



BR0645216



BR0645216



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO LASER DE
BAIXA POTÊNCIA ASSOCIADO A FOTOSSENSIBILIZADOR
E TERAPIA CONVENCIONAL EM PERIIMPLANTITES
INDUZIDAS EM MANDÍBULAS DE CÃES**

RICARDO RADA AHMAD HAYEK

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientadora:
Dra. Martha Simões Ribeiro

**São Paulo
2004**

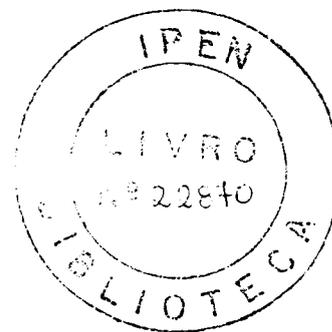
314-089.843
7e

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA
ASSOCIADO A FOTOSSENSIBILIZADOR E TERAPIA CONVENCIONAL EM
PERIIMPLANTITES INDUZIDAS EM MANDÍBULAS DE CÃES**

RICARDO RADA AHMAD HAYEK



**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para a obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Materiais.**

Orientadora:

Dra. Martha Simões Ribeiro

SÃO PAULO

2004

*À Adriana, ao Tarik ,
meus amores, minha inspiração.*

*Aos meus pais, Ahmad Hassan Hayek e Lamia Reda El Hayek,
que sempre apoiaram e tiveram orgulho dos
caminhos que a vida me destinou.*

AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Martha Simões Ribeiro**, minha orientadora e grande amiga, pela orientação, amizade, discussões e constante presença em todas as fases deste trabalho;

Ao **Prof. Dr. Marco Antônio Gioso**, por sua colaboração preciosa para a realização e o engrandecimento deste trabalho, pela honra de sua amizade e pela pessoa admirável que é;

Ao **Cap. Dr. Carlos Sobrinho**, por sua colaboração, presteza e dedicação ao trabalho e na manutenção dos animais, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho;

Ao **Prof. Dr. Ney Soares de Araújo**, Diretor da FOU SP, por ter aberto as portas do laboratório de Patologia para utilização do microscópio eletrônico de varredura, pelos seus ensinamentos e sugestões sempre brilhantes;

À **Profa. Dra. Denise Maria Zzell**, pelas importantes sugestões no decorrer do trabalho;

Ao **Prof. Dr. Pedro Tortamano Neto**, que muito contribuiu para minha formação, pelas inúmeras oportunidades dadas à minha carreira, pela paciência, pelas sugestões, pela confiança e principalmente pela amizade compartilhada ao longo de todos esses anos;

Ao **Prof. Dr. Francisco Fernando Todescan**, que muito contribuiu para minha formação, pela amizade, pela paciência e pela confiança;

Aos **Drs. Daniel Ferro, Marco Antônio Leon** e estagiários do LOC, em especial ao **Jonathan**, por terem contribuído de maneira marcante com a anestesia, manutenção e presteza que tiveram com os animais;

Ao meu grande amigo **Dr. Aécio Yamada Júnior**, que sempre esteve presente em todas as fases do trabalho contribuindo por algumas das belas figuras que constam neste trabalho, com suas fotos e filmagens, com suas sugestões e colaborações;

Ao meu grande amigo **Dr. Luís Otávio Camargo**, que sempre me estimulou a seguir em frente, que me ensinou com sua maneira peculiar, com sua humildade e capacidade profissional;

Ao meu grande amigo **Dr. Reinaldo Missaka**, que muito contribuiu na minha formação com sua imensa capacidade profissional;

Aos meus amigos do Laboratório de Aplicações de Lasers em Ciências da Vida: **Adriana, Aguinaldo, Andréa, Cassius, Cláudia, Daniela, Karin, Luciano, Patrícia, Renata, Sandro, Sílvia e Walter**, pelo carinho, companheirismo e constantes "quebra-galhos";

Aos meus amigos e colegas do curso de implantes da FUNDECTO-USP, **Dr. Atlas, Dr. Lupi, Dr. Sérgio, Dr. Lúcio, Dr. Hélio, Dr. Luciano, Dra. Patrícia, Dra. Patrícia Spada**, pelo companheirismo e pela amizade;

Aos amigos **Dr. José Carlos de Andrade Júnior e Dra. Adriana Ushida**, pelas contribuições em algumas fases do trabalho e pela amizade;

Aos meus irmãos **Mariam, Mohamed, Ali e Kaled**, por todo carinho, companheirismo e cumplicidade, compartilhados durante todos esses anos;

Ao **Wilson**, por ter me ajudado com a análise dos resultados da microscopia eletrônica de varredura;

Ao **Prof. Dr. Nilson Dias Vieira Jr.**, gerente do Centro de Lasers e Aplicações, pelo apoio;

Aos **Prof. Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira e Profa. Dra. Sonia Licia Baldocchi** pelas importantes contribuições;

Às secretárias da Pós-Graduação do IPEN, **Aninha, Verinha e Ilze**, e do CLA, **Elsa**, pelas constantes informações;

Ao **IPEN-CNEN/SP**, por toda a infra-estrutura utilizada na execução deste trabalho;

À **Conexão**, por ter doado todos os implantes e componentes deste trabalho;

À **Dentoflex**, por ter doado as brocas trefinas para a remoção dos implantes;

À **Straumann**, pela sua contribuição cedendo o contra-ângulo redutor;

Ao **Periolab**, pelas coletas microbiológicas, pela paciência e dedicação;

E por último, mas acima de tudo, agradeço a **DEUS**, porque apesar de nem sempre compreendermos os seus desígnios, acreditamos em toda a sua sabedoria...

A todos vocês, muito obrigado!

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ASSOCIADO A FOTOSSENSIBILIZADOR E TERAPIA CONVENCIONAL EM PERIIMPLANTITES INDUZIDAS EM MANDÍBULAS DE CÃES

Ricardo Rada Ahmad Hayek

RESUMO

Progressivas perdas ósseas periimplantares acompanhadas de uma inflamação dos tecidos moles é definida como periimplantite. O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos do laser de baixa potência associado a fotossensibilizador com a técnica convencional na redução bacteriana em periimplantite induzida em mandíbulas de cães. Dezessete terceiros pré-molares inferiores de cães da raça Labrador foram extraídos e, imediatamente, instalou-se os implantes do tipo submerso. Após o período de osseointegração, a periimplantite foi induzida. Após 4 meses, removeu-se os anéis de elástico e esperou-se um período semelhante para indução natural da placa bacteriana. Com a doença instalada, iniciou-se o tratamento. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos. No grupo convencional, os implantes foram tratados com as técnicas convencionais de cirurgia a retalho para raspagens e irrigação. No grupo laser, foi realizada somente raspagem subgingival seguida da terapia fotodinâmica. Injetou-se na bolsa periimplantar uma pasta a base de azuleno e utilizou-se o laser de baixa potência ($\lambda = 660 \text{ nm}$, $P = 30 \text{ mW}$, $E = 5,4 \text{ J}$ e $\Delta t = 3 \text{ min}$). As coletas microbiológicas foram realizadas antes e imediatamente após o tratamento. Um implante foi removido antes do tratamento e observado ao microscópio eletrônico de varredura para verificação do padrão de contaminação da superfície do implante. Os resultados deste trabalho mostraram que *Prevotella sp.*, *Fusobacterium* e *S. beta-haemolyticus* foram significativamente reduzidas para os grupos laser e convencional.

COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF PHOTODYNAMIC THERAPY AND CONVENTIONAL THERAPY ON LIGATURE INDUCED PERI-IMPLANTITIS IN DOGS

Ricardo Rada Ahmad Hayek

ABSTRACT

Progressive peri-implantar bone losses, which are accompanied by inflammatory process in the soft tissues is referred to as peri-implantitis. The aim of this study was to compare the effects of lethal photosensitization with the conventional technique on bacterial reduction in ligature induced peri-implantitis in dogs. Seventeen third pre-molars of Labrador dogs were extracted and, immediately after, the implants were submerged. After osseointegration, peri-implantitis was induced. After 4 months, ligature were removed and the same period was waited for natural induction of bacterial plaque. The dogs were randomly divided into two groups. In the conventional group, they were treated with the conventional techniques of mucoperiosteal flaps for scaling the implant surface and irrigate it. In the laser group, only mucoperiosteal scaling was carried out before photodynamic therapy. On the peri-implantar pocket an azulene paste was injected and a GaAlAs low-power laser ($\lambda = 660$ nm, $P = 30$ mW, $E = 5,4$ J and $\Delta t = 3$ min.) Microbiological samples were obtained before and immediately after treatment. One implant was removed to be analyzed by scan electron microscopy to verify contamination on the implant surface. The results of this study showed that *Prevotella sp.*, *Fusobacterium* e *S. Beta-haemolyticus* were significantly reduced for the conventional and laser groups.

SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	6
3. REVISÃO DA LITERATURA	
3.1. Osseointegração.....	7
3.2. Periimplantite e Patologia dos Tecidos Moles Periimplantares.....	9
3.3. Etiologia.....	12
3.4. Flora Microbiana do Sulco Periimplantar e Periodontal.....	15
3.5. Tratamento da periimplantite.....	17
3.6. Terapia Fotodinâmica.....	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5. RESULTADOS.....	26
6. DISCUSSÃO.....	32
CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1 - Introdução

O sucesso clínico e histológico dos implantes osseointegrados demonstrado originalmente por Branemark, levou a comunidade odontológica mundial à ampla aceitação e utilização desta técnica, que se tornou um componente importante na atual Odontologia restauradora^{1,2,3}. Em consequência, tornou-se possível a confecção de próteses sobre implantes.

A osseointegração é definida como uma "conexão estrutural direta e funcional entre o osso vivo e a superfície de um implante suportando carga"¹.

Adell e colaboradores pesquisaram a viabilidade do uso de vários tipos de próteses em pacientes totalmente desdentados. Entre os diversos planejamentos protéticos, pode-se citar as sobredentaduras, as próteses fixas parciais e as próteses unitárias⁴.

Apesar do sucesso destas próteses, falhas ocorriam com certa freqüência. Newman e Fleming estudaram a interface entre implante e tecido mole, concluindo que os fracassos de implantes estavam relacionados aos sinais clínicos observados em mucosas comprometidas por infecção^{5,6}. Um dos problemas críticos que afetam a durabilidade do implante dentário é a área na qual o epitélio gengival faz interface com o pilar transmucoso do implante⁷.

