

UNIVERSIDADE DE UBERABA
TASSIANA CARVALHO MENDONÇA GALVÃO

**DIVERSIDADE MICROBIANA EM REGIÃO PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES
COM HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICOS**

UBERABA-MG

2022

TASSIANA CARVALHO MENDONÇA GALVÃO

**DIVERSIDADE MICROBIANA DA REGIÃO PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES COM
HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao programa de Mestrado em Odontologia, da Universidade de Uberaba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Biopatologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins.

UBERABA-MG

2022

II

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

G139d Galvão, Tassiana Carvalho Mendonça.
Diversidade microbiana em região peri-implantar de pacientes com histórico de doença periodontal e parâmetros clínicos / Tassiana Carvalho Mendonça Galvão. – Uberaba, 2022.
68 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área Biopatologia.
Orientadora: Profa. Dra. Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins.

1. Placas dentárias. 2. Biofilmes. 3. Implantes dentários. 4. Mucosa bucal – Inflamação. I. Martins, Ruchele Dias Nogueira Geraldo. II. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Odontologia. Área Biopatologia. III. Título.

CDD 617.632

TASSIANA CARVALHO MENDONÇA GALVÃO


**DIVERSIDADE MICROBIANA DA REGIÃO PERI-IMPLANTAR DE PACIENTES COM
HISTÓRICO DE DOENÇA PERIODONTAL E PARÂMETROS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia do programa de Pós-Graduação em Odontologia – Mestrado da Universidade de Uberaba.

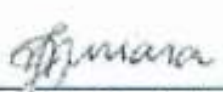
Área de concentração: Biopatologia.

Aprovado(a) em: 23/02/2022.

BANCA EXAMINADORA:


Prof.^ª. Dr.^ª. Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins
Orientadora
Universidade de Uberaba


Prof.^ª. Dr.^ª. Sanlyia Aparecida Lima Pereira
Universidade de Uberaba


Prof.^ª. Dr.^ª. Janisso Martinelli de Oliveira Misiara
Universidade Federal do Triângulo Mineiro / UFTM

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Clésio e Ivânia, que são e vão ser sempre minha fortaleza e exemplos de força, amor e dedicação.

Ao meu marido, Marcos, pelo companheirismo em todos os meus projetos.

As minhas irmãs, Juliana, Jesse Heloisa e Marina, por todo o apoio em minha vida.

A minha sobrinha Maria Eduarda, que com sua alegria e amor, mudou completamente minha vida após seu nascimento.

Ao meu cunhado, Eduardo, pela disponibilidade em ajudar sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que é à base da minha vida. Sua presença me enche de forças pra encarar todas as batalhas.

Aos meus pais por todo amor, apoio e dedicação.

Ao meu marido por estar sempre ao meu lado em todos os desafios.

Aos meus pacientes que entenderam muitas vezes minha ausência do consultório para me dedicar aos compromissos do mestrado.

A minha orientadora, professora Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins, por toda a atenção, apoio, carinho e disponibilidade em ajudar e me orientar.

A doutoranda, Juliana Barbosa de Faria, por todo apoio neste projeto. Minhas palavras não são suficientes para agradecer toda a sua ajuda.

A todos os professores do programa de mestrado, que foram um exemplo de dedicação, luta e compromisso com a educação.

À Flávia, pela sua disponibilidade em responder e guiar todas as minhas dúvidas e observações. A CAPES, pelo apoio acadêmico e financeiro.

APOIO FINANCEIRO

Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

Os implantes dentários são importantes formas de reabilitação oral. Embora a maioria dos implantes apresentem sucesso, uma pequena parcela dos pacientes podem apresentar alterações peri-implantares, a mucosite peri-implantar e a peri-implantite, alterações aliadas ao biofilme dental, composto por uma grande diversidade microbiana, associada a fatores intrínsecos ao hospedeiro. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a presença de *Porphyromonas gingivalis* (P.g), *Prevotella intermedia* (P.i), *Fusobacterium nucleatum*(F.n) e *Scardovia wiggsiae* (S.w) em FCP de pacientes que receberam implantes dentários há 12 meses e associar com histórico de periodontite e dados clínicos. Para tanto, amostras de 44 voluntários foram coletadas e analisadas por ensaios de PCR, com primers específicos para cada bactéria. Os resultados mostraram que Pg foi detectada em 34%, Fn e Pi, 81,8% e Sw 75% dos voluntários. Pg foi frequentemente detectada em pacientes que tinham histórico de periodontite ($p < 0.05$, $q = 8.19$). Por outro lado, não houve associação entre a presença de Fn, Pi e Sw e história de periodontite ($p > 0.05$, $q < 0.61$). A gengivite e periodontite foram mais frequentemente detectadas em pacientes com histórico de periodontite ($p < 0.05$, $q > 9.81$). Pg foi detectada em 58,3% dos voluntários que tinham dentes previamente aos implantes ($n = 12$) e sua presença esteve associada com a periodontite ($p < 0.05$, $q = 5.31$) e gengivite ($p < 0.05$, $q = 4.31$). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre a presença prévia de dentes, de periodontite e/ou gengivite e detecção das demais bactérias analisadas ($p > 0.05$). Todos os pacientes cujas profundidades de sondagem foram maiores que 3 mm apresentaram Fn em níveis detectáveis ($p < 0.05$, $q = 4.56$). Em conclusão, o envolvimento da Sw nas alterações peri-implantares não foi evidente neste trabalho. Pi e Fn não se relacionaram a gengivite, periodontite, histórico de periodontite e mucosite. Fn esteve presente em bolsas periodontais acima de 3 mm, sugerindo seu envolvimento no agravamento das alterações peri-implantares. Pg foi detectada em pacientes com histórico de doença periodontal, gengivite e periodontite e naqueles que possuíam dentes no nicho do implante.

Palavras-chaves: Biofilmes; Implantação dentária; Mucosite Peri-Implantar; Peri-implantite.

ABSTRACT

Dental implants are important forms of oral rehabilitation. Although most implants are successful, a small portion of patients may present peri-implant alterations, peri-implant mucositis and peri-implantitis, alterations allied to the dental biofilm, composed of a great microbial diversity, associated with intrinsic factors to the host. . The aim of the present study was to evaluate the presence of *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn) and *Scardovia wiggsiae* (Sw) in HCP of patients who received dental implants 12 months ago and to associate it with a history of of periodontitis and clinical data. For that, samples from 44 volunteers were collected and analyzed by PCR assays, with specific primers for each bacterium. The results showed that Pg was detected in 34%, Fn and Pi, 81.8% and Sw 75% of the volunteers. Pg was frequently detected in patients who had a history of periodontitis ($p < 0.05$, $q = 8.19$). On the other hand, there was no association between the presence of Fn, Pi and Sw and history of periodontitis ($p > 0.05$, $q < 0.61$). Gingivitis and periodontitis were more frequently detected in patients with a history of periodontitis ($p < 0.05$, $q > 9.81$). Pg was detected in 58.3% of volunteers who had teeth prior to implants ($n = 12$) and its presence was associated with periodontitis ($p < 0.05$, $q = 5.31$) and gingivitis ($p < 0.05$, $q = 4.31$). There were no statistically significant differences between the previous presence of teeth, periodontitis and/or gingivitis and detection of the other analyzed bacteria ($p > 0.05$). All patients whose probing depths were greater than 3 mm had Fn at detectable levels ($p < 0.05$, $q = 4.56$). In conclusion, the involvement of Sw in peri-implant alterations was not evident in this work. Pi and Fn were not related to gingivitis, periodontitis, history of periodontitis and mucositis. Fn was present in periodontal pockets larger than 3 mm, suggesting its involvement in the worsening of peri-implant alterations. Pg was detected in patients with a history of periodontal disease, gingivitis and periodontitis and in those who had teeth in the implant niche.

Keywords: Biofilms; Dental implantation; Peri-Implant Mucositis; Peri-implantitis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Representação esquemática do processo de extração do DNA cromossomal.....	20
FIGURA 2- Relação do número de pacientes positivos e negativos para Pg, Fn, Pi e SW, com ou sem histórico de DP.....	24
FIGURA 3- Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Pg no fluido crevicular.....	25
FIGURA 4- Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Fn no fluido crevicular.....	26
FIGURA 5- Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Pi no fluido crevicular.....	26
FIGURA 6- Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Sw no fluido crevicular.....	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Primers de oligonucleotídeos.....	22
TABELA 2 - Relação dos pacientes com profundidade de sondagem maior que 2 mm com histórico ou não de DP.....	24
TABELA 3 - Tabela 3 - A análise comparativa da frequência de detecção bacteriana e a mensuração da profundidade de sondagem.....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. HIPÓTESE.....	16
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 OBJETIVO GERAL.....	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1 SELEÇÃO E COLETA AMOSTRAL.....	18
4.2 DETECÇÃO DAS BACTÉRIAS NAS AMOSTRAS.....	20
5 RESULTADOS.....	23
6 DISCUSSÃO.....	28
7 CONCLUSÕES.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
APÊNDICE A – ANAMNESE.....	42
APÊNDICE B - TERMO DE ESCLARECIEMNTTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	44
ANEXO A APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	46
ANEXO B ARTIGO ENCAMINHADO PARA PUBLICAÇÃO.....	51

1 INTRODUÇÃO

Os implantes dentários se tornaram uma ferramenta revolucionária na odontologia reconstrutiva, substituindo dentes perdidos e restaurando as funções estéticas, mastigatórias e oclusais (BELIBASAKIS; MANOIL, 2021). Com o avanço da odontologia e a demanda dos pacientes pela busca de estética e dentes artificiais cada vez mais parecidos com os naturais, os implantes estão se tornando cada vez mais atrativos, exigindo mais conhecimento e habilidade dos cirurgiões-dentistas. A prevalência dos implantes dentários se torna cada vez maior, aumentando 14% ao ano com uma projeção de se chegar a 23% em 2026. (MORASHINI *et al.*, 2015).

Os implantes dentários são definidos como dispositivos com função de reabilitação oral (OGLE, 2015). Esses são utilizados desde 1965, quando se iniciaram os estudos de Brånemark (ALBREKTSSON; ISIDOR, 1994) e estão se tornando viáveis e eficazes para substituir regiões parcialmente ou totalmente edêntulas (WANG *et al.*; 2017), com a função de substituir dentes que não puderam ser mantidos na cavidade oral, mesmo com o tratamento periodontal ou pelos fracassos protéticos, endodônticos, fraturas, cáries, traumatismos, agenesias e iatrogenias (FRANCISCHONE *et al.*, 2006). Basicamente, são constituídos por um parafuso metálico e um pilar, representando analogamente, a raiz dentária (PETKOVIĆ-CURCIN *et al.*; 2011), e sobre eles, é confeccionada uma coroa protética. O implante dentário é composto, em sua maioria, de titânio ou liga de titânio, que são materiais que apresentam alta resistência à corrosão, força, resistência, resiliência, baixa densidade e estabilidade (OTTRIA *et al.*; 2018; DE OLIVEIRA *et al.*; 2017) e é instalado por cirurgia em um rebordo ósseo residual (AMERICAN ACADEMY OF IMPLANT DENTISTRY, 2016).

Após a instalação dos implantes ocorre a osteocondução, com o recrutamento e a migração de células osteogênicas; posteriormente ocorre a formação de uma matriz mineralizada, seguido do processo de remodelação óssea (OLIVEIRA *et al.*; 2013). A relação entre implante e osso, ocorre por intermédio da osseointegração, quando o osso está em contato íntimo com o implante de forma previsível e duradoura para estabelecer uma ancoragem do implante (MENDES e DAVIES, 2016).

Alguns fatores podem aumentar ou inibir a osseointegração. Os que aumentam estão relacionados ao implante, seu design, composição, topografia, material, comprimento, forma, diâmetro, tratamento da superfície do implante, e, antes, o estado do tecido ósseo do paciente, estabilidade mecânica, enxerto ósseo e agentes farmacológicos. Dentre os fatores que podem inibir, tem-se a mobilidade excessiva do implante, porosidade inadequada de sua estrutura, terapia de radiação, fármacos e fatores relacionados ao próprio paciente, como o acúmulo de biofilme (MAVROGENIS *et al.*; 2009).

A mucosa peri-implantar é o tecido mucoso que circunda os implantes dentários e que se estabelece durante o processo de cicatrização, possuindo características clínicas e histológicas semelhantes à gengiva que rodeia os dentes naturais (LINDHE e KARRING, 2010). Desta forma, este

tecido pode inflamar como o tecido gengival quando ocorrer o acúmulo de biofilme bacteriano (ZITZMMAN *et al.*, 2001). Os tecidos fibrosos inseridos nos implantes são diferentes dos tecidos inseridos nos dentes, pois tem menos vascularização e a direção das fibras colágenas são paralelas, resultando numa fenda mais profunda do que no sulco gengival, possibilitando a penetração mais fácil de microrganismos (MOLINA, 2016). Os implantes dentários são mais susceptíveis a infecções endógenas devido a estas diferenças histológicas e imunofisiológicas em relação aos dentes naturais (BELIBASAKIS, 2014).

O sucesso da osseointegração dos implantes mostra ausência de sinais clínicos de inflamação e supuração, bem como profundidades de sondagem inferiores a 2 mm (SANZ e CHAPLE., 2012). Por outro lado, o insucesso dos implantes dentários pode ocorrer por diferentes causas, como as doenças inflamatórias peri-implantares, como a mucosite e a peri-implantite, que são alterações patológicas periodontais que afetam o funcionamento dos implantes (DERKS; TOMASI, 2015; LINDHE; MEYLE, 2008). As mucosites podem ser definidas como alterações inflamatórias reversíveis dos tecidos gengivais peri-implantares que não sofreram perda óssea; enquanto, a peri-implantite é definida como reações inflamatórias com perda de suporte ósseo nos tecidos ao redor de um implante funcional.

A mucosite peri-implantar é causada pelo acúmulo de biofilme que interrompe a homeostase do hospedeiro-micróbio, na interface implante-mucosa, resultando em uma lesão inflamatória. A mucosite peri-implantar é uma condição reversível ao nível saudável do hospedeiro (HEITZ-MAYFIELD; SALVI, 2016). O diagnóstico da mucosite deve ser baseado na presença de sinais de inflamação peri-implantar (vermelhidão, edema, diminuição de sangramento dentro de 30 segundos após a sondagem), combinado com nenhuma perda óssea adicional (RENVERT *et al.*, 2018).

A peri-implantite é uma das principais causas de insucesso dos implantes (DE OLIVEIRA *et al.*; 2015) e causa perda de suporte ósseo levando a perda do implante (DIÓGENES *et al.*; 2018). Esta lesão ocorre por um desequilíbrio entre o hospedeiro e microrganismo associado à formação do biofilme na região peri-implantar (PITA, 2015), devido a uma piora da mucosite. Mudanças ecológicas nos locais da submucosa peri-implantar podem levar a mudanças da microbiota, favorecendo a disbiose, com o supercrescimento de bactérias patogênicas potenciais, aumentando assim a possibilidade de desenvolvimento de peri-implantite (KROGER *et al.*, 2018). Algumas características clínicas podem ser observadas nesse processo inflamatório, tais como: sangramento à sondagem, exsudato, profundidade de sondagem aumentada e edema (MARTINS *et al.*; 2019). Clinicamente, a peri-implantite é caracterizada pela formação de bolsa peri-implantar com profundidade acima de 3 mm, além de sangramento à sondagem e/ou supuração. Radiograficamente, é diagnosticada pela visualização de perda óssea ao redor do implante, representada por radioluscência peri-implantar (HEITZ-MAYFIELD *et al.*; 2008). Já em outro estudo foi considerada peri-implantite como a perda óssea horizontal maior ou igual a 3mm em volta do implante e perda

óssea fisiológica de 1 a 1,5 mm (CASADO *et al.*; 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Há uma controvérsia muito grande sobre a composição do biofilme nas infecções peri-implantares; se esta é diferente da composição dos biofilmes nos locais afetados pela periodontite, ou se é própria da microflora ao redor de implantes dentários saudáveis (SAHRMANN *et al.*, 2020). A colonização microbiana da região peri-implantar, logo após a instalação dos implantes, parecem se assemelhar aos de sítios periodontais saudáveis, com uma menor diversidade (HEITZ-MAYFIELD; SALVI, 2018). Assim, a colonização microbiana dos dentes naturais pode servir como reservatório para a formação do biofilme ao redor dos implantes (VALENTE; ADREANA, 2016; YAN *et al.*, 2020). Kocar e colaboradores (2010) mostraram que o sulco peri-implantar e periodontal de pacientes parcialmente edêntulos, não tinham diferenças na microbiota, apresentando as mesmas espécies periodontopatogênicas, enquanto nenhuma dessas bactérias foram encontradas nos sulcos peri-implantar de pacientes completamente desdentados. Portanto, as evidências apontam para a importância da eliminação desses micro-organismos da cavidade oral antes da colocação dos implantes, podendo assim inibir a colonização e reduzir o risco de peri-implantite (CERBASI, 2010). Os implantes quando instalados em locais previamente infectados apresentaram um risco maior de falha quando comparados aos implantes dentários imediatos colocados em locais não infectados (OLIVEIRA- NETO *et al.*, 2019).

