

## **AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO VEDAMENTO DE UM NOVO COMPONENTE PROTÉTICO EXPERIMENTAL PARA IMPLANTES – UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

### **Autores**

Bianca Uendy Tanide<sup>1</sup>

Rodrigo Vance<sup>2</sup>

Ruy Felipe Melo Viégas<sup>3</sup>

Cláudio Monteiro Galvão<sup>4</sup>

Felipe Carlos Dias Arcas<sup>5</sup>

Rogério de Lima<sup>6</sup>

Sheila Cavalca Cortelli<sup>7</sup>

José Roberto Cortelli<sup>8</sup>

Davi Romeiro Aquino<sup>9</sup>

### **Resumo**

A reabilitação oral com implantes tornou-se uma das técnicas odontológicas de maior sucesso nos últimos 20 anos. A taxa de sucesso da Implantodontia está acima de 80%, porém a técnica operatória é invasiva e muitas vezes traumática. A interface implante-pilar (IAI), por constituir de duas peças, inevitavelmente apresenta micro lacuna (GAP), na qual pode ocorrer infiltração bacteriana, permitindo que os microrganismos penetrem e colonizem a parte interna do implante levando ao acúmulo de biofilme e, conseqüentemente o desenvolvimento da peri-implantite. No entanto, o desgaste da conexão interna do implante é algo que ocorre com frequência, muitas vezes pela fratura do parafuso e/ou, pela perda da rosca interna do implante. A ausência de informações prévias também pode gerar a necessidade da remoção do implante com retrieval ou trefina, que é uma técnica muito agressiva para o tecido ósseo. Devido estas intercorrências, surge a possibilidade da criação de um novo componente para implantes para possibilitar a reabilitação protética, sem ter que passar por uma nova cirurgia de remoção e instalação do implante. **Objetivo:** A proposição deste estudo foi avaliar em modelo *in vitro* a taxa de infiltração de *S. mutans* entre o novo componente protético e a superfície interna do implante do tipo cone morse, a fim de investigar se o GAP causado pela conexão poderia acumular bactérias e possivelmente levar a um quadro de inflamação local. **Metodologia:** Foram coletadas amostras da parte interna do implante com micro swab antes da contaminação, cinco minutos após a contaminação (pós contaminado imediato) e pós contaminação após um e sete dias; no grupo controle os componentes

<sup>1</sup> Doutoranda em Odontologia Restauradora pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. E-mail: bianca.tanide@gmail.com

<sup>2</sup> Doutorando no Programa em Ciências da Saúde pela Universidade de Taubaté – UNITAU. E-mail: vance\_rodrigo@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Especialização em Residência Médica pela Universidade de Taubaté - UNITAU e docente na Universidade de Taubaté – UNITAU.

<sup>4</sup> Mestrando no Programa de Ciências da Saúde na Universidade de Taubaté - UNITAU.

<sup>5</sup> Doutorando em Ciências da Saúde na Universidade de Taubaté – UNITAU.

<sup>6</sup> Pós-Doutorado em Engenharia de Materiais pela Escola de Engenharia de Lorena - EEL, da Universidade de São Paulo – USP, coordenador e docente na Faculdade São Leopoldo Mandic – SLMANDIC.

<sup>7</sup> Pós-doutorado em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG e docente no Programa de Pós-graduação de Mestrado e Doutorado Acadêmicos em Ciências da Saúde da Universidade de Taubaté – UNITAU. E-mail: cavalcacortelli@uol.com.br

<sup>8</sup> Pós-doutorado em Ciências da Saúde pelo *The Forsyth Institute* – FI - EUA e docente no Programa de Pós-graduação de Mestrado e Doutorado Acadêmicos em Ciências da Saúde da Universidade de Taubaté – UNITAU. E-mail: jrcortelli@uol.com.br

<sup>9</sup> Doutorado em Periodontia pela Universidade de Taubaté - UNITAU e docente no Programa de Pós-graduação de Mestrado e Doutorado Acadêmicos em Ciências da Saúde da Universidade de Taubaté – UNITAU. E-mail: daviaquino@uol.com.br

foram imersos abertos em caldo de *S. mutans*, enquanto no grupo teste os componentes foram imersos conectados em caldo de *S. mutans*. Os **resultados** demonstraram que houve aumento das UFC após a contaminação no grupo controle e no grupo teste, houve um aumento significativo da contaminação no momento pós contaminado imediato e redução significativa nos pós contaminados de um e sete dias. **Conclui-se** que o novo componente testado apresentou pouca infiltração bacteriana no GAP da conexão implante-pilar.

