

**Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico**  
Mário Eduardo Jaworski

**Capacidade de vedamento bacteriano, na interface implante/pilar em  
implante hexágono externo e cone Morse: Pesquisa *in vitro*.**

**CURITIBA**  
**2010**

**Mário Eduardo Jaworski**

**Capacidade de vedamento bacteriano, na interface implante/pilar em  
implante hexágono externo e cone Morse: Pesquisa *in vitro*.**

Dissertação apresentada ao  
Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico,  
como parte dos requisitos para a obtenção do título de  
Mestre em Odontologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Cláudia Moreira Melo  
Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cynthia Maria Telles Picheth

**CURITIBA**

**2010**

Jaworski, Mário Eduardo  
J39C Capacidade de vedamento bacteriano, na interface implante/pilar em implante hexágono externo e cone Morse: Pesquisa in vitro. Curitiba, 2010  
77f. : il. ; 31 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico – Programa de Pós - Graduação em Odontologia - Área de Concentração: Implantodontia. Curitiba, 2010

Orientadora: Prof. Dra. Ana Cláudia Moreira Melo.  
Co-orientadora: Prof. Dra. Cynthia Maria Telles Pichel  
Inclui bibliografia

1. Implante Dentário 2. Microbiologia. 3. Contaminação. I. Título.

Mário Eduardo Jaworski

Capacidade de vedamento bacteriano, na interface implante/pilar em implante  
hexágono externo e cone Morse: Pesquisa *in vitro*.

Presidente da banca (Orientadora): Prof. Dra. Ana Cláudia Moreira Melo

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Magini

Prof. Dr. Geninho Thomé

Aprovada em: 23/02/10

## **Dedicatória**

Este trabalho é dedicado primeiramente a minha esposa Cristina e aos meus filhos Guilherme e Fernanda. Por que sem vocês, nada teria sentido.

Dedico também a meus pais Tadeo e Shirley e irmãos Celina Maria, Luís Paulo e José Antônio, também a meus pais por consideração Ernesto e Marlene. Por que sem vocês, nada seria possível.

## **Agradecimentos**

Agradeço a fábrica Neodent, em nome de Geninho e Clemilda Thomé, por fornecerem apoio e material para a realização desta pesquisa.

Agradeço também a Alexander por seus conhecimentos e auxílio no preparo dos implantes.

Ao professor Sérgio Bernardes e meus colegas de mestrado pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a Jaqueline Lucas e Daiane Peniche pelo valioso auxílio na montagem das peças.

Agradeço de maneira especial a professora Ivete Sartori, que nos inspira a realizar uma odontologia justa e bela, ensinando a todos com arte, ciência e amor.

Agradeço a professora Cyntia Picheth, minha co-orientadora, que sempre me atendeu com muito carinho e dedicou muito de seu tempo para a conclusão do trabalho.

E por fim agradeço muito a professora Ana Cláudia Melo, minha orientadora, minha incansável mestra, ensinando de maneira doce e responsável que é possível quebrar barreiras e superar limites.

## Sumário

Resumo

Abstract

1. Introdução	09
2. Revisão de Literatura	11
3. Proposição	31
4. Materiais e Métodos	32
5. Artigo Científico 1	41
6. Artigo Científico 2	60
7. Referências	65
8. Apêndice	70
9. Anexo	77

## Resumo

O objetivo deste estudo foi comparar, *in vitro*, os sistemas de implante de hexágono externo e cone morse, frente ao vedamento bacteriano entre implante e pilar, por meio de uma nova metodologia. Foram utilizadas 24 amostras igualmente divididas em dois grupos, sendo o grupo I composto por implantes hexágono externo (Neodent, Curitiba, Brasil) e o grupo II por implantes cone morse (Neodent, Curitiba, Brasil). Os implantes foram perfurados em sua porção apical com uma fresa de 1mm de diâmetro, até o encontro de sua câmara interna. Foram instalados pilares de titânio em cada grupo com torque recomendado pelo fabricante (32 e 10 N.cm, respectivamente). As peças foram anexadas a tampas de tubo de ensaio, com a porção do componente voltada para o interior do tubo. Os tubos de ensaio foram preenchidos com meio de cultura líquido (BHI), utilizando-se seringa estéril. Todos os conjuntos receberam esterilização por radiação Gama (Embrarad, Campinas, Brasil). Após a confirmação da efetividade da esterilização por meio de amostras controle, os orifícios apicais foram cuidadosamente desobstruídos e inoculados com cepas de *E. coli*. O controle de turvamento das amostras foi realizado diariamente, os resultados apontaram que 60% das amostras do grupo I sofreram contaminação num período de até 14 dias, e 30% para os implantes do grupo II no mesmo período. Após este período não ocorreu nenhuma contaminação em ambos os grupos. De acordo com os resultados obtidos foi concluído que a interface implante/pilar de implantes cone morse mostrou melhor vedamento bacteriano em relação ao implante hexágono externo.

**Palavras-chave:** Implante dentário; Microbiologia; Contaminação.



## **Abstract**

The aim of this study was to compare, in vitro, external hexagon and morse taper implant systems, considering bacterial sealing between implant and abument, using a new methodology. Twenty four specimens of implants equally divided into two groups, group I composed by external hexagon (Neodent, Curitiba, Brazil) and group II by morse taper (Neodent, Curitiba, Brazil) designs. The implants were apically perforated with a 1mm bur until it reached its internal chamber. Prosthetic components with the recommended torque (32 e 10 N.cm, respectively) were adapted for each group. The implants were attached to the coverage of essay vial, with the abutment end positioned into the tube. Using a sterilized syringe the essay vials were filled with liquid culture medium (BHI). All the specimens were sterilized by Gama radiation (Embrarad, Campinas, Brazil). After confirming the efficacy of sterilization using control samples, the apical hole was carefully opened and inoculated with *E. coli*. The control of sample turvation was daily performed and the results pointed that 60% of the samples of group I were contaminated in a 14-day period as well as 30% group II. After this period there was no contamination in both groups. Considering the obtained results it was concluded that morse taper implants presented better bacterial sealing than external hexagon implants.

**Key words:** Dental implantation; Microbiology; Contamination.

## 1. Introdução

O desenvolvimento de implantes dentários endósseos confeccionados em titânio proposto pelo professor Brånemark na década de 60, revolucionou a Odontologia ao possibilitar a reabilitação de pacientes com edentulismo total e parcial<sup>14</sup>. Desde então, vários foram os estudos científicos que comprovaram o sucesso a longo-prazo das reabilitações implanto-suportadas<sup>2,34</sup>. Contudo, os critérios de avaliação do sucesso dos implantes não devem se restringir ao estabelecimento da osseointegração, também é importante observar o comportamento dos tecidos moles e esqueléticos ao redor dos implantes dentários<sup>31</sup>.

Apesar do resultado da osseointegração ter se mostrado eficiente para a utilização dos implantes como suporte de peças protéticas, já foi bem documentado na literatura científica que há uma perda óssea ao redor dos implantes dentários, especialmente durante o primeiro ano em função<sup>40,27,38</sup>. Albrektsson e Zarb<sup>3</sup> (1993) consideraram como critério de sucesso uma perda óssea de até 1,0 mm no ano inicial, seguida de menos que 0,2 mm nos anos subsequentes.

Um importante fator relacionado à resposta óssea ao redor do implante é a interface implante/pilar protético, onde há a presença de um *microgap*.<sup>27,31,45</sup> Alguns autores sugerem que a presença do *microgap* poderia facilitar a colonização microbiana, resultando em respostas inflamatórias do hospedeiro, com conseqüente remodelação óssea<sup>27,45,47,49</sup>. Outros, por sua vez, propõem uma correlação com micro movimentos na interface implante/pilar protético como fator determinante para a resposta óssea de reabsorção<sup>5,17,26</sup>.

A relação entre a interface implante/pilar protético e a resposta óssea tem sido estudada, e alguns trabalhos têm mostrado que diferentes desenhos de implantes têm efeitos variáveis no nível de remodelação da crista óssea ao redor dos implantes. Dessa forma, tem sido sugerido que em implantes de corpo único, nos quais não existe *microgap*, os processos de reabsorção óssea observados são mínimos, tanto

por redução na colonização microbiana como pela ausência dos micromovimentos entre os componentes, como ocorre nos implantes de duas peças<sup>27,45</sup>. Já o implante de conexão cônica interna surgiu como opção ao modelo de hexágono externo amplamente utilizado na odontologia, tendo a proposta de melhor assentamento das peças e também proporcionar menor contaminação implante/pilar protético<sup>22</sup>.

Estudos microbiológicos, principalmente com desenho experimental *in vitro*, considerando o desenho dos implantes e conexões, têm sido realizados por vários pesquisadores<sup>22,46</sup> que ressaltaram a influência significativa do tipo de interface na manutenção do nível ósseo periimplantar. Contudo, dificuldades no estabelecimento e padronização do modelo experimental, como por exemplo, qual microorganismo utilizar, experimento uni ou bidirecional, quantidade de material inoculado e aplicação ou não de simuladores de ensaio mecânico cíclico, têm impedido a interpretação e comparação segura dos resultados obtidos<sup>28,42</sup>.

Considerando-se a importância da interface implante/pilar protético para a manutenção do nível ósseo, o objetivo deste trabalho é avaliar o selamento contra infiltração bacteriana entre dois sistemas de implantes por meio de uma nova metodologia.

## 2. Revisão de literatura

A fim de facilitar a leitura, a revisão de literatura será dividida em tópicos.

### ***2.1 Aspectos biológicos da remodelação óssea peri-implantar***

Adell<sup>2</sup> et al. (1981), relataram que a perda óssea marginal média no período de cicatrização dos implantes e instalação dos pilares protéticos variou na maxila de 0,7 a 1,3 mm, e na mandíbula, de 0,3 a 1,0 mm. Após o primeiro ano a perda anual ocorreu de 0,1 a 0,6 mm na maxila e 0,1 a 0,8 mm na mandíbula.

Albrektsson<sup>4</sup> et al., em 1986, elaboraram critérios para determinar o sucesso de implantes orais. Segundo os autores os implantes não devem apresentar mobilidade quando testados clinicamente e também não devem apresentar radiolucência peri-implantar quando radiografados. Ainda, a perda óssea vertical deve ser inferior a 0,2mm anualmente, após o primeiro ano em função e deverá ser observada ausência de sinais e sintomas de infecção. Sendo considerados níveis aceitáveis os níveis de 85% de sucesso ao final de um período de 5 anos, e 80% depois de 10 anos.

Berglundh<sup>9</sup> et al., em 1991, realizaram uma pesquisa com cães da raça Beagle na qual verificaram que os tecidos moles clinicamente saudáveis, que envolviam dentes e implantes, tinham cor rósea e consistência firme, características microscópicas em comum, e ambos apresentavam-se revestidos por um epitélio oral queratinizado, contínuo com o epitélio juncional.

Abrahamsson<sup>1</sup> et al., em 1997, avaliaram em cão, o efeito nos tecidos peri-implantares, de repetidas remoções e instalações de pilares protéticos do sistema Brånemark. Primeiramente os implantes foram instalados e reabertos após três meses para instalação dos pilares protéticos. Em seguida, mensalmente um pilar protético

escolhido para teste era removido, limpo e reinstalado. O resultado após cinco seções demonstrou que as retiradas mensais do componente teste em relação ao controle, alteraram a barreira de mucosa peri-implantar, resultando em uma perda tecidual, resultado da acomodação da dimensão biológica.

Hermann<sup>27</sup> et al., em 2001, avaliaram histometricamente a influência do *microgap* na mudança da posição da crista óssea em implantes, utilizando 59 implantes instalados em áreas edêntulas em mandíbula de 5 cães da raça Foxhound, divididos em implantes com porção superior lisa, áspera, jateada e duplo ataque ácido. Foram utilizados implantes de uma peça e de duas peças sendo colocados tanto na técnica submersa como não submersa. Após 6 meses os cães foram sacrificados e notaram que a dimensão do espaço biológico para os implantes de uma peça, com a borda áspera/lisa localizada no nível da crista óssea, foi significativamente menor comparados aos implantes de duas peças, com o *microgap* localizado na crista óssea ou abaixo dela. Também foi observado que nos implantes de uma peça a margem gengival está localizada mais coronalmente e as dimensões do espaço biológico são mais similares aos dentes naturais em comparação aos de duas peças.

Todescan<sup>55</sup> et al., em 2002, estudaram as relações dos tecidos peri-implantares em torno de implantes de dois estágios em diferentes profundidades ósseas. O autor utilizou 24 implantes com dimensões 3,75x7mm (Nobel Biocare, Gutemburgo, Suécia), instalados em mandíbulas de 4 cães, divididos em três grupos: grupo I, não foi usado *countersink* e os implantes ficaram aproximadamente 1mm acima do nível ósseo; grupo II os implantes foram instalados ao nível da crista óssea e no grupo III os implantes ficaram aproximadamente 1mm abaixo da crista óssea. Após um período de três meses os implantes foram reabertos e receberam pilares (Nobel biocare, Gutemburgo, Suécia). Após três meses os animais foram sacrificados e peças da mandíbula foram avaliadas por análise histológica e histomorfométrica. Os autores concluíram que o epitélio apresentava-se semelhante nos três grupos e a posição

*microgap* entre implante e pilar em relação ao osso, não resultou em alteração na resposta óssea.

Piatelli<sup>45</sup> et al., em 2003, realizaram um estudo em macacos com o objetivo de avaliar a resposta óssea ao posicionamento do *microgap* em relação à crista óssea. Os implantes foram divididos em três grupos e realizados imediatamente após extrações dentárias. O grupo 1 foi composto por 15 implantes inseridos de 1 a 2mm acima da crista alveolar; o grupo 2 por 12 implantes instalados ao nível da crista alveolar; e o grupo 3 por 13 implantes instalados 1 a 1,5mm abaixo da crista alveolar. Após o sacrifício dos animais, foram realizadas três lâminas histológicas para cada implante. Não foi encontrado infiltrado inflamatório ou reabsorção óssea nos implantes do grupo 1. Foi encontrado infiltrado inflamatório ao nível do *microgap* e em torno de 2,1 mm de perda óssea vertical no grupo 2 e infiltrado inflamatório nos tecidos moles peri-implantares e perda óssea vertical maior que 3 mm no grupo 3. Foi concluído que se o *microgap* for movido coronalmente da crista alveolar ocorrerá menor perda óssea e se o mesmo for movido apicalmente, ocorrerá maior reabsorção óssea. De acordo com os autores essa remodelação independe da colocação de carga imediata ou precoce nos implantes.

