+	+
Cão 4								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	+	+	+	+	+	+
Cão 5								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	+	+	-	+	+	+

Onde +, presença do microrganismo; -, ausência do microrganismo.

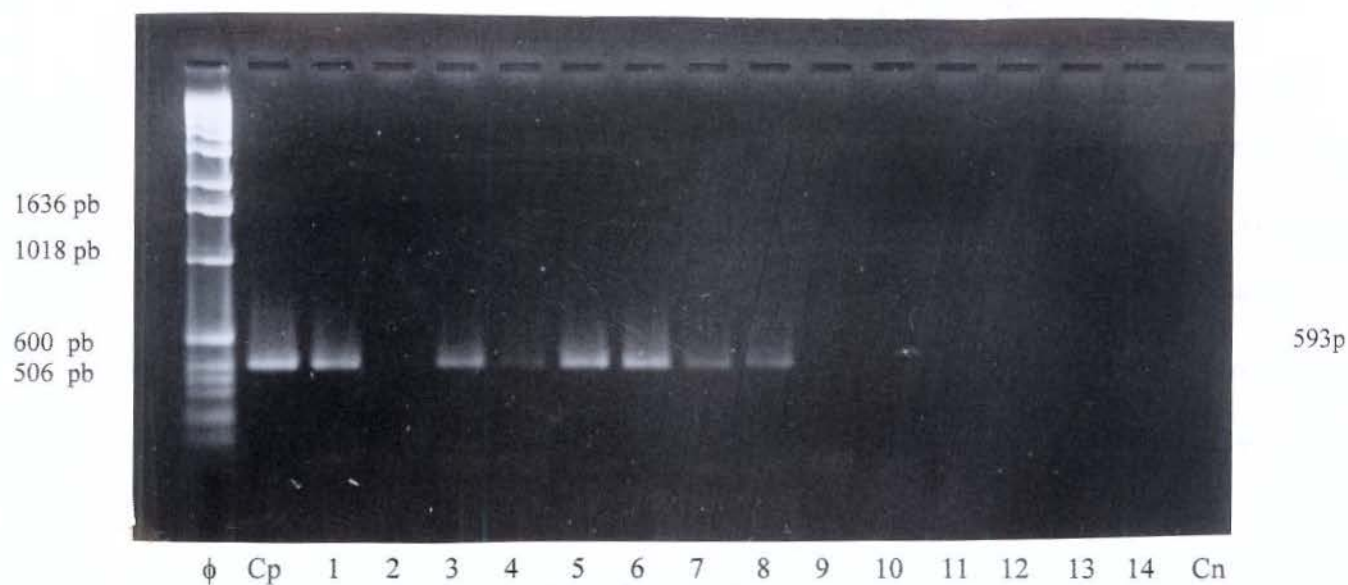


Figura 14 – Resultados da análise microbiológica das amostras coletadas anteriormente dos dentes (9 a 11) e dos implantes dentais (12 a 14), e posteriormente à indução das doenças – dos dentes (1 a 4) e dos implantes (5 a 8) – submetidas à reação de PCR com oligonucleotídeo para *Porphyromonas gingivalis*. Onde ϕ : padrão de peso molecular – 1kb (Gibco), Cp: controle positivo/amostra de *Porphyromonas gingivalis*, Cn: controle negativo/água.

Tabela 4 - Identificação do microrganismo *Bacteroides forsythus* em sítios de dentes e implantes anterior e posterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar.

	Implantes Dentais				Dentes			
	nº 1	nº 2	nº 3	nº 4	nº 1	nº 2	nº 3	nº 4
Cão 1								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	-	+	+	-	-	+
Cão 2								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	-	+	+	+	+	+	+
Cão 3								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	+	+	+	+	+	+
Cão 4								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	+	+	+	+	+	+	+	+
Cão 5								
Antes	-	-	-	-	-	-	-	-
Após	-	+	+	-	-	+	+	+

Onde +, presença do microrganismo; -, ausência do microrganismo.

