

**UNIVERSIDADE DE UBERABA
CURSO DE ODONTOLOGIA**

TAÍSSA CÁSSIA DE SOUZA FURTADO

**IDENTIFICAÇÃO DE PROCESSOS PATOLÓGICOS E DE AGENTES
INFECCIOSOS NA MUCOSA PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES
COM OU SEM PERI-IMPLANTITE ATRAVÉS DA ANÁLISE
HISTOQUÍMICA**

Uberaba – MG

2018

TAÍSSA CÁSSIA DE SOUZA FURTADO

**IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES PATOLÓGICOS E DE AGENTES
INFECCIOSOS NA MUCOSA PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES
COM OU SEM PERI-IMPLANTITE ATRAVÉS DA ANÁLISE
HISTOQUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade de Uberaba como parte dos requisitos para a conclusão do curso de Graduação.

Orientadora: Prof. Dr^a Sanívia Aparecida de Lima Pereira

Uberaba – MG

2018

F984i Furtado, Taíssa Cássia de Souza.
Identificação de processos patológicos e de agentes infecciosos na mucosa peri-implantar de pacientes com ou sem peri-implantite através da análise histoquímica / Taíssa Cássia de Souza Furtado. – Uberaba, 2018.
38 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso -- Universidade de Uberaba. Curso de Odontologia, 2018.

Orientadora: Profa. Dra. Sanívia Aparecida de Lima Pereira.

I. Odontologia. 2. Implantes dentários. 3. Patologia bucal. I. Pereira, Sanívia Aparecida de Lima. II. Universidade de Uberaba. Curso de Odontologia. III. Título.

CDD_617.6

Ficha elaborada pela bibliotecária Tatiane da Silva Viana CRB6-3171

TAÍSSA CÁSSIA DE SOUZA FURTADO

**IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES PATOLÓGICOS E DE AGENTES
INFECCIOSOS NA MUCOSA PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES
COM OU SEM PERI-IMPLANTITE ATRAVÉS DA ANÁLISE
HISTOQUÍMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como parte dos requisitos para obtenção do título
de cirurgião dentista no curso de odontologia na
Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Patologia

Aprovado em: 08/12/18

BANCA EXAMINADORA



Profª. Sanívia Aparecida de Lima Pereira - Orientadora
Universidade de Uberaba



Profª. Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins
Universidade de Uberaba

RESUMO

A peri-implantite é uma doença infecciosa caracterizada pela inflamação dos tecidos que circundam o implante, com sangramento à sondagem e perda óssea peri-implantar. O objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de processos patológicos e de agentes infecciosos no tecido peri-implantar de pacientes com ou sem peri-implantite. Foram realizadas biópsias da gengiva marginal de implantes dentários de 16 pacientes atendidos em clínica odontológica da rede privada (Uberaba), no período de fevereiro a julho de 2018, sendo 9 casos com peri-implantite e 7 casos controle. Os fragmentos que mediam aproximadamente 4x4mm foram fixados em formol e processados histologicamente, sendo as lâminas coradas pelas colorações Hematoxilina e Eosina para avaliação de processos patológicos; Fite-Faraco para identificar micobactérias; Ziehl-Neelsen para identificar bactérias ácido-álcool resistente (BAAR); Grocott e Ácido Periódico de Schiff para avaliar a presença de fungos e Brown-Brein para identificar bactérias gram-positivas e gram-negativas. Dos 9 casos com peri-implantite foram observadas bactérias em 4 casos (44,4%), sendo que em 3 casos as bactérias eram gram-positivas e em 1 caso as bactérias eram gram-negativas. No caso onde foram encontradas bactérias gram-negativas foram encontradas também bactérias gram-positivas do gênero *Actinomyces* sp. Nos 7 casos controle foram observadas bactérias gram-positivas em dois casos apenas (28,6%), sendo que em um deles havia também granuloma do tipo corpo estranho. Não foram observados fungos nem micobactérias em nenhum dos casos analisados. Na maioria dos casos com peri-implantite a área inflamada era composta por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário permeado por ocasionais macrófagos, neutrófilos e tecido de granulação. Em um caso foi observada exocitose de neutrófilos em região de espongiose e microabscesso. O processo inflamatório foi o processo patológico mais frequente. Portanto, nos casos de peri-implantite o processo inflamatório foi o processo patológico mais frequente, sempre associado à presença de bactérias, sendo a maioria gram-positivas. Dessa forma sugerimos que as bactérias gram-positivas estariam também envolvidas no quadro inflamatório responsável pela destruição dos tecidos peri-implantares e não apenas as bactérias gram-negativas. No entanto novos estudos devem ser realizados para melhor compreensão da patogênese da inflamação peri-implantar

induzida por essas bactérias. **Suporte financeiro:** PAPE/UNIUBE (2018 – 001); Cefores/UFTM; CNPq; FAPEMIG.

Palavras-chave: Agentes infecciosos. Análise histopatológica. Peri-implantite. Processos patológicos.

ABSTRACT

Peri-implantite is an infectious disease characterized by inflammation of the tissues surrounding the implant, with bleeding probing and peri-implant bone loss. The aim of the present study was to evaluate the presence of pathological process and infectious agents in the peri-implant tissue of patients with or without peri-implantitis. Marginal gingival biopsies of the dental implants of 16 patients attended at a private dentistry clinic (Uberaba) were performed from February to July 2018, being 9 cases with peri-implantitis and 7 control cases. The fragments measuring approximately 4x4mm were fixed in formalin and processed histologically, the slides were stained by Hematoxylin and Eosin stains for evaluation of pathological processes; Fite-Faraco to identify mycobacteria; Ziehl-Neelsen to identify acid-alcohol resistant bacteria (BAAR); Grocott and Schiff Periodic Acid to evaluate the presence of fungi and Brown-Breien to identify gram positive and gram negative bacteria. Of the 9 cases with peri-implantitis bacteria were observed in 4 cases (44.4%), in 3 cases the bacteria were gram-positive and in 1 case the bacteria were gram-negative. In the case where gram-negative bacteria were found, gram-positive bacteria of the genus *Actinomyces* sp. Gram-positive bacteria were observed in only two out of 7 control cases (28.6%), in which one also had a foreign body type granuloma. No fungi or mycobacteria were observed in none of the analyzed cases. In most cases with peri-implantitis, the inflamed area consisted of lymphoplasmocytic inflammatory infiltrate permeated by occasional macrophages, neutrophils and granulation tissue. In one case, neutrophil exocytosis was observed in the region of spongiosis and microabscess. The inflammatory process was the most frequent pathological process. Therefore, in cases of peri-implantitis the inflammatory process was the most frequent pathological process, always associated with the presence of bacteria, being the most gram-positive. Thus, we suggest that gram-positive bacteria would also be involved in the inflammatory condition responsible for the destruction of peri-implant tissues and not only gram-negative bacteria. However, further studies should be conducted to better understand the pathogenesis of peri-implant inflammation induced by these bacteria. **Financial support:** PAPE/UNIUBE (2018 – 001); Cefores/UFTM; CNPq; FAPEMIG.