Botticelli<sup>13</sup> et al., em 2003, realizaram um experimento em mandíbulas de cães, para avaliar a qualidade da nova formação óssea e a osseointegração em defeitos marginais adjacentes a implantes ITI (Straumann AG, Waldenburg, Suíça), instalados submersos. Foram realizadas perfurações com diâmetro maior que o da fresagem convencional, instalados implantes e recobertos com barreira de membrana (BioGide, Geistlich, Suíça). Após um período de 60 dias foram coletadas biópsias e estudadas em cortes histológicos. As observações evidenciaram que a formação de novo osso começou nas paredes do defeito preparado cirurgicamente. O contato osso/implante ocorreu inicialmente na porção apical do defeito e se estendeu até a porção coronal do implante. Os autores concluíram que a cicatrização de um defeito

marginal amplo ao redor de um implante se caracteriza por um crescimento aposicional de osso das paredes laterais e apicais do defeito ósseo.

Broggini et al., em 2005, estudaram a relação da posição da interface pilar/implante com a sustentação da inflamação marginal peri-implantar e a perda óssea. Os autores avaliaram a distribuição e a densidade das células inflamatórias que envolviam implantes com interface em três níveis ósseos: supracrestal, cristal e subcrestal. Para o estudo foram instalados 30 implantes SLA (Institut Straumann AG, Waldenburg Suíça) nos dois lados da mandíbula de 5 cães da raça foxhound, em diferentes alturas intraósseas, 2,5mm, 1,5mm e 0,5mm supracrestal e subcrestal. Os pilares foram conectados após 3 meses e removidos com intervalos de 4, 8 e 10 semanas. Após um período de 6 meses da instalação dos implantes foram preparadas peças para análise histológica histomorfométrica com objetivo de quantificar as células inflamatórias nos diferentes níveis ósseos. Os resultados descritos pelos autores apontam que ocorre um significado aumento de neutrófilos para a interface subcrestal, tendo ainda os autores indicando que existe uma correlação da profundidade da interface pilar/implante com a intensidade de perda óssea.

Lazzara e Porter<sup>33</sup>, em 2006, ilustraram, por meio de acompanhamento radiográfico de 13 anos, a resposta óssea peri-implantar observada quando componentes protéticos com diâmetro inferior ao do implante foram utilizados, situação denominada pelos autores como plataforma *switching*. De acordo com os autores, essa característica de diferentes diâmetros entre a plataforma do implante e componente protético pode ser responsável por preservação da crista óssea, contudo afirmaram que estudos científicos são necessários para comprovação de tal hipótese.

Luongo<sup>35</sup> et al., em 2008, avaliaram histologicamente os processos biológicos ao redor de um implante instalado na região anterior da mandíbula de acordo com a técnica de plataforma *switching* removido 2 meses após fixação devido à dificuldades na reabilitação protética. A análise por microscopia ótica indicou que o implante apresentava-se circundado por osso trabecular com aproximadamente 65% de contato

osso/implante. Também foi observado infiltrado inflamatório na região da interface implante/pilar. Os autores concluíram que a característica de plataforma *switching* pareceu ser um método válido para minimizar a perda óssea na crista alveolar em consequência da união implante/pilar.

Degidi<sup>20</sup> et al., em 2008, avaliaram histologicamente e histomorfometricamente um implante (Ankylos, Dentsply Friadent, Mannheim, Alemanha), instalado em um homem de 29 anos. O implante havia sido posicionado 2mm intraósseo, e apresentava-se clinicamente saudável e em função após um período de quatro semanas. Os autores relataram a necessidade da remoção do implante por questões psicológicas do paciente, e esta foi realizada com auxílio de uma fresa trefina de 5,5mm de diâmetro. A peça óssea contendo o implante foi preparada e seccionada para análise microscópica. Os autores descreveram que os cortes histológicos não mostraram perda óssea marginal, não foi encontrado bolsas infraósseas e era possível observar em nível de ombro do implante, a presença de tecido conjuntivo denso com poucas células inflamatórias. Nova formação óssea foi observada em contato direto com a superfície do implante, sendo a porcentagem de contato ósseo de  $65,3 \pm 4,8\%$ . Os autores concluíram que pilares de menor diâmetro que o corpo do implante (plataforma *switching*) em combinação com micromovimentos e *microgaps* pode proteger os tecidos moles e duros peri-implantares e assim garantir uma ausência de reabsorção óssea.

Recentemente, Canullo<sup>17</sup> et al., publicaram os resultados de um estudo clínico, á curto-prazo, cujo objetivo foi avaliar a resposta óssea ao redor de implantes submetidos à carga imediata usando o conceito da plataforma *switching*. Vinte e dois pacientes, com idades variando de 32 a 76 anos (média de  $50 \pm 14,46$  anos) foram incluídos na amostra e aleatoriamente divididos em dois grupos, conceito de plataforma *switching* (grupo experimental) ou protocolo tradicional (controle). Acompanhamento radiográfico dos pacientes por um período médio de 25 meses (24 a 27 meses) mostrou perda óssea média de 0,25mm na superfície mesial e 0,36mm



na superfície distal, no grupo experimental, e 1,13mm na superfície mesial e 1,25mm na superfície distal no grupo controle. Os valores médios no grupo experimental foram estatisticamente significantes em relação ao grupo controle. Em relação à avaliação clínica periodontal, não houve diferença estatística entre os grupos.

Também em 2009, Calvo-Guirado<sup>16</sup> et al., realizaram um estudo clínico prospectivo cujo objetivo foi avaliar o índice de sobrevivência e resposta da crista óssea ao redor de implantes unitários reabilitados de acordo com o conceito da plataforma *switching*. Sessenta e um implantes imediatos foram instalados e submetidos à avaliação clínica e radiográfica no dia da instalação e após 15 dias e 1, 2, 3, 6, 8 e 12 meses. Os parâmetros clínicos observados foram a análise de frequência de ressonância (ISQ) (Osstell mentor device), a espessura de mucosa queratinizada na face vestibular, a presença ou ausência de supuração e a profundidade de sondagem. Os resultados mostraram perda óssea horizontal, após 12 meses, de 0,08mm e 0,09mm nas faces mesial e distal, respectivamente. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre a média inicial do ISQ ( $71,1 \pm 6,2$ ) e após 12 meses ( $75,8 \pm 6,9$ ), assim como na espessura de mucosa queratinizada. A profundidade de sondagem média variou de 3mm (face vestibular) a 3,7mm (faces proximais). O índice de sobrevivência observado foi de 96,7%.

Proper<sup>46</sup> et al., em 2009, com o objetivo de comparar as alterações na crista óssea ao redor de implantes (convencional ou plataforma aumentada) instalados de acordo com três protocolos cirúrgicos, convencional não submerso, submerso e submerso com pilar reduzido, realizaram um estudo multicêntrico prospectivo. Sessenta pacientes parcialmente edêntulos foram incluídos no estudo em 12 diferentes centros, resultando num total de 360 implantes instalados (60 em cada grupo). Exames clínicos incluindo a mobilidade do implante, higiene oral presença ou não de infecção peri-implantar e condições dos tecidos moles foram realizados no momento da instalação dos implantes e após 12 e 24 meses. Avaliação em radiografias periapicais, nos mesmos tempos, foi realizada a fim de mensurar a

resposta da crista óssea peri-implantar (nas superfícies mesial e distal). Três implantes controle falharam. Todos os implantes com plataforma aumentada instalados submersos e 92% dos não submersos não exibiram perda óssea. Os implantes com plataforma e pilar de mesmo diâmetro exibiram mais perda óssea que aqueles com plataforma aumentada. Os autores concluíram que o uso do conceito da plataforma switching e de implantes com plataforma aumentada, quando comparados com implantes cilíndricos instalados segundo protocolo cirúrgico convencional, reduz significativamente a perda óssea peri-implantar.

## ***2.2 Aspectos mecânicos da interface implante pilar protético***

Binon<sup>12</sup>, em 1996, estudou, por meio de testes mecânicos, a adaptação dos componentes de três sistemas de implantes de hexágono externo, Steri-Oss (Hexlock), Lifecore e Calcitek, obtendo desadaptação média das faces opostas do implante e pilar protético variando entre 2,685 e 2,700µm. Segundo o autor, os três sistemas demonstraram bom padrão de usinagem.

O'Mahony<sup>40</sup> et al., em 2000, estudaram como o desenho dos implantes pode influenciar na retenção de placa bacteriana, por meio de uma análise retrospectiva de quarenta e cinco implantes mal sucedidos em 40 pacientes, que não apresentavam significado fator de risco, (diabetes, fumante) e estavam em função em média por 4 anos. Os implantes e pilares foram analisados por microscopia eletrônica de varredura, sendo observado acúmulo de placa bacteriana nas interfaces implante/pilar, pilar/prótese, superfície do implante, do pilar e da prótese. Os autores concluíram que a quantidade de desadaptação entre componentes, a rugosidade da superfície e o sobrecontorno das restaurações contribuíam para o acúmulo de placa bacteriana. Os autores também mencionam que estas características no desenho do implante podem precipitar ou exacerbar fatores da inflamação peri-implantar, predispondo o paciente à falha do implante.

Assenza<sup>6</sup> et al., em 2003, estudaram a remodelação óssea da crista marginal em implantes, que receberam carga em relação a implantes sem carga, utilizando cães da raça beagle. Os autores compararam os dois grupos aos seis e aos doze meses, não encontrando diferenças nos níveis de reabsorções ósseas entre os dois grupos. Quando comparou as cristas ósseas entre os períodos (6 meses), foi encontrado diferença estatística significativa. Os autores concluíram que a carga ao implante não parece ser um fator relevante na reabsorção da crista óssea peri-implantar durante o primeiro ano em função e acreditam que existe relação da perda óssea com a localização do gap na interface implante/pilar.

Çeheli<sup>18</sup> et al., em 2004, compararam a resistência de pilares sólidos e pilares cimento retidos em implantes do sistema SynOcta "ITI", (Straumann AG, Waldenburg, Suíça). Para a realização do trabalho foram utilizados 16 implantes SynOcta "ITI", inseridos em dois modelos metálicos, o primeiro grupo recebeu pilares SynOcta cimentados e o segundo pilares sólidos. Todos os grupos receberam o torque recomendado pelo fabricante (35 N.cm), e coroas cimentadas. Testes cíclicos, (500.000 ciclos de 0,5 Hz e ângulo de 20°) foram realizados individualmente em cada coroa protética. Os autores avaliaram as peças a cada 100.000Hz, por meio do aparelho Periotest e no final da ciclagem os valores de desparafusamento. Os autores descreveram que todos os implantes e pilares estavam clinicamente imóveis e sem qualquer sinal de falha mecânica. Os resultados avaliados pelo Periotest foram semelhantes para ambos os grupos. Tendo os autores concluído que podem ser alcançados resultados clínicos previsíveis, tanto com o uso de pilares sólidos como com pilares cimentados SynOcta e que pilares sólidos possuem torque de remoção mais alto que pilares SynOcta, quando conectados a implantes SynOcta "ITI".

Barbosa<sup>8</sup> et al., em 2007, estudaram em modelos experimentais, a relação dos diferentes níveis de desajustes, usando implantes e pilares calcináveis do modelo UCLA, levando em consideração as várias fases do processo de fundição e solda e as deficiências de trabalho entre três laboratórios protéticos. Os laboratórios

confeccionaram uma mesma peça protética fundida. Todos os modelos tiveram valores consideráveis de desajustes variando de 0,8 a 54,1  $\mu\text{m}$  para fundições e de 1,7 a 51,7  $\mu\text{m}$  para soldagens. Os autores concluíram que os valores de ajuste obtidos no estágio de fundição de pilares UCLA, podem ser influenciados quando processados por diferentes laboratórios e que o processo de solda convencional, por si só, aumenta o grau de desajuste da infra-estrutura, independente do laboratório que a realizou.

Kano<sup>29</sup> et al., também em 2007, realizaram um estudo comparativo da interface pilar/implante, segundo quatro métodos de confecção de pilares. Foram utilizados 48 implantes e 48 pilares de plataforma hexagonal (Conexão Master, São Paulo, Brasil), que foram divididos em 4 grupos: 12 pilares de titânio usinados, 12 pilares pré-usinados de prata-*palladium*, 12 pilares calcináveis de liga níquel-cromo e 12 pilares de liga cobalto-cromo. A comparação dos *microgaps* horizontais e verticais foi realizada em oito locais de cada peça, e medida com auxílio de um microscópio óptico e aumento de 150x. Os autores relataram não encontrar diferenças significativas de desajuste vertical quando comparados os grupos. No sistema de classificação proposto, 23% de todos os locais medidos à interface de implante-pilar tiveram uma relação ideal, 34% só tiveram uma discrepância horizontal, 4% só tiveram uma discrepância vertical, e 39% tiveram discrepâncias verticais e horizontais.

Meng<sup>37</sup> et al., em 2007, reproduziram as condições orais, ciclos mastigatórios, temperatura e saliva artificial para testar 3 implantes de diferentes desenhos de pescoço, RN standart.1, RN synOcta 4.1 e RN synOcta TE 4,1 (Straumann AG, Waldenburg, Suíça). Observaram que diferenças no desenho do pescoço entre os 3 tipos de implante resultaram em diferenças na micromovimentação superficial pilar/implante após simulação de condições orais.