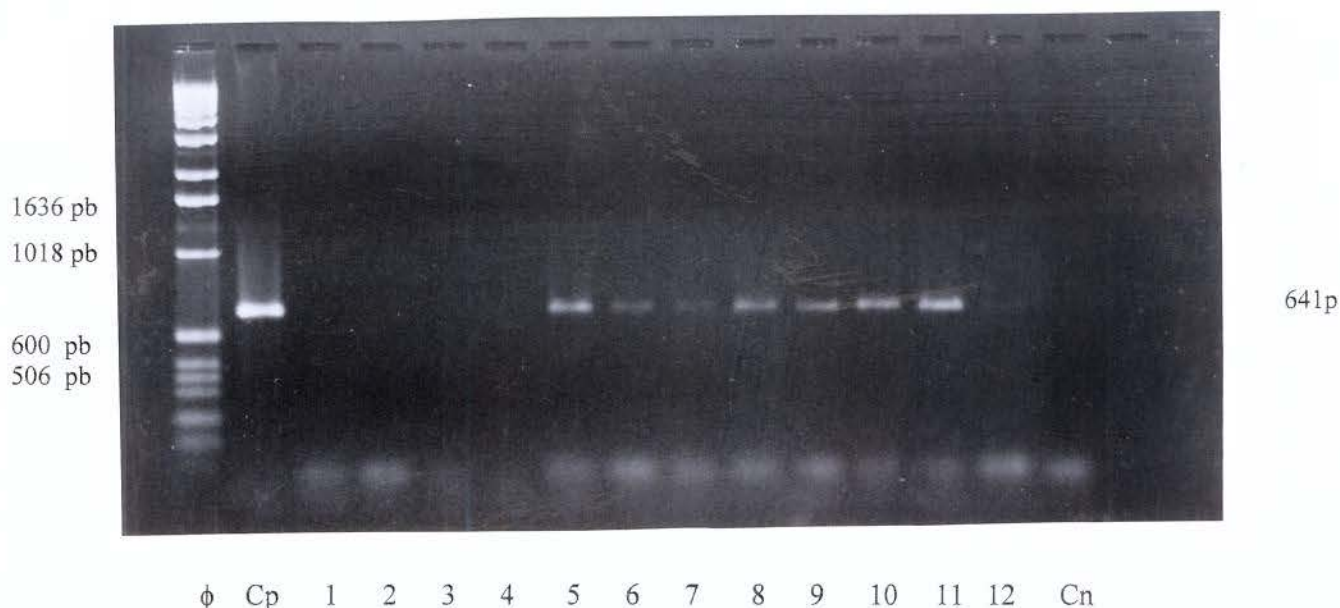


Figura 15 – Resultados da análise microbiológica das amostras coletadas anteriormente dos dentes (1 e 2) e dos implantes dentais (3 e 4), e posteriormente à indução das doenças – dos dentes (5 a 8) e dos implantes (9 e 12) – submetidas à reação de PCR com oligonucleotídeo para *Bacteroides forsythus*. Onde φ: padrão de peso molecular – 1 kb (Gibco), Cp: controle positivo/amostra de *B. forsythus* Cn : controle negativo/água.

Nas Figuras 16 e 17 estão apresentadas as freqüências em percentagem dos microrganismos pesquisados nos dentes e nos implantes dentais após a indução das doenças periodontal e peri-implantar.

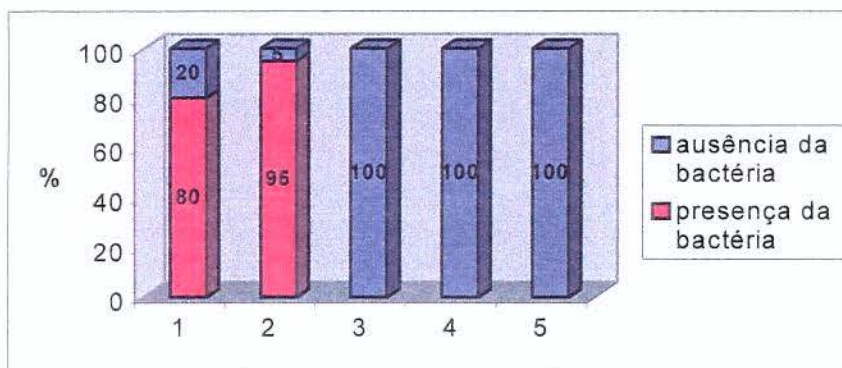


Figura 16 - Freqüência dos microrganismos pesquisados em percentagem nos implantes dentais após a indução da doença. Obs.: (1)*Bacteroides forsythus*, (2)*Porphyromonas gingivalis*, (3)*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, (4)*Prevotella intermedia* (5)*Prevotella nigrescens*.

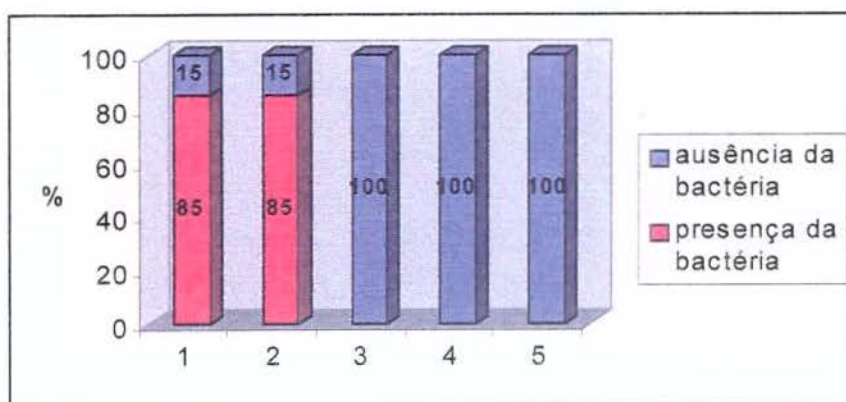


Figura 17 - Frequência dos microrganismos pesquisados em percentagem nos dentes após a indução da doença.

Obs.: (1)*Bacteroides forsythus*, (2)*Porphyromonas gingivalis*, (3)*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, (4)*Prevotella intermedia* (5)*Prevotella nigrescens*.

VII – DISCUSSÃO

VII – DISCUSSÃO

VII.1 - Análise dos Resultados Clínicos

Modelos experimentais de indução das doenças periodontal e peri-implantar foram propostos para o estudo das doenças periodontal e peri-implantar em cães (KENNEDY & POLSON³¹, 1973; ERICSSON²⁰ *et al.*, 1975; MARINELLO⁴⁰ *et al.*, 1995).

A análise dos resultados do presente experimento confirmam o modelo de indução das doenças periodontal e peri-implantar por meio da colocação de ligaduras de fio de algodão ao redor de dentes e implantes dentais em cães. Após um período de 30 dias, induziram-se a periodontite ($P=6,33 \times 10^{-18}$), com média anterior a indução de 3,59mm e posterior a indução de 7,16mm, e a peri-implantite ($P=1,55 \times 10^{-16}$), com média anterior a indução de 4,85mm e posterior a indução de 8,55mm, nas condições previamente descritas. O período de 4 semanas demonstrou ser eficaz para a indução das doenças periodontal e peri-implantar, como descrito por MARINELLO⁴⁰ *et al.* (1995) e PERSSON⁴⁹ *et al.* (1996) - tempo esse inferior ao sugerido por outros autores, como KENNEDY & POLSON³¹ (1973); ERICSSON²⁰ *et al.* (1975); TILLMANN⁶³ *et al.* (1997).

Ao avaliar a diferença entre as médias das medidas dos níveis de inserção relativa, anterior e posterior à indução da periodontite e da peri-implantite, foi observado no presente experimento uma média de perda da inserção relativa de 3,57mm ($7,16 - 3,59$ mm) nos dentes e de 3,70mm ($8,55 - 4,85$ mm) nos implantes dentais, medidas estas significativas para um período de 30 dias de indução. Tais perdas significativas, observadas nas condições do presente experimento, evidenciam a necessidade de uma classificação das doenças periodontal e peri-implantar induzidas em animais. O conhecimento dos tipos de doenças induzidas diminuiria o número de variáveis nos estudos que utilizam os modelos experimentais de indução da periodontite e da peri-implantite.