**Palavras-chave:** Implante dentário. Peri-implantite. *Streptococcus mutans*.

*MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF THE SEALING OF A NEW EXPERIMENTAL PROSTHETIC COMPONENT FOR IMPLANTS - UNIVERSITY OF TAUBATÉ*

**Abstract**

*Oral rehabilitation with implants has become one of the most successful dental techniques in the past 20 years. The success rate of Implantology is above 80%, but the operative technique is invasive and often traumatic. The implant-pillar interface (IAI), as it consists of two parts, inevitably presents a micro-gap (GAP), in which bacterial infiltration can occur, allowing microorganisms to penetrate and colonize the internal part of the implant leading to the accumulation of biofilm and, consequently the development of peri-implantitis. However, wear on the internal connection of the implant is something that occurs frequently, often due to the fracture of the screw and / or the loss of the internal thread of the implant. The absence of prior information may also generate the need to remove the implant with retrieval or trephine, which is a very aggressive technique for bone tissue. Due to these complications, there is the possibility of creating a new component for implants to enable prosthetic rehabilitation, without having to undergo a new surgery to remove and install the implant. The purpose of this study was to evaluate in vitro model the rate of infiltration of *S. mutans* between the new prosthetic component and the internal surface of the Morse taper implant. Samples were collected from the internal part of the implant with a micro swab before contamination, five minutes after contamination (immediate contaminated post) and post contamination after one and seven days; in the control group the components were immersed in *S. mutans* broth, while in the test group the components were immersed in *S. mutans* broth. The results showed that there was an increase in CFU after contamination in the control group and in the test group, there was a significant increase in contamination in the immediate post-contaminated moment and a significant reduction in the contaminated powders of one and seven days. It is concluded that the new tested component presented little bacterial infiltration in the GAP of the implant-abutment connection.*

**Keywords:** Dental implant. Peri-implantitis. *Streptococcus mutans*.

## INTRODUÇÃO

A reabilitação oral com implantes tornou-se uma das técnicas odontológicas de maior sucesso nos últimos 20 anos. A taxa de sucesso de Implantodontia está acima de 80%. No entanto, a peri-implantite é a complicação mais preocupante na Implantodontia. Além disso, o sucesso da reabilitação de implantes está relacionado as propriedades mecânicas, como a conexão implante-pilar e a carga oclusal recebida. Essa interface é o elo mais fraco em implantes com as próteses suportadas, por estar associada à incidência de carga mastigatória

que pode reduzir a estabilidade do pilar. A sobrecarga oclusal após a instalação das próteses pode resultar em aumento do estresse no implante e na conexão implante-pilar, assim como no osso circundante. O sucesso dos implantes dentários depende dos fenômenos de osseointegração e da manutenção do nível ósseo em torno de implantes (Mencio et al., 2016).

A instalação do implante é realizada na região endo ósseo e sua supraestrutura é conectada a uma parte protética, que finalmente restaura a função e estética. Mesmo que ambos estejam intimamente conectados, a presença de uma micro lacuna (GAP) parece inevitável na conexão implante-pilar, a qual permite que os microrganismos penetrem e colonizem a parte interna do implante levando ao acúmulo de biofilme e, conseqüentemente, o desenvolvimento da peri-implantite (Barros et al., 2018). A conexão entre o implante e o pilar tem um papel importante no surgimento de peri-implantite. A presença de uma lacuna nesta interface é associada a um infiltrado inflamatório celular, o qual pode resultar em uma maior perda óssea. A prevenção de vazamento microbiano na interface implante-pilar é o principal objetivo para a construção de sistemas de implantes de duas peças para evitar inflamação nos tecidos peri-implantares.