Barbosa<sup>7</sup> et al., em 2008, estudaram a relação entre desajuste vertical entre pilar/implante e a soltura de parafusos dos pilares. Os autores prepararam 5 implantes tipo hexágono externo, (Titamax, Neodent, Brasil), de plataforma regular (4,1), inseridos em uma matriz metálica que recebeu infra-estruturas tipo UCLA enceradas e

fundidas. Após o torque recomendado pelo fabricante (20 Ncm), foram analisados os desajustes por microscopia eletrônica de varredura (Mytutoyo, Japão). Foi concluído que não necessariamente grandes valores de desajustes verticais implicarão em grandes perdas de torque.

Alonzo<sup>5</sup> et al., em 2008, realizaram um estudo cujo objetivo foi avaliar o desajuste marginal vertical de infra-estruturas metálicas de prótese fixa sobre implantes. Foram confeccionadas 10 infra-estruturas em liga de cobalto-cromo (Co-Cr), simulando uma prótese fixa de três elementos sobre dois implantes (Conexão, São Paulo, Brasil), sendo a distância entre implantes de 18 mm e fixados em uma matriz metálica. Cinco infra-estruturas foram confeccionadas com cilindros pré-usinados. Outras cinco foram confeccionadas com cilindros calcináveis. Todas as infra-estruturas foram fundidas pela técnica de indução e soldadas a laser. As leituras do desajuste marginal foram realizadas por meio de microscopia eletrônica de varredura, utilizando a técnica do parafuso único (10 N.cm), totalizando 25 medições em cada cilindro. Os autores não encontraram diferença estatística no grau de desajuste marginal entre os grupos testados (média de 8,53µm para o pré-fabricado e 11,81µm para o calcinável). Apenas houve diferença quando comparados os cilindros com e sem parafuso. Concluíram que não há diferença de adaptação marginal entre as infraestruturas fundidas em Co-Cr com cilindros calcináveis e pré-usinados, utilizando fundição por indução, soldagem a laser e teste do parafuso único.

Maia<sup>36</sup> et al., em 2009, avaliaram a desadaptação na interface entre implante e pilar protético em três sistemas de implantes comercializados no Brasil (Titanium Fix CM, Intra-Lock CM, SIN CM). Foram testadas quatro amostras de cada sistema, que sofreram os torques recomendados pelos fabricantes. Em seguida foram analisadas as medidas de desadaptação em três pontos diferentes por meio microscopia eletrônica de varredura e aumento de 5000X (Microscópio JEOL JSM-5800, EUA). Dentre os sistemas avaliados, o grupo Titanium Fix CM demonstrou maior média de

desadaptação e o sistema SIN CM a menor média. Não foi notada diferença estatística entre os três grupos e todos os grupos apresentaram desadaptação.

Freitas<sup>24</sup> et al., em 2009, realizaram uma revisão de literatura, com o objetivo de comparar as propriedades mecânicas, biológicas e estéticas dos sistemas de implante-*abutment* do tipo Cone Morse em relação aos sistemas com conexão hexagonal externa. Tendo concluído que os implantes de conexão externa, como foram os primeiros a serem utilizados tem um maior número de profissionais com domínio técnico, custo inferior e maiores opções protéticas. Os implantes Cone Morse foram mencionados com maior estabilidade mecânica e resistência a movimentos rotacionais; distribuição uniforme das forças exercidas sobre o *abutment* e melhor transmissão das mesmas para o tecido ósseo, diminuição de afrouxamento dos parafusos, redução do *gap* e diminuição de invasão bacteriana na interface implante-*abutment* com baixo potencial de perda óssea peri-implantar. Tendo o clínico a possibilidade de utilizar, com bom nível de sucesso ambos os sistemas.

### **2.3 Aspectos microbiológicos da flora bacteriana ao redor do implante dentário**

Mombelli<sup>39</sup> et al., em 1988, avaliaram a ocorrência de migração bacteriana em conectores protéticos recém-colocados em pacientes edentados totais, utilizando microscópio de campo escuro e cultura bacteriana. Observaram que a microbiota era similar à encontrada nos conectores que já estavam presentes na cavidade bucal. Dos microrganismos identificados, 86% eram cocos e 80% dos microrganismos cultivados eram cocos facultativos Gram-positivos, *A. odontolyticus*, *Fusobacterium* spp. e espiroquetas pequenas foram observados em um sítio considerado clinicamente doente. Nos implantes saudáveis, não foi observada a presença de espiroquetas. *Bacteroides* spp. Não foram encontrados com freqüência. Os autores concluíram que a migração bacteriana no sítio doente foi mais rápida quando comparado ao do sítio saudável.

Silverstein<sup>52</sup> et al., em 1994, estudaram a microbiota da região peri-implantar em áreas saudáveis e áreas inflamadas. Os autores relataram que a microbiota subgingival em dentes é semelhante à encontrada ao redor dos implantes, compostas principalmente de microorganismos anaeróbicos gram negativos, tanto na periodontite quanto na peri-implantite. O acúmulo de placa nos transmucosos ou na superfície dos implantes induz a uma resposta inflamatória ao redor dos implantes.

Quirynem<sup>47</sup> et al., em 1994, realizaram ensaios microbiológicos *in vitro*, em 32 conjuntos implante-pilar do sistema Brånemark (Nobel Pharma), todos com torque de 10N.cm. Os conjuntos foram esterilizados e 16 conjuntos foram preenchidos com soro fisiológico estéril e 16 permaneceram internamente secos. O autor imergiu totalmente 8 conjuntos de cada grupo em um meio inoculado com flora oral e os 8 conjuntos de cada grupo restante deixou parcialmente imersos, (apenas até a interface implante-pilar protético). Após um período de sete dias, foram coletadas amostras da porção interna dos conjuntos estudados, cultivadas em ágar sangue e incubadas em câmara anaeróbica a 37<sup>0</sup>C. Foi observada a presença de bactérias tanto nos conjuntos totalmente submersos como nos parcialmente imersos. Os autores concluíram existir duas possíveis vias de penetração bacteriana, interface implante-pilar e parafuso do pilar protético.

Persson<sup>43</sup> et al., em 1996, conduziram um estudo para examinar a microbiota da superfície interna dos implantes em 10 pacientes edêntulos que foram tratados com próteses parciais fixas sobre implantes em um total de 28 fixações sistema Brånemark. As próteses estavam em função por períodos de 1 a 8 anos, foram checadas em relação a estabilidade e removidas. Amostras de bactérias foram obtidas das várias superfícies internas dos implantes com auxílio de um bastão plástico estéril. As amostras foram cultivadas em ágar sangue e estimadas e identificadas. A identificação bacteriana foi baseada na coloração de gram, sensibilidade ao oxigênio e testes bioquímicos. Após um período variado em função na cavidade oral, foi encontrada uma microbiota anaeróbica primária e heterogênea. As amostras individuais

mostraram uma grande variação de espécies encontradas. Não houve nenhuma relação aparente entre tempo do implante em função e perda óssea marginal em nenhuma amostra. Nenhuma relação foi observada entre o tipo e comprimento dos pilares, estabilidade dos pilares, perdas ósseas, tipo e número dos microorganismos encontrados. A flora encontrada consistia principalmente de facultativos e *Streptococcus* anaeróbicos, Gram positivos com o *Propionibacterium*, *Eubacterium* e espécies de *Actinomices* e Gram negativos anaeróbicos incluindo *Fusobacterium*, *Prevotella* e espécies de *Porphyromonas*. Foi sugerido que a presença de bactérias no interior do implante é resultado da contaminação do pilar durante o primeiro e segundo estágios de sua instalação e/ou uma transmissão de microorganismos do meio oral durante a subsequente instalação fixa.

Jansen<sup>28</sup> et al., em 1997, analisaram *in vitro*, 13 diferentes implantes e pilares protéticos de nove sistemas diferentes, inoculando 0,5 µl de suspensão de *Escherichia coli* ATCC 25922, no interior dos implantes, que foram mergulhados em caldo de cultura por 14 dias. Também analisaram o *microgap* entre implante e componente protético por análise microscópica eletrônica de varredura (MEV). Foi analisado do 1º ao 14º dia. A diferença do número de amostras que apresentaram infiltração ao fim de 14 dias foi pequena, e na maioria dos casos a infiltração ocorreu nos dois primeiros dias. Neste estudo uma amostra de cada sistema foi escolhida e analisada no MEV, revelando que o valor médio para todos os sistemas foi inferior a 5 µm. Os testes demonstraram haver presença microbiana em todos os sistemas analisados, com menor índice para o sistema Frialit-2.

Keller<sup>30</sup> et al., em 1998, compararam as características clínicas e microbiológicas na área peri-implantar entre supra-estruturas cimentadas e parafusadas. O estudo foi realizado em 15 pacientes reabilitados com implantes ITI, sendo 15 próteses parafusadas, 5 cimentadas e também para fins de comparação 60 áreas periodontais em dentes próximos. Após estudo microbiológico os autores encontraram microbiota mais madura nas fixações cimentadas, predomínio de cocos



gram positivos nos dois grupos. Também encontraram *Porphyromonas gingivalis* em 10% das amostras periodontais e em apenas uma amostra peri-implantar, detectaram *Prevotella intermedia* em 33% das áreas periodontais e 30% em áreas peri-implantares, *Fusobacterium spp* com prevalência de 58% em sítios periodontais e 50% de amostras peri-implantares e *Actinobacillus actinomycetencomitans* foi encontrado apenas em uma superfície interna de uma supra-estrutura parafusada. Segundo os autores os resultados podem evidenciar que: Desajustes entre pilares e supra-estruturas parafusadas de implantes são colonizadas por bactérias. A composição da microflora do sulco peri-implantar e internamente na supra-estrutura é influenciada pela flora dental e que o modo de fixação (parafusada ou cimentada) tem pequena influência microbiológica ou clínica.

Gross<sup>26</sup> et al., em 1999, realizaram um estudo comparativo para avaliar o grau de microinfiltração de fluidos na interface pilar/implante de diferentes sistemas de implantes com vários torques de inserção. Os sistemas avaliados foram: Spline (Sulzer Calcitek, Califórnia, EUA), CeraOne (Nobel Biocare), ITI (Straumann, Waldenburg, Suíça), Steri-Oss (Steri-Oss, California, EUA) e 3i (Implant Innovations, Flórida, EUA). Os implantes foram seccionados em seu ápice formando um canal até a base da câmara do parafuso do pilar. Os pilares foram instalados com torques de 10Ncm, 20Ncm e o recomendado pelo fabricante. Foi introduzida no interior dos implantes uma solução de violeta de genciana. O ápice de cada implante foi conectado ao sistema de pressão de 2-atm, por meio de tubos de silicone, sendo que a extremidade do pilar permanecia mergulhada em água destilada. O vazamento de violeta de genciana foi medido por espectrofotômetro. Controles após 5, 20 e 80 minutos do início da pressão detectaram vazamentos em todos os sistemas, porém notou-se que à medida que o torque de fechamento aumentava, estes eram reduzidos. A análise da variância mostrou interação significativa entre torques de fechamento e vazamentos das microfissuras, de forma que a utilização de torque recomendado pelo fabricante pode reduzir o extravasamento de líquidos pela interface pilar/implante.

Bessimo<sup>11</sup> et al., em 1999, realizaram um estudo *in vitro*, sobre a infiltração bacteriana entre implante-pilar do meio externo para o interno e vice-versa, utilizando 30 implantes e componentes do sistema Há-Ti implant system (Mathys Corporation, Bettlach, Suíça). Foi instalada uma coroa pré-fabricada com um parafuso fixado transversalmente. Para avaliar o selamento das amostras testes, foi cuidadosamente inoculado uma quantidade de 2 microlitros de cultura de *Staphylococcus aureus* ZIB 6901 na porção interna do hexágono. Depois do aparafusamento do pilar, mais 2 microlitros eram inoculados por meio de pipetas na sua cavidade superior. Após desinfecção externa com etanol a 70%, as amostras eram submersas em 4 ml de caldo de soja e inoculadas a 37°C por uma semana. Não ocorreu extravasamento do material da cavidade interna do implante para o meio de cultura em nenhuma amostra teste após uma semana.

Orsini<sup>41</sup> et al., em 2000, realizaram uma autópsia microbiológica e histológica de peças removidas de paciente falecida por acidente vascular cerebral (AVC), cinco meses após instalação de dois implantes. As peças foram preparadas e sofreram cortes de 30 a 100µm, foram coradas e observadas em microscópio (Leitz, Wetzlar, Alemanha) em luz normal e polarizada. Em baixa magnificação, a histometria mostrou osso maduro em aproximadamente em 50% das superfícies dos implantes, em algumas áreas *gaps* de 20 a 30µm estavam presentes, osso maduro com pequenos espaços medulares e pequenas lacunas osteócitas estavam presentes nos dois implantes, grandes lacunas osteocíticas estavam presentes na interface. Na porção coronal dos tecidos, foi encontrado um infiltrado inflamatório, composto por linfócitos e células plasmáticas. Um *gap* de 1 a 5µm estava presente entre o implante e o cicatrizador, e este espaço estava preenchido por bactérias e cálculo, também foram encontradas bactérias nas porções mais internas do implante apesar de não ter sido encontrado bactérias nas regiões externas dos implantes e cicatrizadores, pela boa higiene da paciente. Tendo os autores sugerindo que a análise da biópsia pode ajudar a confirmar a penetração de fluidos e bactérias na porção interna de implantes.