Key words: Histopathological analysis. Infectious agents. Pathological processes. Peri-implantite.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 DOENÇAS PERI-IMPLANTARES: MUCOSITE E PERI-IMPLANTITE	7
1.2 PATOGÊNESE	9
2 JUSTIFICATIVA	13
3 OBJETIVOS	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS	15
4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES	15
4.2 EXAME CLÍNICO E RADIOGRÁFICO	16
4.3 COLETA DOS FRAGMENTOS DA MUCOSA PERI-IMPLANTAR	16
4.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE MORFOLÓGICA MICROSCÓPICA DOS FRAGMENTOS COLETADOS	17
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
5 RESULTADOS	18
6 DISCUSSÃO	20
7 CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS	23
ANEXO A – Parecer de aprovação	28
ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido	33
ANEXO C – Anamnese	35

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇAS PERI-IMPLANTARES: MUCOSITE E PERI-IMPLANTITE

Os implantes dentários endo-ósseos são parafusos feitos de liga de titânio que substituem a raiz de um dente. A estabilidade é conseguida através de um processo de ósseo-integração, que é definido como o íntimo contato estrutural e funcional entre o implante e osso circundante (BRANEMARK, 1983). Os implantes dentários estão ligados a coroas de cerâmica ou metal por estruturas chamadas de pilares, e são estabelecidos funcionalmente, quando o contato oclusal é estabelecido com a colocação da coroa. A sobrevivência de um implante depende do ambiente local, bem como de fatores relacionados à oclusão. A taxa de sobrevivência de implantes dentários, 8 anos após a colocação inicial, é estimada em 97%. Este resultado é independente do tamanho do implante, da qualidade do osso, e da ocorrência de uma cirurgia óssea anterior (BUSENLECHNER et al., 2014).

Em torno dos implantes dentários podem surgir duas doenças: a mucosite e a peri-implantite. A mucosite peri-implantar é uma lesão inflamatória da mucosa peri-implantar. Já a peri-implantite inclui a perda de suporte ósseo em torno do implante dentário (HEITZ-MAYFIELD, 2008). A mucosite foi definida no Sétimo Workshop Europeu sobre Periodontologia como sendo uma inflamação circundante implantar do tecido mole dentário, evidenciada pelas alterações na cor da mucosa e no contorno, além de sangramento na sondagem ($<0,25$ N) (LANG et al., 2011). Essa condição não é acompanhada por perda de osso em torno do implante, e é reversível. Estudos têm relatado que a mucosite peri-implantar afeta 50-90% dos implantes em 80% dos indivíduos, ao passo que 20% dos implantes desenvolvem peri-implantite depois de 5-11 anos (ROOS-JANSKER et al., 2006; ZITZMANN; BERGLUNDH, 2008; MOMBELLI; MULLER; CIONCA, 2012).

Já a peri-implantite é definida como perda óssea peri-implantar em conjunto com sangramento à sondagem, podendo ser acompanhada por supuração (LANG et al., 2011). A patogenia da peri-implantite é semelhante com a etiopatogenia de periodontite, que é causada por uma cascata de fatores do hospedeiro, microbianos e enzimas proteolíticas levando à destruição de tecido mole e duro (KUULA et al., 2009). No estágio inicial, o acúmulo de placa pode causar mucosite peri-implantar,

uma inflamação reversível do tecido mole circundante funcional de implantes (MOMBELLI et al., 1987). Se a situação é deixada sem tratamento, podem levar a peri-implantite em que a inflamação se estende no tecido mais profundo podendo conduzir a uma perda completa de ósseo-integração (HEITZ-MAYFIELD, 2008).

No estudo de Renvert et al.(2007) os dados coletados de 976 implantes, a mucosite peri-implantar foi diagnosticada em 59% e a peri-implantite em 14,9%. O diagnóstico da mucosite peri-implantar e peri-implantite pode contribuir para o prolongamento da sobrevida dos implantes dentários. Vários tipos de implantes dentários são cada vez mais usados na odontologia moderna. De acordo com a literatura mais recente, sua taxa de sobrevida em cinco anos atingiu mais de 90% (CRETON et al., 2010; KRENNMAIR et al., 2010).

Dessa forma, para avaliar a atividade da doença ao redor de implantes dentários são realizados métodos clínicos e radiográficos, que podem refletir alterações inflamatórias (KAO et al., 1995) com posterior desmineralização (RENOUARD; NISAND, 2006). Além disso, a avaliação das alterações clínicas e radiográficas são muitas vezes subjetivas. Idealmente, a presença de peri-implantite deve ser detectada de forma objetiva e durante a fase inflamatória precoce para minimizar o dano do tecido e aumentar o potencial de sucesso terapêutico (LAI et al., 2013).

As ferramentas de diagnóstico convencionais como a sondagem, a análise da mobilidade do implante e de exames de raios-X, podem fornecer informações sobre a extensão da destruição dos tecidos, mas não podem prever o risco de doença (BORSANI et al., 2005). Para os inúmeros estudos, o diagnóstico precoce e a atividade da doença podem ser realizados por meio de análise de fluido crevicular peri-implantar por ser um exsudado inflamatório (SORSA et al., 2010). O fluido crevicular peri-implantar é um exsudato inflamatório proveniente dos vasos do plexo gengival que contém enzimas derivados do hospedeiro, citocinas inflamatórias e produtos de degradação de tecido (GENTILE; CHUANG; DODSON, 2005). Locais inflamados geralmente produzem mais fluido crevicular peri-implantar que locais menos inflamados, e sua avaliação quantitativa tem sido amplamente utilizada em estudos de investigação (KAKLAMANOS; TSALIKIS, 2002; ARMITAGE, 2004). No entanto, o maior volume isoladamente não pode ser considerado um fator de risco

para a inflamação (KUULA et al., 2009). A composição de fluido peri-implantar é semelhante à composição do fluido crevicular gengival contendo micro-organismos na placa subgengival e supragengival (LAMSTER; AHLO, 2007). Dos mais de 65 componentes, que foram preliminarmente examinados como possíveis marcadores para a periodontite (ARMITAGE, 2004), apenas alguns são considerados como biomarcadores específicos da destruição do osso alveolar (MA et al., 2000; KINNEY; RAMSEIER; GIANNOBILE, 2007).

1.2 PATOGÊNESE

A patogênese da peri-implantite parece ser semelhante à da periodontite. O início das duas doenças depende da presença de um biofilme rico em bactérias gram-negativas. No entanto, evidências sugerem que o *S. aureus*, bactéria gram-positiva, pode ser também um importante patógeno na iniciação de alguns casos de peri-implantite. O acúmulo de biofilme persistente pode provocar resposta inflamatória mais acentuada nos tecidos da mucosa peri-implantar que na mucosa dento-gengival, devido a diferenças estruturais como vascularização, presença de fibroblastos e colágeno. No entanto, algumas das lesões de peri-implantite parecem ter períodos de rápida progressão, em que a lesão infecciosa pode atingir a medula óssea alveolar. Do ponto de vista clínico os fatores de risco para a periodontite podem ser considerados idênticos aos da peri-implantite. Além disso, os pacientes suscetíveis à periodontite parecem ser mais suscetíveis a peri-implantite do que pacientes sem história de periodontite. Portanto, tanto a periodontite como a peri-implantite são doenças inflamatórias provocadas por agentes biológicos oportunistas, sendo a terapia realizada com antibacterianos (HEITZ-MAYFIELD; LANG, 2010).

Um dos primeiros trabalhos que apresentou dados referentes à microbiota, associada ao insucesso de implantes, foi realizado por Rams e Link, em 1983. O estabelecimento da microbiota subgengival depende da colonização sucessiva da superfície do dente por várias espécies bacterianas, resultando na complexa microbiota anaeróbica Gram-negativa observada em locais periodontalmente doentes (SHIBLI et al., 2008).