Estudos sobre a sondagem dos implantes dentais indicam que a densidade dos tecidos peri-implantares adjacentes influenciam a penetração da sonda periodontal. Em tecidos peri-implantares inflamados, a sonda periodontal atinge o nível ósseo, enquanto que numa condição de saúde a sonda tende a penetrar até o tecido conjuntivo (LANG³⁵ *et al.*, 1994).

ERICSSON & LINDHE²² (1993) compararam em cães a resistência à sondagem mecânica entre a gengiva ao redor de dentes e a mucosa peri-implantar ao redor de implantes dentais osseointegrados, submetidos ao controle da placa bacteriana durante 360 dias. Os resultados demonstraram diferenças quanto à composição e à organização dos tecidos e diferenças no processo de adesão da gengiva e à superfície radicular e da mucosa peri-implantar ao implante dental. Essas diferenças influenciaram em uma maior resistência à sondagem oferecida pela gengiva em relação à resistência da mucosa peri-implantar e, conseqüentemente, em uma maior profundidade de sondagem ao redor dos implantes dentais (média de 2,00mm) em relação aos dentes (média de 0,7mm).

A diferença na profundidade de sondagem entre dentes e implantes dentais foi descrita por BRÄGGER¹¹ *et al.* (1997), que relacionaram os parâmetros clínicos ao redor de dentes e implantes dentais após um ano da colocação dos implantes, tendo os resultados demonstrado uma diferença significativa entre os implantes e os dentes em relação à média de profundidade de sondagem (2,55mm nos implantes e 2,02mm nos dentes).

Segundo os resultados da avaliação clínica do presente experimento, não houve diferença estatística significativa ($P=0,70$) entre a progressão da perda do nível de inserção relativa nos dentes e nos implantes dentais, após 30 dias de indução das doenças periodontal e peri-implantar em cães, confirmando os resultados relatados por BIANCU¹⁰ *et al.* (1995) e SAITO⁵⁶ *et al.* (1997).

A similaridade na progressão das perdas do nível de inserção foi contestada no trabalho de KLINGE³² (1991), em que estudaram em 2 cães a perda do nível de inserção ao redor de dentes e implantes dentais. Por um período de 5 meses os implantes dentais e os pré-molares contralaterais foram submetidos à indução da doença periodontal e peri-implantar. Radiografias periapicais foram tomadas e os resultados da análise radiográfica demonstraram uma média de perda de 5,00mm dos tecidos de sustentação ao redor dos dentes, e de 1,00mm ao redor dos implantes. A diferença nos resultados obtidos por KLINGE³² (1991) pode ser consequência da utilização da análise radiográfica para mensuração da perda do nível de inserção em cães.

VII.2 - Análise dos Resultados Microbiológicos

Ao padronizar a técnica de PCR para as condições do laboratório onde foram realizadas as análises, o par de oligonucleotídeo para *Porphyromonas gingivalis*, proposto por SLOTS⁶¹ et al. (1995), demonstrou reação positiva para *Porphyromonas gingivalis* e reações cruzadas com amostras de *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas circundentaria*, *Porphyromonas salivosa*, *Prevotella oulora*, *Bacteroides merdae*, *Bacteroides levii*, *Bacteroides vulgatus* e *Bacteroides fragilis*. No trabalho original, que propôs tal oligonucleotídeo, as bactérias acima relacionadas não foram citadas nos testes-controle para reações cruzadas.

As reações com oligonucleotídeo para *Bacteroides forsythus* apresentaram reação positiva para essa bactéria e uma leve reação cruzada com *Bacteroides vulgatus*, o que não deve influenciar os resultados visto que não é comum a presença desse microrganismo na cavidade bucal.

O gluconato de clorexidina vem sendo utilizado com sucesso nos experimentos em cães para o controle do biofilme bacteriano nos dentes e implantes dentais, como pode ser constatado nos trabalhos de BRINER & WUNDER¹⁴ (1977); BRINER¹⁵ *et al.* (1980); RENVERT⁵³ *et al.* (1996) e SAITO⁵⁶ *et al.* (1997).

A saúde periodontal e peri-implantar apresenta como característica microbiológica uma microbiota composta por cocos Gram-positivos (MOMBELLI⁴² *et al.*, 1987; GENCO²⁵ *et al.*, 1988; BAUMAN⁷ *et al.*, 1992). As cinco bactérias pesquisadas no presente experimento, Gram-negativas e anaeróbias, não foram identificadas nos sítios dos dentes e implantes dentais anterior à indução das doenças periodontal e peri-implantar, sendo que tais sítios demonstraram ausência de sinais visuais de inflamação gengival. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos que estabelecem uma relação de similaridade entre a microbiota presente nos sulcos periodontais e peri-implantares, caracterizada pela baixa frequência ou ausência de bactérias Gram-negativas e anaeróbias. Tais constatações podem ser observadas nos estudos de MOMBELLI⁴² *et al.* (1987), em que estudaram a colonização dos implantes dentais e o desenvolvimento da microbiota submarginal, demonstrando uma frequência de 86,3% de cocos e 3,4% de bactérias Gram-negativas anaeróbias.

A microbiota associada às doenças periodontal e peri-implantar seria composta por bactérias específicas. Segundo GENCO²⁵ *et al.* (1988), o conceito de bactéria específica como fator etiológico primário das diferentes formas de doença periodontal tem recebido um convincente suporte científico. Os microrganismos: - *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium timidum*, *Bacteroides capillus*, *Haemophilus* sp, *Wolinella* sp, *Selenomonas sputigena*, *Eikenella corrodens* e espiroquetas estariam associados à periodontite. Para DARVEAU¹⁸ *et al.* (1997), a presença de patógenos de maior virulência: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

proporcionaram diferenças significativas no desenvolvimento da doença periodontal, com uma evolução mais rápida do processo infeccioso.