Piattelli<sup>44</sup> et al., em 2001, compararam em um estudo *in vitro* a infiltração bacteriana e a passagem de fluídos na porção interna de conexões sobre implantes cimentadas e parafusadas. Foram empregados no estudo 12 implantes com pilares retidos por cimentação e 12 pilares retidos por parafusos. Os critérios avaliados foram avaliação por microscopia eletrônica de varredura e análise de infiltração de fluídos e de bactérias. Inicialmente tiras de 4 mm de cone de papel absorvente foram colocados no interior de cada implante e então parafusados ou cimentados aos respectivos pilares. Os conjuntos foram totalmente imersos em solução de toluidina por 30 horas. Os pilares foram desparafusados ou seccionados e os cones de papel avaliados se estavam corados ou não. Outra fase do experimento avaliou a infiltração bacteriana do meio externo para o interno pela imersão dos conjuntos pilar-implantes em meios de suspensão de *Pseudomonas aeruginosas*. Os resultados evidenciaram que próteses retidas por aparafusamento apresentam maior *gap*. Nenhuma penetração de fluídos ou de bactérias foi observada nos componentes das próteses cimentadas. Contudo, segundo os autores, dependendo da solubilidade do cimento no meio intra-oral, poderia haver uma dissolução do material de cimentação e exposição do *gap*.

Quirinen<sup>48</sup> et al., em 2002, realizaram uma revisão de literatura relacionando o risco de infecções com a perda de implantes. Os autores descrevem que a não ocorrência da osseointegração pode estar associada com a presença de bactérias intraorais e/ou de reações inflamatórias concomitantemente. Ainda relacionam que a falha de implantes pode estar relacionada com a sobrecarga oclusal e que os microorganismos da peri-implantite, induzida por placa microbiana, é semelhante aos da periodontite (alta proporção de bacilos anaeróbios Gram negativos, organismos móveis e espiroquetas) e que a relação da periodontite com a peri-implantite pode variar e acordo com o tipo de implante e especialmente com sua topografia.

Dibart<sup>22</sup> et al., em 2005, realizaram uma avaliação *in vitro* da interface implante-pilar do sistema Bicon (Cone Morse). Foram utilizados 25 implantes e os testes conduzidos em duas diferentes direções, capacidade do selamento cone morse

de evitar a invasão de bactérias do meio externo e prevenir a saída de bactérias oriundas da porção interna para a externa. Para a primeira parte da pesquisa 10 implantes foram adaptados aos seus componentes, receberam o torque recomendado pelo fabricante, e foram totalmente imersos em tubos de ensaio contendo 10 ml de suspensão de bactérias *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Streptococcus oralis* e *Fusobacterium Nucleatum*. As peças foram incubadas em câmara de anaerobiose a 37°C por 24 horas, em seguida desmontadas e analisadas na sua porção mais interna quanto à presença de bactérias. Para a segunda avaliação foi aplicada uma solução de 0,1 microlitro na porção apical de quatro pilares, sendo 1 utilizado como controle positivo, três como teste e 1 pilar não recebeu a solução para ser o controle negativo. Todas as 5 peças foram submersas em caldo de infusão e incubados em câmaras de anaerobiose a 37°C por 72 horas. Não houve evidência de presença de bactérias em nenhuma amostra analisada e nenhuma bactéria foi detectada no meio de cultura após 72 horas.

Scarano<sup>50</sup> et al., em 2005, publicaram um estudo de uma avaliação em implantes que precisaram ser removidos e observaram a presença bacteriana em suas conexões. Os autores selecionaram 272 implantes condenados por diversas causas ao longo de 16 anos (1989 a 2004). Os implantes foram divididos em dois grupos: 170 que receberam próteses parafusadas e o segundo grupo 102 implantes com próteses cimentadas. No primeiro grupo não foi encontrada em nenhuma peça estudada uma adaptação perfeita entre o implante e seu transmucoso e foram encontradas nesta região muitas colônias bacterianas, inclusive na porção interna dos implantes. No segundo grupo o cimento ocupava todos os espaços. Na área implante-pilar não foi encontrada presença bacteriana. Os autores concluíram que em conexões retidas por parafusos o *microgap* pode ser considerado um fator crítico para colonização bacteriana.

Steinebrunner<sup>53</sup> et al., em 2005, avaliaram em um estudo, *in vitro*, a infiltração bacteriana ao longo da interface implante-pilar em diferentes sistemas de implantes,

sob carga usando um simulador de mastigação. Cinco diferentes sistemas de implantes Branemark System (Nobel Biocare), Frialit-2 (Dentsply Friadent), Camlog (Altatec), Replace Select (Nobel Biocare) e Screw-Vent (Zimmer Dental) foram estudados. Foi inoculado 5 µl de uma suspensão de *E. coli* no interior dos implantes e conectado a sobre-estrutura com o torque recomendado pelo fabricante. Foram excluídos da amostra os conjuntos que apresentassem contaminação externa. Os conjuntos foram fixados em câmaras de teste e parcialmente imersos em caldo de cultura. Em cada coroa foi aplicada carga cíclica de 120N de força e 1.200.000 ciclos a 1 Hz, por meio do simulador de mastigação Willyted (Munich, Alemanha). Todas as amostras mostraram infiltração bacteriana, sendo que o sistema Canlog (hexágono interno), obteve melhores resultados frente a infiltração comparado aos outros sistemas. Os autores concluíram que o grau de infiltração em um sistema de implante é, provavelmente, uma combinação de muitos fatores, entre eles: adaptação do pilar-implante, micromovimentações entre componentes e torque.

Sequeira<sup>51</sup>, em 2005, avaliou a desadaptação entre pilares protéticos e réplicas de implantes de cinco sistemas, 3i, Frialit, ITI, Neodent e Nobel Biocare. Todos os sistemas receberam torque recomendado pelos fabricantes. Os *gaps* foram medidos por microscópio eletrônico de varredura (MEV), com aumento de 1000 vezes. Os conjuntos receberam inoculação de *Escherichia coli*, para analisar a infiltração bacteriana. Os resultados mostraram melhor ajuste para o sistema Nobel Biocare ( $0,51 \pm 0,247 \mu\text{m}$ ), seguido pelos sistemas 3i ( $3,46 \pm 0,595 \mu\text{m}$ ), bacteriana Frialit ( $3,99 \pm 1,505 \mu\text{m}$ ) e Neodent ( $4,36 \pm 1,144 \mu\text{m}$ ). Os maiores valores de desadaptação foram obtidos com o sistema ITI ( $5,54 \pm 1,522 \mu\text{m}$ ). Quanto à infiltração, os sistemas 3i e ITI apresentaram infiltração em 80% das amostras, seguidos pelo Neodent (60%) e Frialit (20%). O sistema Nobel Biocare não apresentou infiltração bacteriana.

Covani<sup>19</sup> et al., em 2006, analisaram implantes perdidos de 7 pacientes, sendo 10 implantes de titânio puro e 5 com superfície de hidroxiapatita (HÁ). Os critérios para as remoções dos implantes foram mobilidade e região radiolúcida em

torno do implante. Após a remoção, as peças foram conservadas em formaldeído a 10%. A análise histológica no nível de interface pilar/implante em implante de dois estágios identificou muitas colônias bacterianas. Esses achados parecem suportar os estudos que mostram a penetração de bactérias em nível de *microgap*. Isso pode legitimar a hipótese que o *microgap* ao nível ósseo poderia apresentar um risco para perda óssea causada por colonização bacteriana.

Dias<sup>21</sup>, em 2007, realizou um estudo *in vitro*, para analisar a adaptação e infiltração bacteriana da porção interna de implantes osseointegráveis aos pilares protéticos. O autor utilizou neste estudo seis sistemas fabricados e comercializados no Brasil: Neodent, (Curitiba, Paraná, Brasil), Titanium Fix, (São José dos Campos, São Paulo, Brasil), Conexão (São Paulo, São Paulo, Brasil), SIN (São Paulo, São Paulo, Brasil) e Dentoflex (São Paulo, São Paulo, Brasil). Foram utilizados 60 implantes no total, cinquenta amostras de implantes hexágono externo (10 de cada sistema), e 10 amostras de conexão cone morse (Neodent, Curitiba, Brasil). Após a união dos implantes a seus respectivos pilares protéticos com o torque recomendado pelos fabricantes, foram avaliadas 5 amostras de cada grupo por meio de microscopia eletrônica de varredura e para o teste microbiológico o autor inoculou 0,5 µl de *Escherichia coli* no interior de cada conjunto implante/pilar que após inseridos em tubos de ensaio com cultura (caldo MacConkey) foram observados por 14 dias. Os resultados descritos pelo autor apontaram uma maior média de desadaptação da interface implante-pilar para o grupo com implantes cone morse. Todos os grupos apresentaram infiltração positiva em pelo menos uma das amostras.

Kozlovsky<sup>32</sup> et al., em 2007, realizaram um estudo em mandíbulas de 4 cães da raça Beagle, instalando 32 implantes (HI-TEC Implant LTDA, Herzliya-Israel), sendo 4 implantes em cada hemi-arco, dois recebendo carga e 2 sem carga. O autor estimulou a colonização de placa bacteriana em um dos hemi-arcos através de ligaduras de algodão em torno dos pilares protéticos instalados, tendo assim quatro grupos de estudo: com sobrecarga oclusal e não inflamado (LU), com sobrecarga

inflamado (LI), sem sobrecarga e não inflamado (UU) e sem sobrecarga inflamado (UI). Após 12 meses os cães foram sacrificados e utilizando parâmetros clínicos e radiográficos o autor pode concluir que: Sobrecargas oclusais em implantes com ambiente peri-implantar infectado têm um significativo aumento da reabsorção óssea, mas não apicalmente ao pescoço do implante. A magnitude do efeito da sobrecarga é invariavelmente menor comparado a inflamação separadamente e da necessidade em controlar cargas oclusais e acúmulo de placa para a longevidade do implante.

Sterer<sup>54</sup> et al., em 2008, realizaram um estudo clínico para avaliar a produção de mau odor em implantes instalados de dois estágios cirúrgicos. Os autores selecionaram 14 pacientes com 59 implantes de duas peças, (Brånemark *system* e Centerpulse *system*), em diferentes profundidades de inserção de mucosa (1 a 4 mm), onde primeiro era removido o cicatrizador, e então medido a profundidade transmucosal em quatro pontos, (reportado o mais profundo). O cicatrizador foi colocado em tubos testes e mensurado a volatilidade sulfídrica (aparelho Halimeter; Interrescan, Chatsworth) e a quantidade de bactérias anaeróbicas com pontas de papel e depositadas em meio de cultura contendo 2 ml de decarboxilase e incubadas á 37<sup>o</sup> C por 72 horas. Os autores concluíram que parece ser possível relacionar a profundidade na mucosa dos implantes dentais de 2 peças, pode ser um importante fator para a presença de bactérias anaeróbicas e resultando na produção de mal odor dentro da interface pilar /implante.

Dos Anjos<sup>23</sup>, em 2009, realizou um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar a existência de infiltração bacteriana de implantes com conexão cone morse. O autor utilizou dois sistemas de implantes: 20 implantes e 10 pilares Ankylos (Dentsply, Mannheim, Alemanha) e 10 implantes e 20 pilares Neodent (Curitiba, Paraná, Brasil), que foram divididos em 3 grupos de dez implantes cada: 1<sup>o</sup>- Implante Neodent com pilar Neodent, 2<sup>o</sup>- Implante Ankylos com pilar Ankylos e 3<sup>o</sup>- Implante Ankylos com pilar Neodent. Cada implante recebeu em seu interior 0,1 µl de suspensão de *Escherichia coli* e recebeu o torque recomendado pelos fabricantes. O controle do não

extravasamento de cultura bacteriana foi realizado com um *Swab* estéril passado em todo o corpo de prova. Os conjuntos de implante/pilar e *swab* foram imersos separadamente em tubos de ensaio contendo caldo MacConkey (Merck, Alemanha). Após 14 dias de controle o autor relata não ter encontrado nenhum tipo de turvamento nas amostras dos três grupos.



### **3. Proposição**

O objetivo geral deste estudo foi comparar, *in vitro*, os sistemas de implante de hexágono externo e cone morse, frente ao vedamento bacteriano entre implante e componente protético em situação estática, utilizando uma nova metodologia.

## 4. Materiais e Métodos

### 4.1 Preparação da amostra

Para realização do ensaio laboratorial microbiológico foram selecionados 24 implantes (Neodent, Curitiba, Brasil), divididos igualmente em 2 grupos:

- Grupo I - Implantes TI Hexágono Externo (3,75 por 15 mm).
- Grupo II - Implantes Cone Morse (3,75 por 15 mm).

Os implantes foram preparados por uma equipe de engenharia, a qual realizou uma perfuração, com fresa de 1,0 mm, da extremidade apical dos implantes até atingir a câmara interna (Figura 1). Análise e remoção de qualquer rebarba no interior do implante foram preconizadas de forma a garantir que a comunicação entre o meio interno e externo fosse efetiva.

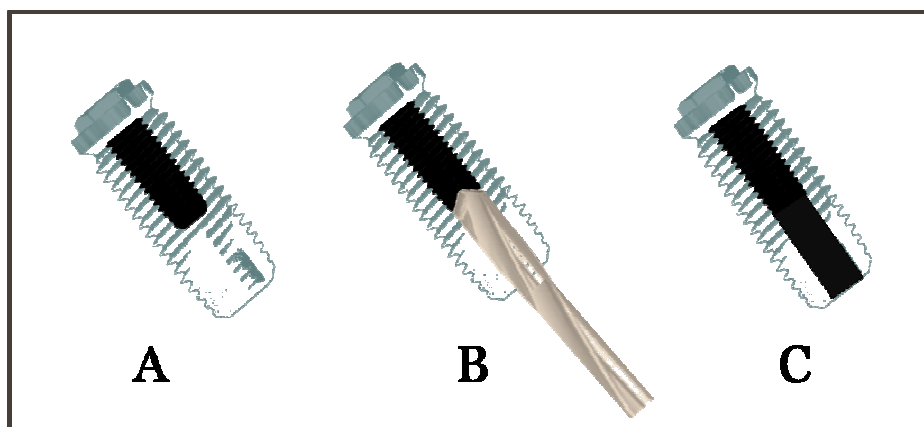


Figura 1 - A) Desenho esquemático da porção interna do implante, B) Perfuração com broca de 1mm de diâmetro no ápice do implante. C) Abertura da porção interna até a porção externa do ápice do implante.