Na peri-implantite, assim como na periodontite, há presença de bactérias, especialmente *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythenses* (MOMBELLI et al., 1987; LEONHARDT; RENVERT; DAHLEN, 1999; SHIBLI et al., 2003; QUIRYNEM et al., 2006). O desequilíbrio entre a presença de microrganismos e a resposta do hospedeiro faz com que se instalem tanto as lesões periodontais quanto as lesões peri-implantares (ZITZMANN; BERGLUNDH, 2008).

Shibli et al. (2003), estudaram a microbiota e a perda óssea ao redor dos implantes com peri-implantite induzida por ligadura. Os autores utilizaram 36 implantes dentais com 4 superfícies diferentes que foram colocados nas mandíbulas edêntulas de seis cães. Nos dias zero, 20, 40, e 60 após a colocação de ligaduras de algodão, as amostras microbiológicas e as radiografias periapicais foram obtidas. A presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas intermedia/nigrescens*, *Gampylobacter spp*, *gingivalis* *Prevotella* *Capnocytophaga spp*, *Fusobacterium spp*, *Streptococcus beta-hemolytico*, e *Candida spp* foram avaliados em cultura. Os autores concluíram que os implantes dentais com peri-implantite induzida por ligadura, são afetados por patógenos periodontais, independente da superfície.

Espiroquetas, bastonetes, organismos gram-negativos, facultativos ou anaeróbios estritos, microrganismos mais associados à doença peri-implantar, podem lesar os tecidos de diferentes formas: invadindo e destruindo diretamente os tecidos peri-implantares por meio de liberação de enzimas, subprodutos e fatores de reabsorção óssea; diminuindo as defesas do hospedeiro; induzindo uma reação inflamatória mediada pelo sistema imune do hospedeiro, bem como uma combinação dos fatores citados (CERBASI, 2010).

Humphrey (2006) através de seus estudos, pode afirmar que os patógenos identificados em bolsas periodontais, anteriormente a instalação dos implantes, puderam ser identificados nos sítios peri-implantares após três meses de exposição do mesmo à cavidade oral.

Outros dados sugerem que implantes em indivíduos parcialmente edêntulos são colonizados por patógenos periodontais até 14 dias após a exposição ao

ambiente oral e, em até 28 dias após essa exposição há o estabelecimento de uma microbiota subgengival (LANG; WILSON; CORBET, 2000; TELES; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2010).

Alguns micro-organismos, tais como *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e Bastonetes entéricos tem sido associados a sítios peri-implantares. *S. aureus* tem elevada aderência a superfície do titânio e sua presença está ligada a supuração e sangramento a sondagem. *C. albicans* é o fungo mais encontrado na cavidade oral e sua presença está fortemente remetida à candidíase oral, especialmente em pacientes usuários de prótese (KRONSTROM et al., 2001; BOTERO et al., 2005; BLANKENSHIP, 2006; HARRIS et al., 2006; RENVERT et al., 2008; BURGERS et al., 2010).

Leonhardt et al. (2002) acompanharam durante dez anos, 15 pacientes que apresentavam doença periodontal. Após serem tratados, implantes do Sistema Branemark foram instalados e uma devida terapia periodontal de suporte instituída. Bactérias como *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga sp* e *C. rectus* foram detectadas tanto nos sulcos peri-implantares saudáveis como anteriormente nos sulcos gengivais dos dentes implantados, apontando que a presença das mesmas, não poderiam ser associadas diretamente a doença peri-implantar. Os autores relataram que essas bactérias também foram encontradas em sulcos peri-implantares comprometidos.

Vários estudos microbiológicos demonstraram uma dispersa microbiota submucosa dominada por cocos Gram-positivos facultativos e bastonetes. Em contraste, uma bolsa peri-implantar parece abrigar uma microbiota semelhante à encontrada na doença periodontal (SHIBLI et al., 2008).

A condição saudável dos tecidos periodontais (sustentação e proteção) é um fator imprescindível para que ocorra uma boa reabilitação bucal utilizando implantes dentários. Faz-se necessário a adequação do meio bucal, mudanças de hábitos como tabagismo e etilismo, além de controle das doenças sistêmicas, como a diabetes mellitus, na qual os pacientes estão mais propensos a desenvolver infecções e complicações vasculares que afetam a cicatrização. A prevenção de doenças peri-implantares está diretamente relacionada com os cuidados que

compreendem uma boa higiene bucal, acompanhamento odontológico periódico, motivação e orientação dos pacientes, já que os fatores etiológicos primários correspondem a microbiota específica presente no biofilme (ANSOLIN et al., 2017).

Baseado no que foi exposto, o intuito do presente projeto de pesquisa foi identificar processos patológicos e agentes infecciosos na mucosa peri-implantar de pacientes com ou sem peri-implantite através da análise histoquímica. A melhor compreensão da patogênese pode nortear futuros tratamentos e reduzir assim, a perda de implantes por essa doença.

2 JUSTIFICATIVA

Com a realização do presente estudo acredita-se que os pacientes com peri-implantite apresentem maior intensidade de processos patológicos e maior frequência de agentes infecciosos no tecido peri-implantar. Dessa forma, a identificação desses agentes infecciosos no tecido peri-implantar poderá nortear futuros tratamentos e consequentemente reduzir o índice de perda dos implantes por essa doença.

3 OBJETIVOS

Avaliar a presença de processos patológicos e de agentes infecciosos na mucosa peri-implantar de pacientes com ou sem peri-implantite através de técnicas histológicas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

O presente estudo transversal foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos da Universidade de Uberaba - UNIUBE, sob o nº. 2.457.394. Os pacientes foram selecionados durante consulta de acompanhamento dos implantes, no período de fevereiro a julho de 2018, em clínica odontológica da rede privada na cidade de Uberaba, Minas Gerais, Brasil. Foram obtidas informações médicas e odontológicas dos pacientes que concordaram em participar do estudo e que atenderam aos critérios de inclusão/exclusão. Os dados demográficos como a idade, o gênero e a etnia foram avaliados para obter uma distribuição homogênea entre os grupos. Todos os pacientes elegíveis foram informados da natureza do estudo, os potenciais riscos e benefícios de sua participação no estudo através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Foram utilizados 16 implantes de 16 pacientes, sendo nove incluídos no grupo com peri-implantite (CP) e sete incluídos no grupo sem peri-implantite (SP).

Todos os pacientes deveriam possuir pelo menos um implante na cavidade oral, em função há mais de seis meses. Para serem incluídos no grupo CP, os pacientes deveriam apresentar, em pelo menos um sítio do implante, sangramento marginal e profundidade de sondagem superior a 5mm, além de perda óssea identificada radiograficamente. Já no grupo SP a profundidade de sondagem deveria estar entre 0 e 5mm, sem a presença de sangramento marginal, supuração ou perda óssea. Nos casos onde todos os tecidos peri-implantares estivessem saudáveis foi selecionado aquele mais próximo à linha média. Apenas um implante de cada paciente foi incluído no estudo e, caso possuísse mais de um implante, aquele com maior grau de doença foi utilizado para a realização de biópsia.

Os critérios de exclusão para a seleção dos pacientes foram os seguintes: realização de terapia periodontal anterior; presença de doenças sistêmicas relevantes; uso de antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos seis meses; pacientes fumantes, etilistas crônicos; gestantes; lactantes; implantes com

mobilidade ou supuração e aqueles pacientes que não concordaram a assinar o termo de consentimento.

4.2 EXAME CLÍNICO E RADIOGRÁFICO

Os seguintes parâmetros foram avaliados em seis sítios de cada dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual, disto-lingual (DE MENDONÇA et al., 2009), utilizando uma sonda periodontal milimetrada PCPUNC-15BR (Hu-Friedy, São Paulo, Brasil): (a) sangramento marginal – a presença ou ausência de sangramento foi registrada pela passagem da sonda periodontal ao longo da margem do tecido mole; (b) supuração – presença ou ausência de supuração espontânea ou à sondagem; (c) profundidade de sondagem – distância, em milímetros, entre a margem da mucosa até o fundo da bolsa periodontal.