A interface está localizada no nível da crista alveolar, então está sujeita a uma possível colonização microbiana. Assim sendo, a presença de um espaço entre o pilar e o implante é um dos principais fatores que contribuem para a peri-implantite levando à perda óssea marginal. É, geralmente, aceito que todos os sistemas de implantes com dois componentes deixem espaço microscópico na interface entre o implante e o pilar protético, porém as diferenças de conexões do implante-pilar podem influenciar o risco de colonização bacteriana.

Acredita-se que os sistemas de conexão cônica resolvam esse problema, uma vez que esta lacuna deve ser muito mais estreita, evitando uma possível colonização bacteriana. Esta hipótese é derivada do princípio de que a conicidade do cone morse é um projeto adequado com uma angulação entre dois e quatro graus, que minimizaria a penetração bacteriana. Neste contexto, é essencial que a vedação entre o pilar e o implante seja eficaz para prevenir ou diminuir o risco de colonização bacteriana, uma vez que a maior proximidade da localização do GAP ao osso alveolar promove maior perda óssea do que a esperada.

O uso de implantes de conexão tipo cone morse está se tornando mais difundido em reabilitações unitárias, parcial ou totais com benefícios clínicos de longevidade. Existem várias marcas e modelos de implantes com este tipo de conexão atualmente disponível no mercado para o implantodontista. Neste estudo, foi avaliada a infiltração bacteriana em uma nova conexão do componente protético experimental universal.

A interface implante pilar, por constituir de duas peças, inevitavelmente apresenta GAP, podendo ocorrer infiltração bacteriana e permitir que os microrganismos penetrem e colonizem a parte interna do implante levando ao acúmulo de biofilme e, conseqüentemente o

desenvolvimento da peri-implantite. No entanto, o desgaste da conexão interna do implante é algo que ocorre com frequência, muitas vezes pela fratura do parafuso e/ou perda da rosca interna do implante. A ausência de informações prévias também pode gerar a necessidade de remoção do implante com retrieval ou trefina, que é uma técnica muito invasiva e agressiva para o tecido ósseo. Devido a estas intercorrências, surge a possibilidade da criação de um novo componente para implantes para possibilitar a reabilitação protética, sem ter que passar por uma nova cirurgia de remoção e instalação do implante. Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de infiltração de *Streptococcus mutans*(*S.m*) em novo componente de implante universal.

## 2. PROPOSIÇÃO

A proposição deste estudo foi avaliar em modelo *in vitro* a taxa de infiltração de *S. mutans* entre o novo componente protético e a superfície interna do implante do tipo cone morse, a fim de investigar se o GAP causado pela conexão poderia acumular bactérias e possivelmente levar a um quadro de inflamação local.

## 3. METODOLOGIA

### 3.1. Desenho experimental

Foi feito um cálculo amostral que gerou a necessidade de 10 corpos de provas. No presente estudo *in vitro*, foram utilizados um total de 10 implantes (DSP®), sendo divididos dois grupos sendo: grupo teste contendo oito implantes (n = 8) e grupo controle contendo dois implantes (n = 2), sendo cada implante constituído com o respectivo novo componente protético experimental, desenvolvido para este estudo pela DSP® (Figura 1).

**Figura 1.** Novo componente protético desenvolvido para o presente estudo



Fonte: os autores

Primeiramente, os corpos de prova foram esterilizados abertos e separados, sob condições assépticas em um fluxo laminar e utilizando instrumentos e luvas estéreis.

Foram realizadas coletas com micro swab da parte interna dos componentes (GAP) para realização da cultura microbiológica em quatro momentos: inicial, pós contaminado imediato, pós contaminado um dia e sete dias.

### **3.2. Teste microbiológico**

O teste microbiológico foi realizado no laboratório de microbiologia da UNITAU – Campus Bom Conselho, Taubaté/SP.