Em seguida, em capela de fluxo laminar vertical Classe II (Labconco, Kansas City, Missouri, EUA) foram instalados munhões de titânio no grupo I e munhões cone morse com parafuso passante no grupo II (Figura 2). Os implantes foram estabilizados em uma prensa de bancada estéril.



Figura 2 - Preparo dos implantes em capela de fluxo laminar vertical.

As amostras receberam torque de acordo com as recomendações do fabricante, 30N.cm para componentes hexágonos externos e 10N.cm para os componentes de parafuso passante Cone Morse. Apenas uma amostra, devidamente identificada, de cada grupo não sofreu torque do parafuso para servir de controle positivo.

Em seguida, a fim de evitar qualquer trânsito bacteriano nesta região, a porção mais profunda do orifício de passagem do parafuso foi vedada com resina temporária Tempo (Fill Magic, Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil), na porção intermediária foi usada resina *flow* Opallis (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil) e uma terceira camada mais externa de resina microhíbrida (Fill Magic, Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil) (Figura 3). O orifício preparado no ápice do implante foi vedado com uma fina camada de restaurador temporário (Tempo) e resina microhíbrida Fill Magic, para que mais tarde fossem facilmente removidos.

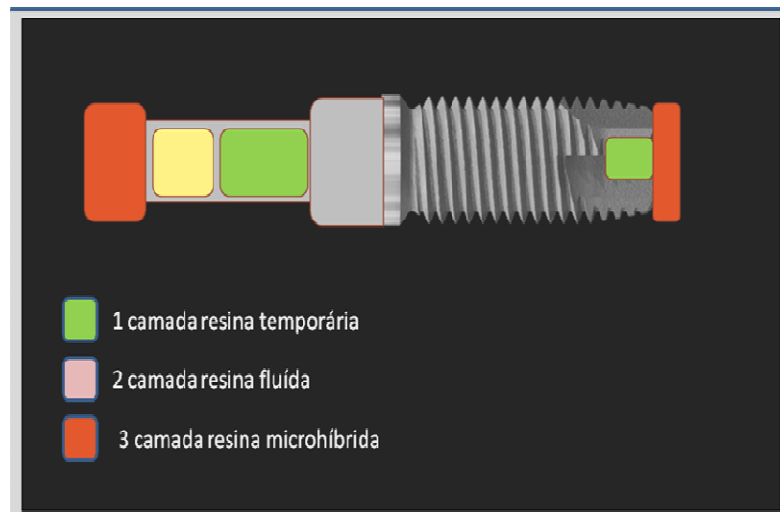


Figura 3 - Desenho esquemático dos materiais para vedamento da passagem do parafuso e ápice do implante.

Os implantes dos dois grupos foram inseridos individualmente em uma tampa de silicone padrão de tubo de ensaio, de maneira que a porção correspondente ao componente protético ficasse no interior desse tubo (Figuras 4 e 5).



Figura 4 - Detalhe da perfuração do ápice do implante na tampa do tubo de ensaio.



Figura 5 - Conjunto implante/pilar inserido na tampa do tubo de ensaio.

#### **4.2 Ensaio microbiológico**

As tampas transpassadas com os implantes foram anexadas aos tubos de ensaio padrão comercial (7 x 1 cm), e foi instalado ao sistema uma agulha de seringa descartável estéril nesta tampa, para liberar o ar no interior do tubo de ensaio, enquanto com uma seringa descartável estéril foi injetado caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) em seu interior (Figura 6), promovendo um íntimo contato entre junção pilar/implante e o caldo de cultura.



Figura 6 – Aplicação do caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) no interior do tubo de ensaio.

Externamente, foi utilizada fita plástica adesiva para selar a tampa ao tubo de ensaio (Figura 7), sendo da cor azul para os implantes de hexágonos externos e vermelha para os conjuntos cone morse. Também foi aplicada na extremidade externa da tampa uma fina camada de adesivo de silicone sem agente bactericida (Sil Trade, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) (Figura 8), a fim de evitar uma passagem bacteriana por este local.



Figura 7 – Aplicação de adesivo silicone.

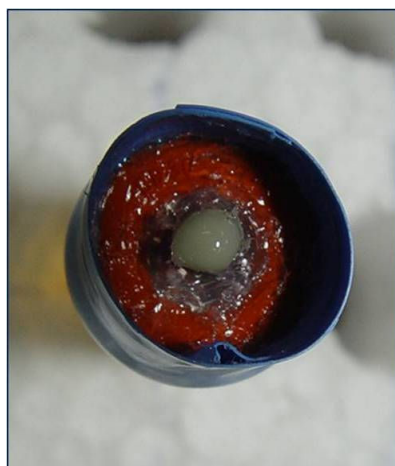


Figura 8 – Detalhe do selamento do tubo.

Os conjuntos foram numerados e embalados com plástico filme e enviados imediatamente para esterilização por raios gama com 20 Kgy (Embrarad, São Paulo, Brasil). Uma amostra foi inoculada propositalmente, para controle da efetividade da esterilização.

Ao retorno das amostras, após 4 dias, o conjunto propositalmente contaminado estava turvo indicando que ocorreu crescimento bacteriano (controle 1). Foi aberto e coletada uma amostra com *swab* estéril e semeada em placa de petri com ágar CLED (Cistina, Lactose, Eletrólitos Deficientes) e em outra placa de petri foi semeado cultura de *Escherichia coli*, e levados em estufa a 37<sup>0</sup>C por 48 horas, para análise da esterilização. Resultando em crescimento bacteriano apenas na placa controle (Figuras 9 e 10).

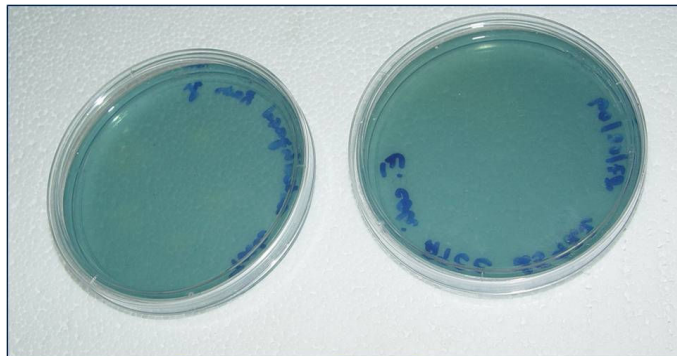


Figura 9 – Placa de Petri da esquerda recebeu material do tubo de ensaio contaminado e esterilizado por radiação gama, placa da direita, controle, recebeu esfregação com bactérias *Escherichia coli*.

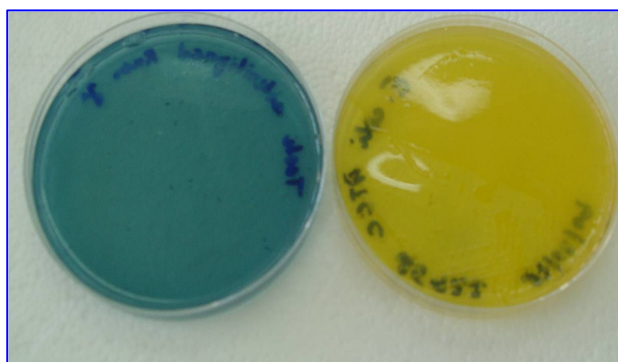


Figura 10 – Placa de Petri da esquerda não demonstrou crescimento bacteriano, placa da direita, controle, apresentou crescimento bacteriano.

Em seguida, todas as amostras foram mantidas em estufa á 37<sup>0</sup>C por 24 horas, não sendo constatada nenhuma alteração de turvamento (controle 2).

Os vedamentos apicais dos implantes foram cuidadosamente removidos e com uma micropipeta de volume variável Gilson (Alemanha), foram inoculados caldos BHI, preparados de bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922) em fase *log* de crescimento e incubados por 28 dias a 37<sup>0</sup> C (Figuras 11 e 12).



Figura 11 – Inoculação do caldo BHI com o preparado de bactérias.



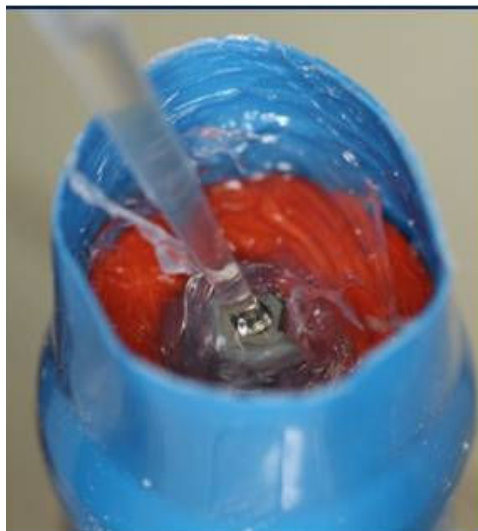


Figura 12 – Detalhe do procedimento de inoculação do caldo.

A *Escherichia coli* é uma bactéria móvel Gram negativa facultativa anaeróbica em forma de bacilo, medindo de 1.0 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro e entre 2 a 5  $\mu\text{m}$  de comprimento<sup>53</sup> Amplamente usada em ensaios laboratoriais e podendo ser encontrada em meio bucal de indivíduos saudáveis<sup>28</sup>.

As análises de turvamento foram feitas diariamente, a fim de detectar alteração do meio de cultura, e ao final de 28 dias todas as amostras (contaminadas e não contaminadas), foram abertas e submetidas à análise de crescimento bacteriano, com *swab* esterilizado e semeadas em placas de *petri* contendo meios de cultura CLED (Cistina, Lactose Eletrolitos Deficientes), por 24 horas a 37<sup>0</sup>C. Os dados foram analisados e confrontados com o tipo de cepas bacterianas inoculadas nos ápices dos implantes e submetidos à análise estatística.

## 5. Artigo Científico 1

Artigo preparado para ser enviado ao International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.

### **Analysis of the bacterial sealing at implant/abutment interface in external hexagon and morse taper implants: An in vitro study using a new methodology**

Authors:

**Mario Eduardo Jaworski, DDS**

Private office, Curitiba, Brazil

Address: Rua Brigadeiro Rocha Loures, nº 130 A Cristo Rei 83321-000 Curitiba/PR

**Ana Cláudia Moreira Melo, PhD**

Assistant Professor, Latin American Institute of Dental Research and Education

Address: Rua Marechal José Bernardino Bormann, 1508 ap. 1004, Bigorriho 80730-350 Curitiba/PR Brazil

**Cynthia Maria Telles Picheth, PhD**

Professor, Federal University of Paraná

Address: Rua Jacarezinho, 656 Mercês 80710-150 Curitiba/PR Brazil

**Ivete Aparecida de Mattias Sartori, PhD**

Assistant Professor, Latin American Institute of Dental Research and Education

Address: Rua Marechal José Bernardino Bormann, 1508 ap. 1004, Bigorriho 80730-350 Curitiba/PR Brazil

**Corresponding author:**

Mario Eduardo Jaworski

Address: Rua Brigadeiro Rocha Lourenço, nº 130<sup>a</sup> Cristo Rei 83321-000 Curitiba/PR  
Brazil Phone: 55 41 36675482 Fax: 55 41 35956000 email:

[mejodontologia@bol.com.br](mailto:mejodontologia@bol.com.br)

**Analysis of the bacterial sealing at implant/abutment interface in external hexagon and morse taper implants: An in vitro study using a new methodology**

**Abstract:**

**Purpose:** The aim of this study was to compare, in vitro, external hexagon and morse taper implant systems, considering bacterial sealing between implant and abutment, using a new methodology. **Materials and methods:** Twenty four specimens of implants equally divided into two groups, group I composed by external hexagon (Neodent, Curitiba, Brazil) and group II by morse taper (Neodent, Curitiba, Brazil) designs. The implants were apically perforated with a 1mm bur until it reached its internal chamber. Prosthetic components with the recommended torque (32 e 10 N.cm, respectively) were adapted for each group. The implants were attached to the coverage of essay vial, with the abutment end positioned into the tube. Using a sterilized syringe the essay vials were filled with liquid culture medium (BHI). All the specimens were sterilized by Gama radiation. After confirming the efficacy of sterilization using control samples, the apical hole was carefully opened and inoculated with *E. coli*. **Results:** The control of sample turvation was daily performed and the results pointed that 60% of the samples of group I were contaminated in a 14-day period as well as 30% group II. After this period there was no contamination in both groups. **Conclusion:** Considering the obtained results it was concluded that morse taper implants presented better bacterial sealing than external hexagon implants.

**Key words:** Dental implantation; microbiology; contamination.

## Introduction

Although osseointegration has been proved to be efficient to use implants to support dental prosthesis, it's well accepted in literature that a peri-implant bone loss, especially during the first year in function is present<sup>1</sup>. Albrektsson and Zarb<sup>2</sup> have considered as success criterion 1.0mm of bone loss during the first year followed by 0.2mm on the subsequent years.

An important parameter related to bone loss around dental implants is the implant/abutment interface, where a microgap is present<sup>3,4</sup>. Some authors suggested that the presence of this microgap could influence microbiological colonization, resulting on inflammatory responses and consequently, bone remodeling<sup>3,4,5,6</sup>. Other professionals suggested that micromovements at implant abutment/interface are the determinant factor for bone resorption<sup>7,8</sup>.

The relation between implant/abutment interface and bone response has been extensively studied and some papers have shown that different implant designs have variable effects on tissue response. For example, it has been suggested that one-piece implants, in which there is no microgap, bone resorption is minimal, either because of less bacterial colonization or by the absence of micromovements between the components<sup>3</sup>. On the other hand, implants with morse taper connections have been proposed as an alternative for external hexagon implants with the aim of a better stability (reduced micromovements) of the components as well as less bacterial leakage at the implant/abutment interface<sup>9</sup>. Microbiological studies<sup>6,9-16</sup>, considering implants and abutment designs have been published on literature in order to clarify the relation between implant design, bacterial sealing and bone response.

The aim of this study is to compare, using and in vitro research model, bacterial sealing in external hexagon and morse taper implants presenting a new methodology for in vitro studies.