Logo após o exame clínico, foram obtidas radiografias intra-orais periapicais com o objetivo de avaliar a perda óssea, utilizando a técnica do paralelismo com posicionador radiográfico.

Foi considerada como perda óssea peri-implantar, sendo a doença classificada como peri-implantite, quando a profundidade de sondagem fosse superior a 5 mm. O exame clínico e as tomadas radiográficas foram realizados pelo mesmo examinador previamente treinado e calibrado.

4.3 COLETA DOS FRAGMENTOS DA MUCOSA PERI-IMPLANTAR

Para a coleta dos fragmentos da mucosa peri-implantar, os pacientes foram submetidos a antissepsia extra-oral com solução de digluconato de clorexidina a 2% e intra-oral com bochecho de solução de digluconato de clorexidina a 0,12%. Posteriormente foi realizado bloqueio anestésico local e retirado um fragmento da mucosa peri-implantar medindo aproximadamente 4x4mm (GUALINI; BERGLUND, 2003). No grupo CP os fragmentos foram removidos do sítio com maior profundidade de sondagem e no grupo SP os fragmentos foram removidos da região lingual. Os fragmentos foram fixados em formaldeído a 3,7% por 24h.

4.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE MORFOLÓGICA MICROSCÓPICA DOS FRAGMENTOS COLETADOS

Após fixação em formaldeído as amostras foram desidratadas, incluídas em parafina e processadas para análise histopatológica. Cortes sagitais seriados de seis micrômetros foram montados em lâmina histológica e corados pelas colorações: a) Hematoxilina e Eosina para avaliação de processos patológicos como hiperemia, hemorragia, inflamação e necrose; b) Fite-Faraco para identificar micobactérias; c) Grocott e Ácido Periódico de Schiff (PAS) para avaliar a presença de fungos; d) Brown-Brein para identificar bactérias gram positivas e gram negativas; e) Ziehl-Neelsen para identificar bactérias ácido-álcool resistente (BAAR).

A análise das lâminas foi realizada utilizando-se microscópio de luz (BIOVAL, Valência, Espanha). Em cada caso foram analisados todos os campos de tecido epitelial e de tecido conjuntivo. Os processos patológicos e os agentes infecciosos foram classificados em presentes ou ausentes.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram inseridos em uma planilha do Microsoft Excel e analisados com o auxílio do software estatístico GraphPad Prism 5 (GraphPad, San Diego, Califórnia, USA). Na análise estatística os testes de Kolmogorov e Shapiro Wilk foram utilizados para a avaliação da normalidade. Para comparação entre os dois grupos, como as variáveis apresentaram distribuição normal utilizou-se o teste t de Student, sendo os resultados expressos em média e desvio padrão. Para variáveis qualitativas (masculino/feminino; branco/não branco) foi utilizado o teste exato de Fisher. O nível de significância assumido foi de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Na tabela 1 pode-se observar os dados demográficos dos pacientes dos grupos com peri-implantite (CP) e sem peri-implantite (SP).

Tabela 1 - Características demográficas de grupos com e sem peri-implantites.

	Grupo CP (n=9)	Grupo SP (n=7)
Etnia ^a (B/NB)	9:0	6:1
Gênero ^b (M:F)	3:6	4:3
Idade ^c (anos, média ± DP)	60.0 ± 10.0	57.0 ± 6.4

B, Branco; NB, Não-Branco; M, Masculino; F, feminino; DP, desvio padrão; mm, milímetros, CP, com peri-implantite; SP, sem peri-implantite.

^a Fisher's exact test, p =0,43.

^b Fisher's exact test, p =0.61.

^c Student t test, p =.0,29.

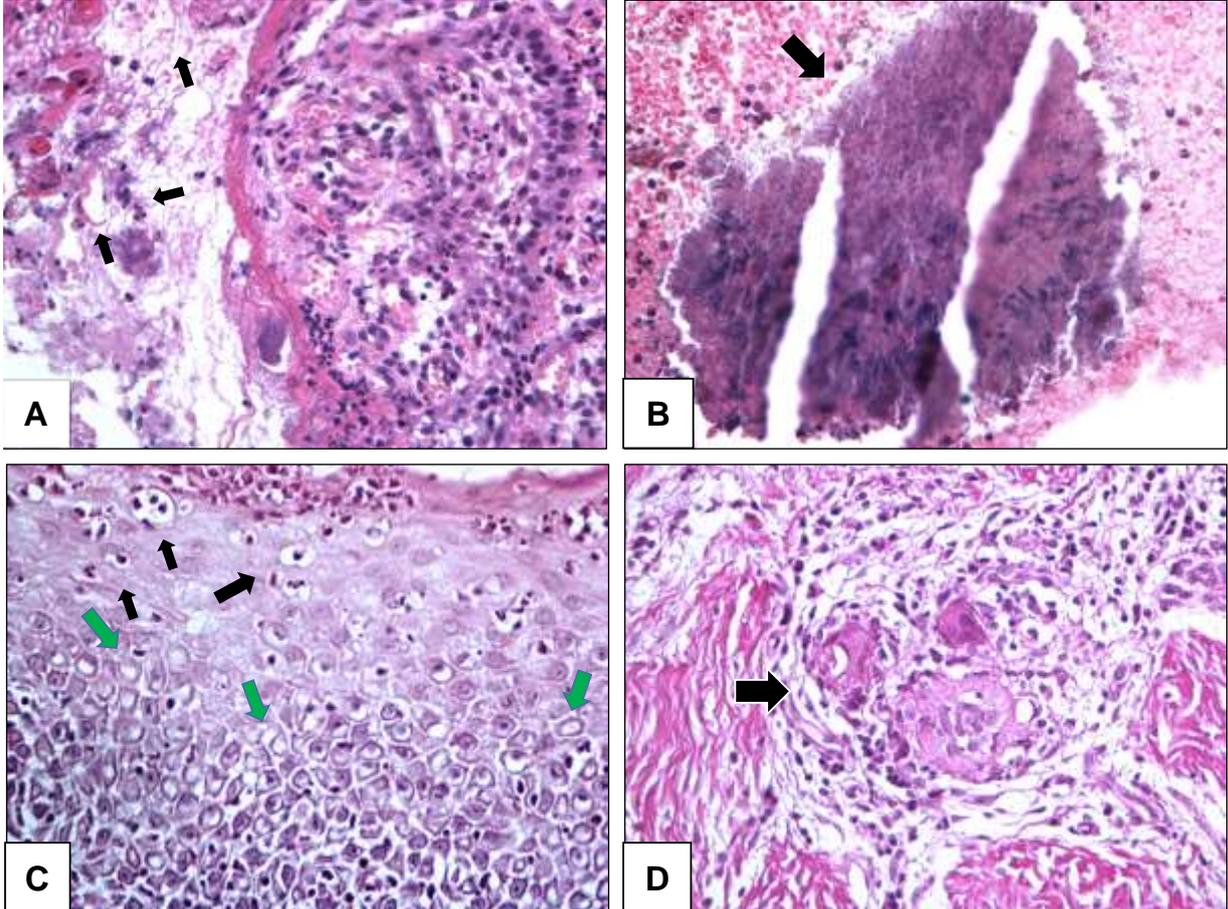
No grupo sem peri-implantite, dois pacientes (28,6%) apresentavam infecção por bactérias gram-positivas e nenhum caso de infecção por bactérias gram-negativas.

