

Avaliação da microinfiltração bacteriológica em implantes hexágono externo com diferentes superfícies de parafuso

Bacterial microleakage in hexagonal implants with different screw surface.

Flávio D. NEVES¹, Marcel S. PRUDENTE², Thiago A. P. N. CARNEIRO², João P. SILVA NETO³, Mário P. A. PENATTI⁴

1 - Professor Doutor - Área de oclusão, prótese fixa e materiais odontológicos - Universidade Federal de Uberlândia.

2 - Cirurgião Dentista - Área de oclusão, prótese fixa e materiais odontológicos - Universidade Federal de Uberlândia.

3 - Mestre em Odontologia.

4 - Professor Doutor; Escola Técnica de Saúde - Universidade Federal Uberlândia.

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar a microinfiltração bacteriana na interface entre implantes hexágono externo (HE) e pilares com diferentes tipos de parafusos. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram selecionados 20 implantes HE e respectivo pilar, divididos em 2 grupos em função do tipo de parafuso do pilar (n=10). **PT:** Parafuso de Titânio e **PDLC:** Parafuso de "Diamond Like Carbon" (DLC). Uma suspensão bacteriana de *Escherichia coli* ATCC 35218 foi preparada a uma densidade padrão de 0,5 McFarland para inoculação de 0,5 µL de suspensão no interior dos implantes. Todos os pilares foram apertados com torque de 32 N seguindo recomendações do fabricante. A microinfiltração foi avaliada pela análise da claridade da suspensão a cada 24 horas durante 14

dias. Ao final deste período a viabilidade da bactéria foi verificada. **RESULTADOS:** Durante o período de acompanhamento nenhuma das amostras apresentou microinfiltração bacteriana. Após 14 dias a viabilidade bacteriana foi comprovada. **CONCLUSÃO:** Considerando as limitações deste estudo, pode-se concluir que não foi observada a microinfiltração bacteriana na interface pilar/implante nos grupos avaliados e não foi possível estabelecer a influência de parafusos com diferentes superfícies nesta microinfiltração.

PALAVRAS-CHAVE: Implantes Dentários; Superfícies de Parafuso; Microinfiltração Bacteriológica; Interface Pilar/Implante.

INTRODUÇÃO

Com a utilização dos implantes dentários em reabilitações de espaços unitários, surgiram alguns problemas de origem mecânica e biológica. Problemas mecânicos como desaperto e ou fratura do parafuso, estão relacionados com a desadaptação da junção pilar/implante (P/I).¹⁻⁵ Essa desadaptação por sua vez pode potencializar micromovimentos promovendo o fluxo bacteriano nesta interface e desencadeando prejuízos biológicos tais como mucosites e/ou periimplantites.⁶⁻⁹

Os implantes hexágono externo (HE) possuem uma perda óssea previsível de aproximadamente 1,0 mm no primeiro ano em função e menos de 0,2 mm após o primeiro ano.¹⁰ Porém estas perdas ósseas podem ser exacerbadas com a alteração do equilíbrio biomecânico.

A estabilidade mecânica da junção e o grau de acúmulo do biofilme e do infiltrado bacteriológico, entre implante e componentes protéticos dependem de fatores variáveis como a precisão de assentamento dos componentes, torque e micromovimentos entre as partes conectadas durante a função.^{9,11-19} Estes fatores estimularam os fabricantes a desenvolverem parafusos de retenção que suportassem maiores valores de torque, alterações no tipo de material dos parafusos e maior precisão no encaixe dos componentes protéticos sobre o hexágono do implante.^{13,20-22}

Levando em consideração o tipo de material, o titânio tem

sido utilizado na odontologia e na implantodontia por ser quimicamente e eletricamente inerte, entretanto apresentam qualidades inferiores em termo de dureza, quando submetidos a carga mecânica gerando desgaste e possibilitando o acúmulo de placa. Para melhorar estas propriedades, a associação de um revestimento de Diamond Like Carbon (DLC) no topo de implantes hexágono externo submetidos a carga cíclica previniu o desgaste, aumentou a estabilidade da junção e permitiu o desaperto do parafuso sobre altos níveis de carga cíclica, em comparação aos implantes que não receberam este revestimento.²³ Esta camada de DLC possui baixo atrito friccional elevando os valores transmitidos de pré-carga no processo de apertamento do parafuso, mas podendo dificultar a manufatura e estabilidade desta pré-carga por facilitar o desaperto.²⁴

Os sistemas P/I que utilizam parafusos que suportam maiores torques exibem menor quantidade de micromovimentos sem comprometimento do sistema, em consequência dos maiores valores de pré-carga transmitidos pelo parafuso durante seu processo de apertamento. Fator que ocasiona em melhores adaptações^{21,25} e possivelmente menor fluxo bacteriano.^{11-13,22} Estudos *in vitro* e *in vivo*^{11,13,14,17-19,26,27} demonstraram a contaminação da porção interna de implantes osseointegráveis por bactérias. Considerando o biofilme bacteriano como um importante fator etiológico da periimplantite, a infiltração bacteriana poderá afetar a evolução do tratamento e interferir no sucesso em longo prazo dos implantes osseointegráveis.