## **Materials and Methods**

Twelve external hexagon implants (Neodent, Curitiba, Brazil) (Group I) and twelve morse taper implants (Neodent, Curitiba, Brazil) (Group II) were used in this in vitro experiment. All the implants presented the same dimensions (3.75 x 15mm).

### ***Preparation of the sample***

In order to prepare the material for the experiment, all the implants were perforated with a 1.0mm bur from its apical end until it reaches the internal chamber of the implant. Care was taken not to introduce parts of metal into the implant and after this procedure the pieces were all cleaned.

Using a Class II laminar flow cabinet (LABCONCO, Kansas City, Missouri, USA), titanium abutments for the external hexagon group and passing bolt posts for the morse taper group were seated on the implants according to the closing torques recommended by the manufacturer (32N.cm for group I and 10N.cm for group II) (Figure 1). Appropriate manual torque wrench was used (Neodent, Curitiba, Brazil). In one sample of each group the torque was not applied to the screw in order to be used as a positive control. These samples were identified.

Then, in order to avoid any bacterial leakage at this prepared area, the screw hole was sealed with three layers of resin. The deeper area was sealed with a temporary resin (Fill Magic, Vigodent, Rio de Janeiro, Brazil), the middle area with a flow Opallis resin (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brazil) and the external layer with a microhibrid resin (Fillmagic, Vigodent, Rio de Janeiro, Brazil) (Figure 2).

All the implants were individually inserted into the silicon coverage of the experimental glass tube (7 x 1cm) allowing that the prosthetic component be positioned in the inner part of the tube (Figure 3 and 4).

The coverage of the tubes were seated on the tubes and with a sterile detachable syringe Brain Heart Infusion broth (BHI) (Newprov, Paraná, Brazil), was introduced into the tube (Figure 5) while with another sterile detachable syringe the air inside the tube was removed.

The coverage of the glass tube was wrapped with an adhesive tape in order to seal it (Figure 6), blue tape in group I and red tape in group II. A thin layer of adhesive with no bactericide component was used (Siltrade, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil) (Figure 7), in order to avoid bacterial leakage at this area.

### ***Sterilization of the assemblies***

The assemblies were numbered and wrapped with a plastic film and were immediately send to sterilization by gamma rays with 20KGV (Embrarad, São Paulo, Brazil). One sample was inoculated with bacteria in order to confirm the efficacy of sterilization.

### ***Control of sterilization***

When the assemblies returned after sterilization (4 days), the broth of the inoculated sample showed turbidity, indicating that bacterial growth had happened. So it was opened and a sample was collected with a sterile swab and plated into a Petri plate with agar CLED (Cysteine lactose electrolyte deficient). In another petri plate (Control plate) *Escherichia coli* was plated and incubated at 37° C for 48 hours in order to evaluate sterilization. Bacterial growth was present only in the control plate (Figure 8 and 9).

Then, in order to certify that there was no contamination, all the samples were kept at 37°C for 24 hours and no turbidity was observed.

### **Microbiological test**

The apical seal of the implants were carefully removed and with the aid of a micropipette of variable volume (Gilson, Germany) the implants received a suspension of BHI broth with *Escherichia coli* (ATCC 25922) in log phase of growth and incubated at 37°C for 28 days (Figure 10 and 11).

The *Escherichia coli* is a gram-negative facultative anaerobic bacteria measuring from 1.0 to 1.5µm in diameter and 2 to 5 µm of length<sup>17</sup>. It's widely used in experiments and frequently observed in the oral environment of healthy subjects.

The sets were daily observed. After 28 days all samples (with or without turbidity) were opened and submitted to an analysis of bacterial growth using a sterilized swab and put in petri plate with CLED broth for 24 hours at 37°C. The data were analyzed and compared with the type of bacteria inoculated at the implant apex.

### **Results**

The two sets that did not received the recommended torque (positive controls) showed turbidity, at day 2 for group I and day 6 for group II. The two sets that were not inoculated (negative controls) showed no turbidity of the broth.

Considering the ten sets of group I, six showed bacterial growth (3 on day 2, 2 on day 6 and 1 on day 8) (Figure 12A). Four sets were clear (Figure 12B) (Table 1).

Considering the ten sets of group II, only three showed bacterial growth (2 on day 9 and 1 on day 11) (Figure 13A). Seven sets were clear (Figure 13B) (Table 2).

### **Discussion**

The successful treatment with dental implants is based on the ability to maintain osseointegration<sup>17</sup>. Studies published by Adell<sup>18</sup> and Albrektsson<sup>2</sup>, indicated that a marginal bone loss around dental implants is present specially during the first. Many studies have proposed correlations between the interface between the implant and the abutment (microgap) and bone loss around dental implants<sup>3,4,14</sup>. The reason for this

would be the bacterial colonization at this gap, with consequent inflammatory response and bone resorption<sup>3,5,6,7,11,13,14,15,17,19</sup>. Changes in platform design of dental implants seems to influence the amount of bone loss, especially when there is a difference between the diameter of the implant platform and abutment (platform *switching*)<sup>19-21</sup>. Other authors have presented excellent results when morse taper implant/abutment connection was used suggesting that it presents a better seating of the components and a better bacterial sealing<sup>9,22</sup>.

Some *in vitro* microbiological studies<sup>9</sup> observed better bacterial seal when morse taper connection is used, while Teixeira et al.<sup>23</sup>, in 2010, published a study showing 100% contamination in Morse Taper samples while Dibart et al.<sup>9</sup> (2005) showed positive results for the same connection. The contradictory results can be explained by the difficulty in standardization of microbiological methods<sup>6,7,9</sup>. Specially when there is direct inoculation of microorganisms inside the implants<sup>7,9,16</sup>. The manipulation of bacteria requires great care. For example, when direct inoculation of bacteria is proposed the possibility of accidentally contaminating the samples with the instrument used for inoculation can lead to false positive results. On the other hand, the amount of material inoculation is also an important consideration. Large volumes can overflow the inner part of the implant while small amounts, as 0.1µl evaporate very fast and can result in false negative results. Considering this, the aim of this study was to compare, *in vitro*, external hexagon and morse taper implants, in static situation, using a methodology that allows experimental inoculation via implant apex, as used by Gross et al.<sup>6</sup> in 1999.

A perforation at the implant apex was proposed until it reached the internal chamber of the implant. Abutments were seated on the implants according to the manufacturer directions. The implant/abutment sets were adapted to the coverage of glass tubes that were filled with brain heart infusion (BHI) material. The use of BHI can be justified because it allows immediate bacterial growth as is in liquid form. *Escherichia coli* was used because it's a mobile Gram negative facultative bacteria



and presents short proliferation period (20 minutes)<sup>7,17</sup>, and presents 1.0 to 1.5 $\mu$ m of length<sup>18</sup>.

The experiment was performed in a vertical flow cabinet to avoid sample contamination and gamma rays sterilization was scheduled for no more than 48 hours in order to avoid turbation of the culture medium. Two tests were applied to make sure that adequate sterilization was obtained. The first one consisted of contamination of one of the samples, sterilization and inoculation into the culture medium for 48 hours. No bacterial growth was observed. The second one consisted of maintaining the samples at 37<sup>0</sup> C for 24 hours and visual analysis of turbation.

Considering the volume of material inoculated, tests to evaluate internal area of the implant (without screw and abutment) showed 12  $\mu$ l and 10  $\mu$ l for external hexagon and morse taper, respectively. This volume amount is considerably greater than the one used in studies that directly inoculated the material into the implants, because as the prosthetic screw fills almost completely the internal area, even small amounts of material, 0,1 or 0,5 $\mu$ m are critical<sup>7,9,16,19</sup>. That's why a new via for inoculation (implant apex) was chosen.

The incubation period was of 4 weeks. The results showed that, when comparing the two groups, external hexagon system presented more contaminated samples, six in total, and the bacterial leakage occurred mainly during the first week. Morse taper implants showed half of contaminated samples (three) and just after 9 and 11 days. No alteration was observed after the 11<sup>th</sup> day. These results indicate that there is a difference in bacterial sealing between the two implant systems, either quantitatively or in relation of the day in which the contamination began. Morse taper implants contamination started some days after external hexagon implants. Morse taper system seems to promote a better bacterial leakage in relation to external hexagon design.

## Conclusion

Based on the observed results, and considering the limits of this study it can be concluded that the morse taper connection showed better bacterial seal when compared to the external hexagon design.

## References

1. Lekholm U, Gunne J, Henry P, Higuchi K, Lindhe U, Bergstrom C, Van Steenberghe D. Survival of the Brånemark implant in partially edentulous jaws: a 10 years prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:639-45.
2. Albrektson T, Zarb GA. Current interpretations of the osseointegrated response: Clinical significance. *Int J Prosthodont* 1993;6:95-105.
3. Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 2001;72:1372-83.
4. King G.N. et al. Influence of the size of the microgap on the crestal bone level in non-submerged dental implants: A radiographic study in the canine mandible. *J Periodontol* 2002;73:1111-7.
5. Piatelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezi G, Anniballi S, Scarano A. Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *J Periodontol* 2003;74:346-52.
6. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:94-100.
7. Jansen VK, Conrads G, Richter E. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:527-50.

8. Kitamura E, Stegaroiu R, Nomura S, Miyakawa O. Biomechanical aspects of marginal bone resorption around osseointegrated implants: considerations based on a three-dimensional finite element analysis. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15:401-12.
9. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. *In vitro* evaluation of the implant/abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:732-7.
10. Mombelli A, Buser D, Lang NP. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral Microbiol Immunol* 1988;3:113-20.
11. O'Mahony A, MacNeil SR, Cobb CM. Design features that may influence bacterial plaque retention: a analysis of failed implants. *Quintessence Int* 2000;31:249-56.
12. Orsini G, Fanali S, Scarano A, Petrone G, Di silvestro S, Piattelli A. Tissue reactions, fluids, and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: A case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:283-6.
13. Persson LG, Lekholm U, Leonhardt A, Dahlen G, Lindhe J. Bacterial colonization on internal surface of Branemark system implants components. *Clin Oral Implants Res* 1996;7:90-5.
14. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G. Fluids and microbial penetration in the internal part of cemented retained versus screw-retained implant-abutment connections. *J Periodontol* 2001;72:1146-50.
15. Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, Steernberghe DV. Microbial penetration along the implant components of the Brånemark system. *Clin Oral Implants Res* 1994;5: 239-44.

16. Steinebrunner L, Wolfart S, Bossmann K, Kern M. *In vitro* evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:875-81.
17. Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T. Introduction to osseointegration. In: Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T. editors. 1985. *Tissue-integrated prostheses. osseointegration in clinical dentistry*. Chicago:Quintessence.
18. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981;10:387-416.
19. Bessimo CE, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants *in vitro*. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:654-6
20. Calvo-Guirado JL, Ortiz-Ruiz AJ, López-Marí L, Delgado-Ruiz R, Mate-Sánchez J, Gonzalez LAB. Immediate maxillary restoration of single tooth implants using platform switching for crestal bone preservation: a 12-month study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:275-81.
21. Canullo L, Goglia G, Iurlaro G, Iannello G. Short-term bone level observations associated with platform switching in immediately placed and restored single maxillary implants: A preliminary report. *Int J Prosthodont* 2009;22:277-82.
22. Çehreli MC, Akça K, Iplikçioğlu H, Şahin S. Dynamic fatigue resistance of implant-abutment junction in an internally notched morse-taper oral implant: influence abutment design. *Clin Oral Implant Res* 2004;15:459-65.
23. Teixeira W, Pedrazzi V, Ribeiro RF, Sato S. Avaliação da microinfiltração do *S. aureus* na interface implante/componente protético. In: *Osseointegração: 20 anos da experiência brasileira, 2009*, São Paulo. *Anais Implantnews*, 2009. v. 1.