No grupo com peri-implantite, quatro pacientes (44,4%) apresentavam infecção por bactérias (Figura 1-A) na mucosa inflamada, um deles por bactérias gram-negativas (25%) e três (75%) por bactérias gram-positivas. As bactérias descritas estavam presentes na mucosa e conjuntivo correspondente à área da bolsa peri-implantar. Não foram consideradas as bactérias vistas na superfície do epitélio. Em um caso do grupo com peri-implantite existia infecção por bactérias filamentosas com morfologia compatível com *Actinomyces* sp (11,1%) (Figura 1-B).

Na maioria dos casos com peri-implantite a área inflamada era composta por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário permeado por ocasionais macrófagos, neutrófilos e tecido de granulação. Em um caso foi observada exocitose de neutrófilos em região de espongiose e microabscesso (Figura 1-C). Em dois casos foi observada inflamação crônica granulomatosa com granulomas do tipo corpo estranho e presença de bactérias gram-positivas, sendo um caso do grupo com peri-implantite e o outro do grupo sem peri-implantite (Figura 1-D).

As pesquisas de fungos e micobactérias foram negativas em todos os casos.

Figura 1 - Análise histopatológica do tecido peri-implantar de pacientes com peri-implantite. (A) Bactérias presentes no tecido peri-implantar (setas) correspondente à região da bolsa peri-implantar (HE, 400X); (B) Bactérias filamentosas com morfologia compatível com *Actinomyces* sp. (seta) (HE, 400X); (C) Exocitose de neutrófilos (setas pretas) em região de esponjose (setas verdes) e microabscesso (HE, 400X); (D) Inflamação crônica granulomatosa com granulomas do tipo corpo estranho (seta) (HE, 400X).



Fonte: Arquivo pessoal.

6 DISCUSSÃO

A peri-implantite é uma doença inflamatória provocada por agentes biológicos oportunistas (HEITZ-MAYFIELD; LANG, 2010). O desequilíbrio entre a presença de microrganismos e a resposta do hospedeiro faz com que instalem as lesões peri-implantares (ZITZMANN; BERGLUNDH, 2008). No presente estudo foi encontrada a presença de bactérias gram-negativas somente no grupo CP demonstrando que nos casos analisados estas bactérias estariam colaborando para o desenvolvimento do processo inflamatório peri-implantar, como já demonstrado em vários estudos (MOMBELLI et al., 1987; LEONHARDT; DAHLEN, 1999; SHIBLI et al., 2003; QUIRYNEM et al., 2006; HEITZ-MAYFIELD; LANG, 2010).

Alguns autores sugerem que bactérias gram-positivas como o *Actinomyces* sp., podem ser também um importante patógeno na iniciação de alguns casos de peri-implantite (KUMAR et al., 2012; TAMURA et al., 2013; DINGSAD; NELSON; COLEMAN, 2016). No presente estudo foram encontradas bactérias gram-positivas em ambos os grupos, com maior prevalência no grupo com peri-implantite, sendo que em um caso foram observadas as bactérias gram-positivas do gênero *Actinomyces* sp. Dessa forma, sugerimos que as bactérias gram-positivas estariam também envolvidas no quadro inflamatório responsável pela destruição dos tecidos peri-implantares e não apenas as bactérias gram-negativas.

A inflamação é uma reação de defesa do tecido vivo vascularizado à agressão local (BECHARA; SZABÓ, 2006). Durante o processo de inflamação acontecem vários eventos teciduais que são responsáveis pela eliminação de patógenos, além de estimular processos de reparo (ARAÚJO; SANTANA; ARISAWA, 2013). O acúmulo de biofilme persistente pode provocar resposta inflamatória mais acentuada nos tecidos da mucosa peri-implantar que na mucosa dento-gengival, devido a diferenças estruturais como vascularização, e a proporção de fibroblastos e colágeno (HEITZ-MAYFIELD; LANG, 2010). Já foi demonstrado que na peri-implantite existe formação de tecido conjuntivo ao redor do implante, com várias formações ósseas (PAIS; SLAVESCU, 2016), linfócitos B (GUALINI; BERGLUNDH, 2003) e presença de leucócitos polimorfonucleares neutrófilos circundantes (GUALINI; BERGLUNDH, 2003; PAIS; SLAVESCU, 2016). No presente estudo, a maioria dos casos de peri-implantite apresentaram área inflamada

composta por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário permeado por ocasionais macrófagos, neutrófilos e tecido de granulação.

Em um caso do grupo com peri-implantite foi observado microabscesso com exocitose de neutrófilos e espongiose. Em estudo anterior demonstramos processo inflamatório com exocitose e espongiose em todos os pacientes com peri-implantite (ARAÚJO et al., 2017). Ao analisar os casos de peri-implantite observou-se que a inflamação foi o processo patológico de maior incidência.

A inflamação granulomatosa é um padrão distinto de reação inflamatória crônica, caracterizada pelo acúmulo focal de leucócitos, principalmente de macrófagos ativados, que geralmente desenvolvem uma aparência epitelióide, formando os granulomas corpo estranho ou epitelióide (ROBBINS; COTRAN, 2005). Embora a presença de granulomas seja rara na peri-implantite (PACIFICI et al., 2015), no presente estudo foram encontrados granulomas do tipo corpo estranho em ambos os grupos, indicando processo inflamatório granulomatoso que se formou provavelmente para isolar partículas ósseas remanescentes do procedimento cirúrgico para instalação do implante.

Portanto, no presente estudo demonstramos que a peri-implantite está associada à presença de bactérias, principalmente gram-positivas, com reposta inflamatória caracterizada pela presença de neutrófilos e de granulomas. Sendo assim, torna-se fundamental a adoção medidas adequadas de higiene oral no sentido de prevenir infecções peri-implantares. No entanto, novos estudos deverão ser realizados para melhor compreensão da patogênese dos agentes infecciosos na doença peri-implantar, colaborando para terapia antibacteriana adequada e maior sucesso do implante.

7 CONCLUSÃO

Portanto, nos casos de peri-implantite o processo inflamatório foi o processo patológico mais frequente, sempre associado à presença de bactérias, sendo a maioria gram-positivas. Dessa forma sugerimos que as bactérias gram-positivas estariam também envolvidas no quadro inflamatório responsável pela destruição dos tecidos peri-implantares e não apenas as bactérias gram-negativas. No entanto novos estudos devem ser realizados para melhor compreensão da patogênese da inflamação peri-implantar induzida por essas bactérias.