Depois que ocorre a osseointegração e o implante é colocado em função, o índice de fracassos e o número geral de complicações são notadamente baixos, a perda progressiva do osso é mínima e a longevidade do implante é grande. Em alguns casos, entretanto, ocorrem inflamações do tecido mole do periimplante e, em consequência, podem ocorrer periimplantite, hiperplasia gengival, fístula, sangramento na sondagem e conseqüente perda de osso. Acredita-se que os fracassos dos implantes após a cicatrização primária e a osseointegração devem-se, principalmente, à infecção e/ou trauma oclusal^{5,8,9,10}.

Alterações patológicas nos tecidos que estão em contato com o implante dental recebem a definição de patologia periimplantar. O desenvolvimento de um processo inflamatório que é limitado aos tecidos moles da região periimplantar pode ser definido como mucosite. Progressivas perdas ósseas periimplantares

acompanhadas de uma inflamação dos tecidos moles é definida como periimplantite*. Durante a fase inicial da doença, segundo Lindhe¹¹, a região apical do implante permanece perfeitamente osseointegrada. A avaliação clínica fornece condições de diagnóstico da presença ou não de doenças e compreende a avaliação da flora microbiana gengival, da profundidade de bolsa, do sangramento na sondagem, da perda de inserção gengival, do índice de gengiva e placa e da perda óssea para estabelecer a saúde ou doença dos tecidos periimplantares.

Técnicas avançadas de regeneração tecidual guiada com membranas, assim como outras técnicas cirúrgicas com reposicionamento de retalhos, são relatadas como uma possibilidade de tratamento.

A tecnologia laser apresenta-se, atualmente, como uma alternativa para o diagnóstico e tratamento tanto na Medicina como na Odontologia. Muitos experimentos vêm buscando inserir esta tecnologia no dia a dia da prática clínica, com o objetivo, não de substituir, mas de aprimorar as técnicas convencionais já existentes. As propriedades dos lasers que permitem o seu uso na Odontologia incluem a capacidade de sua energia em vaporizar o tecido pulpar ou os tecidos necróticos (smear layer), favorecer maior limpeza das paredes dentinárias, fazer preparos cavitários, alterar a permeabilidade da dentina, promover a desinfecção do canal radicular, etc.

Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que a radiação laser é um excelente método de redução microbiana. Pode-se encontrar na literatura estudos em que a redução bacteriana, na maioria dos casos, ultrapassa os 99%¹². Os lasers comumente utilizados (Er:YAG, Nd:YAG, Ho:YAG e diodo) são lasers de alta potência e, por isso, o risco de aumento de temperatura quando usado de forma não adequada não pode ser negligenciado¹³. Além disso, lasers de alta potência ainda têm um custo relativamente alto, o que os torna, atualmente, inviável para a prática clínica.

Sabe-se hoje em dia que a exposição de um corpo ou tecido à radiação laser de baixa potência, com uma densidade de potência de alguns mW/cm², exclui a possibilidade da manifestação dos efeitos térmicos. Esta terapia com lasers emitindo baixas intensidades é responsável por efeitos não-térmicos (efeitos fotofísicos,

* Federação Européia de Periodontologia, Ittingen, 1993.

fotoquímicos e/ou fotobiológicos), constituindo-se num tratamento a laser no qual a intensidade utilizada é baixa o bastante para que a temperatura do tecido tratado não ultrapasse 37°C. A radiação, neste caso, é usada para tratamento de hiperbilirrubinemia e psoríase, para o tratamento fotodinâmico de tumores, analgesia e para acelerar o processo de cicatrização de feridas, queimaduras, úlceras e processos inflamatórios de origem variada. Os principais lasers utilizados nos processos não-térmicos são aqueles de emissão vermelha ou infravermelha ($\lambda = 600\text{nm} - 1300\text{nm}$), já que tais comprimentos de onda possuem maior penetração no tecido^{14,15}.

No caso particular da terapia fotodinâmica, lasers em baixa intensidade têm sido utilizados associados a fotossensibilizadores, no tratamento de câncer, por sua capacidade de destruição seletiva de tumores, obtendo-se bons resultados¹⁶.

As primeiras experiências com a terapia fotodinâmica datam de aproximadamente 100 anos, relatadas por Raab¹⁷, que observou que a exposição do corante acridina e luz podia ser letal a paramécios, o protozoário causador da malária. Ele postulou que este efeito era causado pela transferência da energia da luz para a substância química, similar ao que ocorre nas plantas pela absorção da luz pela clorofila. Nem a luz ou o corante sozinhos tiveram qualquer efeito aparente sobre os paramécios, mas juntos eles foram altamente citotóxicos.

Desde aquela época, vários exemplos do efeito fotodinâmico foram observados para uma variedade de fotossensibilizadores, ambos *in vitro* e *in vivo*. As pesquisas tomaram então um rumo diferente, o que levou a concentração de estudos na área de diagnóstico e combate ao câncer e ao desenvolvimento de novos fotossensibilizantes e novas fontes de luz. Em 1972, Lancet e Diamond tentaram destruir células tumorais com a associação de hematoporfirina, atualmente um dos mais aceitos fotossensibilizantes, com exposição por raios X, entretanto, os autores não obtiveram sucesso, demonstrando que a fonte de luz (ou radiação eletromagnética) deve ser ressonante com a absorção do corante. As primeiras fontes de luz utilizavam lâmpadas convencionais, com luz não coerente e policromática, com um forte componente térmico associado. Com o desenvolvimento dos lasers, esta fonte de luz se mostrou muito mais eficiente que lâmpadas comuns para uso em terapia fotodinâmica. Os lasers produzem luz monocromática, com um

comprimento de luz bem conhecido o que os torna altamente seletivo aos corantes. A dose de radiação pode ser calculada, a área de radiação pode ser controlada, focalizando o tratamento, a radiação pode ser transmitida por fibra óptica e estas fibras podem receber adaptações para melhor acessar a lesão alvo, como microlentes e difusores¹⁸.

Quando a utilização de lasers em baixas intensidades busca um efeito antimicrobiano, tem-se a quimioterapia fotodinâmica antimicrobiana (QFA). Esta técnica mostra-se efetiva, *in vitro*, contra bactérias (incluindo cepas resistentes a drogas)^{19,20}. Como mencionado anteriormente, estas terapias fazem uso de fotossensibilizadores exógenos. A morte microbiana ocorre quando o corante absorve a energia do laser e isso o leva a produzir substâncias altamente reativas, que por sua vez causam danos ao microorganismo ou célula alvo.

O propósito deste trabalho é investigar os efeitos da radiação laser em baixa intensidade no processo de periimplantites instaladas em mandíbula de cães, utilizando a terapia fotodinâmica com um novo fotossensibilizador. A periimplantite é considerada como sendo um processo multifatorial que envolve a contaminação bacteriana nas superfícies de implantes.

Se a periimplantite é classe I, caracterizada por reabsorção óssea horizontal, a terapia convencional consiste num tratamento periodontal conservativo para a mucosite (raspagem com curetas) e, se nenhuma melhora for notada, realiza-se a redução cirúrgica das bolsas periimplantares. Os sítios são abertos cirurgicamente, e a superfície do implante é limpa e desintoxicada²¹. Nota-se, portanto, que algumas vezes a terapia convencional é invasiva, trazendo desconforto para o paciente no pós-operatório, necessitando administração sistêmica de antibióticos por 7 dias. Além disso, se a redução microbiana não for suficiente, recidivas podem ocorrer, necessitando novas cirurgias a retalho. Nesse caso, seria pouco provável uma possível "re-osseointegração".

Estudos têm demonstrado que a utilização de corantes azuis, principalmente o azul de toluidina (toluidine blue -TBO) e o azul de metileno (metilene blue -MB), associado ao laser de He-Ne com comprimento de onda de 632,8 nm, apresentam os melhores resultados na redução microbiana de diversas culturas de bactérias e fungos²² e *in vivo*^{23,24}. Entretanto, a toxicidade destes corantes é elevada, tornando

seu uso viável apenas em concentrações pequenas, o que diminui sua absorção de luz e, conseqüentemente, sua eficácia.

O corante azuleno, por exemplo, é um corante natural, extraído da camomila (*Chamomilla recutita*), ou do guáiacó, utilizado em xampus e loções em cosmética. Em recente trabalho realizado no IPEN(Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares), mostrou-se que o azuleno foi significativamente mais eficaz em matar *E. faecalis in vitro*, quando comparado ao azul de metileno e o azul de toluidina²⁵.

2 - Objetivos

- Avaliar a redução bacteriana através de um método não-invasivo, a terapia fotodinâmica e raspagem com curetas, em periimplantites induzidas em mandíbulas de cães;
- Comparar a redução bacteriana alcançada pela terapia fotodinâmica em relação ao método de tratamento convencional de cirurgia a retalho e irrigação com clorexidina 0,12%.

3 - Revisão da Literatura

3.1 OSSEOINTEGRAÇÃO

Segundo Branemark¹, osseointegração é a conexão direta estrutural e funcional entre o osso vivo ordenado e a superfície de um implante submetido a carga funcional. Os conceitos básicos evoluíram de uma série de experiências que começaram no início dos anos 60, direcionadas ao estudo da reação da medula óssea frente a vários traumas e procedimentos clínicos. O osso é um tecido extremamente dinâmico, responsável por diversas funções vitais do corpo. No início dos anos 60, P.I. Branemark e seus colegas começaram estudando osso com microscopia ótica "in vivo". Para isto, eles fabricaram uma câmara metálica e a implantaram na tíbia de um coelho. O metal escolhido foi o titânio puro. Os estudos iniciais se concentraram sobre as relações funcionais entre a medula óssea e os tecidos ósseos durante a regeneração dos defeitos ósseos traumaticamente induzidos.

Quando os pesquisadores tentaram remover a câmara de titânio do animal de experimentação, foi feita uma importante observação: a câmara ótica metálica havia se incorporado ao osso e o tecido ósseo estava intimamente aderente às minúsculas irregularidades da superfície do titânio. Portanto através de três décadas de pesquisa e desenvolvimento, incluindo estudos laboratoriais e clínicos, Branemark e seus colegas propuseram um sistema de implante que pudesse substituir os dentes naturais perdidos por análogos de raiz dental histo-integrados. A osseointegração revolucionou a maneira pela qual os pacientes edentados e parcialmente edentados são tratados e, com o passar do tempo, tem exercido um importante papel em praticamente todos os aspectos da medicina dental.