A microbiota subgengival associada ao insucesso dos implantes dentais foi analisada por SBORDONE⁵⁹ *et al.* (1995), que observaram uma alta frequência de bacilos Gram-negativos anaeróbios (50,0% da microbiota), com prevalência dos microrganismos *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia* e a não colonização por *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

No presente trabalho, as bactérias *Porphyromonas gingivalis* e *Bacteroides forsythus* foram identificadas nos sítios após o processo de indução das doenças periodontal e peri-implantar, estando envolvidas no processo de evolução da periodontite e peri-implantite em cães. *Porphyromonas gingivalis* estavam presentes em 95% dos implantes dentais e em 85% dos dentes submetidos à indução das doenças periodontal e peri-implantar. A presença da bactéria *Porphyromonas gingivalis* em elevada frequência nos dentes e implantes dentais foi relatada por MOMBELLI⁴³ *et al.* (1995), que estudaram a relação entre a microbiota subgengival nos dentes de pacientes parcialmente edentados, com história de terapia periodontal, e a microbiota encontrada em implantes dentais desses pacientes. Ao analisar os resultados, os autores relataram a presença de microrganismos específicos no sulco peri-implantar, com a frequência desses microrganismos aumentando quanto maior a profundidade da bolsa peri-implantar. Os microrganismos *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium* sp. estavam presentes em elevada proporção nas amostras iniciais dos dentes, e também nos implantes após 3 meses de sua exposição.

No presente trabalho, a presença de *Porphyromonas gingivalis* pode ser observada da mesma forma que em outros estudos de indução da periodontite e peri-implantite em cães. LEONHARDT³⁶ *et al.* (1992) analisaram em 4 cães a presença de patógenos periodontais ao

redor dos dentes e implantes dentais previamente colocados e que foram submetidos à indução da gengivite e periodontite/peri-implantite por um período de 42 dias. Segundo os resultados, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre a microbiota dos dentes e implantes em condição de saúde, gengivite ou periodontite/peri-implantite. *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* foram isoladas em um número muito baixo no início do experimento, aumentando com a gengivite nos implantes para 37,4%, e 21,0% nos dentes, e estabilizando-se em 25,0% na periodontite e peri-implantite. Os autores concluíram que a colonização inicial e a estabilização da microbiota dos implantes com saúde gengival, gengivite e peri-implantite experimental seguem o mesmo padrão quando comparados com as dos dentes.

RENVERT⁵³ *et al.* (1996) analisaram e compararam em 6 cães os níveis de microrganismos patogênicos em sítios de dentes saudáveis e sítios com gengivite e doença periodontal induzidas em um período de 57 dias. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram números maiores de UFC nos sítios com doença periodontal em relação aos sítios com saúde e associados à gengivite; e que a proporção de microrganismos aumentaram com o aumento da profundidade de sondagem. Os níveis de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* aumentaram significativamente com a mudança do estado de saúde para a doença periodontal. Segundo os autores, a presença dessas bactérias estariam associadas a um aumento da profundidade de sondagem.

O microrganismo *Bacteroides forsythus* é uma bactéria Gram-negativa anaeróbia, associada ao desenvolvimento da doença periodontal (GENCO²⁵ *et al.*, 1988). A presença dessa bactéria quando associada à *Porphyromonas gingivalis* parece desempenhar importante papel na evolução mais rápida do processo infeccioso dos tecidos periodontais (DARVEAU¹⁸ *et al.*, 1997).

Essa associação foi descrita por LOTUFO³⁸ *et al.* (1994), que avaliaram a colonização da bactéria *Bacteroides forsythus* por meio de biologia molecular de DNA. Os resultados demonstraram a prevalência de *Bacteroides forsythus* em 73,1% dos pacientes, e sugeriram uma relação da presença dessa bactéria com a bactéria *Porphyromonas gingivalis*. Nos resultados, 54,8% dos pacientes estavam colonizados concomitantemente por ambas as bactérias e, quando *Bacteroides forsythus* estava ausente, *Porphyromonas gingivalis* foi isolada em apenas 3,3% dos pacientes. Quando *Porphyromonas gingivalis* estava ausente, a bactéria *Bacteroides forsythus* foi isolada em 19,6% dos pacientes.

SOCRANSKY⁶² *et al.* (1998) analisando por meio de biologia molecular de DNA a microbiota subgingival de 185 pacientes, observaram as interações microbianas e dividiram a microbiota em 5 complexos. A avaliação dos resultados revelou que a presença na microbiota subgingival de uma bactéria específica, de um determinado complexo, está na dependência da presença de pelo menos de mais outra bactéria do mesmo complexo. Segundo os autores, os microrganismos do complexo vermelho - *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* e *Treponema denticola* – estão associados as bolsas periodontais profundas e que, a presença de duas ou três dessas bactérias na microbiota subgingival, resulta em uma maior destruição dos tecidos periodontais.

No presente estudo, *Bacteroides forsythus* foi identificado em 80% dos implantes dentais com peri-implantite e em 85% dos dentes com periodontite. A similaridade na frequência de *Bacteroides forsythus* e *Porphyromonas gingivalis* isoladas nos dentes com doença periodontal (85%) e a alta frequência dessas bactérias nos implantes dentais (80% e 95%, respectivamente) sugerem uma possível associação dessas bactérias no desenvolvimento da periodontite, como observado por LOTUFO³⁸ *et al.* (1994) e DARVEAU¹⁸ *et al.* (1997); e, baseando no conceito dos complexos microbianos definido por SOCRANSKY⁶² *et al.* (1998), estende-se o papel que a

associação das bactérias do complexo vermelho parece desempenhar no desenvolvimento da peri-implantite. Talvez a rápida perda dos níveis de inserção relativa observada nas condições do presente experimento pode ser entendida pela associação das bactérias *Porphyromonas gingivalis* e *Bacteroides forsythus*.