No momento inicial, os componentes estavam esterilizados, livres de contaminação e as amostras foram coletadas com micro swab antes da conexão implante-pilar, tanto para o grupo controle quanto para o grupo teste. Logo em seguida os micro *swabs* foram aplicados em placa de petri contendo o meio de cultura ágar mitis salivarius, e incubados em estufa bacteriológica a 37°C por cinco dias para identificação e quantificação de UFC de *S. mutans*.

Após este momento, no grupo teste, os pilares novos foram torqueados com 20 N/cm e logo em seguida o conjunto foi imerso em um caldo de *S. mutans* por cinco minutos, removidos e desrosqueados e logo em seguida foram coletadas amostras ao redor da conexão com um micro *swab*. Após isto, o conjunto implante pilar foram esterelizados. E os micro *swabs* foram aplicados e processados em placa de petri e levados para incubação em estufa bacteriológica.

Ainda, no grupo teste, os conjuntos (implante-pilar) ficaram imersos em caldo de *S. mutans* por um dia (pós-contaminado 2 – PC2). Após, foram desrosqueados para coletar amostras da parte interna da conexão implante-pilar com micro swab. Essas amostras foram levadas ao laboratório para análise por cultura microbiológica de *S. mutans* sob as mesmas condições descritas acima. E, por último, foram coletadas amostras da parte interna da conexão implante-pilar após sete dias imersos em caldo de *S. mutans* (pós-contaminado 3 – sete dias) e cultivadas sob as mesmas condições.

Já no grupo controle, também foram coletadas amostras no momento inicial, pós contaminado imediato de cinco minutos de imersão, um dia em imersão e sete dias, porém com o conjunto implante-pilar abertos no caldo de S.m. Em todos os momentos foram coletadas amostras com micro swab da mesma forma que no grupo teste. E todas as amostras coletadas foram aplicadas em placas de petri contendo meio de cultura ágar mitos salivarius e processadas no laboratório de microbiologia sob as mesmas condições.

### **3.3. Análise estatística**

Após a completa tabulação dos dados do presente estudo, eles foram submetidos a uma análise estatística específica.

Para tanto, o *software* Bio Estat 5.0 foi utilizado, sempre adotando significância estatística de 95% ( $p < 0,05$ ).

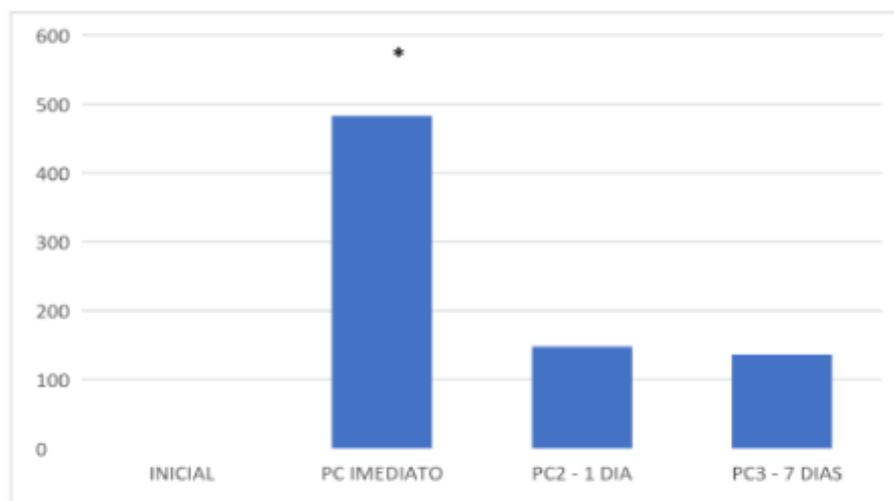
Inicialmente os dados foram examinados quanto a sua característica de distribuição amostral, em que foi estabelecida distribuição normal (paramétrico) para todos os agrupamentos adotados.

Após o estabelecimento da característica amostral e das variáveis, os testes estatísticos *t Student* (análise intergrupos) e *t* pareado (análise intragrupo) foram selecionados e aplicados.