A microbiota associada com a doença peri-implantar é composta por inúmeros micro-organismo, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis* e *Campylobacter rectus* (CERBASI, 2010). Parecendo ser comparável com o biofilme subgingival em dentes com periodontite (CERBASI, 2010). Os sítios saudáveis apresentavam outra microbiota, composta por *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivaris*, *Actynomices naeslundii* e *Actionomyces odontolyucus* (PETRASUNAS, 2010; SOBREIRA *et al.*; 2011). Estes micro- organismos podem destruir os tecidos peri-implantares de diferentes maneiras: invadindo e destruindo diretamente 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 (CERBASI, 2010).

A colonização peri-implantar se inicia 30 minutos após a instalação do implante, e a carga bacteriana permanece a mesma na primeira semana (FURST *et al*, 2007). Entre a primeira e a décima segunda semana, após o procedimento cirúrgico, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* e *Treponema denticola* são identificadas em um alto nível (FURST *et al*, 2007). Aos 12 meses, a carga bacteriana parece ser significativamente maior para algumas espécies, em particular *T. forsythia* e, em menor grau, *P. gingivalis* (SALVI *et al.*, 2008). Segundo Tallarico (2017), a contagem bacteriana em casos de peri-implantite evidenciou um aumento da colonização de *T. forsythia*.

Scardovia wiggsiae é um micro-organismo anaeróbico, bacilo Gram-positivo pleomórfico, recentemente isolado da cavidade oral humana, associado com cárie precoce e foi subsequentemente

isolado em bolsas periodontais de adultos submetidos ao tratamento ortodôntico (TANNER *et al.*, 2012). O seu papel etiológico na doença e saúde periodontal ainda é controverso. Um recente estudo demonstrou a presença de *S. wiggsiae* em sulcos periodontais havendo uma diminuição da sua concentração encontrada na placa subgingival em pacientes periodontalmente saudáveis, com gengivite e periodontite crônica respectivamente (CHAKRAPANI *et al.*, 2019). No entanto, não há trabalhos que associem sua presença na interface peri-implantar.

Somados ao biofilme peri-implantar outros fatores também podem levar ao insucesso da ancoragem peri-implantar, tais como a sobrecarga oclusal, fatores genéticos, fatores locais, exposição precoce do implante, problemas sistêmicos, má higiene, hábitos tabagistas e pacientes com história de periodontite (ROMEIRO *et al.*; 2010; FERES *et al.*; 2008). Dentre estes, histórico de periodontite representa um dos fatores associados com um risco considerável de serem afetados por mucosite peri-implantar, senão por uma peri-implantite (ALTAY *et al.*, 2018; YAN *et al.*, 2020). O paciente com histórico de doença periodontal tem seis vezes mais chances de adquirir a peri-implantite, do que os pacientes sem histórico (FRANCIO *et. al.*; 2008).

O acúmulo de biofilme na região peri-implantar pode levar à perda do implante (ESPOSITO *et al.*; 2008; SHIBLI; D'AVILA, 2006), em virtude da resposta inflamatória nos tecidos circundantes aos implantes (LOUROPOULOU *et al.*; 2012) frente a presença de micro-organismos (LINDHE e MEYLE *et al.*; 2008). É importante ressaltar que o início e progressão da peri-implantite não depende apenas da presença do biofilme bacteriano e sua composição, mas também de fatores de risco e doenças que afetam a saúde geral (KUMAR, 2019). Uma compreensão da mucosite peri-implantar é importante pois ela é considerada um precursor da peri-implantite (revisado por HEITZ-MAYFIELD e SALVI, 2018). A microbiota peri-implantar se torna mais complexa, conforme a infecção progride para mucosite peri-implantar e peri-implantite (BELIBASAKIS E MANOIL, 2021).

Diante do exposto, há necessidade de se investigar a presença e a diversidade microbiana após 1 ano dos implantes e associar com histórico de doença periodontal e parâmetros clínicos.

2.HIPÓTESE

Pacientes com histórico de doença periodontal possuem altos níveis de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Scardovia wiggsiae* no fluido crevicular peri-implantar (FCP) associado ao surgimento de aumento de profundidade de sondagem.

3.OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo deste trabalho foi o de investigar a presença de *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn) e *Scardovia wiggsiae* (Sw) em FCP de pacientes que receberam implantes dentários há 12 meses e associar com histórico de periodontite e com dados clínicos.

3.2 Objetivos específicos:

- Associar a presença bacteriana com presença prévia de dentes no local do implante,
- Correlacionar a presença de bactérias com gengivite e ou periodontite;
- Investigar a detecção microbiana com a história de periodontite prévia;
- Comparar os níveis microbianos entre dados clínicos e história de periodontite.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção e Coleção amostral

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade de Uberaba / MG, Brasil sob o número de protocolo 2.457.394, CAAE: 64947717.0.0000.5145. Todos os pacientes elegíveis foram informados sobre a natureza do estudo e os riscos e benefícios potenciais da participação por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A investigação clínica foi conduzida de acordo com os princípios expressos da Declaração de Helsinque. Os pacientes foram selecionados durante consulta para acompanhamento dos implantes dentários, no período de fevereiro de 2019 a fevereiro de 2020, na Policlínica Getúlio Vargas da Universidade de Uberaba (UNIUBE) em Uberaba, Minas Gerais, Brasil. As informações médicas e odontológicas foram obtidas dos pacientes que concordaram em participar do estudo e que atenderam aos critérios de inclusão / exclusão. Os pacientes foram examinados e entrevistados em dois momentos: na admissão para realização do implante e após 12 meses da colocação dos implantes. Foram examinados oralmente, 104 pacientes atendidos na Clínica de Especialização em Implantodontia da UNIUBE e que iriam realizar o implante dentário, sendo que, 49 retornaram após 12 meses para controle dos implantes e coleta das amostras. Destes, 44 foram elegíveis a participarem do estudo nas duas etapas.

Os critérios de inclusão/exclusão para a seleção dos pacientes foram: pacientes com bom estado saúde geral, não terem hábitos parafuncionais, não serem fumantes e etilistas, terem assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; não serem edêntulos, não estarem usando corticoides, antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos 6 meses, não terem realizado terapia periodontal ou peri-implantar após instalação do implante, não apresentarem doenças sistêmicas relevantes e não compensadas; as mulheres não estarem grávidas, terem realizado o implante há 12 meses na Policlínica Getúlio Vargas, estarem com a coroa metálico-cerâmica instalada.

Após assinatura do TCLE, os pacientes foram submetidos a uma entrevista sobre sua saúde, hábitos e histórico de doenças orais e uso de medicamentos. Em seguida foram submetidos ao exame

clínico intraoral por um único dentista nas duas visitas. O paciente foi avaliado quanto às condições orais, com inspeção de doenças periodontais, cárie e presença prévia de dentes no local. O implante foi analisado quando ao rebordo e presença de processos inflamatórios locais, em seguida foi realizada a sondagem da interface dente e implante.

Os seguintes parâmetros foram avaliados em seis locais (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual, disto-lingual) do implante, no dente se presente antes do implante ou em molares inferiores usando uma sonda periodontal PCPUNC-15BR Hu-Friedy, São Paulo, Brasil): (a) sangramento marginal - 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 sondagem; (c) profundidade de sondagem - distância, em milímetros, entre a margem da mucosa até o fundo do sulco ou bolsa peri-implantar (DE MENDONÇA *et al.*, 2009).

A gengivite foi considerada positiva quando havia presença de 25% ou mais de sítios com sangramento à sondagem e nenhum sítio com perda de inserção clínica > 2 mm (GOMES- FILHO *et al.*, 2007). Pacientes com periodontite, perda de inserção detectada em dois ou mais sítios interproximais não adjacentes ou perda de inserção de 3 mm ou mais na vestibular ou lingual/palatina em pelo menos dois dentes, sem que seja por causa de: a) recessão gengival de origem traumática; b) cárie dental estendendo até a área cervical do dente; c) presença da perda de inserção na face distal de um segundo molar e associado ao mau posicionamento ou à extração de terceiro molar; d) lesão endoperiodontal drenando por meio do periodonto marginal ou e) ocorrência de fratura radicular vertical (PAPAPANOU *et al.*, 2017; TONETTI *et al.*, 2018). Pacientes com mucosite foram detectados seguindo os parâmetros de gengivite. Pacientes com peri-implantite: a) presença de sinais de inflamação peri-implantar, b) evidência radiográfica de perda óssea após a cicatrização inicial e c) nível ósseo radiográfico ≥ 3 mm em combinação com sangramento de sondagem e profundidade de sondagem ≥ 6 mm (RENVERT *et al.*, 2018).

Para a coleta do fluido crevicular peri-implantar (FCP) os implantes selecionados foram isolados com gaze estéril e os locais de coleta foram secos suavemente com seringa de ar. Quatro cones de papel absorvente número 40 foram colocados isolados em cada local de coleta,

aproximadamente 2 mm no sulco/bolsa por 30 segundos cada. Os cones contaminados com sangue ou saliva foram descartados. Posteriormente, os cones foram colocados em eppendorf contendo 0,5 ml de solução tampão Phosphate-Buffered Saline (PBS), pH 7,2, composta por 1,9 g de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4); 5,1 g de fosfato de sódio (Na_2HPO_4); 42,5 g de cloreto de sódio (NaCl) e 500 ml de água ultrapurificada, destilada em aparelho Milli Q® (Millipore) e congelados a -70°C (ESCOBAR *et al.*, 2018) e encaminhados para o laboratório de Biopatologia da UNIUBE. Após os procedimentos laboratoriais, as amostras remanescentes foram esterilizadas para posterior descarte.

4.2 Detecção das bactérias nas amostras

Primeiramente, foi realizada a extração de DNA bacteriano nas amostras coletadas seguido da realização de ensaios de PCR em Tempo Real. As extrações de DNA cromossomal das amostras foram realizadas de acordo com o protocolo do fabricante do kit PowerLyzer® PowerSoil DNA Isolation, (Carlsbad, CA) conforme esquematizado abaixo na Figura 1.

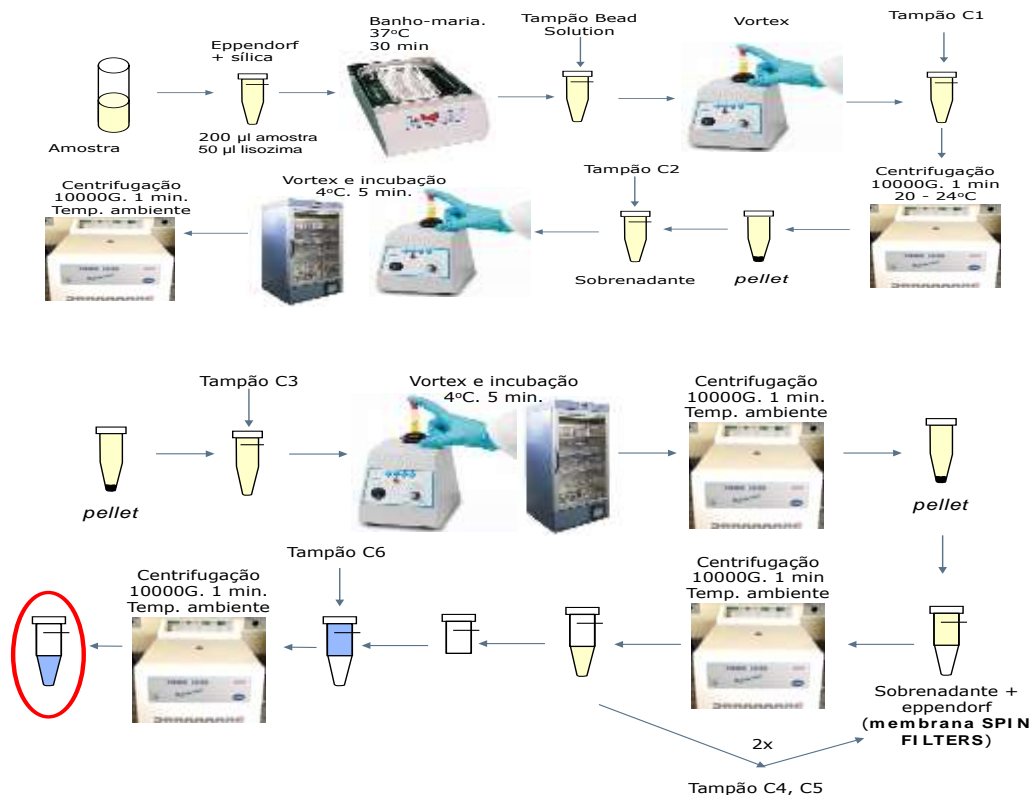


Figura 1. Representação esquemática do processo de extração do DNA cromossomal.

Posteriormente, foi realizada a mensuração da quantidade de material genético extraído bem como seu grau de pureza das extrações através do NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, EUA). A pureza das extrações das amostras em questão foi considerada adequada, quando as mesmas apresentarem razão A260nm/A280 nm entre 1,8 e 2,0. Para o procedimento de mensuração, as amostras foram padronizadas, por meio de diluição do DNA em água ultrapura, obtendo-se ao final, uma concentração de 15ng/ul.

Em seguida, o DNA extraído foi submetido ao PCR em tempo real, no Hospital Mário Palmério em Uberaba, Minas Gerais, Brasil. Para os experimentos foram utilizados *primers* de oligonucleotídeos para amplificar pares de base de DNA da sequência listadas na tabela abaixo (Exxtend Biotecnologia Ltda). Os primers foram previamente dissolvidos em tampão TE 1X [10 mM tris-Hcl, EDTA 1mM (pH 7,5-8,0)] (Tabela 1).

Tabela 1. *Primers* de oligonucleotídeos

<i>Primer</i>	Sequência	Temperatura °C /tempo Desnaturação, anelamento e Extensão
Universal F	TGGAGCATGTGGTTTAATTCGA	95/10m, 62/40s, 60/1m
Universal R	TGCGGGACTTAACCCAACA	
<i>Prevotella intermedia</i> F	AATACCCGATGTTGTCCACA	95/10m, 62/40s, 60/1m
<i>Prevotella intermedia</i> R	TTAGCCGGTCCTTATTCGAA	
<i>Scardovia wiggisiae</i> F	GTGGACTTTATGAATAAGC	95/10m, 62/40s, 60/1m
<i>Scardovia wiggisiae</i> R	CTACCGTTAAGCAGTAAG	
<i>Fusobacterium nucleatum</i> F	ACCTAAGGGAGAAAC AGA ACC A	95/10m, 62/40s, 60/1m
<i>Fusobacterium nucleatum</i> R	CCTGCCTTTAATTCATCTCCAT	
<i>Porphyromonas gingivalis</i> F	TGCAACTTGCCTTACAGAGGG	95/10m, 62/40s, 60/1m
<i>Porphyromonas gingivalis</i> R	ACTCGTATCGCCCGTTATTC	

O termociclador utilizado na realização da técnica foi programado para obter uma desnaturação do DNA, o anelamento e o processo de extensão de acordo com as informações da Tabela 1. Todo o processo de termociclagem se deu em 40 ciclos consecutivos sendo que o ciclo final compreendeu em média o intervalo entre 60°C a 95°C. Foram obtidas curvas de MELT, bem como as concentrações de DNA de bactérias obtidos em cada amostra. Para primeira análise dos dados obtidos por meio dos testes de q-PCR, considerou-se o limiar do Ciclo do threshold (Ct), como sendo o ciclo em que a fluorescência emitida pelo 1X SYBR GREEN foi detectada sobrepondo-se ao *background*.

Os sinais de fluorescências, expressos em Unidades de Fluorescência, emitidos pelo Syber Green à medida que o produto é amplificado, foram expressos graficamente (sinais de fluorescência versus número de ciclos), permitindo monitorar em tempo real através do Software StepOne®, a cinética e a amplificação, baseada na quantidade de material genético detectado de cada amostra.

Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando BioSTAT. Os dados de frequência de detecção bacteriana foram comparados entre os pacientes com os parâmetros clínicos e histórico de DP pelo Teste Exato de Fisher e Qui-quadrado. Para todas as análises, considerou-se $p < 0.05$ estatisticamente significativa.

5. RESULTADOS

Os dados coletados dos 44 pacientes elegíveis ao estudo mostraram que a idade média dos pacientes era de $53,2 \pm 11,7$ anos; 15 eram do sexo masculino e 29 do feminino, 42 eram leucodermas e 2 não leucodermas; e 22 pacientes relataram ter histórico de periodontite. O exame intraoral, na primeira visita, mostrou que dentre os voluntários, 12 tinham dentes no local que receberia o implante e seriam submetidos à extração e ao implante imediato; 12 apresentavam gengivite e 9 periodontite no dente a ser extraído ou em outros dentes.

Na consulta após 12 meses, os dados da entrevista foram ratificados e a profundidade de sondagem foi realizada. Um total de 23 pacientes tinham valores menores que 1 mm, considerado normal, e 21 apresentaram profundidade acima de 2 mm e sangramento na sondagem, caracterizando um quadro de mucosite. Destes, 14 apresentavam sondagem maior do que 3 mm e sangramento, mas nenhum teve um diagnóstico de peri-implantite.