De forma pioneira, por não haver registro na literatura científica, no presente trabalho foi detectada a presença do microrganismo *Bacteroides forsythus* em cães. Os cães utilizados no presente experimento eram de procedência desconhecida, recolhidos junto ao biotério central da UNICAMP, e possivelmente provenientes de uma relação de maior convívio com humanos, que podem ter atuado como uma fonte de transmissão deste microrganismo, diferente dos cães criados exclusivamente em laboratórios, com pouco convívio com humanos.

O microrganismo *Actinobacillus actinomycescomitans* não foi detectado no presente experimento, corroborando com os trabalhos da literatura que buscaram sem sucesso a presença dessa bactéria em dentes e implantes dentais em cães (SAITO⁵⁶ *et al.*, 1997; ALLAKER⁴ *et al.*, 1997; TILLMANN⁶³ *et al.*, 1997). O microrganismo *Actinobacillus actinomycescomitans* foi identificado em cães apenas em um trabalho, descrito por PREUS⁵⁰ *et al.* (1988), em que avaliaram a possível transmissão desse microrganismo de um cão para uma criança com periodontite de progressão rápida, e de um outro cão para uma criança com síndrome de Papillon-Lefèvre. Os autores confirmaram a transmissão dessa bactéria, isolada no cão, para a criança com a síndrome, constatando a similaridade do genotipo entre estas duas cepas. Não existe outro relato na literatura confirmando a identificação do microrganismo *Actinobacillus actinomycescomitans* em cães.

O microrganismo *Prevotella intermedia* não foi isolado em dentes e implantes dentais no presente experimento. A transmissão dessa bactéria de dentes para implantes dentais adjacentes vem sendo sugerida na literatura, demonstrando uma alta frequência do microrganismo

Prevotella intermedia na microbiota dos dentes e implantes dentais com insucessos, em pacientes parcialmente edentados (QUIRYNEN⁵¹ *et al.*, 1993; SBORDONE⁵⁹ *et al.*, 1995; MOMBELLI⁴³ *et al.*, 1995). Essa constatação também pode ser observada nos estudos de GOUVOUSSIS²⁶ *et al.* (1997), em que demonstraram por meio da análise do DNA, que estando presente *Prevotella intermedia* nos dentes, existia uma probabilidade de 83% desta também ser detectada nos implantes dentais adjacentes.

ALLAKER³ *et al.* (1997) avaliaram a prevalência de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* em amostras da placa bacteriana de 34 cães com saúde bucal. Os resultados demonstraram uma frequência de *Porphyromonas gingivalis* em 68% dos cães e, *Prevotella intermedia* em 44% dos cães, com contagem de *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* aumentando significativamente quanto maiores a quantidade de placa bacteriana e o grau de gengivite.

Diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, *Prevotella intermedia* vem sendo associada à doença periodontal e peri-implantar em cães, como descrito por LEONHARDT³⁶ *et al.* (1992), que analisaram a presença de reconhecidos patógenos periodontais ao redor dos dentes e implantes dentais submetidos à indução da doença periodontal e peri-implantar, em cães, em um período de 42 dias. *Prevotella intermedia* foi isolada em um número muito baixo no início do experimento, e em 25,0% na periodontite e peri-implantite. De acordo com RENVERT⁵³ *et al.* (1996), os níveis de *Prevotella intermedia* aumentaram significativamente com a mudança do estado de saúde para a doença periodontal induzida em cães.

SALCETTI⁵⁷ *et al.* (1997) propõe nova abordagem quanto ao potencial patogênico do microrganismo *Prevotella nigrescens*. Os autores, pesquisando em pacientes parcialmente edentados a microbiota associada ao sucesso e insucesso dos implantes dentais, concluíram que o microrganismo *Prevotella nigrescens* estava associado ao insucesso dos implantes dentais. Partindo do enfoque quanto ao potencial patogênico da bactéria *Prevotella nigrescens* associada a falhas dos implantes dentais, foi verificada a possibilidade da presença dessa bactéria. Os resultados demonstraram que este microrganismo não foi identificado no presente trabalho.

Novos trabalhos devem ser feitos estendendo a busca para outros microrganismos periodonto-patogênicos - como o *Treponema denticola* - nos dentes dos cães, anterior ao controle do biofilme bacteriano e no momento da colocação dos intermediários, para estabelecer a origem destes microrganismos, e ainda, em diferentes períodos de tempo após a indução das doenças (45 e 60 dias).

VIII – CONCLUSÕES GERAIS

VIII – CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados do presente experimento permite concluir que:

- não houve diferença estatística significativa ($P=0,70$) entre a progressão da perda do nível de inserção relativa nos dentes e implantes dentais, após 30 dias de indução das doenças periodontal e peri-implantar em cães.
- os microrganismos *Porphyromonas gingivalis* e *Bacteroides forsythus* estão associados à evolução das doenças periodontal e peri-implantar induzidas em cães.

X - REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

X - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ADELL, R. *et al.* A 15 year study of osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. **Int. J. Oral Surg.**, Copenhagen, **10**: 387-416, 1981.
2. ALBREKTSSON, T. *et al.* Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelfarma Implants. **J. Periodont.**, Berningham, **59**: 287-96, 1988.
3. ALLAKER, R.P. *et al.* Prevalence of *Porphyromonas* and *Prevotella* species in the dental plaque of dogs. **Vet. Rec.**, London, **140**(6): 147-8, 1997.
4. ALLAKER, R.P. *et al.* Dental plaque flora of the dog with reference to fastidious and anaerobic bacteria associated with bites. **J. Vet. Dent.**, Boise, **14**(4): 127-30, 1997.
5. APSE, P. *et al.* Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: A comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, **24**: 96-105, 1989.
6. ASHIMOTO, A. *et al.* Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, **11**: 266-73, 1996.
7. BAUMAN, G.R. *et al.* Plaque-induced inflammation around implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **7**: 330-7, 1992.
8. BECKER, W. *et al.* Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **10**: 143-54, 1995.