REFERÊNCIAS

- ANSOLIN, G.; CARDOSO, G. M.; GÖTZ, R. H.; MARTINAZZO, N.; SILVA, L. R.; IMANISHI, S. A. W.; MUNIZ, M. S.; DIRSCHNABEL, A. J. A importância do estabelecimento e manutenção da saúde bucal em pacientes submetidos a implante dentário. **VIII Jornada Acadêmica de Odontologia**, 2017. Disponível em: <http://editora.unoesc.edu.br/index.php/acaodonto/article/view/15986/8635>.
- ARAÚJO, É. C. C.; SANTANA, R. J.; ARISAWA, E. A. L. S. Mecanismos da inflamação: Análise dos processos fisiopatológicos. **Inicepg. Unipav INIC**, 2013.
- ARAÚJO, M. F.; ETCHEBEHERE, R. M.; MELO, M. L. R.; BEGHINI, M.; SEVERINO, V. O.; CÔBO, E. C.; RODRIGUES, D. B. R.; PEREIRA, S. A. L. Analysis of CD15, CD57 and HIF-1 α in biopsies of patients with peri-implantitis. **Pathology-Research and Practice** **213**, p. 1097-1101, 2017.
- ARMITAGE, G. C. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. **Periodontol** **2000**, [S.I.], v. 34, p. 109-19, 2004.
- BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J. Processo Inflamatório: Alterações Vasculares e Mediação Química. **Unesp**, 2006.
- BLANKENSHIP JR, MITCHELL AP. How to build a biofilm: A fungal perspective. **Curr Opin Microbiol**, [S.I.], 9, p. 588-594, 2006.
- BORSANI, E.; SALGARELLO, S.; MENSI, M.; BONINSEGNA, R.; STACCHIOTTI, A.; REZZANI, R.; SAPELLI, P.; BIANCHI, R.; RODELLA, L. F. Histochemical and immunohistochemical evaluation of gingival collagen and metalloproteinases in peri-implantitis. **Acta Histochem**, [S.I.], v. 107, n. 3, p. 231-40, 2005.
- BOTERO, J. E.; GONZALEZ, A. M.; MERCADO, R. A. et al. Subgingival microbiota in periimplant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. **J Periodontol**, [S.I.], 76, p. 1490-1495, 2005.
- BRANEMARK, P. I. Osseointegration and its experimental background. **J Prosthet Dent**, [S.I.], v. 50, n. 3, p. 399-410, Sep 1983.
- BURGERS, R.; HAHNEL, S.; REICHERT, T. E.; ROSENTRITT, M.; BEHR, M.; GERLACH, T.; HANDEL, G.; GOSAU, M. Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. **Acta Biomater**, 6, p. 2307-2313, 2010.
- BUSENLECHNER, D.; FURHAUSER, R.; HAAS, R.; WATZEK, G.; MAILATH, G.; POMMER, B. Long-term implant success at the Academy for Oral Implantology: 8-year follow-up and risk factor analysis. **J Periodontal Implant Sci**, [S.I.], v. 44, n. 3, p. 102-8, Jun 2014.
- CERBASI, K. P. Bacterial etiology and treatment of peri-implantitis. **Innov Implant J, Biomater Esthet**, São Paulo, v.5,n.1, p.50-55, jan./abr.2010.

CRETON, M.; CUNE, M.; VERHOEVEN, W.; MURADIN, M.; WISMEIJER, D.; MEIJER, G. Implant treatment in patients with severe hypodontia: a retrospective evaluation. **J Oral Maxillofac Surg**, [S.I.], v. 68, n. 3, p. 530-8, Mar 2010.

DE MENDONÇA, A. C.; SANTOS, V. R.; CÉSAR-NETO, J. B.; DUARTE, P. M. Tumor necrosis factor-alpha levels after surgical antiinfective mechanical therapy for peri-implantitis: a 12-month follow-up. **Journal of periodontology**, v. 80, n. 4, p. 693-699, 2009.

DINGSDDAD, S.; NELSON, S.; COLEMAN, N.V. Bacterial communities associated with apical periodontitis and dental implant failure. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 27.31307, 2016.

GENTILE, M. A.; CHUANG, S. K.; DODSON, T. B. Survival estimates and risk factors for failure with 6 x 5.7-mm implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, [S.I.], v. 20, n. 6, p. 930-7, Nov-Dec 2005.

GUALINI, F.; BERGLUNDH, T. Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. **Journal of clinical periodontology**, v. 30, n. 1, p. 14-18, 2003.

HARRIS, L. G.; MEAD, L.; MULLER- OBERLANDER, E. et al. Bacteria and cell cytocompatibility studies on coated medical grade titanium surfaces. **J Biomed Mater Res A**, [S.I.], 78, p. 50-58, 2006.

HEITZ-MAYFIELD, L. J. Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. **J Clin Periodontol**, [S.I.], v. 35, n. 8 Suppl, p. 292-304, Sep 2008.

HEITZ-MAYFIELD, L. J.; LANG, N. P. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. **Periodontol 2000**, [S.I.], v. 53, p. 167-81, Jun 2010.

HUMPHREY, S. Implant Maintenance. **Dent Clin N Am**, [S.I.], 50, p. 463-478, 2006.

KAKLAMANOS, E. G.; TSALIKIS, L. A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. **J Int Acad Periodontol**, [S.I.], v. 4, n. 2, p. 49-59, Apr 2002.

KAO, R. T.; CURTIS, D. A.; RICHARDS, D. W.; PREBLE, J. Increased interleukin-1 beta in the crevicular fluid of diseased implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, [S.I.], v. 10, n. 6, p. 696-701, Nov-Dec 1995.

KINNEY, J. S.; RAMSEIER, C. A.; GIANNOBILE, W. V. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. **Ann N Y Acad Sci**, [S.I.], v. 1098, p. 230-51, Mar 2007.

KRENNMAIR, G.; SEEMANN, R.; SCHMIDINGER, S.; EWERS, R.; PIEHSLINGER, E. Clinical outcome of root-shaped dental implants of various diameters: 5-year results. **Int J Oral Maxillofac Implants**, [S.I.], v. 25, n. 2, p. 357-66, Mar-Apr 2010.

KRONSTROM, M.; SVENSON, B.; HELLMAN, M. et al. Early implant failures in patients treated with Branemark System titanium dental implants: A retrospective study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, [S.I.], 16, p. 201- 207, 2001.

KUMAR, P. S.; MASON, M. R.; BROOKER M. R.; O'BRIEN, K. Pyrosequencing reveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dental implants. **J Clin Periodontol**, 2012.

KUULA, H.; SALO, T.; PIRILA, E.; TUOMAINEN, A. M.; JAUHAINEN, M.; UITTO, V. J.; TJADERHANE, L.; PUSSINEN, P. J.; SORSA, T. Local and systemic responses in matrix metalloproteinase 8-deficient mice during Porphyromonas gingivalis-induced periodontitis. **Infect Immun**, [S.I.], v. 77, n. 2, p. 850-9, Feb 2009.

LAI, H. C. et al. Long-term outcomes of short dental implants supporting single crowns in posterior region: a clinical retrospective study of 5-10 years. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], v. 24, n. 2, p. 230-7, Feb 2013.

LAMSTER, I. B.; AHLO, J. K. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. **Ann N Y Acad Sci**, [S.I.], v. 1098, p. 216-29, Mar 2007.

LANG, N. P.; BERGLUNDH, T. et al. Periimplant diseases: where are we now?--Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. **J Clin Periodontol**, [S.I.], v. 38 Suppl 11, p. 178-81, Mar 2011.

LANG, N. P.; WILSON, T. G.; CORBET, E. F. Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], 11 (Suppl.), p. 146–155, 2000.

LEONBARDT, A.; GRONDAHL, K.; BERGSTROM, C.; LEKHOLM, U. Long-term followup of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. **Clinical Oral Implants Research**, [S.I.], 13, p. 127-132, 2002.

LEONHARDT, A.; RENVERT, S.; DAHLEN, G. Microbial findings at failing implants. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], 10, p. 339-345, 1999.

MA, J.; KITTI, U.; TERONEN, O.; SORSA, T.; HUSA, V.; LAINE, P.; RONKA, H.; SOLO, T.; LINDQVIST, C.; KONTTINEN, Y. T. Collagenases in different categories of peri-implant vertical bone loss. **J Dent Res**, [S.I.], v. 79, n. 11, p. 1870-3, Nov 2000.

MOMBELLI, A.; MULLER, N.; CIONCA, N. The epidemiology of peri-implantitis. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], v. 23 Suppl 6, p. 67-76, Oct 2012.