A microinfiltração na interface P/I pode permitir a passagem de fluidos e bactérias, independente do sistema de implante.^{9,11,22} A incidência de cargas e o desapertamento do pilar protético podem aumentar a infiltração, enquanto a ótima adaptação dos componentes, mínimo micromovimento do pilar protético e ótimo planejamento protético e oclusal são fatores que podem prevenir ou minimizar a microinfiltração.¹²

Considerando-se que a desadaptação entre o implante e o pilar protético influencia os níveis da crista óssea, é possível que o tamanho da desadaptação e a subsequente penetração bacteriana na interface exerçam um importante efeito na saúde perimplantar, podendo trazer prejuízos estéticos originados pela perda da crista óssea, ausência de papila interdental e formação de espaços negros.^{5,6} Alguns dispositivos com o objetivo de vedar a interface foram testados na tentativa de impedir a infiltração bacteriana na interface P/I obtendo sucesso em algumas situações.^{10,26,27} Além disso, o aumento do torque e o uso de parafusos com altos torques em diversos experimentos demonstram promover melhor adaptação do pilar implante e menos infiltrações.^{12,17-19}

Diante dos diferentes parafusos encontrados no mercado atual, e a dúvida se parafusos que recebem maiores torques, transmitindo maiores valores de pré-carga e gerando possivelmente melhores adaptações como no caso dos recobertos com DLC em comparação com os sem recobrimento, trariam melhor selamento da interface P/I e reduziriam a microinfiltração. O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a microinfiltração bacteriana na interface P/I em pilares com parafusos de titânio e DLC.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionados 20 implantes cilíndricos HE (3,75 x 11 mm; NEODENT, Curitiba, Brasil) e respectivo pilar (Munhão universal; NEODENT), divididos em 2 grupos em função do tipo de parafuso do pilar (n=10). PT: Parafuso de Titânio e PDLC: Parafuso de "Diamond Like Carbon" (DLC). Uma suspensão bacteriana de *Escherichia coli* ATCC 35218 foi preparada em solução nutritiva de BHI (*Brain Heart infusion*, Biolife, Milano, Itália) e incubada por 24h a 37°C em estufa (BIOMATIC, Porto Alegre, Brasil) para avaliação de crescimento. Todo instrumental e equipamentos utilizados no experimento foram esterilizados em autoclave, a uma temperatura de 121°C sob pressão 1 atm durante período de 15 minutos.

A partir dessas condições, todos os materiais necessários para o ensaio foram levados à capela de fluxo laminar (VECO, Campinas, Brasil). Uma diluição da suspensão bacteriológica a uma densidade padrão de 0,5 McFarland (1×10^8 unidades formadoras de colônia/mL – UFC/mL), foi realizada e posteriormente levada a área de trabalho. Os materiais foram abertos e posicionados. Os tubos tipo eppendorfs foram preenchidos com 140 µL de BHI utilizando pipeta automática calibrada (20-200 µL, LABMATE+, HT-High Tech Laboratories, PZ HTL S.A, Warsaw, Polônia). Os implantes foram inseridos e fixados em base metálica que recebeu um *swab* para avaliação de sua esterilidade por meio do armazenamento em solução de BHI. A pipeta auto-

mática (0.1-20 µL, LABMATE+, HT-High Tech Laboratories, PZ HTL S.A, Warsaw, Polônia) encarregada da inoculação bacteriana foi fixada em dispositivo de inserção de sustentação com braço móvel de delineador protético (BIOART, São Carlos, Brazil.) (Fig. 1). A ponteira foi instalada e carregada com volume 0,5 µL de suspensão bacteriana, volume definido por estudo piloto.



Figura 1. Dispositivo para inoculação da suspensão bacteriana. a. haste de movimentação vertical; b. haste de movimentação horizontal; c. parafusos de controle das hastes.