* ABNT – NBR 60/23

9. BENKIRANE, R. M.; GUILLOT, E.; MOUTON, C. Immunomagnetic PCR and DNA probe for detection and identification of *Porphyromonas gingivalis*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, **33**(11): 2908-12, 1995.
10. BIANCU, S.; ERICSSON, I.; LINDHE, J. The periodontal ligament of teeth connected to osseointegrated implants. An experimental study in the beagle dog. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **22**: 362-70, 1995.
11. BRÄGGER, U. *et al.* Associations between clinical parameters assessed around implants and teeth. **Clin. Oral Implants. Res.**, Copenhagen, **8**: 412-21, 1997.
12. BRÄNEMARK, P-I. *et al.* Intra-osseous anchorage of dental prostheses. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, Stockol, **3**: 81-100, 1969.
13. BRÄNEMARK, P-I.; ZARD, G.A.; ALBREKTSSON, T. Tissue-integrated prostheses. London, **Quintessence**, 1985.
14. BRINER, W.W. & WUNDER, J.A. Sensitivity of dog plaque microorganisms to chlorhexidine during longitudinal studies. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, **12**: 135-9, 1977.
15. BRINER, W.W. *et al.* Effect of chlorhexidine on plaque, gingivitis and alveolar bone loss in beagle dogs after seven years of treatment. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, **15**: 390-4, 1980.
16. BUSER, D. *et al.* Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. **J. Periodont.**, Berningham, **63**: 225-35, 1992.
17. CASTILLO, A. & LIÉBANA, J. Physiopathology of primary periodontitis associated with plaque. Microbial and host factors. A review. Part 1. **Austr. Dent. J.**, Sydney, **39**: 228-32, 1994.

18. DARVEAU, R.P.; TANNER, A.; PAGE, R.C. The microbial challenge in periodontitis. **Periodontology 2000**, Copenhagen, **14**: 12-32, 1997.
19. EKE, P.I.; BRASWELL, L.; FRITZ, M. Microbiota associated with experimental peri-implantitis and periodontitis in adult *Macaca mulatta* monkeys. **J. Periodont.**, Berningham, **69**: 190-4, 1998.
20. ERICSSON, I. *et al.* Experimental periodontal breakdown in the dog. **Scand. J. Dent. Res.**, Munksgaard, **83**: 189-92, 1975,.
21. ERICSSON, I. *et al.* A clinical evaluation of fixed-bridge restorations supported by the combination of teeth and osseointegrated titanium implants. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **13**: 307-12, 1986.
22. ERICSSON, I. & LINDHE, J. Probing depth at implants and teeth. An experimental study in dog. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **20**: 623-7, 1993.
23. ERICSSON, I. *et al.* Progression of periodontal tissue destruction at splinted/non-splinted teeth. An experimental study in dog. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **20**: 693-8, 1993.
24. FRENCH, C.K. *et al.* DNA probe detection of periodontal pathogens. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, **1**: 58-62, 1986.
25. GENCO, R.J.; ZAMBON, J.J.; CHRISTERSSON, L.A. The origin of periodontal infections. **Adv. Dent. Res.**, Washington, **2**(2): 245-59, 1988.
26. GOUVOUSSIS, J.; SINDHUSAKE, D.; YEUNG, S. Cross-infection from periodontitis sites to failing implants site in the same mouth. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **12**: 666-73, 1997.
27. GUILLOT, E. & MOUTON, C. PCR-DNA probe assays for identification and detection of *Prevotella intermedia* sensu stricto and *Prevotella nigrescens*. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, **35**(7): 1876-82, 1997.

28. HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, C.; DIBART, S. Relation of baseline microbial parameters to future periodontal attachment loss. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **18**(10): 744-50, 1991.
29. HÜRZELER, M.B. *et al.* Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part 1: clinical findings and histologic observations. **J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **10**: 474-84, 1995.
30. JOVANOVIĆ, S.A. The management of peri-implant breakdown around functioning osseointegrated dental implants. **J. Periodont.**, Copenhagen, **64**: 1176-83, 1993.
31. KENNEDY, J.E. & POLSON, A.M. Experimental marginal periodontitis in Squirrel Monkeys. **J. Periodont.**, Copenhagen, **44**: 140-4, 1973.
32. KLINGE, B. Implants in relation to natural teeth. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **18**(6): 482-7, 1991.
33. KORNMAN, K.S.; HOLT, S.C.; ROBERTSON, P.B. The microbiology of ligature-induced periodontitis in the cynomolgus monkey. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, **16**: 363-71, 1981.
34. KOLENBRANDER P.E. & LONDON J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. **J. Bacteriol.**, Baltimore, **175**: 3247-52, 1993.
35. LANG, N.P. *et al.* Histologic probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, **5**: 191-201, 1994.
36. LEONHARDT, A. *et al.* Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in beagle dogs. **Clin. Oral implants Res.**, Copenhagen, **3**(3): 112-9, 1992.
37. LISTGARTEN, M. A. The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **15**: 485-7, 1988.

38. LOTUFO, R.F.M. *et al.* Molecular detection of *Bacteroides forsythus* in human periodontitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, 9: 154-60, 1994.
39. MAGNUSSON, I. *et al.* Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, 11: 193-207, 1984.
40. MARINELLO, C.P. *et al.* Resolution of ligature-induced peri-implantitis lesions in the dog. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, 22: 475-9, 1995.
41. MEFFERT, R. Peri-implantitis versus periodontitis. **Dental Economics**, Pittsburgh, march: 87-9, 1993.
42. MOMBELLI, A. *et al.* The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, 2: 145-51, 1987.
43. MOMBELLI, A. *et al.* The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, 22: 124-30, 1995.
44. MOMBELLI, A. *et al.* Comparison of periodontal and peri-implant probing by depth-force pattern analysis. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, 8: 448-54, 1997.
45. NEWMAN, M.G. & FLEMMING, T.F. Periodontal consideration of implants and implant associated microbiota. **J. Dent. Educ.**, San Francisco, 52: 737-44, 1988.
46. ONG, E.S.; NEWMAN, H.N.; WILSON, M. The occurrence of periodontitis - related microorganisms in relation to titanium implants. **J. Periodont.**, Berningham, 63: 200-5, 1992.
47. PAPAIOANNOU, W. *et al.* The effect of periodontal parameters on the subgingival microbiota around implants. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, 6: 197-207, 1995.