Os exames de detecção microbiana nas amostras de FCP (n=44) mostraram que Pg foi detectada em 15 amostras (34%). As demais bactérias foram detectadas na maioria das amostras, sendo Fn e Pi, em 36 (81,8%) e Sw em 33 (75%) dos voluntários. Comparando a detecção destas bactérias entre os pacientes com histórico ou não de doença periodontal, não houve diferenças estatisticamente significantes para as bactérias Fn, Pi e Sw (Figura 2, $p > 0,05$, $q < 0,61$). No entanto, Pg foi frequentemente detectada em pacientes que tinham histórico de DP (Figura 2, $p < 0,05$, $q = 8,19$). Das 15 amostras positivas para Pg, 12 tinham histórico de DP (80%), enquanto das 29 amostras sem detecção de Pg, 65,6% não tinham histórico.

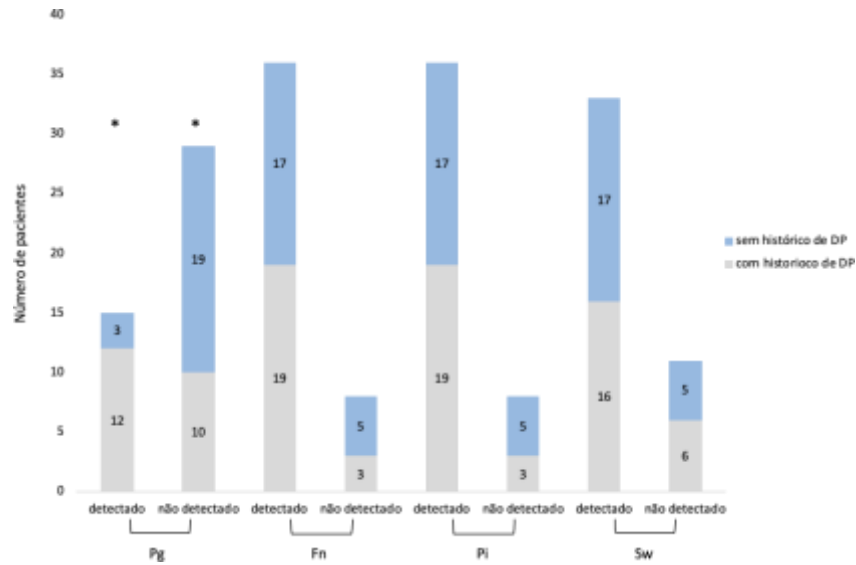


Fig.2 - Relação do número de pacientes positivos e negativos para Pg, Fn, Pi e SW, com ou sem histórico de DP

Os dados clínicos obtidos dos pacientes quanto à presença de gengivite e periodontite, no momento da abordagem inicial, revelaram que estas doenças foram mais frequentemente detectadas em pacientes com histórico de DP (Tabela 2, $p < 0.05$, $q > 9.81$). Cerca de 83,4% e 100% dos voluntários com gengivite e periodontite respectivamente, tinham histórico de DP prévia. Houve uma associação entre ter histórico de DP e ter profundidade de sondagem do implante após 12 meses acima de 2 mm. Dos 21 pacientes que apresentavam esta profundidade de sondagem, 67% tinham histórico de DP (Tabela 2, $p < 0.05$, $q = 4.46$).

Tabela 2. Relação dos pacientes com profundidade de sondagem maior que 2 mm com histórico ou não de DP

	Histórico de Doença periodontal		p/X^2
	Sim (n=22)	Não (n=22)	
Gengivite			
Sim	10	2	0.017/9.81
Não	12	20	
Periodontite			
Sim	9	0	0.008/11.34
Não	13	22	
Profundidade de sondagem implante			
Normal	8	15	0.034/4.46
>2 mm	14	7	

A presença de dentes previamente a instalação do implante, se relacionou a detecção positiva de Pg, enquanto 58,3% (n=7/12) dos voluntários que tinham dentes antes apresentaram Pg, apenas 25% dos que não tinham o dente, tinham a bactéria em níveis detectáveis (Figura 3, $p<0.05$, $q=4.31$). A maioria dos pacientes sem doença gengival ou periodontite, não apresentaram detecção de Pg no fluido peri-implantar, enquanto a presença de Pg esteve associado com a presença de periodontite (Figura 3 $p<0.05$, $q=5.31$) e gengivite (Figura 3, $p<0.05$, $q=4.31$), sendo que 58,2 % e 66,7% dos pacientes com Pg positivo tinham gengivite e periodontite respectivamente. Por outro lado, não houve diferenças estatisticamente significantes entre a presença prévia de dentes, de periodontite e/ou gengivite e detecção das demais bactérias analisadas (Figuras 4, 5 e 6, $p>0.05$).

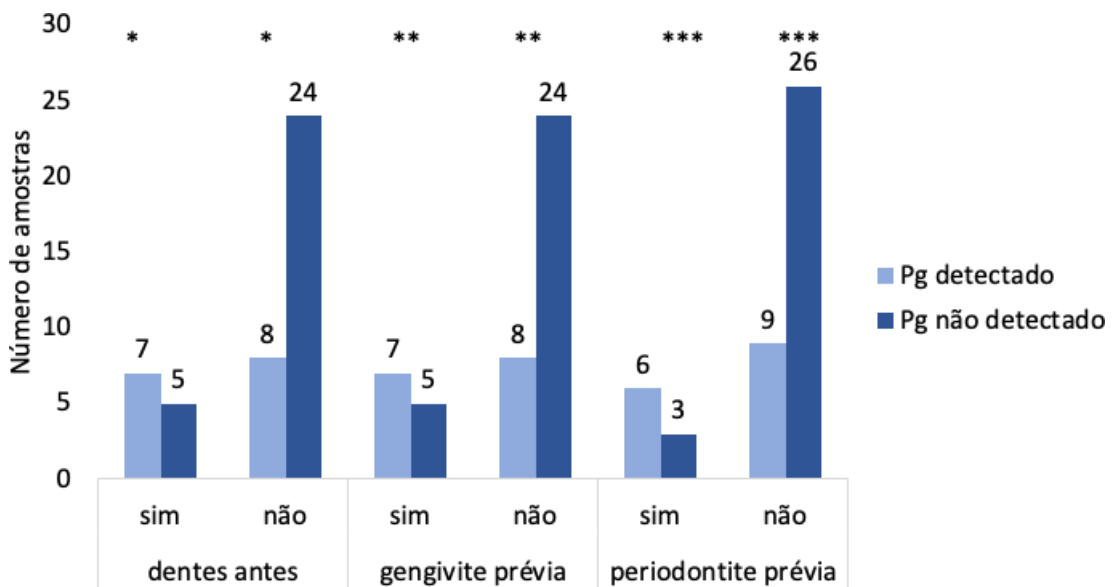


Fig. 3 – Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Pg no fluido crevicular

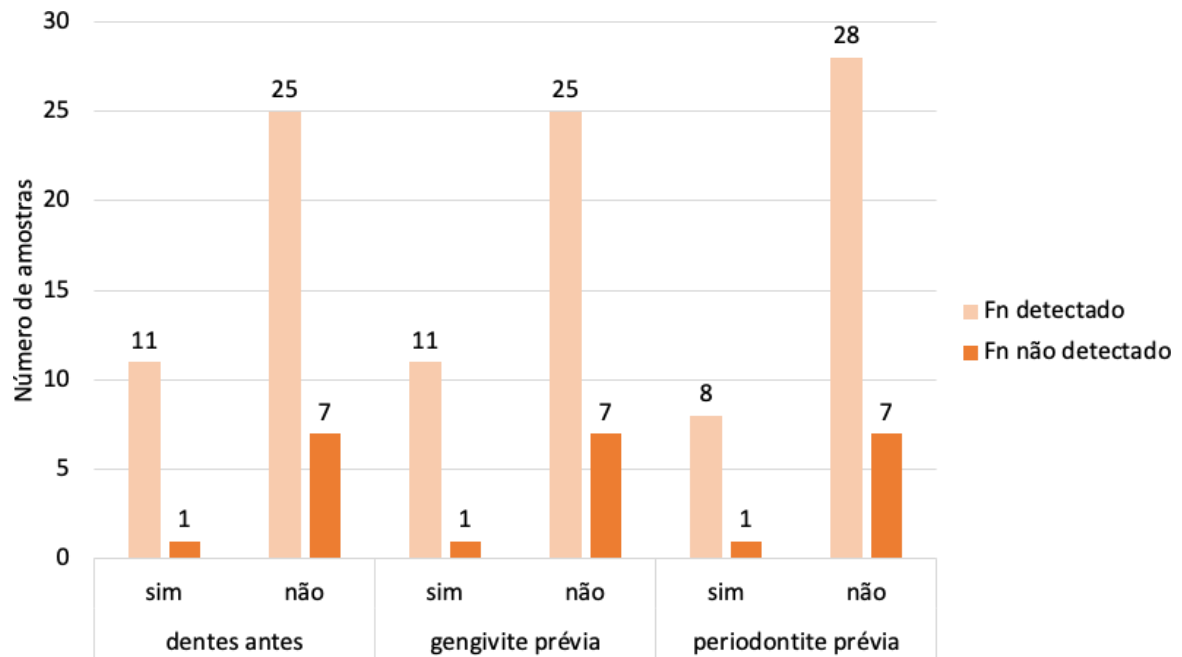


Fig 4 - Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Fn no fluido crevicular

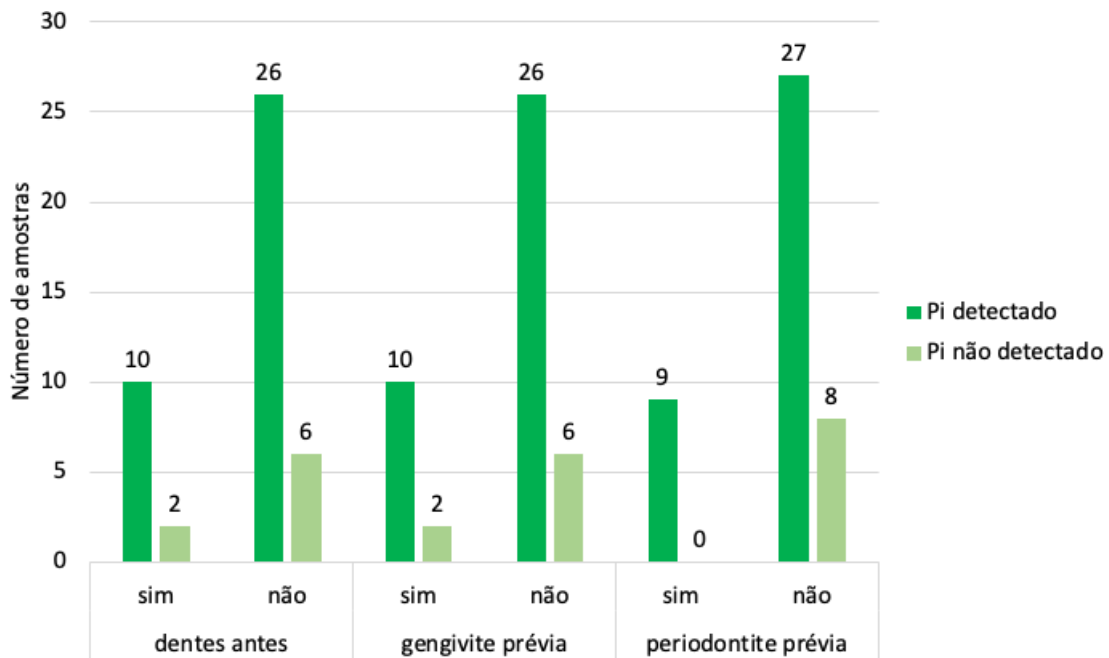


Fig. 5 - Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Pi no fluido crevicular

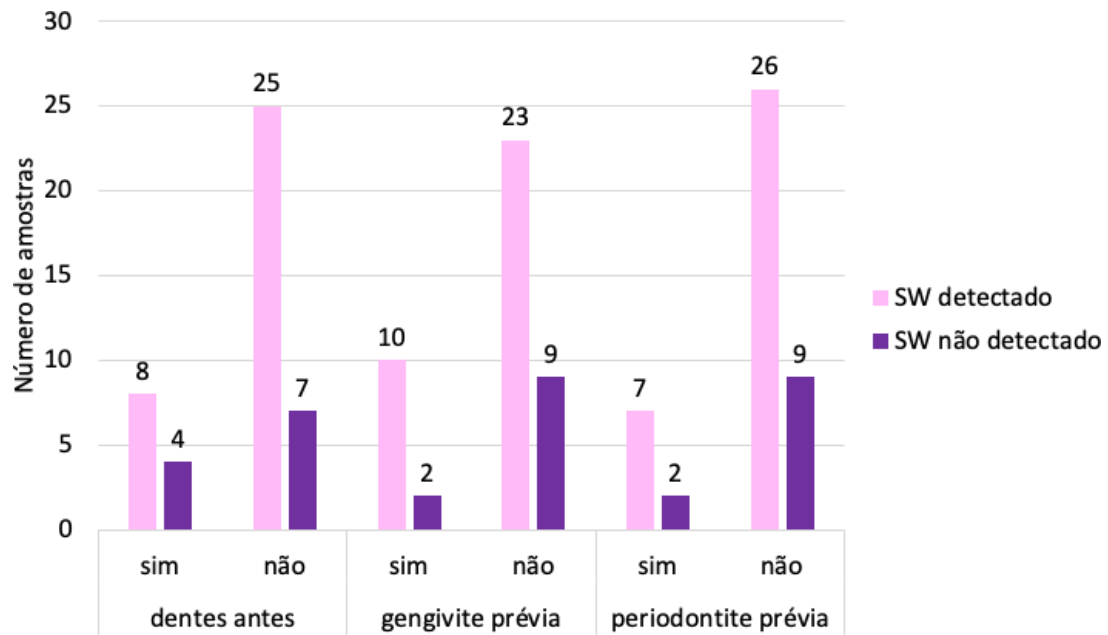


Fig. 6 - Relação entre presença de dentes, gengivite e periodontite previamente aos implantes com a detecção de Sw no fluido crevicular

A análise comparativa da frequência de detecção bacteriana e a mensuração da profundidade de sondagem (Tabela 3) mostrou que não há diferenças entre os voluntários para Pg, Pi e Sw (Tabela 3, $p > 0.05$). Por outro lado, todos os pacientes cujas profundidades de sondagem foram maiores que 3 mm apresentaram Fn em níveis detectáveis ($p < 0.05$, $q = 4.56$).

Tabela 3 - A análise comparativa da frequência de detecção bacteriana e a mensuração da profundidade de sondagem

		Detecção das bactérias:							
		Pg		Fn		Pi		Sw	
		Sim N=15	não N=29	Sim N=36	não N=8	Sim N=36	não N=8	Sim N=33	não N=11
profundidade sondagem implante	Normal (n=23)	6	17	18*	5*	17	6	18	5
	maior 2 mm (n=21)	9	12	18	3	19	2	15	6
	maior 3 mm (n=14)	7	7	14*	0*	12	2	10	4

6. DISCUSSÃO

O presente estudo buscou evidências sobre a presença de bactérias (Pg, Pi, Fn e Sw) na interface dente implante, no FCP, com dados de doença periodontal (gengivite e periodontite), presença prévia de dentes no local do implante e histórico de DP.

Os resultados mostraram que Fn e Pi foram frequentemente detectadas das amostras, o que corrobora com um estudo, em que estas bactérias foram frequentemente detectadas em FCP e envolvidas nas DP (CANULLO *et al.*, 2015). Sw também foi detectada na maioria das amostras peri-implantares (71.7%), o que corrobora para o entendimento dos microambientes orais que esta bactéria pode estar, além do seu envolvimento na etiologia da cárie (TANNER *et al.*, 2018). Pg também foi detectada em aproximadamente 50% das amostras, e foi à bactéria que permitiu observar algumas diferenças nos dados clínicos analisados.

Alguns fatores de risco do paciente como, por exemplo, a história prévia de periodontite (HEITZ-MAYFIELD, 2008; HEITZ-MAYFIELD E HUYNH-BA, 2009;

RENVERT e PEARSON, 2009) têm sido defendidos e profundamente investigados por vários trabalhos científicos, na tentativa de entender e evitar o desenvolvimento da peri-implantite e conseqüentemente a perda do implante. Embora alguns estudos evidenciem que pacientes com histórico de periodontite podem manter tecidos peri-implantares saudáveis (BAELUM e ELLEGAARD, 2004, KAROUSSIS *et al.*, 2004), outros, demonstraram que pacientes com história de periodontite apresentaram risco aumentado de peri-implantite (QUIRYNEN *et al.* 2007; HEITZ-MAYFIELD, 2008; RENVERT e PERSSON, 2009; SCHWARZ *et al.*, 2018; KLINGE *et al.*, 2005, FERREIRA *et al.*, 2006; CHO-YAN LEE *et al.*, 2012; COSTA *et al.*,

2012), cerca de cinco vezes maior em pacientes com história de periodontite crônica (KAROUSSIS *et al.*, 2003). Em uma revisão sistemática e meta-análise, tanto a periodontite atual (KABIR *et al.*, 2020) quanto a história de periodontite foram identificadas como fator de risco para peri-implantite (FERREIRA *et al.*, 2018). Os resultados mostraram que somente a presença de Pg relacionou-se com pacientes com histórico de DP.