Após esse procedimento, a parte interna do implante foi inoculada (Fig. 2), os pilares posteriormente abertos do seu invólucro e conectados cuidadosamente ao implante com auxílio de uma pinça estéril, apertados com 32 Ncm recomendado pelo fabricante com auxílio de uma chave hexagonal 1.2 mm e catraca torquímetro manual (NEODENT, Curitiba, Brasil) previamente calibrada de forma individualizada para cada amostra. Novamente, um *swab* foi friccionado na interface P/I para controle do extravasamento da suspensão bacteriana após o aperto dos pilares, com o objetivo de verificar um possível extravasamento de suspensão ocasionado pela conexão dos componentes protéticos. Após esse procedimento, as amostras foram imersas em solução de BHI estéril previamente distribuída nos tubos tipo eppendorf até o recobrimento da junção pela solução, para análise da contaminação externa. Os tubos tipo eppendorf e os tubos de ensaio que armazenavam os implantes e os *swabs*



Figura 2. Inoculação dos implantes.

respectivamente foram incubados em estufa a temperatura de 37°C controlada por 14 dias para avaliação do infiltrado bacteriológico na interface P/I. Os *swabs* de controle foram analisados durante as primeiras 24 horas pela avaliação da claridade da solução. A turbidez do caldo indicaria a contaminação bacteriana devido ao extravasamento da suspensão durante a inoculação e, portanto a amostra estaria excluída. Pelo mesmo método de avaliação a possível microinfiltração bacteriana foi verificada a cada 24 horas pelo exame da turbidez da solução determinada pelo escapamento das bactérias da região interna da conexão P/I.

Após decorridos os 14 dias de acompanhamento os implantes foram levados em condições de esterilidade do meio ao fluxo laminar, onde tiveram a junção reaberta e seus componentes imersos em tubos tipo eppendorf com nova solução de BHI estéril para verificação da viabilidade bacteriana. Este procedimento visa determinar se após 14 dias de ensaio as bactérias apresentavam viabilidade eliminando a ocorrência de falso negativo. Na ocorrência desta situação as amostras seriam excluídas.

RESULTADOS

Os tubos contendo os *swabs* foram analisados 24 horas após o experimento, nenhuma das amostras apresentou turbidez da suspensão, indicativo de que não houve extravasamento da suspensão bacteriana durante o procedimento de inoculação.

Durante o período de análise dos espécimes nenhuma das amostras de ambos os grupos apresentou indicativo de microinfiltração bacteriana. (Fig.3). E transcorridos os catorze dias de acompanhamento, a viabilidade bacteriana foi confirmada em todas as amostras analisadas de ambos os grupos, indicativo de que as bactérias continuavam viáveis no interior dos implantes excluindo a possibilidade de resultado falso negativo.

DISCUSSÃO

Na avaliação da microinfiltração na interface P/I após o período de acompanhamento, nenhum dos grupos apresentou in-

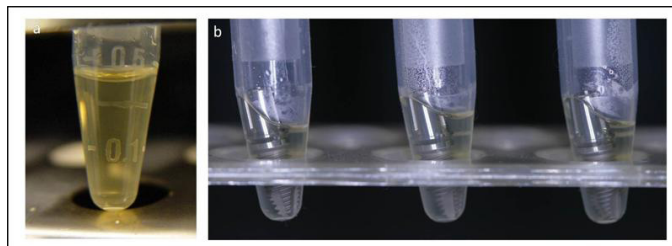


Figura 3. Acompanhamento da microinfiltração após 14 dias. Nenhuma amostra apresentou turbidez da suspensão. a. Controle negativo; b. amostras com resultado negativo.

filtração bacteriana e, portanto o torque de 32 Ncm preveniu a presença infiltrado bacteriano. Este achado corrobora com estudo anterior que reportou a possível influência de maiores níveis de torque na diminuição dos valores de infiltrado bacteriano.⁹ Além disso, este resultado demonstrou que mesmo junções do tipo hexagonal externa não apresentam níveis significativos de infiltração bacteriana na interface P/I em condições estáticas como anteriormente se pensava.^{11,12} O que foi demonstrado em estudos mais recentes com a utilização até de pilares calcináveis de adaptações piores quando comparados a pilares usinados.¹⁶⁻¹⁹

Baseado na ausência de microinfiltração bacteriana nos grupos avaliados, não houve influência do recobrimento da superfície do parafuso de titânio pelo revestimento de DLC. Apesar de estudos demonstrarem a maior estabilidade mecânica proporcionada a partir da utilização destes parafusos devido a maior transferência de pré-carga no processo de apertamento. Este característica possivelmente pode ser mais determinante em condições de aplicação de carregamento onde micromovimentos são gerados e a estabilidade da interface é mais exigida.