#### 4. RESULTADOS

Inicialmente, foi realizada uma análise de todos os corpos de prova, tanto teste quanto controle (Figura 2). Observou-se que as médias de UFC de *S. mutans* aumentaram significativamente do momento inicial (coleta em componentes estéreis) para o momento de pós contaminação inicial ( $p < 0,05$ ); seguida de queda no momento pós contaminado um e sete dias ( $p < 0,05$ ).

**Figura 02.** Distribuição média de UFC de *S. mutans* para todos os corpos de prova do presente estudo

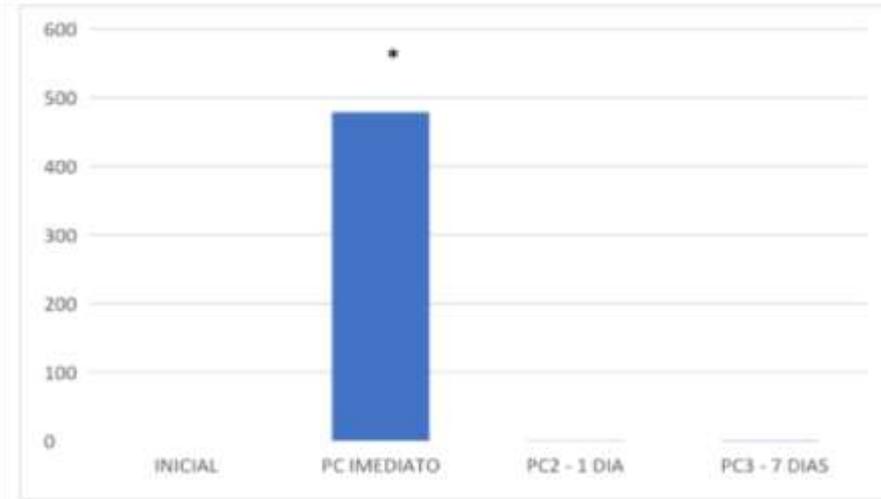


Fonte: os autores

\* - Diferença estatisticamente significativa

Posteriormente, foi proposta uma análise independente dos grupos teste e controle. No grupo teste, observou-se uma grande elevação do momento inicial para o pós-contaminado imediato ( $p < 0,05$ ) seguido de drástica queda para os períodos posteriores (Figura 3). Já no grupo controle, não houve queda nos momentos pós-contaminado imediato, um dia e 7 dias, e sim um aumento ( $p < 0,05$ ) nos períodos pós-contaminado, havendo então uma estabilização na quantidade de UFC de *S. mutans* (Figura 4).

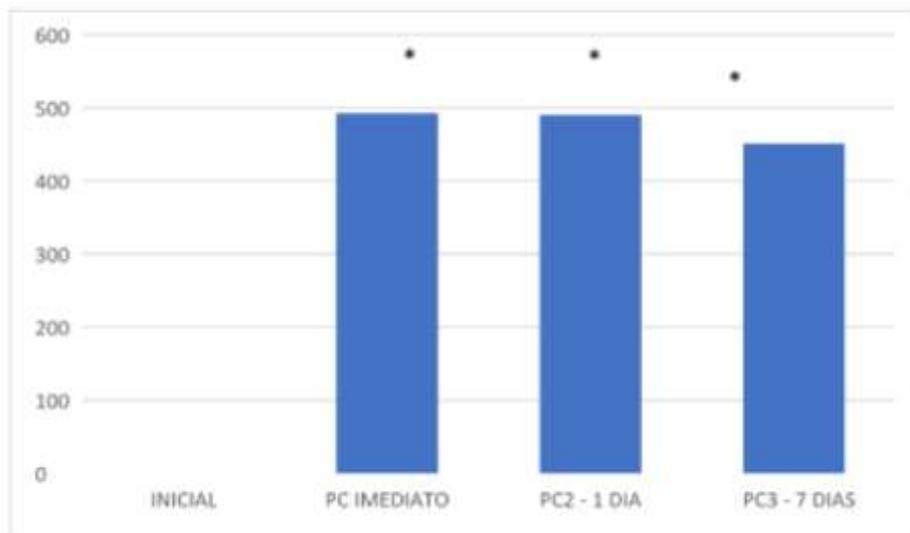
**Figura 03.** Distribuição média de UFC de *S. mutans* para os corpos de prova do grupo teste