48. PAPAPANOU, P.N. *et al.* "Checkerboard" versus culture: a comparison between two methods for identification of subgingival microbiota. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, **105**: 389-96, 1997.
49. PERSSON, L.G. *et al.* Guided bone regeneration in the treatment of periimplantitis. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, **7**: 366-72, 1996.
50. PREUS, H.R. & OLSEN, I. Possible transmittance of *A. actinomycetemcomitans* from a dog to a child with rapidly destructive periodontitis. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, **23**: 68-71, 1988.
51. QUIRYNEN, M. *et al.* An *in vivo* study of the influence of the surfaces roughness of implants on the microbiology of supra-and-subgingival plaque. **J. Dent. Res.**, Chicago, **72**: 1304-9, 1993.
52. RAPLEY, J.W. *et al.* The surface characteristics produced by various oral hygiene instruments and materials on titanium implants abutments. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **5**: 47-52, 1990.
53. RENVERT, S. *et al.* Histological and microbiological aspects of ligadure-induced periodontitis in beagles dogs. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **23**: 310-19, 1996.
54. SAIKI, R.K. *et al.* Enzimatic amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, Cambridge, **230**: 1350-4, 1985.
55. SAIKI, R.K. *et al.* Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, Cambridge, **239**: 487-91, 1988.

56. SAITO, A. *et al.* Responses of peri-implants tissues to undisturbed plaque formation in dogs: clinical, radiographic and microbiological findings. **Bull Tokyo Dent. Coll.**, Tokyo, **38**(1): 13-20, 1997.
57. SALCETTI, M.J. *et al.* The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **12**: 32-42, 1997.
58. SAVITT, E. D. *et al.* Comparison of cultural methods and DNA probe analyses for the detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides intermedius* in subgingival plaque samples. **J. Periodont.**, Berningham, **59**: 431-8, 1988.
59. SBORDONE, L. *et al.* Antimicrobial susceptibility of periodontopathic bacteria associated with failing implants. **J. Periodont.**, Berningham, **66**: 69-74, 1995.
60. SCHOU, S. *et al.* Microbiology of ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, **7**:190-200, 1996.
61. SLOTS, J. *et al.* Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, **20**(Suppl 2): S304-7, 1995.
62. SOCRANSKY, S.S. *et al.* Microbial complexes in subgingival plaque. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **25**: 134-44, 1998.
63. TILLMANN, H.W.S. *et al.* Evaluation of three different dental implants in ligature-induced peri-implantitis in the beagle dog. Part I - Clinical evaluation. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chicago, **12**: 611-20, 1997.

64. VAN-STEENBERGHE, D. *et al.* Periodontal indices around natural and titanium abutments: a longitudinal multicenter study. **J. Periodont.**, Berningham, **64**: 538-41, 1993.
65. WARRER, K. *et al.* Plaque-induced peri-implantitis in the presence or absence of keratinized mucosa. An experimental study in monkeys. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, **6**: 131-8, 1995.
66. WATTS, T. Constant force probing with and without a stent in untreated periodontal disease: the clinical reproducibility problem and possible souces of error. **J. Clin. Periodont.**, Copenhagen, **14**: 407-11, 1987.

X - APÊNDICES

X – APÊNDICES

Tabela A – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 1, anterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 1 - Antes	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	3,55	3,45	3,45	3,7	3,65	3,8	3,6
implante - esq. P4	4,4	4,3	4,2	3,8	3,7	3,75	4,025
implante - dir. P3	4,35	4,25	4,4	4,2	4,9	4,25	4,391667
implante - dir. P4	4,3	4,25	4,8	4,3	4,2	4,4	4,375
dente - esq. P2	3,7	3,8	3,65	3,2	3,55	3,5	3,566667
dente - esq. P3	3,7	3,55	3,65	3,6	3,55	3,35	3,566667
dente - dir. P2	3,0	3,0	2,95	2,8	3,0	2,95	2,95
dente - dir. P3	3,2	3,3	3,05	2,9	2,85	2,8	3,016667

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela B – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 1, posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 1 - Após	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	8,55	8,55	8,15	7,65	8,3	8,3	8,25
implante - esq. P4	8,55	7,65	7,95	6,85	6,65	7,45	7,516667
implante - dir. P3	8,05	7,65	7,7	7,85	7,5	7,8	7,758333
implante - dir. P4	9,2	8,45	8,5	9,5	9,2	8,3	8,858333
dente - esq. P2	6,25	5,9	7,0	5,35	5,85	5,0	5,891667
dente - esq. P3	7,45	7,0	6,65	7,3	7,0	6,7	7,016667
dente - dir. P2	7,0	9,2	8,25	6,5	6,45	6,7	7,35
dente - dir. P3	6,8	7,2	7,8	7,2	7,1	6,6	7,116667

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela C – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 2, anterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 2 - Antes	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
Implante - esq. P3	6,7	6,55	6,6	6,25	5,15	5,5	6,125
Implante - esq. P4	6,8	6,5	6,3	7,35	6,6	5,75	6,55
Implante - dir. P3	4,05	4,0	4,2	5,3	5,45	5,5	4,75
Implante - dir. P4	3,8	3,75	3,6	4,25	4,45	4,95	4,133333
dente - esq. P2	5,0	4,45	4,9	4,45	3,6	3,45	4,308333
dente - esq. P3	7,3	6,4	5,7	4,55	4,45	4,5	5,483333
dente - dir. P2	2,65	2,7	3,3	2,8	2,9	3,3	2,941667
dente - dir. P3	4,6	4,4	3,6	2,7	2,6	3,8	3,616667