Os dados analisados não permitiram observar uma correlação entre os parâmetros clínicos e a presença de Fn, Pi e Sw. Vários estudos mostraram que a composição da microbiota estabelecida, após a instalação do implante, pode permanecer relativamente inalterada na ausência de patologia periodontal ou peri-implantar, sendo que os sulcos peri-implantares que abrigam patógenos da DP não necessariamente desenvolveram a peri-implantite (VAN WINKELHOFF *et al.*, 2000; HEYDENRIJK *et al.*, 2002). Outros estudos mostraram que os patógenos periodontais podem ser encontrados nos dentes e em locais de implantes doentes e saudáveis dos mesmos indivíduos (LEONHARDT *et al.*, 1993; MOMBELLI *et al.*, 1995; RUTAR *et al.*, 2001; TAKANASHI *et al.*, 2004; TABANELLA, NOWZARI e SLOTS, 2009; DABDOUB *et al.*, 2013). O mesmo ocorreu no estudo em que demonstrou que o número de implantes positivos para Pi, atingiu níveis semelhantes aos de dentes naturais 6 meses, após a instalação e permaneceu estável em um acompanhamento de 1 ano (LEONHARDT *et al.*; 1993). Por outro lado, Pi foi mais encontrada em biofilmes de peri-implantite em comparação com as amostras de implantes saudáveis (SAHRMANN *et al.*, 2020). A maior prevalência de Pi na região peri-implantar doente versus em locais saudáveis foi confirmada em um estudo de caso-controle (DE WAAL *et al.*, 2017). Além disto, em estudos anteriores os indivíduos com gengivite e periodontite foram igualmente distribuídos entre dois grupos de pacientes, assim a presença de inflamação ao redor do implante e dos dentes mais a história de doença periodontal foram associados a um risco aumentado para peri-implantite (FERREIRA *et al.*, 2006; CHO-YAN LEE *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2012).

A frequência de Pg não foi diferente nos pacientes com sondagem acima de 2 mm e sangramento como observado por Ata-Ali e colaboradores (2013), ou seja, em situações de mucosite implantar, Pg não esteve relacionado com a doença inicial. No entanto, segundo Hayek e colaboradores, Pg foi frequentemente encontrada em locais com peri-implantite (HAYEK *et al.*, 2005, LAFAURIE *et al.*, 2017; TZACH-NAHMAN *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2019). Pg foi mais encontrada em pacientes com histórico de DP, gengivite, periodontite e na presença do dente previamente, sugerindo que sua detecção na região peri-implantar possa estar relacionada a sua transferência de nichos do próprio ambiente oral, como demonstrado por outros autores (VALENTE e ADREANA,

2016; YAN *et al.*, 2020). A presença de bolsas periodontais residuais pode representar nichos de infecção para implantes adjacentes (MOMBELLI *et al.*, 1995; KAROUSSIS *et al.*, 2003).

Um aumento na profundidade de sondagem ao longo do tempo está associado com perda de inserção e suporte ósseo (ALGRAFFEE *et al.*, 2012). Complicações biológicas em torno dos implantes como a mucosite peri-implantar e peri-implantite são comumente observadas após poucos anos de função dos implantes (MOMBELLI *et al.*, 2012). A prevalência da mucosite peri-implantar encontrada foi de 47%, enquanto nenhum paciente foi diagnosticado com um quadro de peri-implantite. Dados semelhantes aos encontrados por Derks e Tomasi (2015), onde a prevalência de mucosite variou de 19 a 65% e a periimplantite variou de 1 a 47%. Já para Renvert, *et al* (2018), a prevalência de mucosite periimplantar foi de 54,7% e periimplantite 22,1% e para Rinke *et al* (2020), a prevalência foi de 52% para mucosite peri-implantar e 18% para peri-implantite.

A análise comparativa da frequência de detecção bacteriana e a mensuração da profundidade de sondagem mostrou que não há diferenças entre os voluntários para Pg, Pi e Sw. Por outro lado, todos os pacientes, cujas profundidades de sondagem foram maiores que 3 mm apresentaram Fn em níveis detectáveis, além da maioria destes apresentarem as demais bactérias analisadas. Uma vez que algumas bactérias associadas à periodontite são comumente encontradas na peri-implantite, incluindo: *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* e espécies *Treponema* (Shibli *et al.*, 2008) podemos sugerir que estes pacientes com altos níveis de Fn e de profundidade de sondagem estejam evoluindo para uma peri-implantite.

Diante do exposto, a mucosite é um processo inflamatório frequente de se detectar nos pacientes após 12 meses do implante, visto que, 21 pacientes (45,6%) apresentavam profundidade de sondagem acima de 2mm e sangramento no exame clínico, indicativos de início da inflamação. Sua etiologia é variada, já que várias espécies bacterianas podem estar associadas ao processo de infecção. É evidente que a presença de bactérias normalmente encontradas na cavidade bucal possam ser fonte de infecção para o acúmulo de biofilme, assim, o acompanhamento do paciente, hábitos de higiene oral e redução dos fatores de riscos locais e sistêmicos podem impedir que ocorra a perda do implante.

7. CONCLUSÕES

Desta maneira, o presente estudo permitiu concluir que:

- Sw pode estar presente na interface dente e implante, sendo que seu envolvimento no início do processo inflamatório peri-implantar não é evidente pelos nossos achados, já que não houve diferenças estatisticamente significante entre os parâmetros clínicos e história de DP.

- Dentre os periodontopatógenos analisados (Pi, Pg e Fn), a presença de Pi e Fn não esteve relacionada a gengivite, periodontite, histórico de DP, e nem quadros de mucosite. No entanto, Fn foi frequentemente detectada em bolsas periodontais acima de 3mm, o que é sugestivo do seu envolvimento na piora do processo inflamatório peri-implantar.

- Pg foi a menos detectada (em 33%), mas as amostras que tiveram sua detecção eram de pacientes que tinham histórico de DP, gengivite e periodontite ou a presença de dentes no nicho do implante.

REFERÊNCIAS

ALBREKTSSON, T.; ISIDOR, F. Consensus report of session IV. In: Lang NP, Karring T, eds. **1st Proceeding of the European Workshop on Periodontology**. London: Quintessence Publishing, p. 365–369, 1994.

ALGRALEE, H; BORUMANDI, F; CASCARINII, L. Peri-implantitis. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 50, n. 8, p. 689–694, 2012. doi:10.1016/j.bjoms.2011.11.020

ALTAY, M A, *et al.* Is History of Periodontitis a Risk Factor for Peri-implant Disease? A Pilot Study, **Int Journal Oral Maxillofacial Implants**, v. 33, n.1, p. 152-160, jan/ feb 2018.

AMERICAN ACADEMY OF IMPLANT DENTISTRY. **Glossary of implant terms**, 2016.

ATA-ALI, *et al.* Clinical, Microbiologic, and Host Response Characteristics in Patients with Peri-implant Mucositis. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 28, n.3, p883-890, 2013

BAELUM, V; ELLEGARD, B. Implant survival in periodontally compromised patients. **Journal Periodontol**, v.75, p. 1404–1412, 2004.

BELIBASAKIS, G N.; MANOIL, D. Microbial Community-Driven Etiopathogenesis of Peri-Implantitis. **Journal of Dental Research**, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 21-28, 12 ago. 2021. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0022034520949851>.

BELIBASAKIS, G N. Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. **Archives Oral Biology**, Zurich, v.59, n.1, p.66-72, jan, 2014.

CANULLO, L. *et al.* Microbiologic and Clinical Findings of Implants in Healthy Condition and With Peri-implantitis. **Quintessence Publishing**, v.30, n.4, p.834-842, 2015.

CASADO, P. L. *et al.* Tratamento das doenças peri-implantares: experiências passadas

e perspectivas futuras- uma revisão de literatura. **Revista Periodontia**, v. 21, n. 02, p. 25-35, 2011.

CERBASI, K. P. Etiologia bacteriana e tratamento da peri-implantite; **Innovations Implant Journal, Biomaterials and Esthetics**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 50-55, jan./abr. 2010.

CHAKRAPANI, A. R. *et al.* Scardovia wiggsiae: Role in periodontal Health and Disease – a Pilot Study. **Indian Journal of Dental Advancements**, v. 11, n.4, p. 119-124, 2019.

CHO-YAN LEE, J. *et al.* Residual periodontal pockets are a risk indicator for peri-implantitis in patients treated for periodontitis. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, p. 325–333, 2012.

COSTA, F O. Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: a 5-year follow-up. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 39, n.2, p. 173–181, 2012.

DADDOUB, S M; TSIGARIDA, A A; KUMAR, P S. Patient-specific analysis of periodontal and peri-implant microbiomes. **Journal of Dental Research**, v. 92, n.12 , p.168-175, Dec.2013

DE MENDONCA, A. C. *et al.* Tumor necrosis factor-alpha levels after surgical anti-infective mechanical therapy for peri-implantitis: a 12-month follow-up. **Journal Periodontol**,[S.I.], v. 80, n. 4, p. 693-9, Apr 2009.

DE OLIVEIRA, D. P. *et al.* Surface modification of titanium alloys for biomedical application: From macro to nano scale. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**, v.31, n.1, 221–232, 2017.

DE OLIVEIRA, C. *et al.*; Peri-implantite: etiologia e tratamento. **Revista Brasileira de Odontologia**, v.72, n.1, p. 96-99, 2015.

DE WAAL, Y. C. *et al.* Microbial Characteristics of Peri-Implantitis: A Case-Control Study. **Journal of Periodontology**, v. 88, n. 2, p. 209–217, 2017.

DERKS, J.; TOMASI, C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. **Journal Clin Periodontol**, v.42, n.16, p.158–171, 2015.

DIÓGENES, M. A. *et al.* Mucositeperiimplantar e periimplantite: Etiologia, fatores de risco e tratamento. **Anais da Jornada Odontológica dos Acadêmicos da Católica**, v. 4, n. 1, 2018.

ESPOSITO, M. *et al.* Interventions for replacing missing teeth: Treatment of perimplantitis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v.4, p.1-13,2008.

FERES, M. *et al.* Tratamento das doenças periimplantares; mucosite e peri-implantite – parte 1. **Revista Periodontia**, v.18, n. 4, p.1-8,2008.

FERREIRA, S.D *et al.* Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 33,n, 12, p.929–935, 2006.

FERREIRA, S. D. Periodontitis as a risk factor for peri-implantitis: systematic review and meta- analysis of observational studies. **Journal of Dentistry**, v. 79, p. 1–10, 2018, <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.09.010>

FRANCIO, L. *et al.* Tratamento da periimplantite: revisão da literatura. **Revista Sul Brasileira de Odontologia**, v. 5, n. 2, p. 75-81, 2008.

FRANCISCHONE, C. E., FILHO H.N., MATOS, D.A.D. **Osseointegração e o tratamento multidisciplinar**. São Paulo: Quintessence editora Ltda, 2006, cap. 4, p. 55-66.

FURST M. M. *et al.* Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. **Clinical Oral Implants Research**, v.18, n.4, p. 501–508, 2007.

GOMES-FILHO, I. S. *et al.* Exposure measurement in the association between periodontal disease and prematurity/low birth weight. **Journal Clinical Periodontology**, v.34, p.957-963, 2007.

HAYEK, R R A. *et al.* Estudo comparativo entre os efeitos da terapia fotodinâmica e da terapia convencional na redução microbiana na peri-implantite induzida por ligadura em cães. **Journal Periodontol**, v. 76, n. 8, p.1275-81, 2005.

HEITZ-MAYFIELD L. J. A. & HUYNH-BA, G.. História de periodontite tratada e tabagismo como riscos para a terapia com implantes. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.24, p.39-68, 2009.

HEITZ-MAYFIELD, L. J. *et al.* Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. **Journal Clinical Periodontology** [S.I.], v. 35, n. 8, p. 292-304, Sep 2008.

HEITZ-MAYFIELD, L. J. A ; SALVI G. E. **Journal Clinical Periodontology**, v. 45 , n.20, p. 237-245,jun 2018, doi: 10.1111/jcpe.12953.

HEYDENRIJK , K., *et al.* Microbiota around root-form endosseous implants: a review of the literature . **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.1, n.6, p. 829-838, 2002.

KABIR L; STIECH M; GRISCHKE J; The effect of keratinized mucosa on the severity of peri- implant mucositis differs between periodontally healthy subjects and the general population: a cross-sectional study. **Clinical Oral Investigations**, v.25, n.3, p. 1183-1193, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03422-1>.

KAROUSSIS, I. K. *et al.* Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10 year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. **Clinical Oral Implants Research**, v.14, p. 329–339, 2003.

KLINGE, B; HULTIN M; BERGLUNDH, T. Peri-implantitis. **Dental Clinics North América**, v. 49, p. 661–676, 2005.

KOCAR, M.; SEME K., HREN, N. I. Characterization of the normal bacterial flora in peri-implant sulci of partially and completely edentulous patients **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 25, n.4, p. 690–698, 2010.

KROGER, A. *et al.* The severity of human peri-implantitis lesions correlates with the level of submucosal microbial dysbiosis. **Journal of Clinical Periodontology**. v.45, p. 1498–1509, 2018. doi:1509.10.1111/jcpe.13023.

KUMAR P. S. Fatores de risco sistêmico para o desenvolvimento de doenças peri- implantes. **Implant Denistry**. v. 2, p. 115–119, 2019. doi: 10.1097 / ID.0000000000000873.

LAFABURIE G. I. *et al.* Microbiome and microbial biofilm profiles of Peri-Implantitis: a systematic review. **Journal Periodontol**, v. 88, n. 10, p. 1066–1089, 2017.

LEONHARDT, A. *et al.* A longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium implants in partially edentulous patients. **Clinical Oral Implants Research**, v. 4, n.3, p.113–120. 1993.

LINDHE, J.; MEYLE, J. Group D of European Workshop on Periodontology Periimplant diseases: consensus report of the sixth European Workshop on Periodontology. **Journal Clinical Periodontol**, v. 35, n.8, p. 282–285, 2008.

LINDHE J. L.N; KARRING, T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 5th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2010.

LOUROPOULOU, A. *et al.*; Titanium surface alterations following the use of diferente mechanical instruments: A systematic review. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, n.3, p. 643–58, 2012.

MARTINS, E.O.B. *et al.*; Doenças periimplantares, etiologia, diagnóstico e classificação:revisão de literatura. **Brazilian Journal of Periodontology**, v. 29, n. 1, p. 53-64, 2019.

MAVROGENIS, A. F. *et al.* Biology of implant osseointegration. **Journal Musculoskeletal Neuronal Interact**, v. 9, n. 2, p. 61-71, 2009.

MENDES, V. C.; DAVIES. J. E. Uma nova perspectiva sobre a biologia da

osseointegração. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentista**, v. 70, n. 2, p. 166-71, 2016.

MOLINA, F. P. **O microbioma oral associado às infecções periimplantares**. 2016. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Fernando Pessoa Faculdade Ciências da Saúde, Porto, 2016. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5563/1/>

MOMBELLI, A, MULLER, N; CIONCA, N. The epidemiology of peri-implantitis. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, n,6, p. 67–76, 2012.

MOMBELLI, A. *et al.* The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. **Journal Clinical Periodontol**, v. 22, p. 124-130, 1995.

MORASCHINI, V., POUBEL, L.A., FERREIRA V.F. *et al.* Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: A systematic review. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.44, p.377–388, 2015. doi: 10.1016/j.ijom.2014.10.023.

OGLE, O. E. - Implant surface material, design, and osseointegration. **Dental Clinical of North America**, v. 592, p. 505–520, 2015.

OLIVEIRA, G. B. *et al.* Periimplantite: considerações sobre etiologia e tratamento. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v. 17, n. 1, p. 55-59, 2013.

OLIVEIRA-NETO, O. B. *et al.* Immediate dental implants placed into infected sites present a higher risk of failure than immediate dental implants placed into non-infected sites: systematic review and meta-analysis. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugia Bucal**, [S.L.], v.24, n.4, p. 518-528, 2019. Medicina Oral, S.L.. <http://dx.doi.org/10.4317/medoral.22954>.

OTTRIA, L. *et al.*; Mechanical, chemical and biological aspects of titanium and titanium alloys in implant dentistry. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**

Archivi. Agents, v.32 , n.1, p. 81–90, 2018.

PAPANOU, P.N. *et al.* Periodontite: Relatório de consenso do grupo de trabalho 2 do Workshop Mundial de 2017 sobre a Classificação de Doenças e Condições Periodontais e Peri-Implantes. **Journal Periodontol**, v.89, n.1, p. 173-182, 2018.

PETKOVIĆ-CURCIN,A. *et al.*; Cytokines in pathogenesis of peri-implatitis. **mVojnosanitetski pregled**, v. 68, n. 5, p. 435-440, 2011.

PETRASUNAS, K. Etiologia bacteriana e tratamento da peri-implantite. **Innovations Implant Journal Biomaterials Esthetics**, v.5, n.1, 2010.