Fonte: os autores

\* - Diferença estatisticamente significativa

**Figura 04.** Distribuição média de UFC de *S. mutans* para os corpos de prova do grupo controle

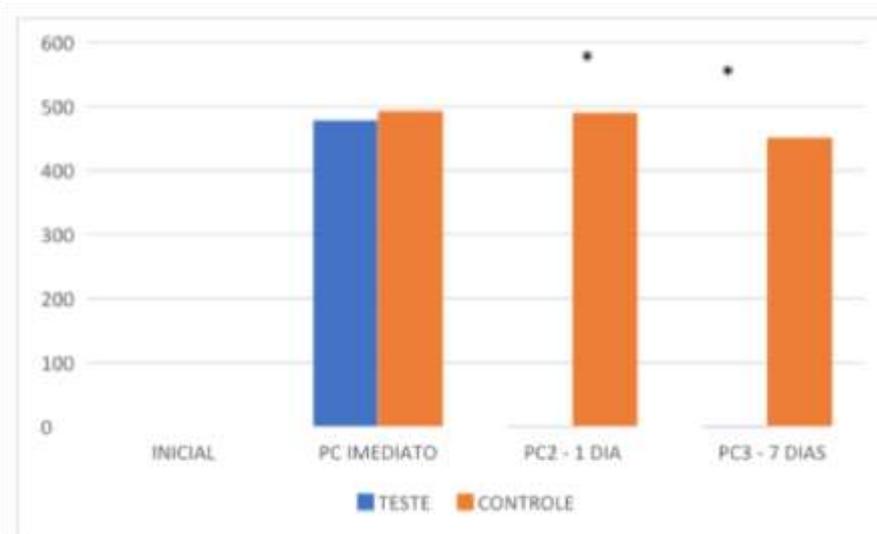


Fonte: os autores

\* - Diferença estatisticamente significativa

Ainda, foi realizada uma análise de comparação entre os grupos teste e controle em relação aos momentos de análise (Figura 5). Ambos os grupos foram semelhantes ( $p > 0,05$ ) no momento inicial (ou seja, sem contaminação significativa) e no pós-contaminado imediato (ou seja, elevada contaminação nos dois grupos). No momento pós contaminado de um dia e sete dias, a contaminação foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) para o grupo controle.

**Figura 05.** Distribuição comparativa das médias de UFC de *S. mutans* entre os grupos teste e controle em relação aos momentos de contaminação