**Figures:**

Figure 1

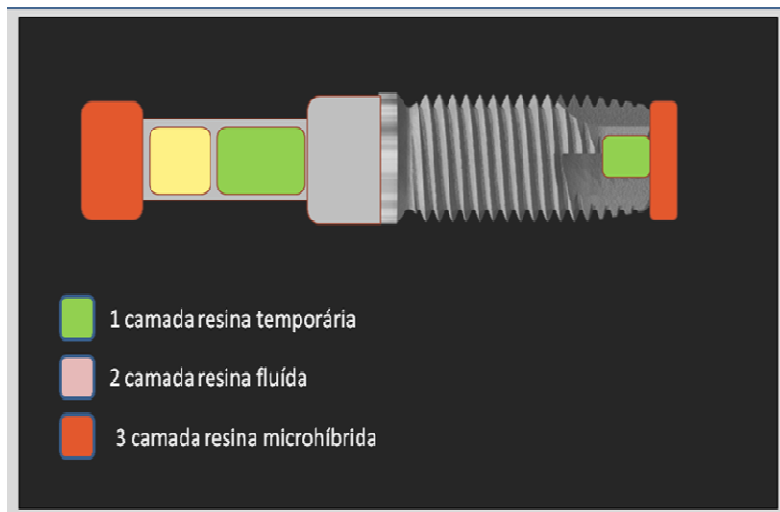


Figure 2



Figure 3



Figure 4



Figure 5



Figure 6

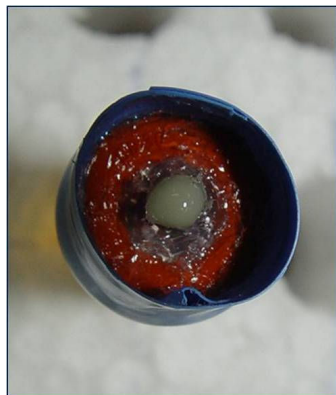


Figure 7

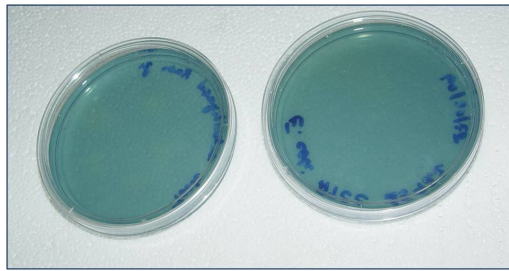


Figure 8

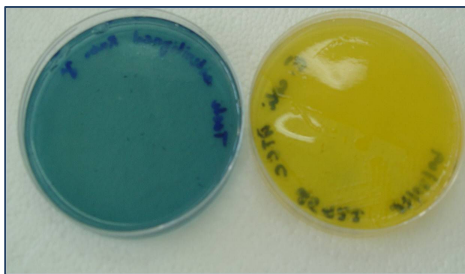


Figure 9





Figure 10

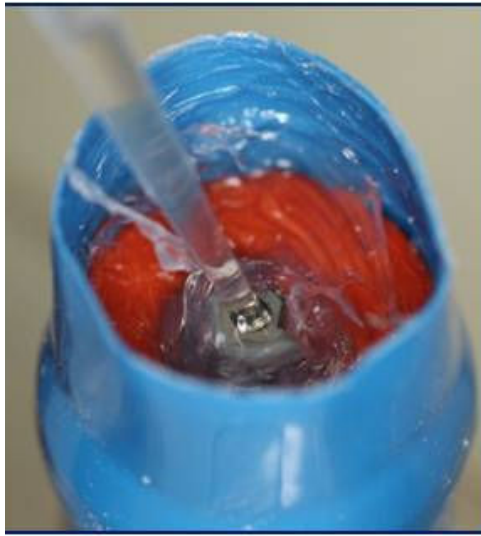


Figure 11

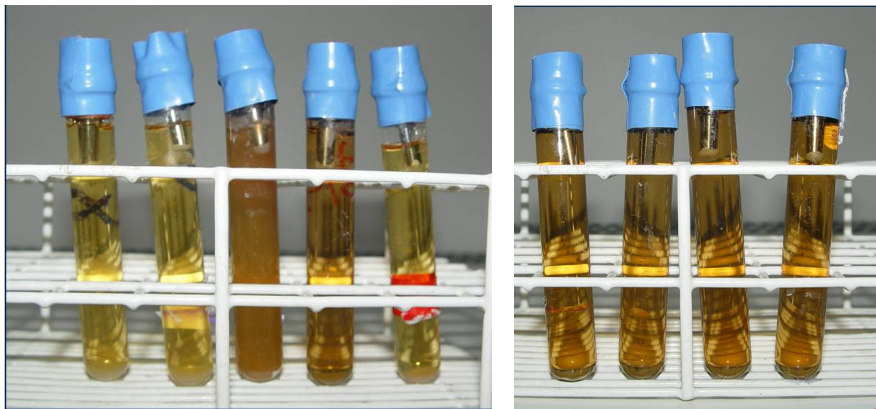


Figure 12 A and B



Figure 13A



Figure 13B

**Tables:**

<i>External Hexagon</i>		<i>Morse Taper</i>	
Time	Contamination	Time	Contamination
Day 2	3	Day 2	0
Day 6	1	Day 6	0
Day 9	2	Day 9	2
After Day 9	0	After Day 9	1
<b>Total</b>	6	<b>Total</b>	3

Table 1

**Legends**

Figure 1 – Preparation of implant/abutment sets in a Class II laminar flow cabinet.

Figure 2 – Schematic image of resin layers to close screw hole and implant apex.

Figure 3 – Implant/abutment set.

Figure 4 – Detail of apex perforation inserted into the coverage of the tube.

Figure 5 – Insertion of Brain Heart Infusion (BHI) into the glass tube.

Figure 6 – Application of the external layer of adhesive.

Figure 7 – Detail of external sealing with silicon.

Figure 8 – Left petri plate – inoculated with contaminated material after gamma sterilization; right plate – inoculated with *Escherichia coli*.

Figure 9 – Non-contaminated (left) and contaminated (right) plates.

Figure 10 - Inoculation of the bacteria into the samples.

Figure 11 – Detail of the inoculation procedure.

Figure 12. Group I sets. A. Showing bacterial growth. B. With no bacterial growth.

Figure 13. Group II sets. A. Showing bacterial growth. B. With no bacterial growth.

Table 1 - External hexagon and Morse taper results.

## 6. Artigo Científico 2

Artigo preparado para ser enviado como “Short Communication” a revista Clinical Oral Implants Research

**A new *in vitro* model for analysis of the bacterial sealing at implant/abutment interface via implant apex.**

Authors:

**Mario Eduardo Jaworski, DDS**

Private office, Curitiba, Brazil

Address: Rua Brigadeiro Rocha LoureS, nº 130 A Cristo Rei 83321-000 Curitiba/PR

**Ana Cláudia Moreira Melo, PhD**

Assistant Professor, Latin American Institute of Dental Research and Education

Address: Rua Marechal José Bernardino Bormann, 1508 ap. 1004, Bigorriho 80730-350 Curitiba/PR Brazil

**Cynthia Maria Telles Fadel Picheth, Phd**

Professor , UFPr

Address: Rua Jacarezinho Mercês 656, 80710-150

Curitiba/PR Brazil

**Geninho Thomé**

Assistant Professor, Latin American Institute of Dental Research and Education

Address: Rua Marechal José Bernardino Bormann, 1508 ap. 1004, Bigorriho 80730-350 Curitiba/PR Brazil

**Corresponding author:**

Mario Eduardo Jaworski

Address: Rua Brigadeiro Rocha LourES, nº 130 A Cristo Rei 83321-000 Curitiba/PR

Brazil Phone: 55 41 36675482 Fax: 55 41 35956000 email:

[mejodontologia@bol.com.br](mailto:mejodontologia@bol.com.br)

## Abstract

The aim of this paper is to present a new model for *in vitro studies* to analyze bacterial sealing in the implant/abutment interface of dental implants. The preparation of the sample and experimental procedures are described.

## Introduction

Many authors<sup>1-5</sup> have proposed experimental models for *in vitro* evaluation of bacterial sealing of dental implants. Generally some difficulties of standardization of the methods are observed so that the aim of this article is to present a new model for *in vitro* studies.

## Experimental model

1. Perforation of the apical end of the implant until the internal chamber using a 1.0mm bur. (Figure 1).

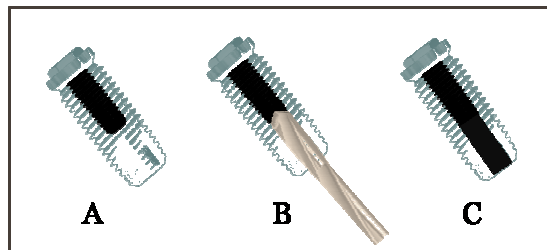


Figure 1 – Schematic draw showing implant perforation.

2. Seating of the abutment with recommended torque.
3. Sealing oh the hole with three layers of temporary resin (Figure 3).

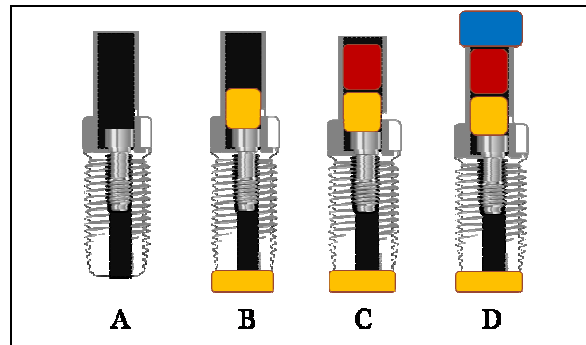


Figure 3 – Schematic draw showing the resin layers. Yellow represents a temporary resin, red a flow resin and blue a hybrid resin.

4. The sets (implant/abutment) are inserted into the silicon coverage of an experimental glass tube, with a detachable sterilized syringe the air is removed while with another syringe brain heart infusion broth is inoculated into the tube (Figure 4).

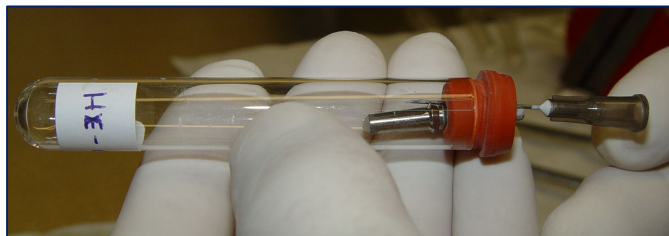


Figure 4 – Broth inoculation into the tube.

5. Sealing the tube with adhesive taper and silicon glue (with no bactericide agent) around the apex of the implant (Figure 5).



Figure 5 – A and B. Sealing of the glass tube.

6. The samples are sterilized by gamma rays.
7. Inoculation of the bacterial broth by the hole in the apex of the implant with a better control of external contamination (Figure 6).



Figure 6 – Inoculation of the broth through the hole in the apex of the implant.

### References

1. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:94-100.
2. Jansen VK, Conrads G, Richter E. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12:527-50.
3. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. *In vitro* evaluation of the implant/abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:732-7.



4. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:94-100.
5. Steinebrunner L, Wolfart S, Bossmann K, Kern M. *In vitro* evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:875-81.

## 7. Referências

1. Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1998;25:721-7.
2. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg.* 1981;10:387-416.
3. Albrektson T, Zarb GA. Current interpretations of the osseointegrated response: Clinical significance. *Int J Prosthodont.* 1993;6:95-105
4. Albrektsson T, Sennerby L. Direct bone anchorage of oral implants: clinical and experimental considerations of the concept of osseointegration. *Int J Prosthodont.* 1990;3:30-41.
5. Alonso FR, Triches DF, Teixeira ER, Hirakata LM. Marginal fit of implant-supported fixed prosthesis frameworks with prefabricated and calcinable cylinders. *Rev Odont Ciênc.* 2008;23:320-4.
6. Assenza B, Scarano A, Petrone G, Iezzi G, Thams U, San Roman F. Crestal bone remodeling in loaded and unloaded implants and the microgap: A histologic study. *Implant Dent.* 2003;12:235-41.
7. Barbosa GAS, Bernardes SR, Neves FD, Fernandes Neto AJ, Mattos MGC, Ribeiro RF. Relation between Implant/Abutment Vertical Misfit and Torque Loss of Abutment Screws. *Braz Dent J.* 2008; 19:358-63.
8. Barbosa GAS, Siamamoto Junior PC, Fernandes Neto AJ, Mattos MGC, Neves FD. Prosthetic laboratory influence on the vertical misfit at the implant /UCLA abutment interface. *Braz Dent J.* 2007;18:139-43.
9. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Ligenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implant Res.* 1991;2:81-90.
10. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol.* 2002;29:197-212.
11. Bessimo C.E, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:654-6.
12. Binon PP. Evaluation of the slip fit Hexagonal implants. *Implant Dent.* 1996;5:235-48.
13. Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. Appositional bone formation in marginal defects at implants- An experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res.* 2003;14:1-9.

14. Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T. Introduction to osseointegration. In: Brånemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T. editors. 1985. Tissue-integrated prostheses.osseointegration in clinical dentistry. Chicago:Quintessence.
15. Broggin N, MacManus JS, Hermann JS, Medina R, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. J Dent Res. 2005;85:473-7.
16. Calvo-Guirado JL, Ortiz-Ruiz AJ, López-Marí L, Delgado-Ruiz R, Mate-Sánchez J, Gonzalez LAB. Immediate maxillary restoration of single tooth implants using platform switching for crestal bone preservation: a 12-month study. Int J Oral Maxillofac Implants. 2009;24:275-81.
17. Canullo L, Goglia G, Iurlaro G, Iannello G. Short-term bone level observations associated with platform switching in immediately placed and restored single maxillary implants: A preliminary report. Int J Prosthodont. 2009;22:277-82.
18. Çehreli MC, Akça K, İplikçioglu H, Sahin S. Dinamic fatigue resistance of implant-abutment junction in an internally notched morse-taper oral implant: influence abutment design. Clin Oral Implant Res. 2004;15:459-65.
19. Covani U, Marconcini S, Crespi R, Baroni A. Bacterial plaque colonization around dental implant surfaces. Implant Dent. 2006;15:298-301.
20. Degidi M, Iezzi G, Scarano A, Piatelli A. Immediately loaded titanium implant with a tissue stabilizing/maintaining design (beyond platform switching ) retrieved from man after 4 weeks: A histological and histomorphometrical evaluation. A case report. Clin Oral Implant Res. 2008;19:276-82.
21. Dias ECLCM. Análise descritiva do grau de adaptação de pilares protéticos osseointegráveis e seu efeito na infiltração bacteriana: um estudo *in vitro*. [Dissertação]. Duque de Caxias: Universidade Grande Rio; 2007.
22. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. *In vitro* evaluation of the implant/abutment bacterial seal: the locking taper system. Int J Oral Maxillofac Implants. 2005;20:732-7.
23. Dos Anjos CM. Análise *in vitro* da infiltração bacteriana na interface de pilares protéticos e implantes com plataforma cone morse. [Dissertação]. Duque de Caxias: Universidade Grande Rio; 2009.
24. Freitas CVS, Mello EDA, Mello GPC, Araújo CS, Mendes JA. Estudo comparativo das propriedades de conexão implant-abutment do tipo hexagono externo e Cone-Morse. ImplantNews. 2009;6: 663-71.
25. Genco RJ, Cohen DW, Goldman HM. Periodontia contemporânea. 1 ed. São Paulo: Editora Santos; 1996.
26. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. Int J Oral Maxillofac Implants. 1999;14:94-100.
27. Hermann JS, Schoolfield JD, SchenkRK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. J Periodontol. 2001;72:1372-83.