A partir da década de 80, surgiram os implantes osseointegrados. Os implantes denominados "convencionais" podem ser divididos em três grupos:

1. Implantes Subperiosteais
2. Implantes Laminados
3. Implantes Endósseos

Dentre estes grupos, os implantes endósseos obtiveram maior índice de sucesso devido à capacidade de osseointegração. Estes implantes apresentam a forma de parafusos ou cilindros, em diversas configurações, materiais e técnicas. Possuem forma de raízes dentárias, sendo produzidos em metais diversos, especialmente titânio e tântalo²⁶.

Devido ao grande número de implantes existentes no mercado, em 1978 foram estabelecidas as primeiras recomendações de critérios de sucesso²⁷:

1. Mobilidade menor que 1 mm em qualquer direção;
2. Radiolucidez graduada, mas sem critério definido;
3. Perda óssea inferior a 1/3 do comprimento vertical do implante;
4. Inflamação gengival passível de tratamento; ausência de sintomatologia e infecção, ausência de anestesia, parestesia ou violação do canal mandibular, seio maxilar ou assoalho da fossa nasal;
5. Estar em função de acordo com estes critérios em 75% dos casos por um período mínimo de 5 anos.

Em 1992, Worthington e Branemark³ complementaram tais critérios, elaborando novos quesitos:

1. Um implante individual, não conectado à prótese, é imóvel quando testado clinicamente;
2. O exame radiográfico não apresenta qualquer evidência de radiolucidez periimplantar;
3. A perda óssea vertical deve ser menor que 0.2 mm anualmente, após o primeiro ano de utilização funcional do implante²⁸;
4. Ausência de sinais e sintomas persistentes e/ou irreversíveis, tais como: dor, infecção, neuropatias, parestesia ou violação do canal mandibular;
5. Dentro desse contexto, taxa de sucesso mínima de 85% aos 5 anos e 80% aos 10 anos.

Smith e Zarb²⁹ propuseram uma modificação de tais critérios, acrescentando que os implantes poderiam ser considerados de sucesso se, além dos demais critérios, também estivessem conectados à prótese.

De todos os critérios de sucesso propostos, os principais parecem ser a mobilidade e a radiolucidez periimplantar. A mobilidade dos implantes é indicativa

da ausência de osseointegração. Entretanto, muitas vezes alterações ósseas de rápida progressão podem não resultar em mobilidade clínica do implante, devido à permanência de pequenas superfícies de contato osso-implante, sendo essa mobilidade mais útil na detecção de alterações mais avançadas e tardias, segundo Lancy²⁷.

3.2 PERIIMPLANTITE E PATOLOGIA DOS TECIDOS MOLES PERI-IMPLANTARES

As causas mais freqüentes de fracassos dos implantes após a cicatrização primária e a osseointegração são a infecção e/ou o trauma oclusal, levando à periimplantite^{9,10}.

Spiekermann³⁰ define as alterações patológicas nos tecidos que estão em contato com o implante dental como doenças periimplantares. O desenvolvimento do processo inflamatório que está limitado aos tecidos moles periimplantares é definido como mucosite periimplantar. A perda óssea progressiva, acompanhada de uma inflamação dos tecidos moles, é definida como periimplantite. Todo o processo inflamatório periimplantar inicia-se nos tecidos moles e no local onde o implante penetra na mucosa. A infecção e a resposta do hospedeiro a este processo, se não diagnosticados, podem se infiltrar para dentro do leito ósseo do implante (periimplantite).

Durante a fase inicial da doença, segundo Lindhe¹¹, a região apical do implante permanece perfeitamente osseointegrada. A avaliação clínica fornece condições de diagnóstico da presença ou não de doenças e compreende a avaliação da microbiota gengival, da profundidade de bolsa, do sangramento na sondagem, da perda de inserção gengival, do índice de gengiva e placa e da perda óssea para estabelecer a saúde ou doença dos tecidos periimplantares.

Os índices periodontais utilizados para análise dos implantes osseointegrados seguem os mesmos princípios propostos para a doença periodontal. As sondagens usualmente são realizadas nos sítios distal, central e mesial da face vestibular, e central da face lingual da cabeça do implante até a margem gengival, e do topo da cabeça do parafuso ao fundo da bolsa, referindo-se às medidas de profundidade de

bolsa e nível de inserção. Os índices de inflamação gengival e placa utilizados são aqueles preconizados por Løe, Silness e Silness, Løe^{31,32}.

Para Adell e colaboradores⁴, a placa pode não ser a única causadora da gengivite pois, mesmo que clinicamente sadia, uma mucosa flácida que apresente mobilidade pode causar danos aos tecidos periimplantares. Assim, os pilares dos implantes devem estar localizados em gengiva inserida sempre que possível. Quando esta não é suficiente, devem ser realizadas gengivoplastias. Profundidades de sulco de até 2,6mm se comparadas ao dente, podem ser consideradas normais quanto à saúde dos tecidos periimplantares.

A microbiota da região periimplantar, em pacientes desdentados com uma história de periodontite, é composta de bactéria, sempre associada com um periodonto saudável ou gengivite. A eliminação do meio subgengival pela extração de todos os dentes naturais provavelmente ocasiona o desaparecimento das duas maiores bactérias periodontais: *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*. Os tecidos de suporte podem ser mantidos num estado clínico de saúde estável após a colocação dos *abutments*. Ocasionalmente, podem ocorrer falhas, que ocasionam tecido de inflamação e formação de bolsas ao redor de implantes. Essas falhas devem-se a fatores como trauma cirúrgico, infecção bacteriana e sobrecarga prematura nas fixações. O tecido inflamatório muda ao redor dos implantes e tais mudanças são similares àquelas ocorridas na periodontite e na periimplantite³³.

Em trabalho realizado em 1992, O'Neal e colaboradores³⁴ relatam as necessidades biológicas para a integração implante-tecido, com um foco específico no papel de adesão de moléculas e citocinas (fatores de crescimento). A adesão molécula-citocina e sua interação com osteopontina são considerados fatores de cicatrização. Para otimizar o aumento da adesão celular e a integração na superfície alterada do implante, a periimplantite e seus métodos de descontaminação foram analisados. Ao microscópio, tecido ósseo foi freqüentemente encontrado em íntimo contato (100µm -900µm), mas não em contato direto com a superfície do implante. A realização de uma ótima interface pode reduzir falhas que estão relacionadas à fratura ou intensificação da reabsorção óssea e formação de tecido fibroso.

O termo citocina tem sido utilizado para polipeptídeos sintetizados agindo em células hematológicas para regularização do crescimento e diferenciação celular. Para a interface de um implante falho ser recuperada, é necessário que haja a provisão da superfície, que irá permitir o novo ligamento de células da interface implante-tecido. A chave para melhorar uma interface biológica entre implante e tecidos circundantes é a compreensão da resposta do hospedeiro a esses materiais³⁵.

Utilizando várias técnicas para colocação de diferentes tipos de implantes dentais, Silverstein e colaboradores³⁶ preconizam que a integração osso-implante ocorre quando uma técnica cirúrgica adequada é utilizada. A adaptação do tecido mole ao *abutment* do implante é a primeira linha de defesa para prevenir o desenvolvimento de periimplantite e subsequente perda óssea, pois existe um selamento de proteção ao redor dos implantes dentais. Uma interface implante-tecido mole firmemente adaptada com o acréscimo de tecido mole ao redor dos implantes dentários possibilita um selamento de proteção adequado. A manutenção do meio isento de placa é fundamental para a manutenção da saúde da interface implante-tecido mole.

Neste sentido, Kennedy e colaboradores³⁷ observaram que a habilidade do paciente em manter áreas marginais livres de placa é difícil quando o tecido gengival queratinizado está ausente ou pouco presente.

McKinney Jr. e colaboradores³⁸ constataram que existe uma diferença entre ligamento de tecido mole a dentes naturais e ligamento de tecido mole a implantes dentais. Os dentes possuem um aparato de ligação, constituído de epitélio juncional hemidesmossomal e tecido conjuntivo, ligado a cemento. Os autores encontraram estruturas parecidas com hemidesmossomos ao longo da superfície epitelial adjacente a implantes de cristal de safira.

Lindhe e colaboradores¹¹ postulam que se deve esperar maior progressão na inflamação periimplantar do que aquela esperada no caso de periodontite. Devido à falta de vasos sangüíneos, quando comparada ao suprimento sangüíneo do ligamento periodontal, a defesa local nas lesões do osso periimplantar é marcadamente reduzida. Essa forte redução no local de defesa pode explicar a alta incidência de *A. actinomycetemcomitans*. e *Bacteroides sp.* no tecido inflamado.

Segundo Newman e Fleming⁵, a sondagem da bolsa é um sistema de avaliação comumente aceito para acompanhar pacientes com periodontite, e é freqüentemente usada para avaliar implantes. A profundidade da bolsa em implantes saudáveis varia de 1,3mm a 3,8mm.

Wallace³⁹ relata que, em dentes naturais, a viscoelasticidade do ligamento periodontal serve para protegê-los de trauma e tem um papel no processo de cicatrização. Porém, o ligamento causa uma susceptibilidade para desenvolvimento da doença periodontal inflamatória. A maioria dos implantes osseointegrados não se beneficia da função protetora de um absorvente choque visco-elástico e, portanto, é mais susceptível à sobrecarga oclusal, que leva ao micro-trauma na interface osso-implante.

3.3 ETIOLOGIA

Até hoje os fatores etiológicos que desenvolvem a doença periimplantar são pouco conhecidos. Desta forma, não se sabe se pacientes com alta susceptibilidade à doença periodontal também apresentarão uma predisposição à doença inflamatória periimplantar⁴⁰. Dois fatores etiológicos primários são conhecidos como causadores de perda óssea marginal: infecção bacteriana e sobrecarga biomecânica (teoria da placa, teoria da carga)³⁰.

Alguns autores sugerem que a perda óssea no aspecto coronal dos implantes pode ser resultado de sobrecarga biomecânica, que promove microfaturas na interface osso-implante do sítio coronal e ocasiona perda de osseointegração nessa região, com migração do epitélio e tecido conjuntivo apicalmente.

Segundo Spiekermann³⁰, a velocidade e o grau de perda de contato osso-implante dependem da freqüência e magnitude da carga oclusal, bem como da invasão bacteriana. Similarmente a dentes naturais, a presença de sobrecarga, sozinha, não causa reabsorção progressiva do osso. Porém, com a presença de infecção marginal, passa a ser certamente um importante fator etiológico.