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela D – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 2, posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 2 - Após	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	8,6	8,6	8,65	9,4	8,4	9,35	8,833333
implante - esq. P4	6,8	7,55	8,15	8,45	8,35	9,5	8,133333
implante - dir. P3	9,5	10,05	10,45	10,6	10,0	9,95	10,09167
implante - dir. P4	8,3	9,15	9,3	9,65	9,45	10,4	9,375
dente - esq. P2	7,15	7,1	6,85	5,75	5,7	5,6	6,358333
dente - esq. P3	7,4	7,1	6,2	7,25	5,2	6,1	6,541667
dente - dir. P2	8,8	9,35	7,25	7,45	7,5	6,55	7,816667
dente - dir. P3	10,1	9,35	9,2	8,35	8,5	7,95	8,908333

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela E – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 3, anterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 3 - Antes	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	5,75	6,35	5,5	4,15	4,9	5,5	5,358333
implante - esq. P4	5,15	5,6	5,0	6,55	4,2	5,4	5,316667
implante - dir. P3	5,8	5,25	5,05	3,15	3,1	4,05	4,4
implante - dir. P4	8,75	6,6	5,15	3,45	4,4	5,1	5,575
dente - esq. P2	3,1	2,75	2,65	2,85	2,65	3,25	2,875
dente - esq. P3	3,2	3,05	3,4	3,4	2,7	3,6	3,225
dente - dir. P2	3,15	3,2	2,45	3,2	3,15	3,45	3,1
dente - dir. P3	3,45	3,0	3,65	4,1	4,25	3,7	3,691667

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela F – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 3, posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 3 - Após	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	9,4	9,2	9,35	9,3	8,35	9,7	9,216667
implante - esq. P4	12,0	11,1	9,7	10,6	7,35	10,0	10,125
implante - dir. P3	8,3	8,15	8,0	9,85	9,95	7,45	8,616667
implante - dir. P4	10,15	9,9	9,8	11,1	10,45	10,4	10,3
dente - esq. P2	8,2	8,5	7,45	9,15	9,75	8,4	8,575
dente - esq. P3	9,45	8,2	8,0	8,3	7,1	6,9	7,991667
dente - dir. P2	7,25	8,65	8,45	7,6	6,2	7,0	7,525
dente - dir. P3	8,0	7,95	7,9	7,6	7,8	7,8	7,841667

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela G – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 4, anterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 4 - Antes	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	5,25	5,0	4,8	4,4	3,2	5,0	4,608333
implante - esq. P4	4,8	5,65	5,45	4,1	3,8	4,3	4,683333
implante - dir. P3	5,6	5,3	5,1	5,1	5,15	5,1	5,225
implante - dir. P4	5,8	6,0	5,95	6,0	4,05	4,2	5,333333
dente - esq. P2	3,1	2,7	2,5	3,0	3,95	3,0	3,041667
dente - esq. P3	3,6	3,8	3,35	3,25	3,0	3,55	3,425
dente - dir. P2	4,1	4,55	4,35	3,4	3,45	3,4	3,875
dente - dir. P3	3,55	3,75	2,75	4,6	4,15	4,0	3,8

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DV, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela H – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 4, posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 4 - Após	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	9,75	7,55	7,65	8,85	7,75	7,55	8,183333
implante - esq. P4	7,45	8,0	8,05	8,0	7,45	7,8	7,791667
implante - dir. P3	10,05	9,5	9,05	9,25	7,65	8,35	8,975
implante - dir. P4	8,55	8,95	8,85	8,3	7,3	7,7	8,275
dente - esq. P2	6,1	7,1	6,9	6,25	6,5	6,5	6,558333
dente - esq. P3	7,45	6,75	5,6	6,65	6,1	6,05	6,433333
dente - dir. P2	7,65	7,45	6,65	6,85	6,1	6,0	6,783333
dente - dir. P3	9,0	7,75	7,8	6,75	6,6	7,0	7,483333

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DV, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela I – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 5, anterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

Cão 5 - Antes	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	4,5	4,65	5,1	4,9	4,5	4,4	4,675
implante - esq. P4	4,0	3,95	4,55	5,55	4,9	4,55	4,583333
implante - dir. P3	4,5	4,55	5,35	5,75	4,3	5,15	4,933333
implante - dir. P4	4,3	4,75	4,55	5,45	3,7	4,0	4,458333
dente - esq. P2	3,35	2,8	2,7	4,5	4,7	4,2	3,708333
dente - esq. P3	4,4	3,7	3,65	3,85	4,0	2,8	3,733333
dente - dir. P2	3,45	3,4	3,5	5,1	5,5	4,15	4,183333
dente - dir. P3	3,35	3,3	2,6	4,0	4,2	5,45	3,816667

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DV, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito

Tabela J – Medidas do nível de inserção relativa em milímetros nos sítios preestabelecidos do cão 5, posterior à indução da periodontite e peri-implantite, respectivamente, nos dentes e implantes dentais.

CÃO 5 - Após	DV	V	MV	DL	L	ML	MÉDIA
implante - esq. P3	7,55	7,9	7,95	7,3	5,1	5,95	6,958333
implante - esq. P4	7,65	8,0	7,45	7,25	5,55	7,1	7,166667
implante - dir. P3	7,95	8,65	8,9	9,15	7,8	9,35	8,633333
implante - dir. P4	7,95	7,85	7,35	9,15	6,85	8,45	7,933333
dente - esq. P2	6,6	5,35	5,65	6,1	5,8	6,05	5,925
dente - esq. P3	7,2	6,1	6,2	6,5	6,1	6,0	6,35
dente - dir. P2	7,2	7,6	8,0	6,85	9,1	8,15	7,816667
dente - dir. P3	9,1	5,6	6,3	6,65	6,8	6,95	6,9

Onde: DV, sítio disto-vestibular; V, vestibular; MV, méso-vestibular; DL, disto-vestibular; L, lingual; ML, méso-lingual; esq., esquerdo; dir., direito