PITA, P P C. **Adesão de estreptococos orais em diversas superfícies de implantes**. 2015. 33f. Dissertação (Mestrado) Curso de Odontologia, Implantodontia, Universidade de Guarulhos, Guarulhos, 2015.

QUIRYNEN, M. *et al.* Impact of supportive periodontal therapy and implant surface roughness on implant outcome in patients with a history of periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 34,n. 9, p. 805–815, 2007.

RENVERT, S. *et al.* Peri-implant health, peri-implant mucositis and peri-implantitis: case definitions and diagnostic considerations. **Journal Clinical Periodontol**, v. 45, n.20, p. 278-285, 2018.

RENVERT, S; PERSSON, G. R. Periodontitis as a potential risk factor for peri-implantitis.**Journal of Clinical Periodontology**, v. 36 , n. 1, p. 9–14, 2009.

RINKE, S. *et al.* Indicadores de risco para mucosite e periimplantite: resultados de um estudo transversal baseado na prática. **Journal Implante Periodontal Science**, v.50, n.3, p. 183-196, 2020.

ROMEIRO, R. L. *et al.* Etiologia e tratamento das doenças periimplantares. **Revista Metodista**, v.18, n.36, p. 59-66, 2010.

SAHRMANN, P. *et al.*; The Microbiome of Peri-Implantitis: A Systematic Review and Meta- Analysis. **Microorganisms**, S.L, v. 8, n.5,p. 1-25, maio 2020.

SALVI G. E. *et al* . One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. **Clinical Oral Implants Research**, v. 19, p. 242–248, 2008.

SANZ, M; CHAPLE, I. L. Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. **Journal Clinical Periodontol**. v. 39, n. 12, p. 202-206, feb 2012.

SCHWARZ, F. *et al*. Peri-implantitis. **Journal of Periodontology**, v. 89, p. 267–290, 2018. doi:10.1002/jper.16-0350

SHIBLI, J. A.; D'AVILA, S. Restoration of the soft-tissue margin in single-tooth implant in the anterior maxilla. **Journal of Oral Implantology**, v. 32, n. 6, p. 286–290, 2006.

SHIBLI, J. A. *et al*. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. **Clinical Oral Implants Research**, v.. 19, p.975–982, 2008.

SOBREIRA, F. M. *et al*. Peri-implantite: Bases científicas para diagnóstico e tratamento. **International Journal of Dentistry**, v.10, n.3, p. 180-185, 2011.

TABANELLA, M. S. G; NOWZARI, H; SLOTS, J. Clinical and Microbiological Determinants of Ailing Dental Implants. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, v. 11, n. 1, p. 24 – 36, april 2008.

TALLARICO, M.; CANULLO, L.; CANEVA, M. *et al*. Colonização microbiana na interface implante-pilar e sua possível influência na periimplantite: uma revisão sistemática e metanálise. **Journal Prótese Research**, v. 61, n.3,p. 233-241, 2017.

TANNER, A. C. R. *et al*. White-spot lesions and gingivitis microbiotas in orthodontic patients. **Journal of Dental Research**, v. 91, p. 853-858, 2012.

TANNER, A. C. R. *et al.* The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. **Review Advanced Dental Research**, v. 29, n. 1, p. 78-85, 2018.

TONETTI, M. S., GREENWELL, H.; M. S; KORNMAN, K. S; Stagin and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. **Journal of Periodontology** , v. 45, n. 20, p. 149–161, 2018.

TZACH-NAHMAN R. *et al.* Oral infection with Porphyromonas gingivalis induces peri-implantitis in a murine model: evaluation of bone loss and the local inflammatory response. **Journal Clinical Periodontol**, v.44, n. 7, p.739–48, 2017

VALENTE, N. A.; ANDREANA, S. Peri-implant disease: what we know and what we need to know. **Journal Periodontal Implant Sci.** New York, p. 136-151. Jun. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4928203/pdf/jpis-46-136.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2021.

VAN- WINKELHOFF A. J. *et al.* Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. **Clinical Oral Implants Research**, v. 11, p. 511– 520. 2000.

WANG, W. *et al.*; Management of peri-implantitis a contemporary synopsis. **Singapore Dental Journal**, v. 38, p. 8–16, 2017.

YAN, X. *et al.* A three-year study on periodontal microorganisms of short locking-taper implants and adjacent teeth in patients with history of periodontitis. **Journal of Dentistry**, v. 95, p. 1-8, 2020.

ZITZMMAN, N. U, SCHARER, P, MARINELLO, C. P. Long-term results of implants treated with guided bone regeneration: A 5-year prospective study. **The International Journal of Oral& Maxillofacial Implants**, v. 16, p. 355-366, 2001.

ZHU B *et al.* Detection of T-forsythia and other important bacteria in crestal and subcrestal implants with ligature-induced peri-implant infection in dogs. **Journal Periodontol**, v. 90, n.

3, p. 306–13, 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ANAMNESE

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



TRIÂNGULO MINEIRO- UBERABA-MG

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: _____ () ex-fumante Há quanto tempo? _____ () fumante passivo		Índice de massa corporal (IMC) = peso = _____ = _____ (altura)² peso= _____ altura= _____	
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? _____ Inger fontes de vitamina C? _____		Osteoporose () sim () não	
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

Supuração

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	Índice	Condição
																0	Ausência
																1	Presença

Profundidade de sondagem (em milímetros)

Implante (dente)	Recessão				Profundidade de sondagem				Sangramento				
	V=	L=	M=	D=	V=	L=	M=	D=	V=	L=	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	1	0	1
			Sem placa		Ausência	
			Uso de sonda		Presença de pontos	
			Olho nu		Colar	
			Abundância		Abundante	

- Situação do provisório (quando houver): _____

- Contato prematuro? _____ Dente antagonista é dente ou prótese? (de que material?) _____

Assinatura do paciente

APÊNDICE B - TERMO DE ESCLARECIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



TRIÂNGULO MINEIRO- Uberaba-MG

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 IMUNOLÓGICA DO FLUIDO CREVICULAR EM PACIENTES COM GENGIVITE, PERIODONTITE E PERI-IMPLANTITE” tem como objetivo comparar os níveis de IL-12, IL-15, IL-18 e IL-32 no fluido crevicular peri-implantar de pacientes com e sem peri-implantite. Como os avanços na área da saúde ocorrem por meio de estudos como este, sua participação é importante. Caso você participe, será necessário fazermos coletas de amostra de fluido crevicular peri-implantar, 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.

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: Sanivia Aparecida de Lima Pereira: (034) 99153-5353 – Juliana Barbosa de Faria: (034) 99684-3480

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê Ética em Pesquisa da Universidade de Uberaba, pelo telefone 034 3319-8816.

ANEXOS

ANEXO A – CONSELHO DE ÉTICA EM PESQUISA

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

Endereço: Av. Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8811

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

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 Picrossirius 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:

Endereço: Av. Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8811

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

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.

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8811

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

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.

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8811

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

**UNIVERSIDADE DE UBERABA -
UNIUBE**



Continuação do Parecer: 2.457.394

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 à 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_BASICAS_DO_PROJETO_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 (Coordenador)**

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8811

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

ANEXO B- ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Microbial Diversity in the Peri-Implant Region of Patients With History of Periodontal Disease and Clinical Parameters**Diversidade Microbiana em Região Peri-Implantar de Pacientes com Histórico de Doença Periodontal e Parâmetros Clínicos****Diversidad Microbiana em la Región Periimplantaria de Pacientes Con Antecedentes de Enfermedad Periodontal y Parámetros Clínicos**

Received: 01/00/2022 | Reviewed: 01/00/2022 | Accept: 01/00/2022 | Published: 01/00/2022

Tassiana Carvalho Mendonça GalvãoORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4838-0164>

University of Uberaba, Brazil

E-mail: tassiana2512@hotmail.com**Juliana Barbosa de Faria**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9681-2278>

Federal University of Triangulo Mineiro, Brazil

E-mail: julibfaria@hotmail.com**Luís Henrique Borges**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8573-9848>

Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brazil,

Camilla Beatriz da SilvaORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4387-2189>

University of Uberaba, Brazil

Email: beatriz.camilla@hotmail.com**Eleonora de Paula Amaral**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3107-2002>

University of Uberaba, Brazil

E-mail: eleonoramaral@yahoo.com**Bárbara Bellocchio Bertoldo**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0628-9792>

Federal University of Triangulo Mineiro, Brazil

E-mail: barbarabellocchiob@hotmail.com**Taíssa Cássia de Souza Furtado**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8186-1798>

University of São Paulo, Brazil

E-mail: taissacassia@hotmail.com**Denise Bertulucci Rocha Rodrigues**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4003-542X>

University of Uberaba, Brazil and Federal University of Triangulo Mineiro, Brazil

E-mail: denise.rodrigues@uniube.br**Vinicius Rangel Geraldo Martins**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4312-3073>

University of Uberaba, Brazil

E-mail: vinicius.martins@uniube.br**Sanívia Aparecida de Lima Pereira**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0293-2587>

University of Uberaba, Brazil and Federal University of Triangulo Mineiro, Brazil

E-mail: sanivia.pereira@uniube.br**Ruchelee Dias Nogueira**ORCID - <https://orcid.org/0000-0002-7706-1376>

University of Uberaba, Brazil

Email: ruchelee_nogueira@yahoo.com.br

Abstract

Dental implants are important forms of oral rehabilitation that are growing with each passing year. Although most implants are successful, a small portion of patients may present peri-implant alterations, peri-implant mucositis, and peri-implantitis. These alterations are allied to the dental biofilm, composed of a large microbial diversity, associated with intrinsic factors to the host. The purpose of the present study was to evaluate the presence of *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn) and *Scardovia wiggsiae* (Sw) in Peri-implantar gingival Fluid (PGF) of patients who received implants 12 months ago and associated with periodontitis history and clinical data. Therefore, samples collected of 44 eligible voluntaries and analyzed by PCR assays with specific primers to bacterium. The results showed that Pg were detected in 34%, Fn and Pi, 81.8% and Sw 75% of the volunteers. Pg was frequently detected in patients who had a history of periodontitis ($p < 0.05$, $q = 8.19$), but no statistically significant differences for the bacteria Fn, Pi and Sw, in the presence or absence of periodontal disease ($p > 0.05$, $q < 0.61$). Gingivitis and periodontitis were more frequently detected in patients with a history of PD ($p < 0.05$, $q > 9.81$). Pg was detected in 58.3% of the volunteers who had teeth prior to implants and their presence was associated with periodontitis ($p < 0.05$, $q = 5.31$) and gingivitis ($p < 0.05$, $q = 4.31$). There were no statistically significant differences between the previous presence of teeth, periodontitis and/or gingivitis and detection of other analyzed bacteria ($p > 0.05$). All the patients whose probing depths were greater than 3 mm had Fn in detectable levels ($p < 0.05$, $q = 4.56$). In conclusion, the involvement of Sw in peri-implant alterations was not evident in this work. Pi and Fn were not related to gingivitis, periodontitis, history of PD and mucositis. Fn was present in periodontal pockets above 3 mm, suggesting its involvement in the worsening of peri-implant alterations. Pg was detected in patients with a history of periodontal disease, gingivitis, and periodontitis and in those who had teeth before the implant installation.

Keywords: Biofilm; Dental Implants; Peri-implant Mucositis; Peri-implantitis

Resumo

Os implantes dentários são importantes formas de reabilitação oral que vem crescendo. Embora a maioria dos implantes apresentem sucesso, uma pequena parcela dos pacientes pode apresentar alterações peri-implantares tais como a mucosite peri-implantar e a peri-implantite. Estas alterações estão aliadas ao biofilme dental, composto por uma grande diversidade microbiana, associada a fatores intrínsecos ao hospedeiro. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a presença de *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn) e *Scardovia wiggsiae* (Sw) em fluido gengival peri-implantar (FGP) de pacientes que receberam implantes dentários há 12 meses, e associar com histórico de periodontite e dados clínicos. Para tanto, amostras de 44 voluntários foram coletadas e analisadas por ensaios de PCR, com primers específicos para cada bactéria. Os resultados mostraram que Pg foi detectada em 34%, Fn e Pi, 81,8% e Sw 75% dos voluntários. Pg foi frequentemente detectada em pacientes que tinham histórico de periodontite ($p < 0.05$, $q = 8.19$). Por outro lado, não houve associação entre a presença de Fn, Pi e Sw e história de periodontite ($p > 0.05$, $q < 0.61$). A gengivite e periodontite foram mais frequentemente detectadas em pacientes com histórico de periodontite

($p < 0.05$, $q > 9.81$). Pg foi detectada em 58,3% dos voluntários que tinham dentes previamente aos implantes ($n=12$) e sua presença esteve associada com a periodontite ($p < 0.05$, $q=5.31$) e gengivite ($p < 0.05$, $q=4.31$). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre a presença prévia de dentes, de periodontite e/ou gengivite e detecção das demais bactérias analisadas ($p > 0.05$). Todos os pacientes cujas profundidades de sondagem foram maiores que 3 mm apresentaram Fn em níveis detectáveis ($p < 0.05$, $q=4.56$). Em conclusão, o envolvimento da Sw nas alterações peri-implantares não foi evidente neste trabalho. Pi e Fn não se relacionaram a gengivite, periodontite, histórico de periodontite e mucosite. Fn esteve presente em bolsas periodontais acima de 3 mm, sugerindo seu envolvimento no agravamento das alterações peri-implantares. Pg foi detectada em pacientes com histórico de doença periodontal, gengivite e periodontite e naqueles que possuíam dentes no nicho do implante.

Palavras-chaves: Biofilmes, Implantação dentária, Mucosite Peri-Implantar, Peri-implantite

Resumen

Los implantes son formas importantes de rehabilitación oral que han ido creciendo. Aunque la mayoría de los implantes tienen éxito, una pequeña proporción de pacientes puede tener cambios periimplantarios, como mucositis periimplantaria y periimplantitis. Estos cambios están asociados al biofilm dental, compuesto por una gran diversidad microbiana, asociado a factores intrínsecos al huésped. El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn) y *Scardovia wiggsiae* (Sw) en el líquido gingival periimplantario (LGP) de pacientes que recibieron implantes nucleares. Hace 12 meses, y asociado a historia periodontal y datos clínicos. Para ello, se recogieron muestras de 4 voluntarios y 4 mediante ensayos de PCR, con cebadores específicos para cada bacteria. El 34% que parió parió en el 34%, Fn y Pi, el 8,8% y S. Pg se vio en pacientes que tenían antecedentes de periodontitis ($p < 0,05$, $q=8,19$). Por otro lado, no hubo asociación entre la presencia de Fn, Pi y Sw y el antecedente de periodontitis ($p > 0.05$, $q < 0.61$). La gingivitis y la periodontitis fueron más periódicas proyectadas en pacientes con antecedentes de periodoncia ($p < 0.05$, $q > 9.81$). Se asoció pg.3% en 58 pacientes que tenían dientes previos a los implantes y su presencia se asoció con periodontitis ($p < 0.05$, $q=5.05$) y gingivitis ($p < 0.05$, $q=4.31$), diferencias estadísticamente significativas entre la presencia previa de dientes, periodoncia/o gingivitis y detección de los demás ($p > 0,05$). Todos los pacientes cuyas profundidades de sondaje eran superiores a 3 mm tenían (Fn en niveles detectables $p < 0,05$, $q=4,56$). En conclusión, la participación de Sw en los cambios periimplantarios no fue evidente en este trabajo. Pi y Fn no se relacionaron con gingivitis, periodontitis, antecedentes de periodontitis y mucositis. Fn se presenta en bolsas periodontales mayores de 3 mm, lo que sugiere su participación en el ensanchamiento de los cambios periantrales. Se planeó Pg en pacientes con antecedentes de gingivitis y periodontitis y que tenían dientes en el nicho del implante.

Palabras clave: Biofilm; Implantes dentales; Mucositis periimplantaria; Periimplantitis.

1. Introduction

Dental implants have become a revolutionary tool in reconstructive dentistry, replacing lost teeth and restoring aesthetics, in addition to masticatory and occlusion functions (Belibasakis & Manoil, 2021). As dentistry advances and patients seek aesthetic options and teeth increasingly like natural ones, the implants have become more attractive, demanding more knowledge and ability from dental surgeons.

Dental implants are defined as devices for oral rehabilitation (Ogle, 2015). They have been used since 1965, when Brånemark's studies (Albrektsson & Isidor, 1994) started, and are becoming viable and efficient to replace regions that are partially or completely bereft of teeth (Wang et al.; 2017). Basically, they are formed by a metal screw and a pillar, which are analogous to the dental root (Petkovic-Curcin et al.; 2011). A prosthetic crown is then manufactured on them. The dental implant is mostly formed by titanium or a titanium alloy, since these materials are highly resistant to corrosion and tension, and are resistant, resilient, with stability and low density (Otria et al.; 2018; De Oliveira et al.; 2017). They are installed through surgery in the residual bone rim (American Academy of Implant Dentistry, 2016).