Lindquist e colaboradores⁴¹ reportaram uma correlação entre o comprimento dos implantes suportando *cantilevers* e o grau de reabsorção ao redor dos implantes mais distais, suportando a extensão da ponte. Há maior perda óssea

periimplantar em relação direta à magnitude de carga sobre o implante. Isto ocasiona inflamação (mucosite).

Outros fatores etiológicos e modificadores, potencialmente iniciadores da doença periimplantar, são a forma e a superfície do implante. Poucas informações são válidas quanto à responsabilidade de fatores como desenho do implante (cilindro, parafuso), morfologia da superfície do implante (região cervical fortemente polida), técnica de colocação cirúrgica e outros, sobre as várias reações periimplantares³⁰.

Muitos autores propuseram que a manutenção das condições periimplantares saudáveis requer um colar de gengiva inserida ao redor do pescoço do implante. Nos casos em que as mucosas circundantes aos implantes são móveis, a inflamação persiste, então é prudente criar cirurgicamente uma zona periimplantar de gengiva inserida. Isto facilitará também a higiene do implante.

Patógenos periodontais associados com periodontite ocorrem mais freqüentemente em implantes com inflamação de tecido mole do que em implantes com saúde tecidual adjacente. Um dos mais importantes fatores etiológicos das doenças periodontais é a microbiota. A presença de bactérias em placas subgengivais da dentição remanescente pode levar à colonização de implantes e influenciar em sua falha^{33,42}.

A falha de implantes parece ser resultado de vários fatores: oclusais ou forças para-funcionais; carga prematura; estresse por mal posicionamento⁴³ e invasão microbiana⁴⁴.

Para O'Neal³⁴, independentemente da causa, o resultado final é o mesmo: periimplantite. O quadro clínico pode incluir inflamação mucosal, aumento da perda de ligamento, possível exposição de uma porção do implante na cavidade oral, evidência radiográfica de perda óssea e perda do implante com o passar do tempo.

Retração gengival com exposição das roscas dos implantes, profundidade mínima vestibular e falta de tecido ligamentar são os problemas associados com áreas da mucosa adjacente aos implantes mais freqüentemente encontrados^{45,46}.

Também existe uma relação entre a perda óssea marginal ao redor de implantes com cobertura de hidroxiapatita e a pouca higiene oral, principalmente na região posterior da mandíbula⁴⁷. Em 18% dos casos de implantes na mandíbula, e

em 9% dos casos de implantes na maxila, os autores associaram as falhas verificadas à inflamação mucosal com os locais dos implantes.

Em um estudo realizado em 1997, Augthun e colaboradores⁴⁸ apontaram, como principais fatores etiológicos da perda óssea na área subgengival ao redor de implantes, a técnica cirúrgica incorreta, o excesso de estresse funcional e a inflamação induzida por placa dos tecidos periimplantares. Os autores compararam implantes com avançada perda óssea com implantes bem sucedidos concluindo que, assim como a periodontite, patógenos microbianos podem estar envolvidos no desenvolvimento de defeitos ósseos periimplantares.

Para Hanisch⁴⁹, a lesão inflamatória é ocasionada pelo acúmulo de placa e se espalha, relacionando-se com as características da mucosa periimplantar e da reação tecidual. Sítios com largura maior de mucosa queratinizada desenvolvem menores defeitos que sítios com um mínimo ou sem mucosa queratinizada.

A perda de osso ao redor de implantes dentais, seguida de sobrecarga oclusal ou acúmulo de placa, foi avaliada em macacos (*Macaca fascicularis*) por Isidor⁵⁰. Após 18 meses de sobrecarga oclusal ou acúmulo de placa, os macacos foram sacrificados. Todos os implantes, com acúmulo de placa, estavam osseointegrados, mas apresentavam uma perda óssea marginal de 2,4mm. Dos seis implantes com sobrecarga oclusal para análise histológica, dois implantes em um macaco perderam completamente a osseointegração, dois outros implantes estavam osseointegrados apenas na parte apical e dois ainda estavam osseointegrados, porém exibiam perda óssea de 1,8mm -1,9mm.

Weber e colaboradores⁵¹ analisaram a maneira pela qual a trajetória de destruição tecidual ao redor dos implantes dentais é parecida com a dos dentes, e como essas trajetórias podem ser modeladas para conter a perda do osso suporte. Nesse estudo, desenvolveram um modelo animal a curto prazo para estudar o efeito do AINES(antiinflamatório não esteroideal) e do flurbiprofen na diminuição do índice de reabsorção óssea periimplantária induzida. Após a colocação de 20 implantes de titânio em *beagles*, aguardaram um período de cicatrização de 3 meses sem carga, com higiene oral diária. Após esse período, induziram periimplantite com ligaduras de seda, e a higiene oral foi cessada. Administraram 0,02 mg/kg de flurbiprofen (F) via oral a um dos *beagles*, e o outro recebeu placebo (P). As medições radiográficas

da altura do osso revelaram que o índice médio de perda óssea ao redor dos implantes nos cães com tratamento F foi menor que o dos cães com tratamento P nos 60 dias de período terapêutico. Estes dados indicam que a perda de osso periimplantar pode ser rapidamente induzida e medida em cães *beagles*, e que AINES e flurbiprofen, administrados por via oral, podem diminuir significativamente o índice de perda óssea periimplantar. Nos sítios de implantes falhos foram caracterizados, por profundidade de sondagem de 6mm ou mais, supuração, perda óssea e microbiota constituída por cepas gram-negativas anaeróbicas. Os critérios utilizados pelos autores para determinar falha de implantes foram: desconforto durante a mastigação, mobilidade do implante, evidência clínica de perda óssea adjacente ao implante e inflamação gengival severa. Os achados microbiológicos não indicaram se os organismos encontrados foram o fator etiológico direto da falha de implante, ou se estavam somente associados a um meio patogênico. Técnica cirúrgica inadequada, sobrecarga prematura no implante e trauma de oclusão podem contribuir para a falha do implante. Micromovimentos de implantes, associados com perda de integração, aumentam a inflamação gengival e contribuem para a formação de bolsa periimplantar^{9,10}.

3.4 MICROBIOTA DO SULCO PERIIMPLANTAR E PERIODONTAL

Quando o controle de placa não é adequado, a periimplantite com perda destrutiva do osso alveolar pode ocorrer ao redor de implantes dentais. O agente causal de toda falha ou doença do implante é a contaminação da superfície do implante por endotoxinas produzidas por meio de patógenos periodontais. A prevalência de periimplantite relacionada a um selamento de proteção delgada ao redor dos implantes faz com que ocorra o aumento de tecido mole, que promove a melhora da interface firmemente adaptada entre implante-tecido mole¹⁰.

Persson e colaboradores⁵² examinaram a microbiota das faces internas dos componentes dos implantes Branemark em pacientes tratados com prótese parcial fixa. Dez pacientes parcialmente edêntulos foram tratados com uma prótese parcial fixa apoiada por 28 implantes. Constataram que os tecidos moles ao redor dos *abutments* de titânio estavam clinicamente saudáveis na maioria dos casos, houve

ocorrência de inflamação da porção marginal da mucosa periimplantar em poucos locais (5%); foi encontrada placa bacteriana em 28% das faces dos *abutments*, a perda óssea ao redor dos implantes após a colocação dos *abutments* foi pequena. Não observaram relação aparente entre o tempo de função do implante e a perda óssea marginal. As amostras microbiológicas das faces internas de todos os implantes mostraram um crescimento bacteriano intenso ou muito intenso. A flora bacteriana constituiu-se de *Streptococcus* facultativo e anaeróbico, bacilos gram-positivos anaeróbicos (como as espécies *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces*) e bacilos anaeróbicos gram-negativos (como *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*).

Em 1997, Augthun e colaboradores⁴⁸ realizaram trabalho com o objetivo de examinar tecido inflamatório em bolsas profundas do osso periimplantar (>5 mm) para colonização de bactérias anaeróbicas. Foram analisados 10 pacientes edentados com 18 implantes falhos, que foram removidos após abertura cirúrgica dos defeitos. Foi obtido tecido da bolsa, e colocado numa solução nutriente incubada em uma cultura apropriada. As seguintes bactérias foram encontradas: espécies da família *Bacteroidaceae* (*Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella denticola*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga spp*, *Eikenella corrodens* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foram as mais freqüentes. O aumento da colonização dessas bactérias nas bolsas profundas periimplantares é consistente com aquele observado em lesões avançadas periodontais. Com implantes, a composição da microbiota subgingival parece depender da existência de dentes naturais.

A periimplantite e sua etiologia e patogênese, com ênfase na especificidade de microorganismos neste processo de doença, foram estudadas por George e colaboradores⁵³. Foram examinados parâmetros clínicos e microbiológicos em 24 pacientes com 98 implantes osseointegrados. Os locais foram avaliados com profundidade de sondagem (P.D), índice de placa-cálculo (P.I), índice de sangramento gengival (GBI), mobilidade e taxa de fluxo do fluido crevicular (CFFR). *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* foram identificadas na placa subgingival. Clinicamente foi observada

correlação estatística significativa entre profundidade de sondagem e tempo que o implante estava presente nos arcos mandibulares. Os implantes em pacientes parcialmente edentados eram mais freqüentemente colonizados por *P. gingivalis*/*P. intermedia* do que em pacientes desdentados totais. Implantes presentes por 3 a 4 anos possuíam maior número de microorganismos. Os autores sugerem que patógenos microbianos associados com periodontite ocorrem em maior freqüência ao redor de implantes com inflamação gengival (GBI) e podem contribuir para periimplantite.

3.5 TRATAMENTO DA PERIIMPLANTITE

Com relação aos procedimentos para tratamento das periimplantites, a literatura registra diferentes estudos.

O diagnóstico microbiano pode auxiliar no tratamento de pacientes com formas refratárias de periodontite e com infecção associada a periimplantite. Entretanto, alguns pacientes podem permanecer sem resposta à terapia sugerida pelos resultados desses testes. Nestes casos, o clínico deve observar outros fatores que não os patogênicos, como deficiência na resposta imune do hospedeiro. Existe uma diferença no tratamento dos pacientes com periodontite refratária e infecção associada a periimplantite⁵⁴.