Segundo estudos clínicos de acompanhamentos longitudinais a perda óssea inicial ocorre no primeiro ano em função. O carregamento mecânico ao qual o sistema é submetido pode gerar desconfortos influenciando no grau de infiltração da interface e potencializando prejuízos aos tecidos. Este experimento representou condições estáticas e possivelmente caso fosse realizado a aplicação de carregamento mecânico aos corpos de prova o tipo de parafuso poderia causar influência nos níveis de microinfiltração.¹⁵

A sistematização e padronização dos ensaios microbiológicos avaliando a microinfiltração bacteriana na interface P/I são de fundamental importância, e por vezes têm sido negligenciados gerando grande variabilidade de resultados e dificuldade de análise e comparação de sistemas. Pensando em minimizar essas dificuldades intrínsecas ao tipo de ensaio, a inoculação na parte interna dos implantes foi realizada com auxílio de um dispositivo de fixação da pipeta (Fig. 1 e 2).

O nível de suspensão bacteriana no interior dos implantes pode dificultar a motilidade bacteriana na interface. Portanto o volume utilizado no ensaio foi de 0,5 µL, determinado por estudo piloto que demonstrou ser esse o volume mais próximo da capacidade máxima para este tipo de sistema. A bactéria utilizada para este experimento *in vitro* foi a *E. coli*, bactéria anaeróbia facultativa, em forma de bacilo, de 1,1 a 1,5 µm de diâmetro e 2 a 6 µm de comprimento, com grande capacidade de motilida-

de^{11,15} e sobrevivência em meios adversos, fato que lhe classifica como uma bactéria promíscua. Estas características garantem a possibilidade da bactéria ultrapassar a microfenda observada na interface P/I reportada em torno de 1 a 49 μm ¹¹ e de sua sobrevivência em ambientes adversos como o interior dos implantes.

A ausência de infiltração poderia sugerir também que a pequena quantidade de caldo nutritivo disponível para as bactérias fosse insuficiente para a sua sobrevivência, levando-as a morte. Por este motivo, após catorze dias de acompanhamento os implantes foram reabertos e constatou-se em todas as amostras o crescimento microbiológico após 24 horas, indicando que a bactéria inoculada internamente, nos implantes, estava viável, procedimento não realizado em estudos anteriores e que infelizmente abre espaço para questionamentos que indicam a não movimentação bacteriana na interface.¹³

O carregamento mecânico sobre os implantes simulam as condições de esforço mastigatório que o sistema prótese/implante está submetido na cavidade bucal e isto possivelmente influencia na microinfiltração da interface. Este carregamento mecânico não foi empregado neste experimento pelo fato de as metodologias utilizadas possivelmente não estarem adequadas a trazer resultados confiáveis, devido interferências do operador. Caso fosse possível realizar este experimento sobre condições dinâmicas, poderia ocorrer diferença de microinfiltração entre o grupo PT e PDLC.

Entretanto estudos posteriores devem ser realizados após carregamento cíclico dos implantes para verificar alterações na microinfiltração da interface P/I e deste modo observar diferenças entre os diversos tipos e superfícies de parafusos.

CONCLUSÃO

Frente às limitações deste estudo, conclui-se que não houve diferença entre parafusos de retenção do pilar de titânio e de titânio recobertos por DLC quando avaliada a microinfiltração bacteriana na interface P/I, não sendo esta observada em nenhuma das amostras analisadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a empresa Neodent® Implante Osseointegrável pelo fornecimento dos componentes para esta pesquisa. E ao Laboratório de Microbiologia da Escola Técnica de Saúde da Universidade Federal de Uberlândia – ESTES/UFU.

REFERÊNCIAS

01. Rangert B, Jemt T, Jorneus L. Forces and moments on Brånemark implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1989;4(3):241-7.
02. Renouard F, Rangert B. Biomechanical risk factors. IN _____, Risk Factors in Implant Dentistry – Simplified Clinical Analysis for Predictable treatment. Carol Stream, Quintessence Books. 1999. Cap 3, p. 55.
03. Adell R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. *Int J Oral Surg.* 1981;10(6):387-416.
04. Weinberg LA. Reduction of implant loading with therapeutic