After the implants are installed, osteoconduction takes place, a process in which osteogenesis cells are attracted, after what a mineral matrix is formed, followed by the bone remodeling process (Oliveira et al.; 2013). The relations between implant and bone take place through osseointegration, which happens when the bone is in an immediate contact with the implant in a predictable and lasting way, so it can serve as the base for the implant (Mendes & Davies, 2016). Some factors can enhance or inhibit osseointegration. The factors that enhance it are related to the implant, its design, composition, topography, material, length, form, diameter, the treatment of its surface, the state of the patient's bone tissue, mechanical stability, bone grafts, and pharmacological agents. The factors that may inhibit it include the excessive mobility of the implant, inadequate porousness, radiation therapy, medications, and factors related to the patient, such as the accumulation of biofilm (Mavrogenis et al.; 2009).

The peri-implant mucosa is the mucous tissue around the dental implants. It is established during the scarring process and its clinical and histological characteristics are like those of the gum that surrounds natural teeth (Lindhe & Karring, 2010), which means that there may be inflammatory responses in the gingival tissue when there is too much accumulated bacteria biofilm (Zitzman et al., 2001). The fibrous tissues in the implants are different from the tissues inserted in the teeth, since they are less vascularized and the direction of the collagen fibers is parallel, resulting in a more profound sulcus than the gingival one. Dental implants are more susceptible to endogenous infections due to these histological and immuno-physiological differences when compared to natural teeth (Belibasakis, 2014). The tissue fibers of the supracrestal connective tissues are placed in a circle around the implant, instead of being perpendicular, as is the case in natural teeth. This reduces the barrier against the invasion of bacteria (Belibasakis & Manoil, 2021). The lack of a periodontal connection reduces physical barriers, thus increasing the odds that microorganisms will enter the sub-mucous tissues (Molina, 2016).

The success of the osseointegration of the implants indicates the absence of clinical inflammation and suppuration signs, and no probing depths below 2 mm (Sanz & Chaple., 2012). On the other hand, dental implants may be unsuccessful due to many causes, such as peri-implant diseases, which include mucositis and peri-implantitis, periodontal pathological alterations that affect the functioning of implants (Derks & Tomasi, 2015; Lindhe & Meyle, 2008). Mucositis is characterized by reversible inflammatory changes in the peri-implant

gingival tissues that were not affected by bone loss; peri-implantitis, on the other hand, are inflammatory reactions with the loss of bone support in the tissues around a functional implant.

Peri-implant mucositis is caused by the accumulation of biofilm, interrupting the homeostasis of the microbe-host in the implant interface of the mucosa, leading to an inflammatory lesion. Peri-implant mucositis is a reversible condition after which the host can become perfectly healthy (Heitz-Mayfield & Salvi, 2018). The diagnosis of mucositis must be based on the presence of peri-implant inflammation (redness, edema, diminution of bleeding within 30 seconds after probing), combined with no additional bone loss (Renvert et al., 2018). Peri-implantitis is one of the main causes of implant failure (De Oliveira et al.; 2015), leading to the loss of bone support and of the implant itself (Diógenes et al.; 2018). This lesion takes place due to an imbalance between the host and the microorganism associated with the formation of the biofilm in the peri-implant region (Pita, 2015) due to a worsening of the mucositis. Ecological changes in the sites of peri-implant submucosa may lead to microbiota changes, favoring dysbiosis through the overgrowth of potentially pathogenic bacteria, thus increasing the odds of developing peri-implantitis (Kroger et al., 2018). Some clinical characteristics can be observed in this inflammatory process, including bleeding when probing, exudate, increased probing depth, and edema (Martins et al.; 2019). Clinically, peri-implantitis is the formation of peri-implant pockets deeper than 3mm, in addition to bleeding during probing and/or suppuration. Radiographically, it is diagnosed when bone loss is observed around the implant, which is represented by peri-implant radiolucency caused by the loss of bone support (Heitz-Mayfield et al.; 2008). Another study considered peri-implantitis as the horizontal bone loss of 3mm or more around the implant, with physiological bone loss from 1 to 1.5 mm (Casado et al.; 2011; Oliveira et al., 2013).

There is much controversy about the composition of the biofilm in the peri-implant infections; whether it is different from the composition of biofilm in sites affected by periodontitis or is common to the microflora around healthy dental implants (Sahrman et al., 2020). Microbe colonization of the peri-implant region immediately after the implants are placed seem to be like that of healthy periodontal sites, with less diversity (Heitz-Mayfield e Salvi; 2018). Therefore, the microbe colonization of the natural teeth may be used as a reservoir to form the biofilm around the implant (Valente & Adreana, 2016; Yan et al., 2020). Kocar et al. (2010) showed that the peri-implant and periodontal sulci of partially edentulous patients showed no differences in their microbiota, showing the same periodontal pathogenic species, while none of these bacteria were found in the peri-implant sulcus of completely edentulous patients. As a result, evidence indicates that it is important to eliminate these microorganisms from the oral cavity before implants are placed, thus inhibiting colonization, and reducing the risk of peri-implantitis (Cerbasi, 2010). The implants, when installed in previously infected sites, have a higher risk of failure when compared to immediate dental implants set in uninfected sites (Oliveira- Neto et al., 2019).

The microbiota associated with the peri-implant disease is formed by many microorganisms, such as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis*, and *Campylobacter rectus* (Cerbasi, 2010). The subgingival biofilm in teeth with periodontitis seems comparable (Cerbasi, 2010). Healthy sites presented another microbiota, formed by *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivaris*, *Actinomices naeslundii*, and *Actionomyces odontolyucus* (Petrasunas, 2010; Sobreira et al.; 2011). These microorganisms can destroy peri-implant tissues in many ways: invading and destroying them directly through the liberation of enzymes, subproducts, and bone reabsorption factors; lowering

the defenses of the host; inducing an inflammatory response mediated by the immune system of the host (Cerbasi, 2010).

Peri-implant colonization starts 30 minutes after the implant is placed, and the bacterial load stays the same in the first week (Furst et al, 2007). Between the first and twelfth week, after the surgical procedure, there are high levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia*, and *Treponema denticola*. At 12 months, the bacterial load seems to be significantly higher for some species, especially for *T. forsythia* and, in a lower level, *P. gingivalis* (Salvi et al., 2008). According to Tallarico (2017), bacterial count in peri-implantitis cases indicates an increase in the colonization of *T. forsythia*.

Scardovia wiggsiae is an anaerobic microorganism, a pleomorphic gram-positive bacillus recently isolated from the human oral cavity. It is associated with early cavities and was later isolated in the periodontal pockets of adults who underwent orthodontic treatment (Tanner et al., 2012). Its role in the etiology of the disease and in periodontal health is still the target of controversy. A recent study has shown the presence of *S. wiggsiae* in periodontal sulci, indicating a diminution of its concentration in the subgingival plaque of periodontally healthy patients who had, respectively, gingivitis and chronic periodontitis (Chakrapani et al., 2019). However, no works associate its presence with the peri-implant interface.

In addition to the peri-implant biofilm, other factors may lead to the failure of the peri-implant anchorage, such as occlusion overload, genetic factors, local factors, early exposure of the implant, systemic problems, bad hygiene, smoking, and patients with a history of periodontitis (Romeiro et al.; 2010; Feres et al.; 2008). Among these, a history of periodontitis is associated with a considerable risk of peri-implant mucositis or even peri-implantitis (Altay et al., 2018; Yan et al., 2020). Patients with a history of periodontal diseases are six times more likely to have peri-implantitis (Francio et. al; 2008).

The accumulation of biofilm in the peri-implant region may lead to the loss of the implant (Esposito et al.; 2008; Shibli; D'avila, 2006), due to the inflammatory response of the tissues around the implant (Louropoulou et al.; 2012) when in the presence of microorganisms (Lindhe e Meyle et al.; 2008). It is important to notice that the beginning of peri-implantitis and its progression do not depend only on the presence of bacteria biofilm and its composition.

They also depend on risk factors and diseases that affect health (Kumar, 2019). Understanding peri-implant mucositis is important because it is considered a precursor of peri-implantitis (reviewed by Heitz-Mayfield e Salvi, 2018). The peri-implant microbiota becomes more complex as the infection advances into a peri-implant mucositis or peri-implantitis (Belibasakis & Manoil, 2021). Considering the above, it is necessary to investigate the microbial presence and diversity after one year of the implants and associate it with the history of periodontal diseases and clinical parameters.

2. Methodology

Sample selection and collection

This study was approved by the Ethics Committee from the Uberaba University, Brazil (CAAE: 64947717.0.0000.5145). All eligible patients were informed about the nature of the study and about the potential risks and benefits of participating by signing the Free and Informed Consent Form (FICF). The clinical investigation was carried out according to the principles from the Declaration of Helsinki. The patients were

selected during the first consultation for follow up of the dental implants, from February 2019 to February 2020 in the Odontology Clinic of the Uberaba University. Medical and dental information were obtained from the patients who agreed participating in the study and were in accordance with the inclusion/exclusion criteria. The patients (n=44) were examined and interviewed in two moments: at admission for the implant and 12 months after the implants were placed. The criteria for inclusion/exclusion and patient selection were to be included, patients had to be in a good general state of health and sign the FICF. Were excluded all patients with parafunctional habits, smokers and alcoholics, edentulous patients, those who had been using corticoids, antibiotics, or anti-inflammatory medication in the last six months, who had undergone periodontal or peri-implant therapy after installing the implant, who had relevant uncompensated systemic diseases, such as diabetes and osteoporosis. After the FICF was signed, the patients were interviewed about their health, habits and history of oral diseases, and use of medication. Afterwards, the participants were submitted to an intraoral clinical examination by the same dentist in both visits. The patient was evaluated regarding oral conditions, and there was an inspection of periodontal diseases, cavities, and the previous presence of teeth in the site. The implant was analyzed in local inflammatory processes. Then, the interface between tooth and implant was probed.

The following parameters were evaluated in six sites (mesial vestibular, disto-vestibular, mesial-vestibular, mesial-lingual, disto-lingual), using a periodontal probe PCPUNC-15BR Hu-Friedy, São Paulo, Brazil): (a) marginal bleeding - the presence or not of bleeding was recorded at the passing of the periodontal probe alongside the margins of the soft tissue; (b) suppuration - presence or not of suppuration, spontaneous or when probing; (c) probing depth - distance in millimeters from the margin of the mucosa to the bottom of the sulcus or peri-implant pocket (De Mendonça et al., 2009).

Gingivitis was positive when there more than 25% of the sites bled at probing, with no site showing loss of clinical insertion > 2mm (Gomes-Filho et al., 2007). Patients with periodontitis: loss of insertion detected in one or more interproximal non-adjacent sites or loss of insertion of 3mm or more in the vestibule or lingual/palate in at least two teeth, as long as not caused by: a) traumatic gingival recession; b) dental cavity reaching the cervical area of the teeth; c) loss of insertion in the distal surface of a second molar and associated to the bad position or extraction of a third molar; d) endoperiodontal lesion draining through the marginal periodontium or e) vertical root fracture (Tonetti et al., 2018; Papanou *et al.*, 2017). Patients with mucositis were detected according with gingivitis parameters. Patient with peri-implantitis: a) signs of peri-implant inflammation, b) radiographic evidence of bone loss after initial scarring, and c) radiographic bone level ≥ 3 mm accompanied by bleeding at probing and probing depth ≥ 6 mm (Renvert et al., 2018).

For the collection of the peri-implant gingival fluid (PGF), the implants selected were isolated using sterile gauze and the sites of collection were softly dried using the air syringe. Four absorbent paper points number 40 were placed, isolated, in each site of collection, approximately 2 mm in the crevicular sulcus/pocket for 30 seconds each. Points contaminated by blood or saliva were discarded. Later, the points were placed in an Eppendorf tube with a 0.5 Phosphate-Buffered Saline (PBS) buffer solution, pH 7.2, composed by 1.9g monobasic potassium phosphate (KH₂PO₄); 5.1 g sodium phosphate (Na₂HPO₄); 42.5 g sodium chloride (NaCl) and 500 ml ultra-pure water, distilled in a Milli Q® (Millipore) device and frozen at -70°C (Escobar et al., 2018). They were sent to the UNIUBE biopathology lab. After laboratory procedures, the samples left were sterilized so later they could be discarded.

Detection of bacteria in the samples

The DNA from the studied species was extracted using the PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit (MO-BIO, Carlsbad, CA) according to the manufacturer's instructions. Samples were transferred to tube containing Bead Solution. After were vortexed for 2 minutes to ensure the release of bacteria to the suspension, which was then transferred to a Powerlyzer Glass Bead Tube (MO-BIO, Carlsbad, CA). The concentration of the purified DNA product was measured with a NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Scientific). Primers (synthesized by Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) and probes (synthesized by Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) were targeted against 16S rRNA genes for both bacteria: *Prevotella intermedia* R: AATACCCGATGTTGTCCACA, *Prevotella intermedia* F: TTAGCCGGTCCTTATTCGAA, *Scardovia wiggsiae* F: GTGGACTTTATGAATAAGC, *Scardovia wiggsiae* R: CTACCGTTAAGCAGTAAG, *Fusobacterium nucleatum* F: ACCTAAGGGAGAAACAGAACCA, *Fusobacterium nucleatum* R: CCTGCCTTTAATTCATCTCCAT, *Porphyromonas gingivalis* F: TGCAACTTGCCTTACAGAGGG, *Porphyromonas gingivalis* R: ACTCGTATCGCCCGTTATTC. The StepOne™ Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) performed the samples. Each reaction tube contained reaction mixture, including 6.5 µL SYBR Green Master Mix (Roche, Ilhois, EUA), 1µL of each primer, 4.5 µL de ultrapure water e 2µL of DNA extracted from samples. The cycling conditions were an initial amplification cycle of 95°C for 10 min, followed by 40 cycles at 95°C for 15 s and 60°C for 1 min.

Statistical analysis

The frequencies of samples with positivity of bacteria were compared to each other and to the data obtained by the questionnaire using the Chi-square test or the Fisher's Exact Test. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. Data were analyzed using BioStat® Software.

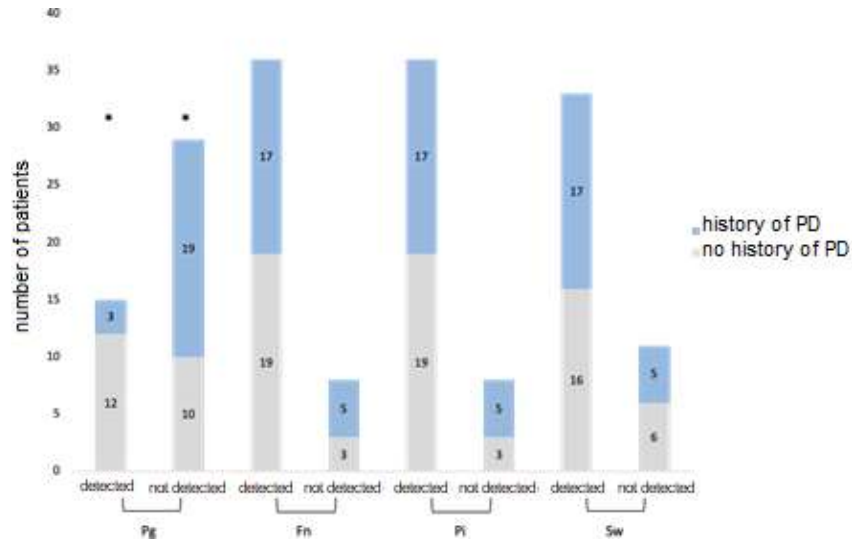
3. Results

The data collected from the 44 patients eligible showed that their mean age was 53.2 ± 11.7 ; 15 were male and 29, female; 42 were white and 2 non-white; and 22 patients had a history of periodontitis (PD). The intraoral exam, at first visit, showed that, among the volunteers, 12 had teeth in the site where the implant would take place, and would undergo extraction or immediate implantation; 12 had gingivitis and 9 periodontitis, in the tooth to be extracted or in other teeth. After 12 months, data from, the interview were ratified, and the probing depth was evaluated. For 23 patients, the probing depth was lower than 1 mm, which is normal, while 21 has values higher than 2 mm and bleeding at probing, which characterized mucositis. From these, 14 had probing depths of more than 3 mm and bleeding, but none of them had a diagnosis of peri-implantitis.

The exams for the detection of microbes in the PGF samples (n=44) showed that the Pg was detected in 15 samples (34%). Other bacteria were detected in most samples, Fn and Pi in 36 (81.8%) and Sw in 33 (75%) of the volunteers. Comparing the detection of these bacteria in the patients with or without a history of periodontal disease, there were no statistically significant differences for the bacteria Fn, Pi, and Sw (Figure 2, $p > 0.05$, $q < 0.61$). However, the Pg was frequently detected in patients with a history of PD (Figure 2, $p < 0.05$, $q = 8.19$). From the 15 positive samples for Pg, 12 had a history of PD (80%), while, from the 29 samples with no Pg

detection, 65.6% had no history.

Fig. 1- Relationship between the number of patients with positive and negative results for Pg, Fn, Pi, and SW, with or without history of PD.



Source: Authors (2021).

The clinical data found from the patients about the presence of gingivitis and periodontitis at the time of their initial approach showed that these diseases were more frequently detected in patients with a history of PD (Table 2, $p < 0.05$, $q > 9.81$). About 83.4% and 100% of the volunteers with gingivitis and periodontitis, respectively, had a previous history of PD. There was an association between having a history of PD and having a probing depth above 2 mm 12 months after the implant. From the 21 patients with this probing depth, 67% had a history of PD (Table 2, $p < 0.05$, $q = 4.46$).