Jovanovic⁵⁵ estabeleceu escala de classificação para a periimplantite, preconizando tratamentos para cada classe. Para esses autores, em adição à presença da mucosite clinicamente detectável, os vários graus de periimplantite são caracterizados pelo aumento horizontal ou vertical de reabsorção óssea, e assim os classificam:

Periimplantite classe I- terapia conservadora

A periimplantite classe I é aquela caracterizada por reabsorção óssea horizontal. O tratamento de periimplantite classe I consiste numa terapia periodontal conservativa para a mucosite e, se nenhuma melhora for notada, realiza-se a redução cirúrgica das bolsas periimplantares. Os sítios são abertos cirurgicamente, e a superfície do implante é limpa e desintoxicada. Retalhos de espessura fina são

posicionados apicalmente para corresponderem à altura do osso alveolar. Pode-se complementar o tratamento com terapia sistêmica com antibióticos por 7 dias, e uso de clorexidina por 2 semanas. Após 3 meses o paciente deve ser reexaminado.

Periimplantite classe II - nivelamento ósseo

Esta classe de periimplantite apresenta perda óssea horizontal moderada com defeitos verticais isolados. A cirurgia periimplantar para essa classe de doença é semelhante àquela da periimplantite de Classe I, entretanto o osso alveolar deve ser recontornado. Isto é usualmente necessário devido à topografia óssea desfavorável, que não permite o reposicionamento apical do retalho. Para uma boa estimativa dos defeitos ósseos, deve-se anestésiar e sondar a região, além da análise da radiografia. Conhecendo a topografia do defeito ósseo, decidir-se-á se o procedimento cirúrgico consistirá primariamente na ressecção dos tecidos moles classe I-III, ou se um esforço será necessário para regenerar o osso periimplantar (classe IV). A cirurgia ressectiva é caracterizada pela eliminação da bolsa, recontorno ósseo e, se necessário, criação de uma zona periimplantar de gengiva queratinizada. A eliminação da bolsa também é objetivo da terapia regenerativa, mas uma técnica diferente será utilizada (ex: regeneração óssea).

Periimplantite classe III - implantoplastia

Enquadram-se nesta classificação aquelas doenças que apresentam perda óssea moderada a avançada, com defeitos ósseos circulares. Muitas vezes, o esforço para nivelar o osso e os tecidos moles à posição apical no tratamento cirúrgico do periimplante leva à exposição da superfície rugosa do implante, que estava originalmente no osso. Tal superfície rugosa tende a acumular placa, devendo ser alisada e polida. Pedras diamantadas devem ser usadas para remover a cobertura de plasma-spray, ou roscas nas superfícies de implantes. O acabamento final é dado com discos de borracha. Este tipo de "implantoplastia" é um método efetivo para redução do acúmulo de placa, tanto para o profissional como para o paciente. Se tal tratamento de superfície implantar for necessário, deve ser realizado imediatamente após a reflexão do retalho, e antes de qualquer contornamento do osso⁵⁶.

Periimplantite classe IV - regeneração óssea guiada (ROG)

Quando da ocorrência de avançadas perdas ósseas horizontais com defeitos verticais circunferenciais, bem como perda da parede óssea vestibular ou lingual, caracteriza-se a periimplantite classe IV. Se as condições são favoráveis, implantes exibindo bolsas ósseas avançadas podem ser tratados usando ROG (regeneração óssea guiada)^{57,58,59,60,61}. Em contraste aos tratamentos de periimplantite I a III, nos quais a eliminação das bolsas é alcançada principalmente por meio do reposicionamento apical dos tecidos moles periimplantares, com a técnica ROG os retalhos são posicionados coronalmente para cobrirem as membranas. Tanto membranas e-PTFE quanto membranas reabsorvíveis podem ser usadas⁶². A situação ideal é a cicatrização com membrana completamente coberta com mucosa intacta. Entretanto, isto só é possível com o sistema de implantes de dois estágios. Com implantes de um estágio, ou em pacientes com sistemas de dois estágios mas que não querem ficar sem suas próteses por um período de tempo, uma forma semi-aberta de terapia GBR pode ser utilizada apresentando, entretanto, sucesso menor.

3.6 TERAPIA FOTODINÂMICA

A terapia fotodinâmica consiste na associação de um agente fotossensibilizador, normalmente exógeno, e uma fonte de luz, com o objetivo de provocar necrose celular (utilizada em tratamento de tumores) ou morte microbiana. O mecanismo de ação se dá quando o agente fotossensibilizador absorve os fótons da fonte de luz e seus elétrons passam a um estado excitado. Na presença de um substrato, como por exemplo o oxigênio, o agente fotossensibilizador, ao retornar ao seu estado natural transfere a energia ao substrato, formando espécies de vida curta e altamente reativas, como o oxigênio singleto e radicais livres, que podem provocar sérios danos a microorganismos via oxidação irreversível de componentes celulares.

Nos microorganismos, a terapia fotodinâmica pode provocar dois tipos de reação tóxica: a reação do tipo I e do tipo II. A reação do tipo I é mediada pela formação, na presença de água, de radicais livres, principalmente hidroxila. Os radicais livres podem reagir com o oxigênio formando peróxidos e estes levam a peroxidação de lipídios, principalmente da membrana celular. Esta oxidação provoca

injúrias à membrana, levando a extravasamento de fluidos e alterações na permeabilidade de íons. A reação do tipo II é mediada pela formação do oxigênio singleto e é considerada a mais fototóxica para microorganismos. O oxigênio singleto provoca a oxidação de componentes celulares, levando a danos na mitocôndria, parede celular e núcleo.

A eficiência da terapia fotodinâmica é, essencialmente, dependente de três fatores: biológicos (seletividade e retenção do corante/fotossensibilizador); físicos (intensidade da radiação eletromagnética que chega à região de tratamento, eficiência da absorção dos fótons ativadores, eficiência da transferência de energia de excitação da molécula fotossensibilizadora) e químicos (alta eficiência na geração de produtos tóxicos ao alvo).

Okamoto e colaboradores⁶³ investigaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano do *laser* de He-Ne associado a diversos corantes sobre microorganismos cariogênicos. Os autores testaram o efeito antimicrobiano do *laser* de He-Ne quando combinado com dez tipos de corantes (azuis, roxos e verdes) em espectroscopia de absorção atômica, espectroscopia ultravioleta e zona de inibição de crescimento em placas de cultura. Verificou-se neste estudo que os efeitos letais sobre os microorganismos eram efetivos, apenas quando corantes específicos foram utilizados.

O uso da PDT (do inglês Photodynamic Therapy) em periodontia está documentado em diversos estudos^{64,65,66} que mostram sua efetividade contra bactérias periodontopatogênicas com o uso dos corantes azul de toluidina e azul de metileno, associados ao *laser* de He-Ne, e do corante ftalocianina dissulfonada de alumínio, com o *laser* de diodo com emissão infravermelha.

Wilson e colaboradores⁶⁴ estudaram a fotossensibilização de bactérias da placa subgengival de pacientes com periodontite crônica. Amostras da placa subgengival foram expostas a um *laser* de He-Ne de 7,3 mW de potência, na presença e na ausência do corante azul de toluidina na concentração de 50 µg/ml. Os autores concluíram que a combinação *laser* corante alcançou uma significativa redução bacteriana, sendo que a média de redução foi de 91,1% na bactérias aeróbias, 96,9% nas anaeróbias, 100% nas pigmentadas anaeróbias e 94,4% para os *Streptococcus*. Entretanto, a redução bacteriana não foi significativa na presença apenas do corante. Isto sugere que *lasers* em baixa intensidade associados a um

corante apropriado podem ser efetivos como tratamento coadjuvante ao debridamento mecânico em inflamações periodontais.

Wilson e colaboradores⁶⁵ determinaram, em um estudo *in vivo*, se as bactérias da placa supragengival poderiam ser eliminadas por um laser em baixa intensidade associado a um fotossensibilizante. As amostras de placa bacteriana obtidas de dez voluntários, foram tratadas com corante azul de toluidina e ftalocianina dissulfonada de alumínio e então expostas a um laser de He-Ne ou GaAlAs respectivamente. Após a irradiação, houve redução substancial das bactérias anaeróbias assim como dos *Streptococcus* e *Actinomyces* viáveis. Segundo os autores, a combinação de He-Ne e TBO(do inglês toluidine blue) se mostrou mais eficiente que a combinação de GaAlAs e AlPcS₂ na redução de bactérias quando usadas energias de 1,31 J.

Soukos e colaboradores⁶⁷ avaliaram os efeitos fotodinâmicos, *in vitro*, da radiação laser vermelha e do corante azul de toluidina sobre queratinócitos orais humanos, fibroblastos e *S. sanguis*. O objetivo do trabalho era avaliar se a terapia fotodinâmica poderia ser usada no tratamento da doença periodontal, eliminando as bactérias causadoras da mesma, sem provocar danos aos tecidos adjacentes. Os autores concluíram que o uso de baixas concentrações de corante e do laser provocava a morte bacteriana e não reduzia a viabilidade celular.

Segundo König e colaboradores⁶⁸, bactérias como *Porphyromonas gingivalis* e *Actinomyces odontolyticus* não necessitam do uso adicional de corantes externos, pois são capazes de sintetizar a protoporfirina IX, um dos corantes mais utilizados em terapia fotodinâmica. Por isso, a simples irradiação com laser de emissão vermelha produz a morte bacteriana destes microorganismos e melhora a inflamação periodontal.

Garcez e colaboradores⁶⁹, em um relato de caso clínico, mostram remissão dos sinais da infecção periodontal, como supuração, edema e ulcerações na gengiva, em um período de 48 horas após a remoção do cálculo, aplicação do corante e irradiação laser, sem o uso de medicação local ou sistêmica.

Dörtbudak e colaboradores²⁴, avaliaram a descontaminação da superfície de implantes no tratamento da periimplantite. Os autores estudaram, *in vivo*, em 15 pacientes o uso do laser de diodo ($\lambda = 690$ nm) associado ao corante azul de

toluidina (0,1%) em implantes que apresentavam sinais clínicos e radiográficos de periimplantite, através da avaliação microbiológica das culturas coletadas antes , após o uso do corante e após a aplicação do laser, das bactérias *P. gingivalis*, *P. intermédia* e *A. actinomycetemcomitans*. Os autores concluíram que a associação do corante e do laser resultou em significativa redução bacteriana nas três espécimes pesquisadas, sendo que em nenhuma das espécimes houve total eliminação da cultura bacteriana.

4 - Materiais e Métodos

Este estudo foi realizado no Laboratório de Odontologia Comparada, com a colaboração do Prof. Dr. Marco Antonio Gioso (Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ/USP).

Foram utilizados 8 cães da raça Labrador, que foram mantidos no canil do 2º Batalhão de Polícia do Exército (Osasco) sob responsabilidade do Capitão Carlos de A. B. Sobrinho, Médico Veterinário da Seção de Cães, durante todo o período experimental. Foi administrada ração *ad libitum* e antibiótico (Enrofloxacina – 5mg/Kg) no pós-operatório. No pós-operatório imediato, os animais receberam 1mg/kg de Tramalol como agente anti-álgico.