- biomechanics. *Implant Dent.* 1998;7(4):277-85.
05. Weinberg LA. The biomechanics of force distribution in implant-supported prostheses. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993;8(1):19-31.
06. Brogгинi N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, et al. Persistent Acute Inflammation at the Implant-Abutment Interface. *J Dent Res* 2003;82(3):232-7.
07. Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, et al. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res* 2006;85(5):473-8.
08. Quirynen M, Van Steenberghe D. Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. *Clin Oral Implants Res.* 1993;4(3):158-61.
09. Quirynen M, Bollen CML, Eyssen H, Van Steenberghe D. Microbial penetration along the implant components of the Brånemark system®. An in vitro study. *Clin Oral Impl Res* 1994;5:239-44.
10. Albrektsson T, Zarb G., Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1(1):11-25.
11. Jansen, VK, Conrads, G, Richter, EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12(4):527-40.
12. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(1):94-100.
13. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20(5):732-7.
14. Scarano A, Assenza B, Piattelli M, Iezzi G, Leghissa GC, Quaranta A, Tortora P, Piattelli A. A 16-year study of the microgap between 272 human titanium implants and their abutments. *J Oral Implantol* 2005;31(6):269-275.
15. Steinebrunner L, Wolfart S, Bössmann K, Kern M. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(6):875-81.
16. do Nascimento C, Barbosa RE, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, Albuquerque RF Jr. Bacterial leakage along the implant-abutment interface of premachined or cast components. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(2):177-80.
17. Barbosa RE, do Nascimento C, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque RF Jr. Bacterial culture and DNA Checkerboard for the detection of internal contamination in dental implants. *J Prosthodont.* 2009;18(5):376-381.
18. do Nascimento C, Pedrazzi V, Miani PK, Moreira LD, de Albuquerque Junior RF. Influence of repeated screw tightening on bacterial leakage along the implant-abutment interface. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(12):1394-7.
19. do Nascimento C, Barbosa RE, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque Junior RF. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to evaluate the internal contamination of dental implants and comparison of bacterial leakage with cast or premachined abutments. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(6):571-577.
20. Byrne D, Houston F, Cleary R, Claffey N. The fit of cast and premachined implant abutments. *J Prosthet Dent.* 1998;80(2):184-192.
21. Byrne D, Jacobs S, O'Connell B, Houston F, Claffey N. Preloads generated with repeated tightening in three types of screws used in dental implant assemblies. *J Prosthodont.* 2006;15(3):164-71.
22. Harder S, Dimaczek B, Açil Y, Terheyden H, Freitag-Wolf S, Kern M. Molecular leakage at implant-abutment connection-in vitro investigation of tightness of internal conical implant-abutment connections against endotoxin penetration. *Clin Oral Investig.* 2009;14(4):427-32.
23. Kim SK, Lee JB, Koab JY, Heo SJ, Lee KR, Cho LR, Lee SS. An abutment screw loosening study of a Diamond Like Carbon-coated CP titanium implant. *J Oral Rehabil.* 2005;5:346-50.
24. Elias CN, Figueira DC; Rios PR. Influence of coating material on the

- loosing of dental implant abutment screw joints. *Materials Science Engineering C*. 2006; 26:1361-6.
25. Binon PP. Evaluation of three slip fit hexagonal implants. *Implant Dent*. 1996;5(4):235-48.
26. Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 2001;72(10):1372-83.
27. Besimo CE, Guindy JS, Lewettag D, Meyer J. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(5):654-6.
28. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, et al. Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *J Periodontol* 2001;72:1146-50.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the bacterial microleakage at the interface between external hexagon implant (HE) and abutments with different types of screws. 20 implants and respective abutments had been selected, divided into 2 groups, depending on the abutment screw (n=10): Titanium screw (PT) and "Diamond Like Carbon" DLC Screw (PDLC). *Escherichia coli* bacterial suspension ATCC 35218 was prepared at a density 0,5 McFarland standard for suspension inoculation of 0.5 mL in the inner of the implants. All abutments were tightened with 32 N following the manufacturer's recommendations. Microleakage was assessed the clarity of the suspension every 24 hours for 14 days. To the end of this period the viability of the bacterium was verified. At the time of accompaniment none of the samples

presented bacterial microleakage. Microleakage was assessed the clarity of the suspension every 24 hours for 14 days. Thereafter the viability of bacteria was found. During the monitoring period none of the samples showed bacterial microleakage. After 14 days the bacterial viability was confirmed. Considering the limitations of this study, it can conclude that the Bacterial leakage was not observed in the abutment/implant interface in the evaluated groups and was unable to establish the influence of screws with different surfaces in this microleakage.

KEYWORDS: Dental implants; Screw Surface; Microleakage; Implant/abutment interface.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dr. Flávio Domingues das Neves
Área de Oclusão, Prótese Fixa e Materiais Dentários,
Universidade Federal de Uberlândia
Av. Pará, nº 1720, Bloco 2B-01, Bairro Umuarama
CEP:38400-970, Uberlândia - Minas Gerais
E-mail: neves@triang.com.br