Table 1. List of patients with probing depth above 2 mm with or without a history of PD.

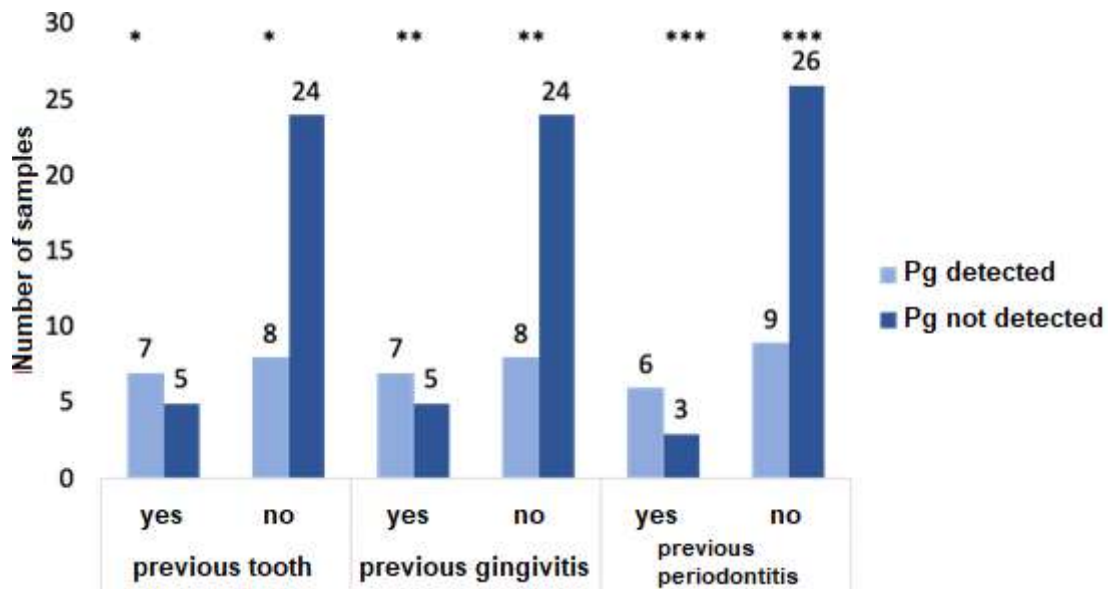
	Histórico de Doença periodontal		<i>p/X²</i>
	Sim (n=22)	Não (n=22)	
Gengivite			
Sim	10	2	0.017/9.81
Não	12	20	
Periodontite			
Sim	9	0	0.008/11.34
Não	13	22	
Profundidade de sondagem implante			
Normal	8	15	0.034/4.46
>2 mm	14	7	

Source: Authors (2021).

The presence of teeth before the implant was carried out had a positive relation with the presence of Pg. While 58.3% ($n = 7/12$) of the volunteers who had teeth before showed Pg, only 25% of those who did not have

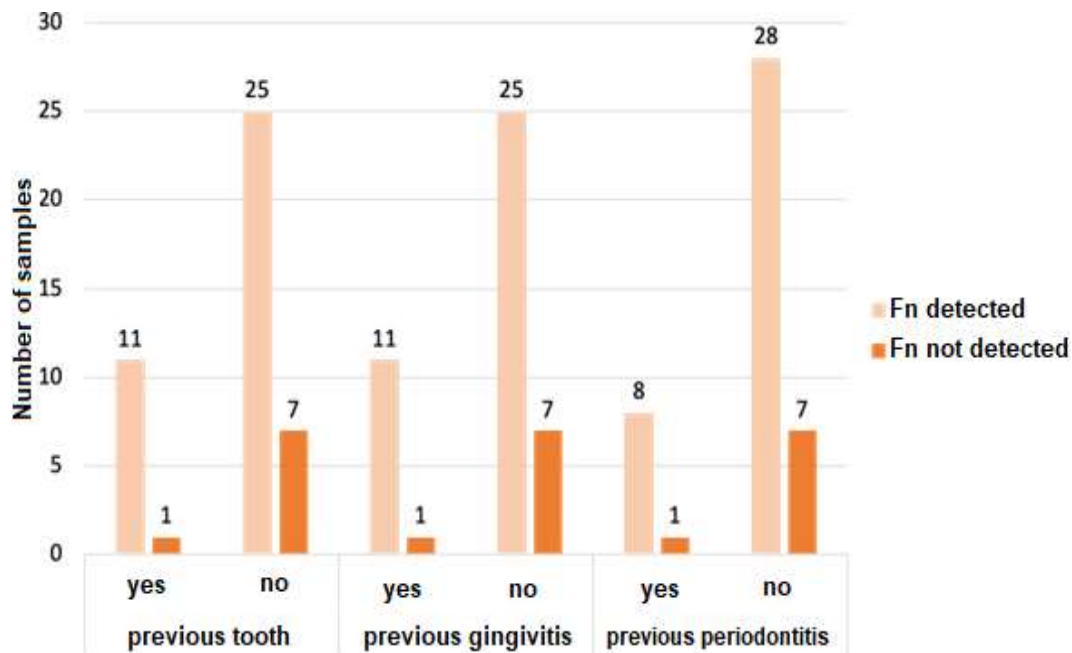
teeth in the site of the implant had the bacteria in detectable levels (Figure 3, $p < 0.05$, $q = 4.31$). Most patients with no gingival disease or periodontitis did not have Pg in their peri-implant fluid, while the presence of Pg was associated with the presence of periodontitis (Figure 3 $p < 0.05$, $q = 5.31$) and gingivitis (Figure 3, $p < 0.05$, $q = 4.31$), with 58.2 % and 66.7% of patients with positive Pg having gingivitis and periodontitis, respectively. On the other hand, there were no statistically significant differences between the previous presence of teeth, periodontitis and/or gingivitis, and the detection of the other bacteria analyzed (Figures 4, 5 e 6, $p > 0.05$).

Fig. 2 – Relation between the presence of teeth, gingivitis and periodontitis before the implants and the detection of Pg in the crevicular fluid



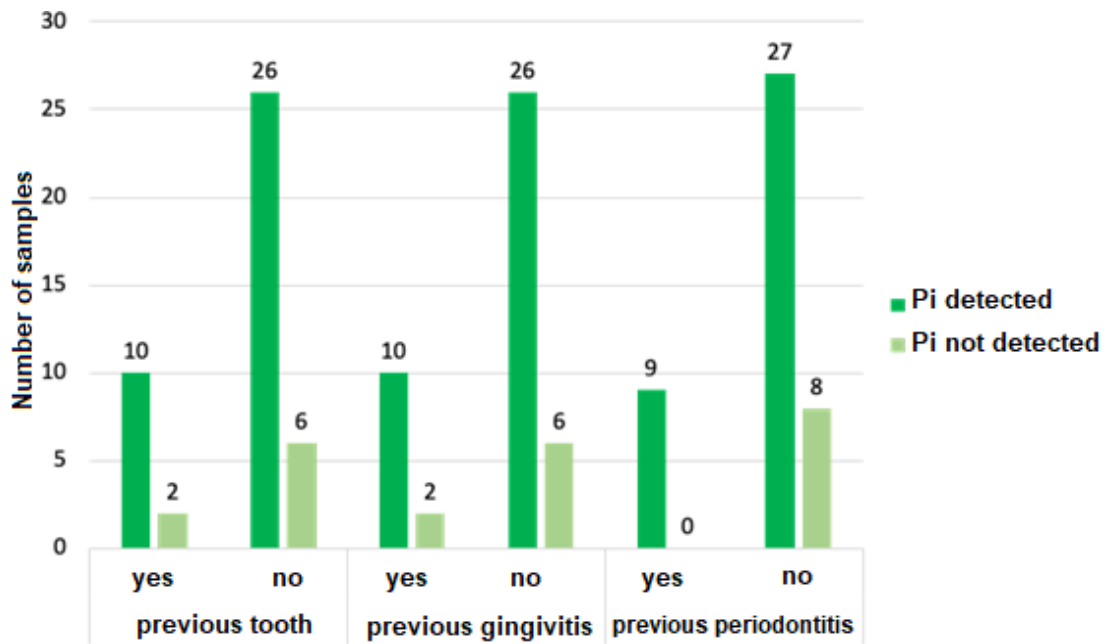
Source: Authors (2021).

Fig. 3 – Relation between the presence of teeth, gingivitis and periodontitis before the implants and the detection of Fn in the crevicular fluid



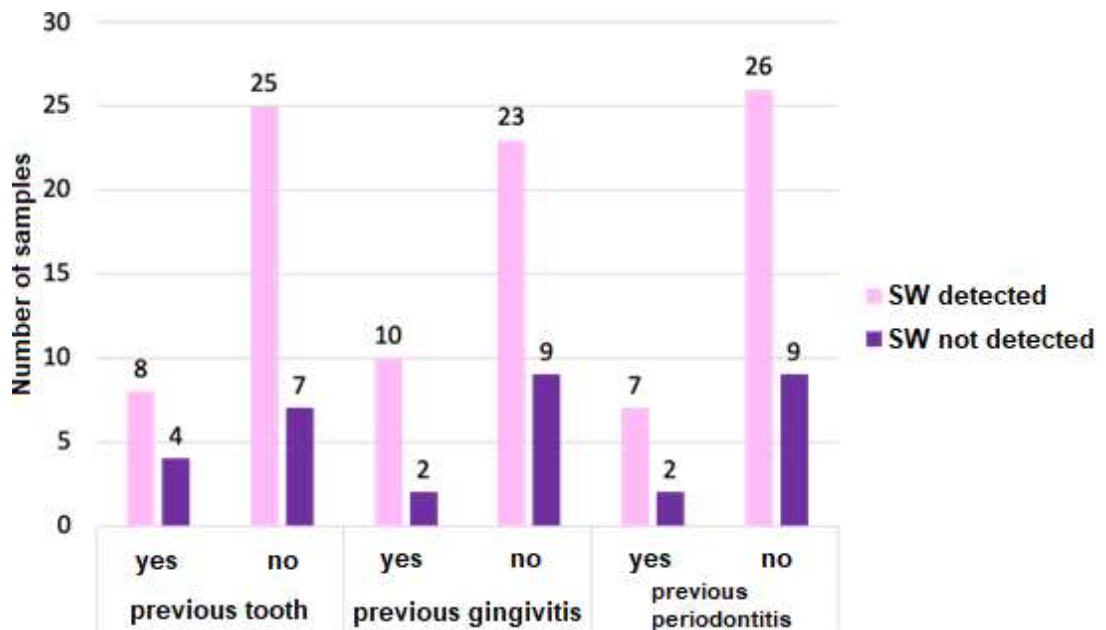
Source: Authors (2021).

Fig. 4 – Relation between the presence of teeth, gingivitis and periodontitis before the implants and the detection of Pi in the crevicular fluid



Source: Authors (2021).

Fig. 5 – Relation between the presence of teeth, gingivitis and periodontitis before the implants and the detection of SW in the crevicular fluid



Source: Authors (2021).

The comparative analysis of the frequency of bacterial detection and the measurement of the probing depth (Table 3) showed that there is no difference between the volunteers for Pg, Pi, and Sw (Table 3, $p < 0.05$). On the other hand, all patients with probing depth above 3 mm had detectable levels of Fn ($p < 0.05$, $q = 4.56$).

Table 2 - Comparative analysis of the frequency of bacterial detection and the measurement of the probing depth.

Implant probing depth	Detection of bacteria							
	Pg		Fn		Pi		Sw	
	Yes N=15	No N=29	Yes N=36	No N=8	Yes N=36	No N=8	Yes N=33	No N=11
Normal (n=23)	6	17	18*	5*	17	6	18	5
> 2mm (n=21)	9	12	18	3	19	2	15	6
> 3mm (n=14)	7	7	14*	0*	12	2	10	4

Source: Authors (2021).

4. Discussion

This study sought evidence about the presence of bacteria (Pg, Pi, Fn, and Sw) in the tooth-implant interface, in the PGF, with data about periodontal diseases (gingivitis and periodontitis) and about teeth in the location of the implant, as well as about the history of PD. The results showed that Fn and Pi were frequently detected in the samples, which corroborates a study where these bacteria were frequently detected in PGF and involved in the PD (Canullo et al., 2015). Sw was also detected in most peri-implant samples (71.7%), which corroborates the understanding of oral micro-environments where this bacterium may be, in addition to its involvement in the etiology of the cavity (Tanner *et al.*, 2018). The Pg was also detected in nearly 50% of the samples, and it was the bacteria that allowed us to observe some differences in the clinical data analyzed.

Several investigations determine some risk factors, such as a previous history of periodontitis (Heitz-Mayfield, 2008; Heitz-Mayfield, & Huynh-Ba, 2009; Renvert & Pearson, 2009), and have been investigating the issue in depth to understand and avoid the development of peri-implantitis and the consequent loss of the implant. Although some studies show that patients with a history of periodontitis may have healthy peri-implant tissues (Baelum e Ellegard, 2004, Karoussis et al., 2003), others have shown that patients with a history of periodontitis showed a higher risk for peri-implantitis (Quirynen et al. 2007; Heitz-Mayfield, 2008; Renvert & Persson, 2009; Schwarz et al., 2018; Klinge et al., 2005, Ferreira et al., 2006; Cho-Yan Lee et al., 2012; Costa *et al.*, 2012), a risk that is five times greater in patients with a history of chronic periodontitis (Karoussis et al., 2003). A systematic review and meta-analysis showed that both active periodontitis (Kabir et al., 2021) and a history of periodontitis were risk factors for peri-implantitis (Ferreira et al., 2018). The results showed that only the Pg was detected more often in patients with a history of PD.

The data analyzed did not allow us to observe a correlation between the clinical parameters and the presence of Fn, Pi, and Sw. Several studies showed that the composition of the microbiota established after the placement of the implant may remain relatively unchanged in the absence of periodontal or peri-implant pathologies, and the peri-implant sulci that house PD pathogens will not necessarily develop peri-implantitis (Van Winkelhoff et al, 2000; Heydenrijk et al., 2002). Other studies showed that periodontal pathogens may be

found in teeth that are in the sites of both diseased and healthy implants in the same individuals (Leonhardt et al., 1993; Mombelli *et al.*, 1995; Rutar et al., 2001; Takanashi et al., 2002; Tabanella et al., 2009; Dabdoub *et al.*, 2013). The same was shown in a study where the number of Pi positive implants had similar levels to those of natural teeth 6 months after the placement of the implants and stayed stable throughout a one-year follow up (Leonhardt et al.; 1993). On the other hand, the Pi was found more often in peri-implantitis biofilm when compared to the samples from healthy implants (Sahrman et al., 2020). A higher prevalence of Pi in diseased peri-implant regions, when compared to healthy peri-implant regions, was confirmed by a case control study (De waal et al., 2017). Furthermore, there are previous studies where individuals with gingivitis and periodontitis were separated in two equal groups of patients. As a result, the presence of inflammation around the implant and the teeth, coupled with a history of periodontal disease were associated to an increased risk for peri-implantitis (Ferreira et al., 2006; Cho-Yan Lee et al., 2012; Costa et al., 2012).

The frequency of Pg was not different than that of patients whose probing depth was above 2mm and showed bleeding, as shown by Ata-Ali et al. (2013), that is, in cases of implant mucositis, the Pg was not associated with the initial disease. Nonetheless, according with Hayek et al., the Pg was frequently found in sites with peri-implantitis (Hayek et al., 2005, Lafaurie et al., 2017; Tzach-Nnhman et al., 2017; Zhu et al., 2019). The Pg was more frequently found in patients with a history of PD, gingivitis, periodontitis, and in the presence of the previous teeth, suggesting that its detection in the peri-implant region may be related to its transference to sites in the oral environment itself, as shown by other authors (Valente & Adreana, 2016; Yan et al., 2020). The presence of residual periodontal pockets may cause niches where there are adjacent infection implants (Mombelli et al., 1995; Karoussis et al., 2003).

An increased probing depth through time is associated with the loss of bone support (Algrafee et al., 2012). Biological complications around the implants, such as peri-implant mucositis and peri-implantitis are commonly observed a few years after the implants start being used (Mombelli et al., 2012). The comparative analysis of the frequency of bacterial detection and the measurement of the probing depth showed that there is no difference between the volunteers for Pg, Pi, and Sw. On the other hand, all patients with probing depth above 3 mm had detectable levels of Fn, and most of them also presented the other bacteria analyzed. Since some bacteria associated with periodontitis are commonly found in peri-implantitis, including *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Eubacterium*, *Fusobacterium* and those from the *Treponema* species (Shibli *et al.*, 2008), we can suggest that these patients, with high levels of Fn and of probing depths are evolving into a peri-implantitis.

Considering the above, mucositis is an inflammation process can be detected in patients after the 12th month of the implant, since 21 patients (45.6%) presented probing depth higher than 2mm and bled during the clinical examination, signs of the beginning of an inflammation. Its etiology is varied since many bacterial species may be associated to the infection process. The presence of bacteria usually found in the oral cavity can be the source of infections and lead to the accumulation of biofilm. Therefore, the follow up of the patient, good oral hygiene habits, and the diminution of local and systemic risk factors may prevent against the loss of the implant.