Os animais foram submetidos a intervenções cirúrgicas para colocação de implantes, segundo protocolo proposto por Branemark^{1,2}. Utilizou-se anestésico volátil, segundo as normas de anestesiologia. Cada animal recebeu um implante de titânio (Sistema Conexão, São Paulo, Brasil) em cada lado da mandíbula de 3,75mmX8mm. Os dentes terceiros pré-molares inferiores foram extraídos no 1º ato operatório e os implantes instalados imediatamente (figura 1).

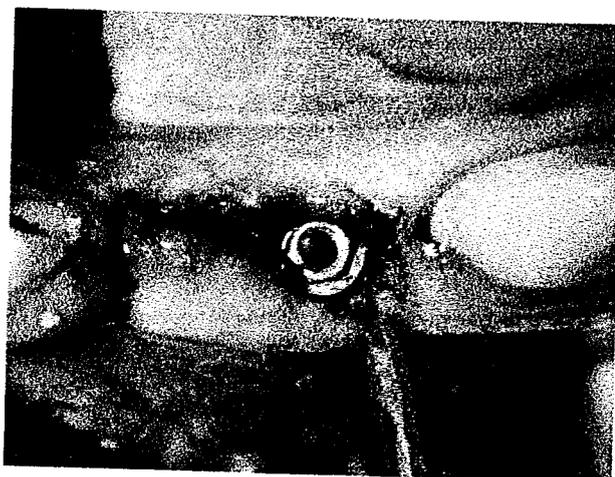


Figura 1: Implante instalado na mandíbula do cão na região do terceiro pré-molar.

Após o período de osseointegração(três meses), a doença periimplantar foi criada de uma forma artificial usando fios de algodão e anéis de elástico, conforme

preconizado por Persson e colaboradores⁷⁰. Depois de quatro meses, as ligaduras foram removidas e esperou-se um período semelhante para que ocorresse a indução natural da placa bacteriana. Com a placa bacteriana maturada e o processo instalado, verificado por radiografia e clinicamente, iniciou-se as técnicas terapêuticas (figuras 2 e 3).

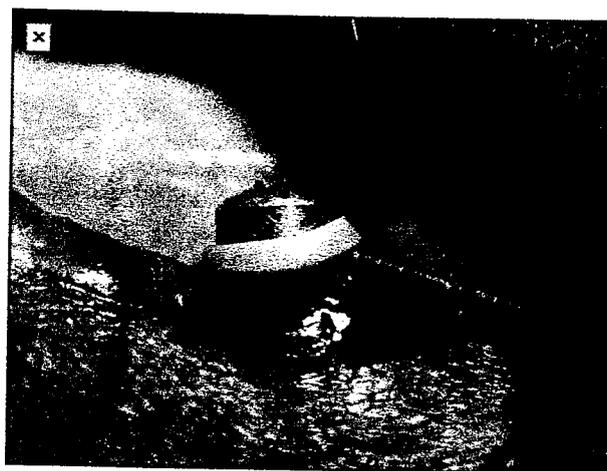


Figura 2: Remoção do anel de elástico após indução da periimplantite.

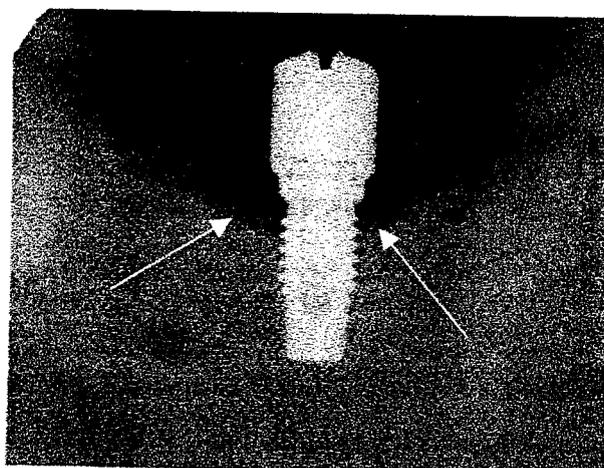


Figura 3: Radiografia do implante com periimplantite instalada. As setas indicam a perda óssea.

Antes do início do tratamento, um implante foi removido e observado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para verificação do padrão de

contaminação do implante. O implante foi cuidadosamente extraído com uma broca trefina (Dentoflex, São Paulo, Brasil), imerso em glutaraldeído 2% e levado ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da USP. O implante foi preparado para MEV seguindo procedimento de rotina. A amostra foi pós-fixada em ósmio a 1% durante trinta minutos, sendo depois lavada com solução de sacarose e desidratada em concentrações crescentes de etanol. O implante foi secado, montado sobre um suporte (*stub*) e coberto com ouro, sendo posteriormente analisado por um microscópio eletrônico de varredura (LEO 430, Cambridge, Reino Unido).

Os animais foram divididos em dois grupos: GC (grupo convencional) e GL (grupo laser). No grupo GC, foram realizadas as sondagens das bolsas periimplantares nas faces mesial, distal, vestibular e lingual, verificando-se a necessidade do retalho devido à profundidade das bolsas. Então, utilizou-se as técnicas convencionais já publicadas, ou seja, raspagens subgengivais com curetas que não danificassem o óxido de titânio mais irrigação com clorexidina a 0,12%. Retalhos cirúrgicos foram realizados em sete dos oito implantes (87,5% dos casos). No grupo GL também foram realizadas as sondagens das bolsas conforme descrito para o grupo convencional, porém, optou-se em utilizar-se somente, além da raspagem subgengival, a terapia fotodinâmica com laser em baixa intensidade associado ao corante azuleno. O fotossensibilizador foi aplicado topicamente e deixado por cinco minutos (tempo de pré-irradiação). Imediatamente após, a região periimplantar foi irradiada com um laser de emissão vermelha ($\lambda = 660 \text{ nm}$ – M.M.Optics, São Paulo, Brasil), potência de 30 mW aferida antes do tratamento, e energia de 5,4 J, correspondendo a um tempo de exposição $\Delta t = 3$ minutos.

As coletas microbiológicas foram realizadas antes e imediatamente após o tratamento para ambos os grupos. Para o exame microbiológico, a coleta do material foi realizada após a remoção da placa bacteriana supragengival dos sítios selecionados e pontas de papel estéreis foram inseridas até o fundo da bolsa periodontal. As pontas permaneceram aproximadamente vinte segundos nos sítios, sendo removidas e colocadas imediatamente em um frasco contendo o meio de transporte, para evitar exposição ao ambiente.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste *t-student* para verificação de significância dos resultados. Os resultados foram considerados significantes quando $p < 0,05$.

5 - Resultados

Os quadros 1 e 2 mostram a profundidade de sondagem das bolsas periimplantares para os grupos convencional e laser, respectivamente.

Quadro 1: Profundidade de sondagem da bolsa periimplantar para o grupo convencional

Nº do Animal	Face Mesial	Face Distal	Face Lingual	Face Vestibular
1 - lado esquerdo	4,0 mm	4,0 mm	2,0 mm	2,0 mm
2 - lado esquerdo	3,0 mm	4,0 mm	2,0 mm	1,0 mm
3 - lado direito	3,0 mm	3,0 mm	1,0 mm	1,0 mm
4 - lado direito	7,0 mm	5,0 mm	3,0 mm	1,0 mm
5 - lado direito	3,0 mm	3,0 mm	1,0 mm	1,0 mm
6 - lado esquerdo	3,0 mm	3,0 mm	2,0 mm	2,0 mm
7 - lado direito	3,0 mm	4,0 mm	3,0 mm	2,0 mm
8 - lado direito	2,0 mm	2,0 mm	2,0 mm	2,0 mm

Observa-se do quadro 1, que o animal nº 8 tinha uma profundidade de bolsa uniforme nas quatro faces do implante, e por esta razão, optou-se por não fazer o retalho.

Quadro 2: Profundidade de sondagem da bolsa periimplantar para o grupo laser

Nº do Animal	Face Mesial	Face Distal	Face Lingual	Face Vestibul
1 - lado direito	4,0 mm	4,0 mm	2,0 mm	1,0 mm
2 - lado direito	4,0 mm	4,0 mm	3,0 mm	3,0 mm
3 - lado esquerdo	4,0 mm	4,0 mm	3,0 mm	1,0 mm
4 - lado esquerdo	7,0 mm	7,0 mm	2,0 mm	3,0 mm
5 - lado esquerdo	4,0 mm	4,0 mm	3,0 mm	1,0 mm
6 - lado direito	3,0 mm	3,0 mm	3,0 mm	2,0 mm
7 - lado esquerdo	4,0 mm	4,0 mm	4,0 mm	2,0 mm
8 - lado esquerdo	5,0 mm	4,0 mm	3,0 mm	1,0 mm

Comparando-se os quadros 1 e 2, nota-se que, em média, as profundidades das bolsas periimplantares para o grupo laser eram maiores do que àquelas do grupo convencional, entretanto, diferenças significativas não foram observadas.

As coletas microbiológicas foram analisadas e identificou-se três espécies de bactérias patogênicas: *Prevotella sp.*, *Fusobacterium* e *S. beta-haemolyticus*.

A figura 4 mostra, em pequeno aumento, uma micrografia eletrônica do implante removido antes do início dos tratamentos. Observa-se o implante revestido por tecido ósseo. Note a perda óssea no pescoço do implante.