28. Jansen VK, Conrads G, Richter E. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12:527-50.
29. Kano SC, Binon PP, Curtis DA. A classification system to measure the implant-abutment microgap. *Int J Maxillofac Implants.* 2007;22:879-85.
30. Keller W, Brägger U, Mombelli A. Peri-implant microflora of implants with cemented and screw retained suprastructures. *Clin Oral Impl Res.* 1998;9:209-17.
31. King G.N. et al. Influence of the size of the microgap on the crestal bone level in non-submerged dental implants: A radiographic study in the canine mandible. *J Periodontol.* 2002;73:1111-7.
32. Kozlovsky A, Tal H, Laufer BZ, Leshem R, Rohrer MD, Weinreb M, et al. Impact of implant overloading on the peri-implant bone in inflamed and non-inflamed peri-implant mucosa. *Clin Oral Impl Res.* 2007;18:601-10.
33. Lazzara RJ, Porter SS. Platform switching: A new concept in Implant Dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006;26:9-17.
34. Lekholm U, Gunne J, Henry P, Higuchi K, Lindhe U, Bergstrom C, Van Steenberghe D. Survival of the Brånemark implant in partially edentulous jaws: a 10 years prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:639-45.
35. Luongo R, Traini T, Guidone PC, Bianco G, Cocchetto R, Celletti R. Hard and soft tissue responses to the Platform-Switching technique. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008;28:551-7.
36. Maia BGF, Neiva TGG, Blatt M, Maia S, Bordini PJ. Avaliação da interface implante/pilar intermediário em conexões do tipo Cone-Morse através do método de microscopia eletrônica de varredura. *ImplantNews* 2009;6:625-9.
37. Meng JC. Influence of connection geometry on dynamic micromotion at the implant-abutment interface. *Int J Prosthodont.* 2007;20:623-5.
38. Misch CE. *Implantes dentários contemporâneos.* (2. ed.) São Paulo: Editora Santos; 2000.
39. Mombelli A, Buser D, Lang NP. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral Microbiol Immunol.* 1988;3:113-20.
40. O'Mahony A, MacNeil SR, Cobb CM. Design features that may influence bacterial plaque retention: a analysis of failed implants. *Quintessence Int.* 2000;31:249-56.
41. Orsini G, Fanali S, Scarano A, Petrone G, Di silvestro S, Piattelli A. Tissue reactions, fluids, and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: A case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15:283-6.

42. Pereira PGF. Análise crítica das metodologias utilizadas para avaliação da infiltração bacteriana nos diferentes tipos de conexão implante/prótese. [Monografia]. Curitiba:Universidade Tuiuti do Paraná; 2008.
43. Persson LG, Lekholm U, Leonhardt A, Dahlen G, Lindhe J. Bacterial colonization on internal surface of Branemark system implants components. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7:90-5.
44. Piatelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G. Fluids and microbial penetration in the internal part of cemented retained versus screw-retained implant-abutment connections. *J Periodontol.* 2001;72:1146-50.
45. Piatelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezi G, Anniballi S, Scarano A. Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *J Periodontol.* 2003;74:346-52.
46. Prosper L, Redaelli S, Pasi M, Zarone F, Radaelli G, Gherlone EF. A randomized prospective multicenter trial evaluating the platform-switching technique for the prevention of postrestorative crestal bone loss. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009; 24:299-308.
47. Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, Steenberghe DV. Microbial penetration along the implant components of the Brånemark system. *Clin Oral Implant Res.* 1994;5: 239-44.
48. Quirynen M, De Soete M, Steenberghe DV. Infectious risks for oral implants: a review of literature. *Clin Oral Implant Res.* 2002;13:1-19.
49. Rimondini L, Marin C, Brunella F, Fini M. Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. *J Periodontol.* 2001;72:1652-7.
50. Scarano A, Assenza B, Piatelli M, Iezzi G, Leghissa GC, Quaranta A, Tortora P, Piatelli A. A 16 years study of the microgap between 272 human titanium implants and their abutments. *J Oral Implantol.* 2005;31:269-75.
51. Sequeira AB. Análise descritiva da desadaptação de pilares protéticos e análogos de implantes por MEV e seus efeitos quanto a possibilidade de infiltração bacteriana: estudo in vitro. [Dissertação]. Duque de Caxias: Universidade do Grande Rio; 2005.
52. Silverstein MS, Kurtzman D, Garnick JJ, Schuster GS, Steflik DE, Moskowitz ME. The microbiota of the peri-implant region in health and disease. *Implant Dent.* 1994;3:170-4.
53. Steinebrunner L, Wolfart S, Bossmann K, Kern M. *In vitro* evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:875-81.
54. Sterer N, Tamary I, Katz M, Weiss E. Association Between Transmucosal Depth of Osseointegrated Implants and Malodor Production. *Int J Maxillofac Implants.* 2008;23:277-80.

55. Todescan FF, Pustiglioni FE, Imbronito AV, Albrektsson T, Gioso M. Influence of the microgap in the peri-implant hard and soft tissues: a histomorfometric study in dogs. *Int J Oral Maxilofac Implants.* 2002;17:467-72.
56. Tonetti MS, Imboden M, Gerber L, Lang NP. Compartmentalization of inflammatory cell phenotypes in normal gingival and peri-implant keratinized mucosa. *J Clin Periodontol.* 1985;22:735-42.

## 8. Apêndice

### RESULTADOS

Os controles positivos do grupo hexágono externo e do grupo cone morse contaminaram na primeira semana. O conjunto que não recebeu contaminação, controle negativo, permaneceu durante os 28 dias sem turvamento do meio de cultura. Os dois grupos responderam ao ensaio de maneira diferente. Para os dez conjuntos hexágonos externos utilizados na pesquisa, seis apresentaram contaminação (Figura 1), ocorrendo três contaminações no segundo dia de observação, duas no sexto dia e uma no nono dia e quatro amostras não contaminaram (Figura 2;Gráfico 1).

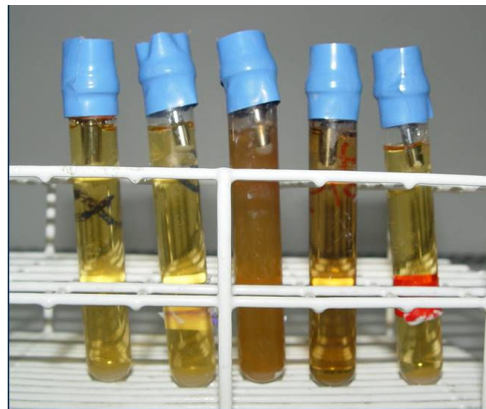


Figura 1- Amostras contaminadas do grupo Hexágono Externo.



Figura 2- Amostras não contaminadas do grupo Hexágono Externo.

Quando analisou-se os conjuntos Cone Morse, dos dez conjuntos apenas três contaminaram (Figura 3), duas amostras ao nono dia e uma ao décimo primeiro dia (Gráfico 1), e as amostras não contaminadas totalizaram 7 amostras (Figura 4).

A relação entre os grupos mostrou que o grupo hexágono externo teve o dobro de contaminações em relação ao grupo cone Morse (Gráfico 2).





Figura 3- Amostras contaminadas do grupo Cone Morse.



Figura 4- Amostras não contaminadas do grupo Cone Morse.

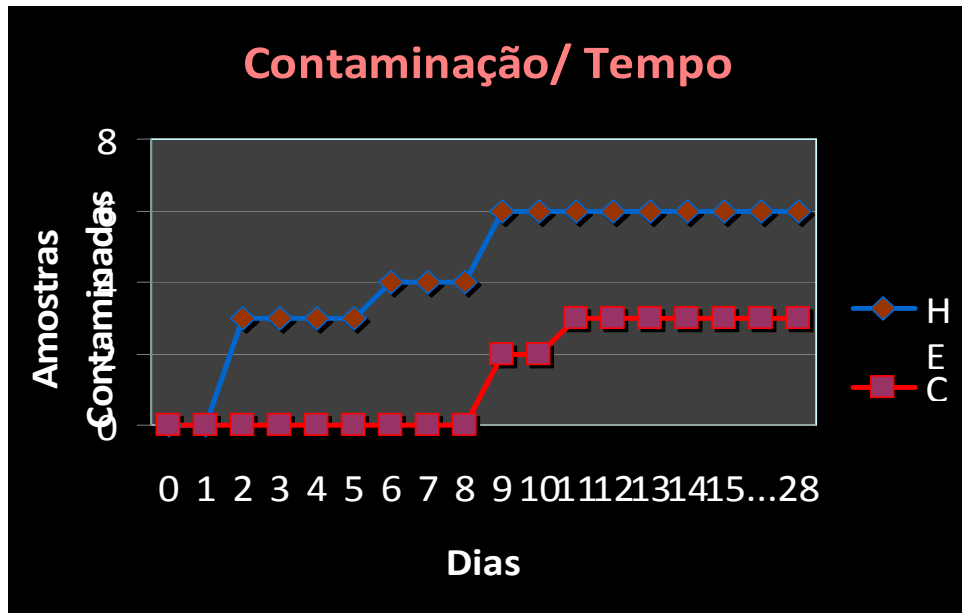


Gráfico 1- Relação de amostras contaminadas em relação ao tempo do estudo.

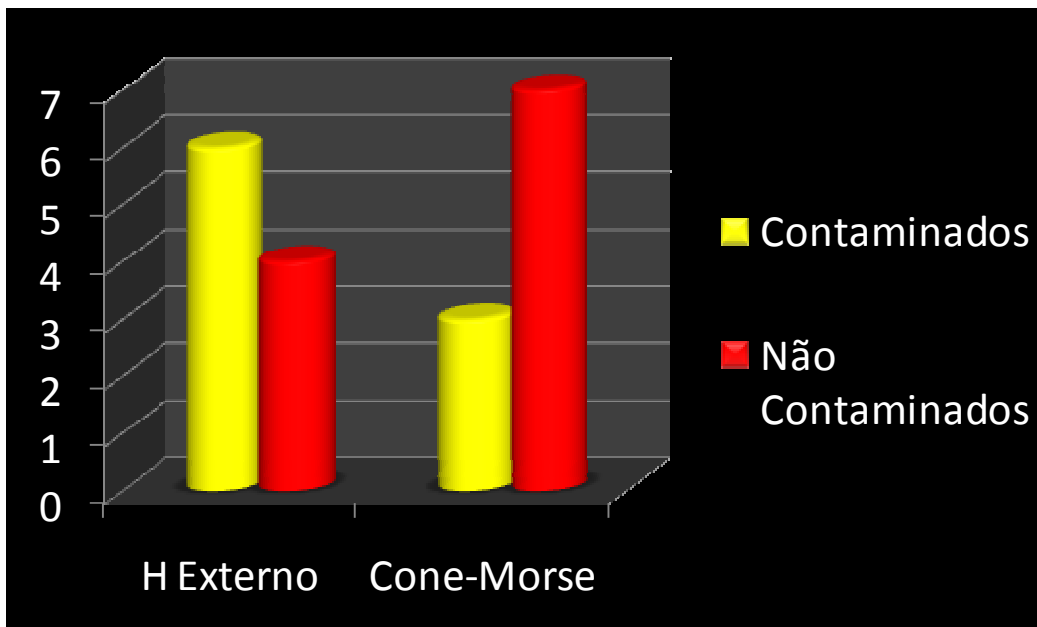


Gráfico 2- Relação de amostras contaminadas e não contaminadas dos grupos Hexágono Externo e Cone Morse.

## Análise Estatística

Os resultados obtidos foram expressos por freqüência e percentuais. Para comparação dos dois tipos de implantes em relação à probabilidade de contaminação, foi considerado o teste exato de Fisher. Para a comparação dos tempos de contaminação; foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney de  $p < 0,05$  indicou significância estatística.

### Resultados

Comparação dos tipos de implante em relação à probabilidade de contaminação: Para comparar os dois tipos de implantes em relação à contaminação, testou-se a hipótese nula de que a probabilidade de contaminação para implantes CM, versus a hipótese alternativa de probabilidades diferentes.

Na tabela abaixo são apresentados os resultados obtidos no final do experimento, ou seja, após 9 dias no implante HE e 11 dias no implante CM.

<b>Contaminação</b>	<b>Implante HE</b>	<b>Implante CM</b>
SIM	6 (60%)	3(30%)
NÃO	4	7
Total	10	10

O resultado do teste estatístico indicou que não existe diferença significativa entre os dois tipos de implante em relação à probabilidade de contaminação ( $p=0,370$ ).

A não significância estatística no nível de 5% ocorreu basicamente devido ao pequeno número de casos nas amostras dos dois implantes. Com 10 implantes de cada tipo nas amostras, no caso de desejar-se verificar como significativa uma diferença DNA probabilidade de contaminação nos dois tipos de implante quando há

uma diferença de 30% na probabilidade de contaminação, o poder do teste corresponde a 26,09%.

Observação: Se forem ensaiados 30 implantes de cada tipo, supondo o mesmo comportamento quanto à contaminação, a tabela seria:

<b>Contaminação</b>	<b>Implante HE</b>	<b>Implante CM</b>
SIM	18 (60%)	9(30%)
NÃO	12	21
Total	30	30

Neste caso, o valor de p seria igual a 0,037, indicando diferença significativa entre os implantes.

#### **Comparação dos tipos de implantes em relação ao tempo de contaminação:**

Restringindo-se à condição de contaminação, testou-se a hipótese nula de tempo de contaminação igual nos dois grupos, versus a hipótese alternativa de tempos de contaminação diferentes.

Dia da contaminação		
Implante	Implante HE	Implante CM
Implante	<b>2</b>	<b>9</b>
Implante	<b>2</b>	<b>9</b>
Implante	<b>2</b>	<b>11</b>
Implante	<b>6</b>	
Implante	<b>9</b>	
Implante	<b>9</b>	
Total de implantes contaminados	<b>6</b>	<b>3</b>
<b>mediana</b>	<b>4</b>	<b>9</b>
<b>Mínimo-máximo</b>	<b>2-9</b>	<b>9-11</b>

O resultado do teste estatístico indicou a não-rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ( $p=0,095$ ).

## 9. Anexos

Normas de publicação do Artigo 1 – International Journal of Oral Maxillofacial Implants.

<http://www.quintpub.com/journals/omi/authorguide.php>

Normas publicação do Artigo 2 – Clinical Oral Implants Research.

<http://www.wiley.com/bw/submit.asp?ref=0905-7161&site=1>