MOMBELLI, A.; VAN OOSTEN, M. A.; SCHURCH E JR; LANG, N. P. The microbiological associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral Microbiol and Immunol**, [S.I.], 2, p. 145-51, 1987.

PACIFICI, A.; CARBONE, D.; MARINI, R.; SFASCIOTTI, G. L.; PACIFICI, L.; Clinical Management of a Peri-Implant Giant Cell Granuloma. **Case Reports in Dentistry**,

2015.

PAIS, E. S.; SLAVESCU, D. Degenerative and regenerative morphological aspects in peri-implantitis. **Ultrastructural Pathology**, Mar 2016.

QUIRYNEN, M.; VOGELS, R.; PEETERS, W.; VAN STEEBERGHE, D.; NAERT, I.; HAFFAJEE, A. Dynamics of initial subgingival colonization of “pristine” peri-implant pockets. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], 17, p. 25-37, 2006.

RAMS, T. E.; LINK, C. C. Microbiology and failing dental implants in humans: elétron microscopy observations. **J Oral Implantol**, [S.I.], 11, p. 93-100, 1983.

RENOUARD, F.; NISAND, D. Impact of implant length and diameter on survival rates. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], v. 17 Suppl 2, p. 35-51, Oct 2006.

RENVERT, S.; ROOS-JANSACKER, A. M.; LINDAHL, C.; RENVERT, H.; RUTGER PERSSON, G. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], v. 18, n. 4, p. 509-16, Aug 2007.

RENVERT, S.; LINDAHL, C.; RENVERT, H.; PERSSON, G. R. Clinical and microbiological analysis of subjects treated with Branemark or AstraTech implants: A 7-year follow-up study. **Clin Oral Implants Res**, [S.I.], 19, 2008.

ROBBINS; COTRAN. **Patologia - Bases Patológicas das Doenças**, 7ª edição, 2005.

ROOS-JANSACKER, A. M.; LINDAHL, C.; RENVERT, H.; RENVERT, S. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part I: implant loss and associations to various factors. **J Clin Periodontol**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 283-9, Apr 2006.

SHIBLI, J. A.; MARTINS, M. C.; LOTUFO, R. F.; MARCANTONÍO E JR. Microbiologic and radiographic analysis of ligature-induced peri-implantitis with different dental implantsurfaces. **IntJ Oral Maxillofac Implants**, [S.I.], 18(3), p. 383-90, May-Jun, 2003.

SHIBLI, J. A.; MELO, L.; FERRARI, D. S.; FIGUEIREDO, L. C.; FAVERI, M.; FERES, M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. **Clin. Oral Impl., Res.**19, p. 975-982, 2008.

SORSA, T. et al. Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods. **Oral Dis**, [S.I.], v. 16, n. 1, p. 39-45, Jan 2010.

TAMURA, N.; OCHI, M.; MIYAKAWA, H.; NAKAZAWA, F. Analysis of Bacterial Flora Associated with Peri-implantitis Using Obligate Anaerobic Cultural Technique and 16S rDNA Gene Sequence. **The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v. 28, n. 6, 2013.

TELES, R. P.; HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**: Infecções perimplantares. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 255- 267, 2010.

ZITZMANN, N. U.; BERGLUNDH, T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. **J Clin Periodontol**, [S.l.], v. 35, n. 8 Suppl, p. 286-91, Sep 2008.

ANEXO A – Parecer de aprovação

UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA DO FLUIDO CREVICULAR E DA GENGIVA MARGINAL DE PACIENTES COM PERIODONTITE E COM PERI-IMPLANTITE.

Pesquisador: Sanívia Aparecida de Lima Pereira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 64947717.0.0000.5145

Instituição Proponente: Sociedade Educacional Uberabense

Patrocinador Principal: Sociedade Educacional Uberabense

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.457.394

Apresentação do Projeto:

O título do projeto em tela é “AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA DO FLUIDO CREVICULAR E DA GENGIVA MARGINAL DE PACIENTES COM PERIODONTITE E COM PERI-IMPLANTITE”, e traz a hipótese de que pacientes com periodontite crônica apresentam maior probabilidade de desenvolver peri-implantite.

O projeto está bem fundamentado e traz uma extensa introdução sobre o tema abordando as principais causas e consequências da periodontite e das doenças peri-implantares. Para alcançar os objetivos propostos, os pesquisadores contarão com 30 pacientes com periodontite e indicação de exodontia com posterior instalação de implantes. Estes pacientes foram/serão selecionados no período de janeiro de 2018 a dezembro de 2018 durante consulta de acompanhamento dos implantes numa clínica odontológica da rede privada na cidade de Uberaba. Após o exame clínico, serão obtidas radiografias intra-orais periapicais para cada dente utilizando a técnica do paralelismo com posicionador radiográfico para avaliar a perda óssea periodontal. Nestes será coletado fluido

crevicular e fragmentos de gengiva, antes e após seis meses decorrentes da instalação do implante dentário. O fluido coletado será processado para o ensaio imunoenzimático (ELISA), e os fragmentos de gengiva serão preparados para a imunohistoquímica, ambos com a finalidade de avaliar citocinas pró e anti-inflamatórias. Além disso, as amostras serão processadas histologicamente, coradas pelo corante HE para avaliação do processo inflamatório e pelo corante Picrosirius para quantificação de colágeno.

Os critérios de exclusão para a seleção dos pacientes serão os seguintes: realização de terapia periodontal há menos de 1 ano; presença de doenças sistêmicas relevantes; uso de antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos seis meses; pacientes fumantes, etilistas crônicos; pacientes com doenças sistêmicas; gestantes; lactantes; implantes com mobilidade ou supuração e aqueles pacientes que não concordarão assinar o termo de consentimento.

As análises estatísticas serão realizadas pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov* para a avaliação da normalidade, e *Mann Whitney* para variáveis com distribuição não-normal quando realizada a comparação entre os dois grupos (com ou sem peri-implantite). Para variáveis qualitativas (masculino/feminino; caucasiano/não caucasiano) será utilizado o teste exato de *Fisher*. O nível de significância assumido será de 5% ($p < 0,05$).

Os pesquisadores esperam que os dados obtidos possam auxiliar em traçar um perfil de resposta imunológica que compare as duas doenças em um único paciente, com a finalidade de prevenir insucessos na evolução da osseointegração dos implantes dentários.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Realizar avaliação imunológica do fluido crevicular e da gengiva marginal em pacientes com periodontite e peri-implantite.

Objetivo Secundário:

Comparar a intensidade de inflamação, a porcentagem de colágeno e a expressão de citocinas no fluido crevicular e na gengiva antes e após 1 ano da instalação do implante dentário.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos

De acordo com os proponentes “não haverá riscos para o paciente porque a coleta do fluido crevicular não provocará dor nem desconforto. Da mesma forma a coleta dos fragmentos de gengiva serão realizadas sob anestesia local e como forma do tratamento dos pacientes com peri-implantite ou periodontite. Dos pacientes controles serão coletados fragmentos do tecido peri-implantar na região adjacente à gengiva que será aberta para colocação de um novo implante. Não haverá perda de confidencialidade, pois os pacientes serão identificados por números”.

Benefícios

Os benefícios estão voltados em traçar um perfil de resposta imunológica que compare essas duas doenças em um único paciente, com a finalidade de prevenir insucessos na evolução da osseointegração dos implantes dentários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente projeto está bem fundamentado e a metodologia atende aos princípios éticos em pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A folha de rosto está devidamente assinada, indicando corretamente a Instituição proponente (Universidade de Uberaba); além disso, o declarante menciona estar ciente da resolução 466/12, a qual será cumprida;

A carta de autorização da Policlínica Getúlio Vargas, onde as amostras serão coletadas, está devidamente assinada pelo prof. Anderson Silva CRO-16754-MG, e com a ciência do prof. Dr. Luis Henrique Borges, diretor do curso de Odontologia da UNIUBE.