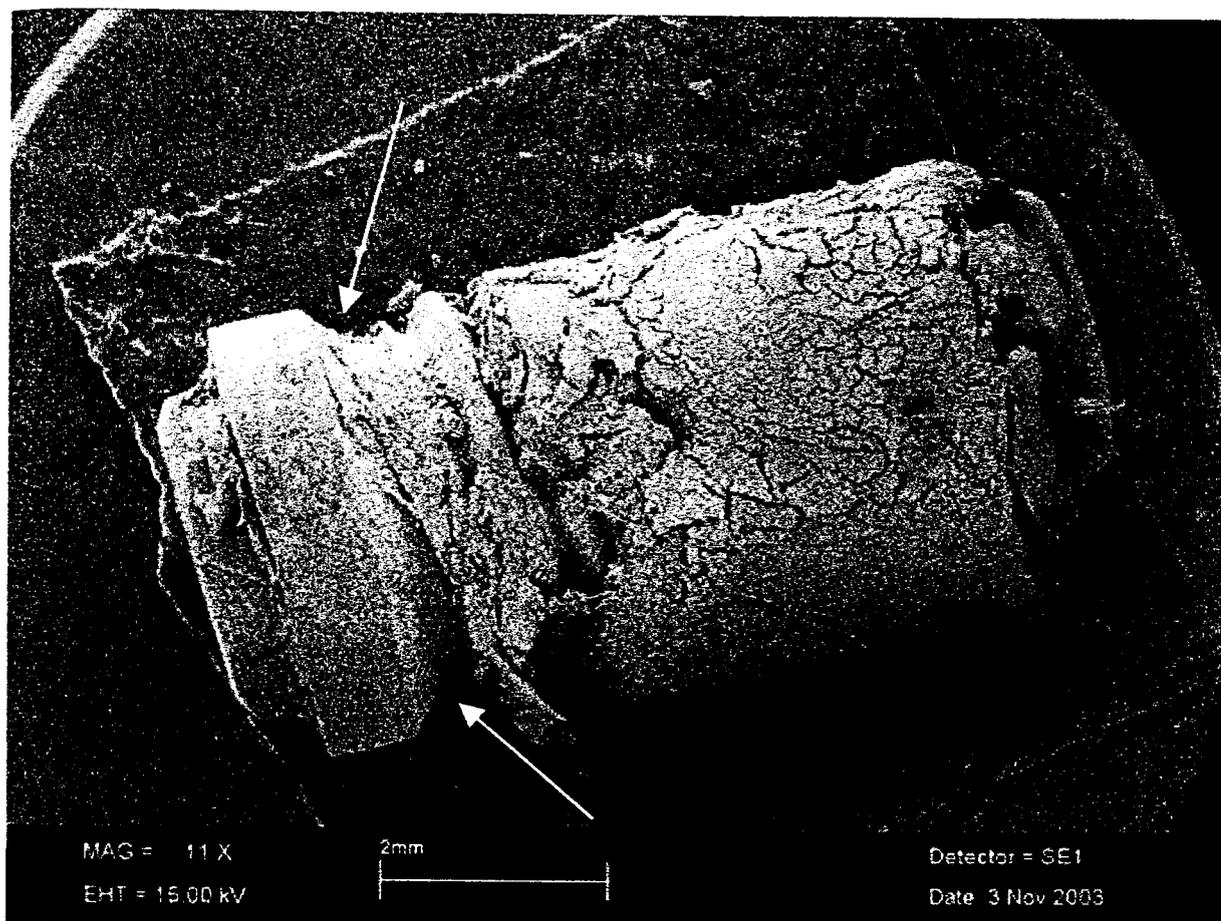


Figura 4: Micrografia eletrônica panorâmica do implante. As setas apontam a perda óssea no pescoço do implante.

As figuras 5 e 6 mostram a superfície do implante afetado por periimplantite. Note as colônias bacterianas características de doença periimplantar.

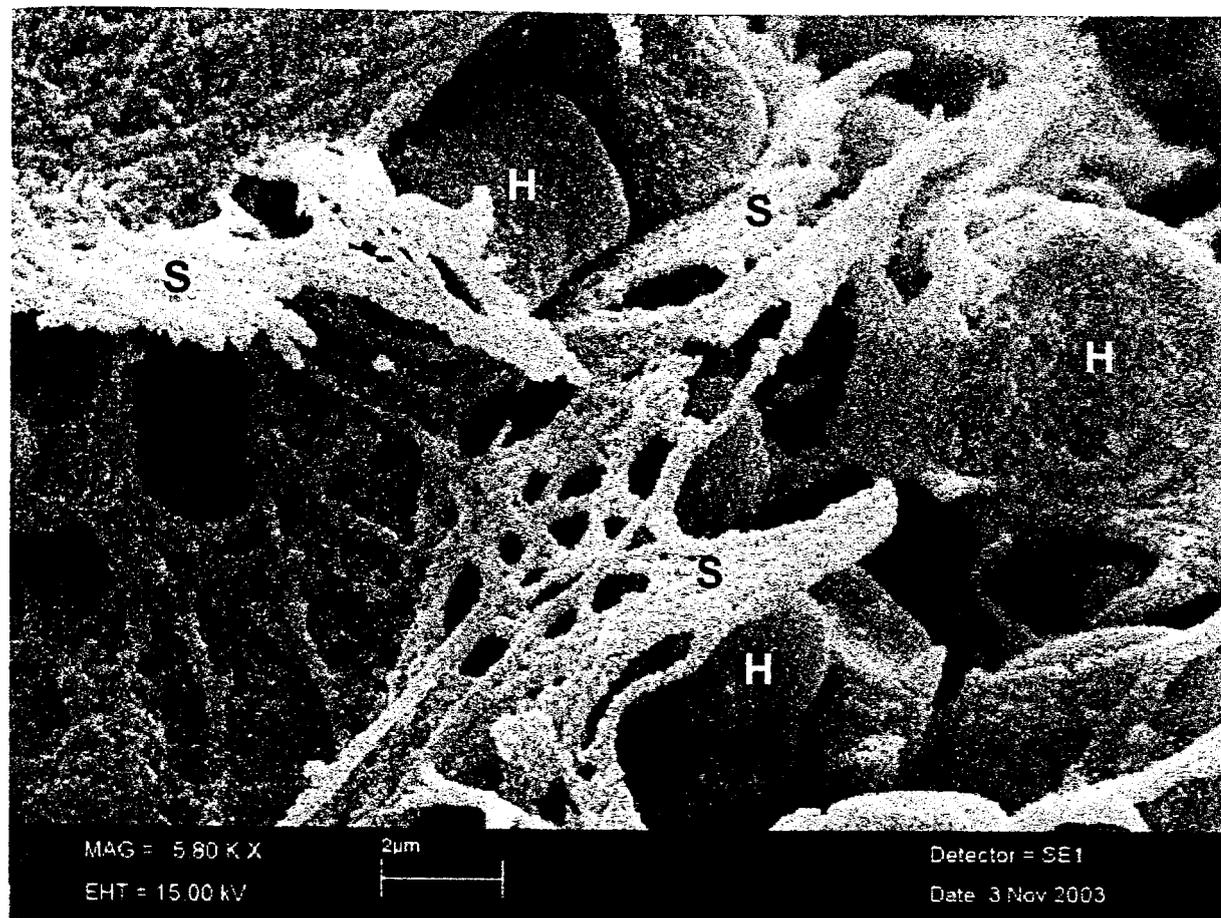


Figura 5: Elétron-micrografia da superfície do implante mostrando colônias de *Streptococcus* (S). H- hemácias (aumento médio).

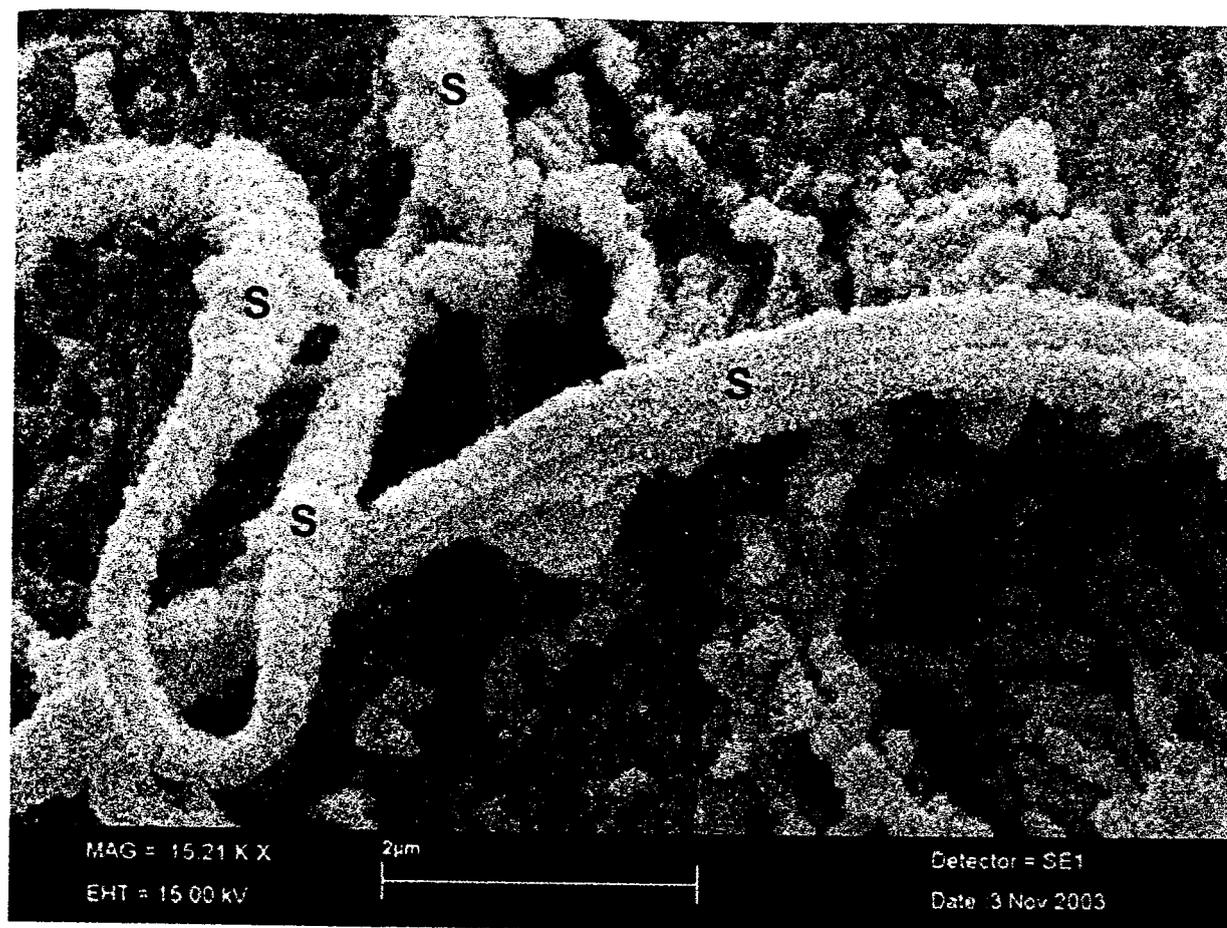


Figura 6: Elétron-micrografia da superfície do implante mostrando colônias de *Streptococcus* (S) (grande aumento).

As figuras 7, 8 e 9 mostram a redução bacteriana alcançada após a terapia fotodinâmica e a terapia convencional para cada espécie bacteriana encontradas.