5. Conclusion

This study allowed us to conclude that:

-Sw may be present in the tooth/implant interface, and its involvement in the beginning of the peri-implant inflammatory process is not evident in our findings, since there were no statistically significant differences between clinical parameters and a history of PD.

-Among the periodontal pathogens analyzed (Pi, Pg, and Fn), the presence of Pi and Fn showed no relation with gingivitis, periodontitis, a history of PD, or with mucositis. However, the Fn was often detected in periodontal pockets with more than 3 mm, which suggests its involvement in the worsening of the peri-implant inflammation process.

-The Pg was the least detected bacteria (33%), but samples that detected it belonged to patients with a history of PD, gingivitis and periodontitis, or teeth in the sites of the implant.

-In summation, local factors, functional implants, and the time since the installation of the implant must be considered for future studies, so that base cytokine levels in the peri-implant crevicular fluid can be verified.

Declaration of human rights

All procedures carried out in studies involving human beings were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committees and with the 1964 Declaration of Helsinki and with its later amendments or with comparable ethical standards.

Acknowledgments

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Conflict of interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- Albrektsson, T & Isidor, F. (1994). Consensus report of session IV. In: Lang NP, Karring T, eds. 1st Proceeding of the European Workshop on Periodontology. London: Quintessence Publishing, 365–369.
- Algrafee, H., Borumandi, F., & Cascarinii, L. (2012). Peri-implantitis. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 50(8), 689–694.
- Altay, M.A, Tozoglu, S. , Yıldırımıyan, N. & Özarslanet, M.M. (2018). Is History of Periodontitis a Risk Factor for Peri-implant Disease? A Pilot Study, *Int Journal Oral Maxillofac Implants*, 33 (1), 152-160.
- Ata-Ali J., Fernández A.F., Ata- Ali F. & Diago M.P. (2013). Clinical, Microbiologic, and Host Response Characteristics in Patients with Peri-implant Mucositis. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 28(3), 883-890.
- Baelum, V. & Ellegard, B. (2004). Implant survival in periodontally compromised patients. *Journal Periodontol*, 75(10), 1404–1412.
- Belibasakis, G. N. (2014). Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Arch Oral Biol. Zurich*, 59(1), 66-72.
- Belibasakis, G.N & Manoil, D. (2021). Microbial Community-Driven Etiopathogenesis of Peri- Implantitis. *Journal Of Dental Research*, 100(1), 21-28. <http://dx.doi.org/10.1177/0022034520949851>.
- Canullo, L., Oitra, D.P., Covani, U. & Rosseti, P.H.O. (2015). Microbiologic and Clinical Findings of Implants in Healthy Condition and With Peri-implantitis. *Quintessence*

Publishing, 30(4), 834-842.

Casado, P.L; Guerra, R. R., Fonseca, M. A., Costa, L. C., granjeiro, j. M. & Barboza, E. P. (2011). Tratamento das doenças peri-implantares : experiências passadas e perspectivas futuras- uma revisão de literatura. *Revista Periodontia*, 21(2), 25-35.

Cerbasi, K.P. (2010). Etiologia bacteriana e tratamento da peri-implantite; *Innov Implant Journal, Biomater Esthet, São Paulo*, 5(1), 50-55.

Chakrapani, A. R., Ajjappa, B. G., Prakash, S. & Bhat, K. (2019). *Scardovia wiggisiae*: Role in periodontal Health and Disease – a Pilot Study. *Indian J Dental Adv*, 11(4), 119-124.

Cho-Yan Lee, J Mattheos, N. , Nixon, K. C. & Ivanovski, S. (2012). Residual periodontal pockets are a risk indicator for peri-implantitis in patients treated for periodontitis. *Clinical Oral Implants Research*, 23, 325–333.

Costa, F.O. (2012). Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: a 5- year follow-up. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(2), 173–181.

Daddoub, S.M; Tsigarida, A.A & Kumar, P.S. (2013). Patient-specific analysis of periodontal and peri-implant microbiomes. *Journal Dent Res*, 92(12), 168-175.

De Oliveira, D. P., Ottria, L., Gargari, M. & Candotto, V. (2017). Surface modification of titanium alloys for biomedical application: From macro to nano scale. *Journal Biol. Regul. Homeost. Agents*, 31(1), 221–232.

De Oliveira, M. C et al. (2015). Peri-implantite: etiologia e tratamento. *Revista Brasileira de Odontologia*, 72(1), 96-99.

De Waal, Y.C. M., Eijsbouts, H V L C., Winkel, E G & van Winkelhoff, A J. (2017). Microbial Characteristics of Peri-Implantitis: A Case-Control Study. *Journal of Periodontology*, 88(2), 209–217.

Derks J & Tomasi C. (2015). Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal Clin Periodontol*, 42(16), 158–171.

Diógenes, M.A et al. (2018). Mucosite periimplantar e periimplantite: Etiologia, fatores de risco e tratamento. *Anais da Jornada Odontológica dos Acadêmicos da Católica*, 4(1), 1-5.

Esposito, M., Grusovin, M. G. , Kakisis, I. , Coulthard, P. & Worthington H. V. (2008). Interventions for replacing missing teeth: Treatment of perimplantitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, 1-13.

Feres, M., Shibli, J. A. & Duarte, P. M. (2008). Tratamento das doenças periimplantares; mucosite e peri-implantite – parte 1. *R. Periodontia*, 18(4), 1-8.

Ferreira, S.D., Silva, G.L.M. , Cortelli, J.R. , Costa, J.E. & Costa, F.O. (2006). Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(12), 929–935.

Ferreira, S.D. , Amaral , S. A. , Vieira, T R ., Albuquerque B. N. , Cota, L. O. M. et al. (2018). Periodontitis as a risk factor for peri-implantitis: systematic review and meta- analysis of observational studies. *Journal Dent*, 79, 1–10.

Francio, L., Sousa, A.M.de, Storrer, C.L.M., Deliberador, T. M., Pizzato, E. & Lopes, T. R. (2008). Tratamento da periimplantite: revisão da literatura. *Revista Sul Brasileira de Odontologia*, 5(2), 75-8.

Furst, M.M., Salvi G.E., Lang, N. P. & Persson G. R. (2007). Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res*, 18(4), 501–508.

Hayek, R.R.A et al. (2005). Estudo comparativo entre os efeitos da terapia fotodinâmica e da terapia convencional na redução microbiana na peri-implantite induzida por ligadura em cães. *Journal Periodontol*, 76(8), 1275-1281.

Heitz-Mayfield, L.J.A. (2008). Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *Journal Clin Periodontol*, 35(8), 292-304.

Heitz-Mayfield L.J.A. & Huynh-Ba, G. (2009). História de periodontite tratada e

- tabagismo como riscos para a terapia com implantes. *Implantes Maxilofac Orais Int J.* 24, 39-68.
- Heitz-Mayfield, L.J. A. & Salvi G.E. (2018). *Journal Clin Periodontol*, 45 (20), 237-245
- Heydenrijk , K., Meijer H. J .A. , Reijden, W. A. V. , Raghoobar, G. M. , Vissink, A. & Stegenga B. (2002). Microbiota around root-form endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 17(6), 829-838.
- Kabir L, Stiech M & Grischke J. (2021). The effect of keratinized mucosa on the severity of peri- implant mucositis differs between periodontally healthy subjects and the general population: a cross-sectional study. *Clin Oral Invest*, 25(3), 1183-1193.
- Karoussis I. K., Salvi, G. E., Heitz-Mayfield L. J. A , Bragger, U., Hammerle, C.H.F. & Lang, N. P. (2003). Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10 year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. *Clin Oral Implants Res*, 14(3), 329–339.
- Klinge, B; Hultin M. & Berglundh, T. (2005). Peri-implantitis.. *Dent Clin North Am*, 49(3), 661–676.
- Kocar, M; Seme K & Hren NI. (2010). Characterization of the normal bacterial flora in peri-implant sulci of partially and completely edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 25(4), 690–698.
- Kroger, A. et al. (2018). The severity of human peri- implantitis lesions correlates with the level of submucosal microbial dysbiosis. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, 1498–1509.
- Kumar P. S. (2019). Fatores de risco sistemico para o desenvolvimento de doenças peri-implantes. *Implant Dent*, 2, 115–119.
- Lafaurie G.I., Sabogal, M. A. Castillo, D. M. , Rincon M. V. , Gómez L. A. , Lesmes, Y. A. , et al. (2017). Microbiome and microbial biofilm profiles of Peri-Implantitis: a systematic review. *Journal Periodontol*, 88(10), 1066–1089.
- Leonhardth, A., Adolfsson, B , Lekholm U. , Wikström, M. & Dahlen, G . (1993). A longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium implants in partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*, 4(3), 113–120.
- Lindhe J.L.N & Karring, T. (2010). *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan..
- Lindhe, J L.N & Meyle, J. (2008). Group D of European Workshop on Periodontology Periimplant diseases: consensus report of the sixth European Workshop on Periodontology. *Journal Clin Periodontol*, 35(8), 282–285.
- Louropoulou, A. et al. (2012). Titanium surface alterations following the use of diferente mechanical instruments: A systematic review. *Clin Oral Implants Res*, 23(6), 643–658.
- Martins, E.O.B., Martins F., Anjos, E. D. & Marques , D.D.M. (2019) Doenças periimplantares, etiologia, diagnóstico e classificação: revisão de literatura. *Brazilian Journal of Periodontology*, 29(1), 53-64.
- Mavrogenis, A. F., Dimitriou, R. , Parvizi, J. & Babis G.C. (2009). Biology of implant osseointegration. *Journal Musculoskelet Neuronal Interact*, 9(2), 61-71.
- Mendes, V.C & Davies J.E. (2016). Uma nova perspectiva sobre a biologia da osseointegração. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentista*, 70(2), 166- 71.
- Mombelli, A, Marxer, M. , Gaberthuel, T. , Grunder, U. & Lang, N. P. (1995). The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal Clin Periodontol*, 22(2), 124-130.
- Mombelli, A., Muller, N & CIONCA, N. (2012). The epidemiology of peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*, 23(6), 67–76.
- Mombelli, A., Nyman, S. , Bragger, U. , Wennstrom, J. & Lang, N. P. (1995). Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by

- periodontal pocket reduction. *J Clin Periodontol*, 22(10), 780-787.
- Ogle, O. E. (2015). Implant surface material, design, and osseointegration. *Dent. Clin. N. Am.*, 59(2), 505–520.
- Oliveira, G.B et al. (2013). Periimplantite: considerações sobre etiologia e tratamento. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR*, 17(1), 55-59.
- Oliveira-Neto, O.B., Lemos C.A.A. , Barbosa, F.T. , de Sousa-Rodrigues C.F. & Camello de Lima, F..J. (2019). Immediate dental implants placed into infected sites present a higher risk of failure than immediate dental implants placed into non-infected sites: systematic review and meta-analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 24(4), 518-528.
- Ottria, L., Lauritano, D. , Bassi, M. A. , Palmieri, A , Candotto, V , Tagliabue, A. et al. (2018). Mechanical, chemical and biological aspects of titanium and titanium alloys in implant dentistry. *Journal Biol. Regul. Homeost. Agents*. 32 (1), 81–90.
- Petkovic-Curcin, Matić A. S., Danilo V., Stamatović, N. & Todorović, T. (2011). Cytokines in pathogenesis of peri-implantitis. *Vojnosanitetski pregled*, 68(5), 435-440.
- Petrusnas, K. (2010). Etiologia bacteriana e tratamento da peri-implantite. *Innov. Implant. Journal Biomater Esthet*, 5(1), 50-55.
- Pita, P.P.C. (2015). Adesão de estreptococos orais em diversas superfícies de implantes. 33f. Dissertação (Mestrado)-curso de Odontologia, Implantodontia, Universidade de Guarulhos, Guarulhos, Brasil.
- Quirynen, M., Abarca, M. , Assche, N. V , Nevins, M. & Steenberghe, D. V. (2007). Impact of supportive periodontal therapy and implant surface roughness on implant outcome in patients with a history of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(9), 805–815.
- Renvert, S. & Persson, G.R. (2009). Periodontitis as a potential risk factor for peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 36 (1), 9–14.
- Renvert, S., Persson G.R. Pirih, F. Q. & Camargo, P. M (2018). Peri-implant health, peri-implant mucositis and peri-implantitis: case definitions and diagnostic considerations. *Journal Clin Periodontol*, 45(20), 278-285.
- Romeiro, R.L., Rocha R. F. & Antonio O. C. J.; (2010). Etiologia e tratamento das doenças periimplantares. *Revista Metodista*, 18(36), 59-66.
- Rutar, A., Lang, N., Buser, D., Bürgin, W. & Mombelli , A. (2001). Restrospective assessment of clinical and microbiological factors affecting periimplant tissue conditions. *Clin Oral Impl Res*. 12, 189-195.
- Sahrman, P., Gilli F. , Wiedemeier, D. B , Attin T., Schmidlin, P. R & Lamprini K. (2020). The Microbiome of Peri-Implantitis: A Systematic Review and Meta- Analysis. *Microorganisms*, 8(5), 661.
- Salvi G.E., Fürst, M. M. , Lang, N. P. & Persson, G. R. (2008). One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. *Clin Oral Implants Res*, 19(3), 242–248.
- Sanz, M. & Chaple, I.L. (2012). Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. *Journal Clin Periodontol*. 39(12), 202-206.
- Schwarz, F., Derks, J., & Monje, A. W. H. (2018). Peri-implantitis. *Journal of Periodontology*, 89(1), 267–290. doi:10.1002/jper.16-0350
- Shibli, J.A. & D'avila, S. (2006). Restoration of the soft-tissue margin in single-tooth implant in the anterior maxilla. *Journal of Oral Implantology*, 32(6), 286–290.
- Shibli, J.A., Melo, L. , Ferrari, D.S. , Figueiredo, L. C. , Faveri , M. & Feres, M.(2008).Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res*. 19(10), 975–982.
- Sobreira, F.M., Junior, G. R de S., Lopes, N.M.A & Cimões A.V.R., (2011). Peri-implantite: Bases científicas para diagnóstico e tratamento. *Inter Journal of Dentistry*, 10(3), 180-185.
- Tabanella, M.S.G., Nowzari H. & Slots J. (2009). Clinical and Microbiological

- Determinants of Ailing Dental Implants, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 11(1), 24 – 36.
- Tallarico M., Canullo, L., Caneva, M. & Özcan, M. (2017). Colonização microbiana na interface implante-pilar e sua possível influência na periimplantite: uma revisão sistemática e metanálise. *J Prótese Res*, 61(3), 233-241.
- Takanashi, Y., Penrod, J.R., Chehade, A., Klemetti, E., Savard, A., Lund, J.P. & Feine, J.S. (2002). Does a Prosthodontist Spend More Time Providing Mandibular Two-Implant Overdentures than Conventional Dentures? *Int J Prosthodont*, 15(3), 397-403.
- Tanner, A.C.R., Kressirer, C. .A., Rothmiller, S . , Johansson, I. & Chalmers, N.I (2018). The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis Review *Adv Dent Res*, 29(1), 78-85.
- Tanner, A.C.R., Sonis, A. ,Holgerson, P. L. , Starr, J.R. , Nunez, Y. , Kressirer, C.A. , 1, 3 Paster, B.J. , & Johansson, I. et al. (2012). White-spot lesions and gingivitis microbiotas in orthodontic patients. *J Dent Res*, 91(9), 853-858.
- Tzach-Nahmanr, R, Mizraji, G. , Shapira, L., Nussbaum, G. & Wilensky, A. s. (2017). Oral infection with *Porphyromonas gingivalis* induces peri- implantitis in a murine model: evaluation of bone loss and the local inflammatory response. *Journal Clin Periodontol*, 44(7), 739–48.
- Valente, N.A & Adreana, S. (2016). Peri-implant disease: what we know and what we need to know. *Journal Periodontal Implant Sci. New York*, 46(3) 136-151.
- Van- Winkelhoff A.J. , Goené R.J. , Benschop, C. & Folmer, T . (2000). Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*, 11(6), 511– 520.
- Wang, W., Lagoudis, M., Yeh, C. & Paranhos, K.S. (2017). Management of peri-implantitis a contemporary synopsis. *Singapore Dent. Journal*, 38, 8–16.
- Yan, X., Lu, H., Zhang, L. , Zhu , B. , Piao , M. , Huang, B. , Zhang, H. & Meng, H. (2020). A three-year study on periodontal microorganisms of short locking-taper implants and adjacent teeth in patients with history of periodontitis. *Journal of Dentistry*, 95, 1-8.
- Zitzmman, N.U., Scharer, P. & Marinello, C P. (2001). Long-term results of implants treated with guided bone regeneration: A 5-year prospective study. *The International Journal of Oral& Maxillofacial Implants*, 16(3), 355-366.
- Zhu, B. , Meng, H. , Huang, B. , Chen, Z. & Lu, R. (2019). Detection of *T-forsythia* and other important bacteria in crestal and subcrestal implants with ligature-induced peri-implant infection in dogs. *Journal Periodontol*, 90(3), 306