O TCLE vem com uma linguagem mais acessível ao público, embora ainda encontramos alguns termos de difícil entendimento ao leigo como a transcrição do objetivo da pesquisa dentro do mesmo. Contudo, este é explicado ao longo do termo. Os benefícios são apresentados, assim como medidas para evitar eventual perda da confidencialidade. Além disso, traz o cabeçalho correto e os contatos do responsável pela pesquisa, da Policlínica e do CEP da UNIUBE.

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os proponentes adequaram o projeto, TCLE e encaminharam a carta de autorização da Policlínica.

De acordo com a avaliação realizada assinalo o referido projeto como APROVADO, salvo melhor juízo feito pelos membros do CEP-UNIUBE.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em 21/12/2017 a plenária votou de acordo com o relator, pela aprovação da proposta, lembrando o proponente do compromisso com o que trata as Resoluções 466/12 e 510/2016, especialmente no que diz respeito a entrega dos Relatórios Parcial e Final da pesquisa ao CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_832915.pdf	05/12/2017 15:31:32		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.doc	04/12/2017 16:48:14	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
Parecer Anterior	PARECER.pdf	04/12/2017 16:22:16	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	04/12/2017 15:42:22	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
Folha de Rosto	folhoderosto.pdf	04/12/2017 14:43:53	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
Outros	Autorizacaoll.jpeg	04/12/2017 14:41:42	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito
Outros	Autorizacao.jpeg	04/12/2017 14:36:15	Sanívia Aparecida de Lima Pereira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERABA, 27 de Dezembro de 2017

**Assinado por:
Geraldo Thedei Junior
(Coordendor)**

ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE ESCLARECIMENTO

Peri-implantite é um termo utilizado para identificar o processo de inflamação que ocorre em torno de um implante dentário. O diagnóstico desta doença é extremamente importante, pois se não for identificada e tratada, pode levar à perda do implante. O presente estudo “*Avaliação da mucosa peri-implantar em pacientes com peri-implantite utilizando histoquímica, imunohistoquímica e ELISA*” tem como objetivo avaliar a resposta inflamatória observada em implantes dentários, utilizando métodos laboratoriais (histoquímica, imunohistoquímica e ELISA) e verificar se essa resposta está aumentada em pacientes fumantes e portadores de diabetes mellitus. Como os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, sua participação é importante. Caso você participe, será necessário fazermos coletas de amostra de tecido gengival (biópsia), exames radiográficos, perguntas sobre sua saúde geral e odontológica. Este estudo permitirá identificar se você tem peri-implantite e também lhe oferecerá todo o suporte de informações sobre sua prevenção e tratamento. Não será feito nenhum procedimento que traga risco a sua vida ou maior desconforto, além da remoção do fragmento.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Por sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificado com um número.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

Eu, _____, li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo.

Uberaba, ___/___/_____

Assinatura do voluntário ou seu responsável legal

Documento de identidade

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato dos pesquisadores: Sanívia: 9153-5353 – Marcelo Ribeiro: 8868-0496

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Uberaba - UNIUBE, pelo telefone (34) 3319-8959.

ANEXO C – Anamnese

Dados pessoais			
Nome:		Data: / /	
Data de nascimento: / /	Idade:	Raça: <input type="checkbox"/> Branco <input type="checkbox"/> Negro	
Estado civil:	Profissão:	Gênero: <input type="checkbox"/> Feminino <input type="checkbox"/> Masculino	
Endereço: n°:		Bairro:	
Telefone:	Celular:		
Motivo da perda dos dentes:			
Sistema cardiovascular: Pressão arterial :		Hipertensão arterial () sim () não	
Sistema respiratório (asma, pneumonia, bronquite, enfisema, fibrose...) () sim () não Qual? _____ _____ _____		Sistema genito-urinário (cistite, nefrite, insuficiência renal...) () sim () não Qual? _____ _____ _____	
Sistema digestório (gastrites, úlceras...) () sim () não Qual? _____ _____ _____		Distúrbios hemorrágicos (distúrbios de coagulação, púrpuras...) () sim () não Qual? _____ _____ _____	
Sistema endócrino (diabetes, paratireoidismo. Tireoidite...) () sim () não Qual? _____ _____ _____		Alergias () sim () não Qual? _____ _____ _____	
Discrasias sanguíneas (leucemia, agranulocitose) () sim () não Qual? _____ _____ _____		Doenças infecciosas (hepatite, DST, AIDS, tuberculose...) () sim () não Qual? _____ _____ _____	
Sedentarismo () sim () não		Está sob tratamento médico? () sim () não Detalhar _____ _____	
Tabagismo () sim () não Quantos cigarros por dia: _____		Índice de massa corporal (IMC) = $\frac{\text{peso}}{(\text{altura})^2}$ = _____ = _____	

() ex-fumante Há quanto tempo? _____	peso= altura=
() fumante passivo	
Está sob tratamento médico? () sim () não	Faz uso de algum medicamento? () sim () não Quais? _____ _____ _____
Possui alguma neoplasia (tumores)? () sim () não Qual? _____ _____	1) Possui alguma doença auto-imune (pênfigo, tireoidite de Hashimoto ...) () sim () não Qual? _____ _____
Deficiência de vitamina C? _____	Osteoporose () sim () não
Ingere fontes de vitamina C? _____	
Já teve problemas periodontite antes da colocação do implante? () sim () não	Se a resposta anterior foi sim: Fez tratamento periodontal? () sim () não quando? _____

Condição dental (coroa)																			
18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	Índice	Condição		
																0	Dente natural		
																1	Ausente		
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	2	Implante		
Higienização () satisfatória () deficiente								Há antagonista ao implante? () sim () não () dente () prótese removível () prótese fixa											

Sangramento à sondagem

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	Índice	Condição
																0	Ausência
																1	Presença
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38		

Supuração

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	Índice	Condição
																0	Ausência
																1	Presença
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38		

Profundidade de sondagem (em milímetros)

Implante (dente)	Recessão			Profundidade de sondagem				Sangramento		
	V= D=	L= D=	M= D=	V= D=	L= D=	M= D=	D= D=	V= D=	L= D=	M= D=
	V= D=	L= D=	M= D=	V= D=	L= D=	M= D=	D= D=	V= D=	L= D=	M= D=
	V= D=	L= D=	M= D=	V= D=	L= D=	M= D=	D= D=	V= D=	L= D=	M= D=
	V= D=	L= D=	M= D=	V= D=	L= D=	M= D=	D= D=	V= D=	L= D=	M= D=
	V= D=	L= D=	M= D=	V= D=	L= D=	M= D=	D= D=	V= D=	L= D=	M= D=
	V= D=	L= D=	M= D=	V= D=	L= D=	M= D=	D= D=	V= D=	L= D=	M= D=

Implante (dente)	Tipo de implante	Data do implante	Data do cicatrizador	Data de instalação da prótese sobreimplante

<input type="checkbox"/> Implante <input type="checkbox"/> Dente	Índice de Placa	Índice Gengival	Escore – índice de placa		Escore – índice gengival (sangramento)	
			0	Sem placa	0	Ausência
			1	Uso de sonda	1	Presença de pontos
			2	Olho nu	2	Colar
			3	Abundância	3	Abundante

Assinatura do paciente