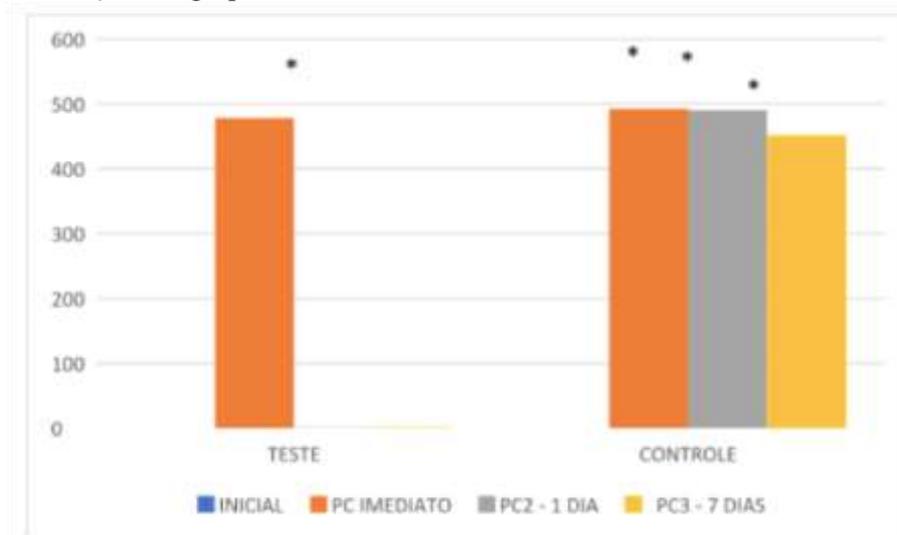


Fonte: os autores

\* - Diferença estatisticamente significativa

Comparando os momentos de contaminação em relação aos grupos (Figura 6), o grupo teste obteve as maiores médias de UFC de *S. mutans* ( $p < 0,05$ ) no momento pós contaminado imediato, seguido de diminuição da contaminação no pós-contaminado de um e sete dias. Já no grupo controle houve aumento do momento inicial para pós contaminado imediato e estabilização da contaminação no pós-contaminado de um e sete dias.

**Figura 06.** Distribuição comparativa das médias de UFC de *S. mutans* dos momentos de contaminação em relação aos grupos teste e controle



Fonte: os autores

\* - Diferença estatisticamente significativa

## 5. DISCUSSÃO

Historicamente, uma das principais preocupações com os implantes é a vedação entre a conexão implante-pilar, já que esta conexão pode ser um reservatório para bactérias se estabelecerem e se proliferarem, levando a um estado de disbiose, ou seja, um desequilíbrio na microbiota local causando inflamação, o que com o tempo pode afetar seriamente a saúde do tecido peri-implantar.

Neste estudo foi avaliado a taxa de infiltração de *S. mutans* de um novo componente protético para observar se houve infiltração microbiana no GAP.

A infiltração bacteriana ocorre no GAP, que existe inevitavelmente entre os implantes e pilares, na qual formam uma colonização na porção interna da conexão, que são demonstradas por estudos *in vitro* e *in vivo* (Haddad et al., 2016). Mencio et al. (2016) concluíram que espécies bacterianas salivares humana podem se infiltrar ao longo da interface implante-pilar em ambas as conexões protéticas (cimentadas e parafusadas) porém, os implantes de conexão cimentada apresentaram menor quantidade de microrganismos.

Haddad et al. (2016) fixaram quatro implantes ao pilar com torque de 35 N e foram imersos em cultura bacteriana durante 24 horas. Concluíram no seu estudo *in vitro* que até agora, nenhuma interface implante-pilar demonstrou fechar perfeitamente o GAP. Da mesma forma, Alves et al. em 2014 concluíram que não houve diferença significativa em relação à selagem bacteriana entre implantes com mini-pilares reforçados por fricção sem parafusos e implantes com pilares parafusados.

Nos estudos de Barros et al. (2018) e Deconto et al. (2010), ambos os autores concluíram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois modelos de pilar em uma análise de selamento bacteriano *in vitro* e *in vivo*; contudo foram observados que mesmo os implantes submersos em mucosa queratinizada bem como a exposição do parafuso de cobertura não estiveram relacionados à contaminação bacteriana, sugerindo que a manutenção do implante submerso durante o período de osseointegração não os proteja de contaminações.

Já neste trabalho, observamos uma extrema diferença de comportamento entre os grupos teste e o grupo controle. Em todas as avaliações houve um maior grau de contaminação ( $p < 0,05$ ) no grupo controle em relação ao teste. Concluímos a avaliação da capacidade de vedação deste novo componente protético na qual houve uma pequena contaminação no grupo teste. Assim como no trabalho de Peruzetto et al. (2016) no qual os autores concluíram que nenhum dos componentes avaliados foi capaz de prevenir a invasão bacteriana *in vitro*, embora os componentes do tipo cimentado tenham apresentado uma vedação superior em comparação aos componentes não indexados.

No trabalho de Coelho et al. (2008) avaliou-se a capacidade de vedação da conexão do implante-pilar em diferentes sistemas de implantes dentários, sendo composto por cinco implantes de cada fabricante Nobel Replace select, Straumann e Intra-lock de aproximadamente  $4 \pm 5$  mm de diâmetro com seus respectivos abutments. Foi realizada uma análise espectrofotométrica registrando-se sua absorbância nos períodos de 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96 e 144h. Todos os sistemas de pilares de implante apresentaram um aumento na absorbância em função do tempo. O vazamento foi significativo entre os grupos. Apesar do torque controlado, a vedação entre o corpo do implante e o abutment não pôde ser mantida em todos os três sistemas testados. Portanto, os autores concluíram que a contaminação medida pelo corante foi significativa entre os grupos.

Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de infiltração bacteriana para no futuro próximo conseguirmos alcançar as vantagens de se ter mais um recurso viável para ser utilizado nos casos de desgaste da conexão interna do implante, seja pela fratura do parafuso e/ou, pela perda da rosca interna do implante; ou até mesmo pela ausência de informações prévias do implante, para que desta forma possamos prevenir a necessidade da remoção do implante seja com retrieval ou trefina, contudo não agredindo o tecido ósseo e nem precisando de um novo processo de reparação óssea e tecidual, diminuindo assim o trauma e intervenções cirúrgicas desnecessárias. Apesar de o presente estudo ter demonstrado baixa contaminação na interface implante-pilar, estudos *in vivo* são fortemente encorajados a fim de investigar o comportamento da infiltração bacteriana levando em conta a localização do implante e a microbiota local.

## CONCLUSÃO

Portanto, as vantagens deste componente será possibilitar o implantodontista obter mais um recurso viável para ser utilizado nos casos de desgaste da conexão interna e/ou, pela perda da rosca interna do implante; ou até mesmo pela ausência de informações prévias do implante, possibilitando assim a reabilitação protética. Para que desta forma possamos prevenir a necessidade da remoção do implante seja com retrieval ou trefina, contudo não agredindo o tecido ósseo e nem precisando de um novo processo de reparação óssea e tecidual, diminuindo assim o trauma e intervenções cirúrgicas desnecessárias.

Concluimos que o novo componente testado no presente estudo apresentou pouco infiltração bacteriana no GAP da conexão implante-pilar, sendo assim uma opção viável para minimizar infecções bacterianas e prevenir inflamação no tecido peri-implantar e o risco para peri-implantite.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, D. C.; CARVALHO, P. S.; MARTINEZ, E. F. *In vitro* microbiological analysis of bacterial seal at the implant-abutment interface using two morse taper implant models. *Braz Dent J* 2014; 25: 48-53.
- BARROS, L. G. A. DE MOLON, R. S.; MORETTI, A. J.; SHIBLI, J. A.; RÊGO, D. M. Evaluation of Microbial Contamination in the Inner Surface of Titanium Implants Before Healing Abutment Connection: A Prospective Clinical Trial. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2018; 33: 853-862.
- COELHO, P. G.; SUDACK, P.; SUZUKI, M.; KURTZ, K. S.; ROMANOS, G. E.; SILVA, N. R. *In vitro* evaluation of the implant abutment connection sealing capability of diferente implant systems. *J Oral Rehabil* 2008; 35: 917-24.
- DECONTO, M. A.; SALVONI, A. D.; WASSALL, T. *In vitro* microbiological bacterial seal analysis of the implant/abutment connection in morse taper implants: a comparative study between 2 abutments. *Implant Dent* 2010; 19: 158-66.
- HADDAD, E. E.; GIANNÌ, A. B.; MANCINI, G. E.; CURA F.; CARINCI, F. Implant-abutment leaking of replace conical connection nobel biocare(®) implant system. An *in vitro* study of the microbiological penetration from external environment to implant-abutment space. *Oral Implantol (Rome)* 2016; 9: 76-82.
- MENCIO F.; PAPI P.; DI CARLO S.; POMPA G. Salivary bacterial leakage into implantabutment connections: preliminary results of an *in vitro* study. *Eur Ver Med Pharmacol Sci* 2016; 20: 2476-83.
- PERUZETTO, W. M.; MARTINEZ, E. F.; PERUZZO, D. C.; JOLY, J. C.; NAPIMOGA, M. H. Microbiological Seal of Two Types of Tapered Implant Connections. *Braz Dent J* 2016; 27: 273-7.