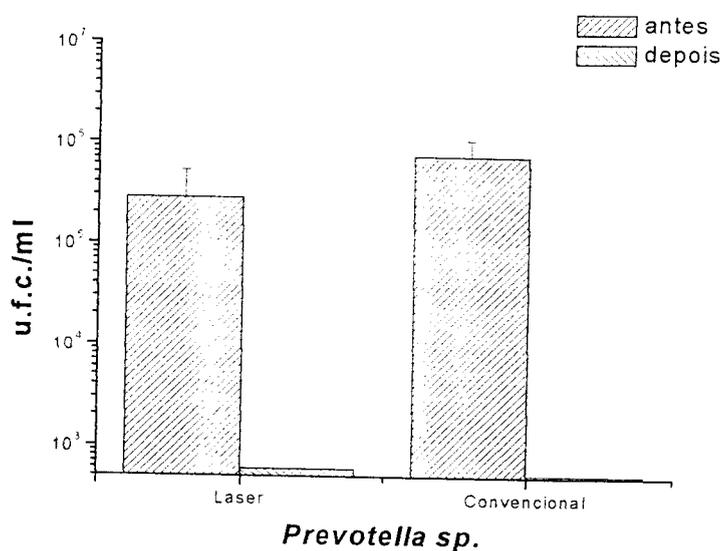


Figura 7: Redução bacteriana das espécies *Prevotella*

A figura 7 mostra, em escala logarítmica, as médias para ufc/ml dos grupos laser e convencional. Observa-se que antes do tratamento, a população bacteriana era igual para ambos os grupos ($p > 0,05$). Ambas as terapias foram estatisticamente significantes em reduzir *Prevotella sp.* ($p < 0,05$). Entre os tratamentos, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

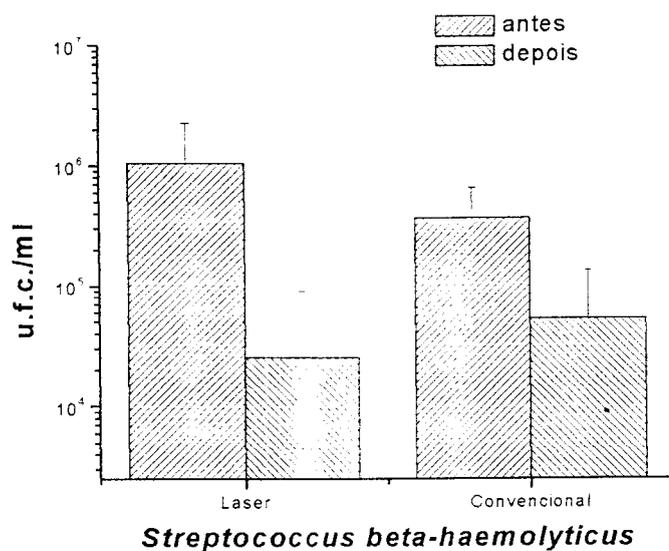


Figura 8: Redução bacteriana de *S. beta-haemolyticus*

Na figura 8 observa-se, em escala logarítmica, as médias para ufc/ml dos grupos laser e convencional. Antes do tratamento, a população bacteriana era igual para ambos os grupos ($p > 0,05$). Após tratamento, a redução bacteriana foi estatisticamente significativa para os grupos laser e convencional ($p < 0,05$). Entre tratamentos, não foram observadas diferenças significantes ($p > 0,05$).

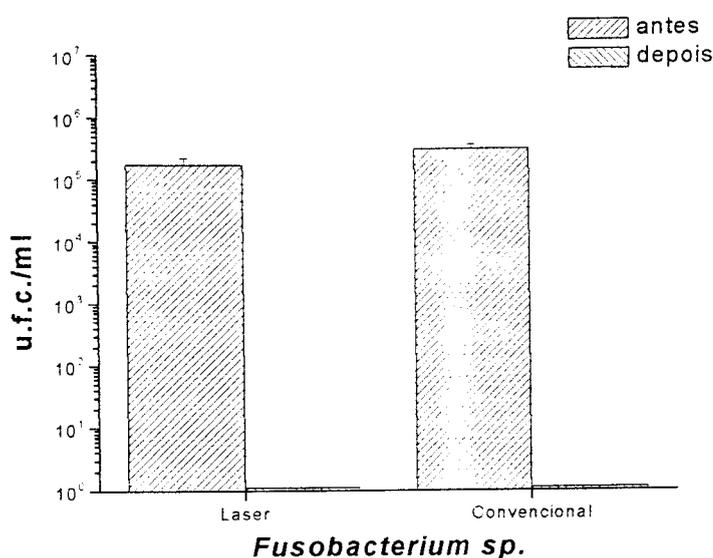


Figura 9: Redução bacteriana das espécies *Fusobacterium*

A figura 9 mostra, em escala logarítmica, as médias para ufc/ml dos grupos laser e convencional. Pode-se observar a redução microbiana obtida após a terapia fotodinâmica e o tratamento convencional. Antes das terapias, nota-se que a população bacteriana era igual para ambos os grupos ($p > 0,05$). Após tratamento, observa-se redução bacteriana estatisticamente significativa para ambos os grupos ($p < 0,05$). Entre os tratamentos, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

6 - Discussão

Os resultados deste estudo mostraram que o laser em baixa intensidade de emissão vermelha associado ao fotossensibilizador azuleno formulado em pasta foi eficaz em reduzir a população microbiana em periimplantites instaladas em mandíbulas de cães. Além disso, comparado ao tratamento convencional, não foram observadas diferenças significantes na redução de *Prevotella sp.*; *Fusobacterium sp.* e *Streptococcus beta-haemolyticus*.

As infecções bucais caracterizam-se, em sua maioria, por lesões localizadas provocadas por microorganismos conhecidos e por serem lesões relativamente superficiais. Atualmente seu tratamento consiste na redução bacteriana por remoção mecânica (brocas, curetas e limas) do tecido contaminado e administração local ou sistêmica de agentes antimicrobianos e antibióticos⁵⁶. Estes agentes antimicrobianos, assim como as medicações sistêmicas, apresentam efeitos colaterais, toxicidade celular, não seletividade, tempo de tratamento longo e possibilidade de selecionar microorganismos resistentes⁷¹.

O tratamento da doença periodontal é realizado com a remoção mecânica do cálculo sub-gengival e cimento contaminado. O tratamento convencional das doenças que envolvem os tecidos de suporte de um dente e/ou implante consiste na remoção da infecção por ultra-som, raspagens com curetas e irrigação com clorexidina 0,12% e, algumas vezes, é necessário abrir um retalho para melhor acesso à bolsa periimplantar. Neste estudo, em sete, dos oito animais utilizados no grupo convencional, preferiu-se abrir o retalho para a realização dos procedimentos citados, já que as bolsas eram profundas nas faces mesial e distal; nas faces lingual e vestibular, as bolsas foram mais superficiais, provavelmente porque não havia espaço biológico para que o elástico ficasse inserido. É importante salientar que no momento da remoção dos elásticos, quatro meses depois da osseointegração, a profundidade das bolsas periimplantares era maior do que no início do tratamento, possivelmente porque o sistema imunológico dos cães reage melhor à doença que o homem. No grupo laser, apesar das bolsas apresentarem-se mais profundas, optou-se por não abrir o retalho, já que era nosso objetivo estudar a terapia fotodinâmica como uma alternativa não-invasiva para descontaminação microbiana.

O uso da PDT em bactérias periodontopatogênicas está documentado em estudos *in vitro* e *in vivo*, que mostram sua efetividade para a redução microbiana com o uso dos corantes azul de toluidina e azul de metileno, associados ao laser de He-Ne ($\lambda = 632,8$ nm), e do corante ftalocianina dissulfonada de alumínio, com o laser de diodo com emissão infravermelha ($\lambda = 905$ nm)^{64,65,66}.

DÖRTBUDAK e colaboradores²⁴ avaliaram a descontaminação da superfície de implantes no tratamento da periimplantite com PDT. Os autores estudaram, em 15 pacientes o uso do laser de diodo ($\lambda = 690$ nm) associado ao corante azul de toluidina (0,1%) em implantes que apresentavam sinais clínicos e radiográficos de periimplantite, através da avaliação microbiológica das culturas coletadas antes, após o uso do corante e após a aplicação do laser, das bactérias *P. gingivalis*, *P. intermédia* e *A. actinomycetemcomitans*. Os autores concluíram que a associação do corante e do laser resultou em significativa redução bacteriana nas três espécimes pesquisadas, sendo que em nenhuma das espécimes houve total eliminação da cultura bacteriana. Nesse estudo, porém, a terapia fotodinâmica não foi comparada ao tratamento convencional diferentemente deste trabalho.

Haas e colaboradores propõem que a terapia fotodinâmica seja o primeiro passo para o tratamento de periimplantites severas, seguidas de enxerto autógeno e do uso de membranas e-PTFE^{72,73}. Também Shibli e colaboradores sugerem a terapia fotodinâmica como uma modalidade alternativa de tratamento para periimplantite seguidas de regeneração óssea guiada, sugerindo uma possível reosseointegração⁷⁴. É bem conhecido que há dificuldades em obter-se uma reosseointegração da superfície do implante depois da contaminação por bactérias periodontopatogênicas⁷⁰.

O sucesso da PDT envolve a otimização de vários parâmetros. A escolha de um fotossensibilizador efetivo, por exemplo, é essencial para obter-se bons resultados e tem sido uma constante no campo da terapia fotodinâmica, tanto no tratamento de tumores, como na eliminação de microorganismos. Corantes menos tóxicos, com maior pureza química, apresentando forte absorção ressonante na janela fototerapêutica de $\lambda = 600$ nm a $\lambda = 1000$ nm e produzindo alta eficiência de excitação têm sido a busca de diversos pesquisadores.

Neste trabalho, utilizou-se a pasta a base de azuleno para investigação da redução microbiana nas bolsas periimplantares. Foram identificados os microorganismos *Prevotella sp.*; *Fusobacterium sp.* e *Streptococcus beta-haemolyticus*, o que concorda com o trabalho de Shibli e colaboradores²³, que realizaram um estudo em periimplantite induzida por ligaduras em cães tratada por PDT. Coletas microbiológicas foram realizadas antes e depois do tratamento com o fotossensibilizador azul de toluidina (100 µg/ml) e irradiados durante 80 segundos por um laser de diodo de GaAlAs de 50 mW e 685nm de comprimento de onda. Entretanto, nenhuma bactéria teve redução de 100%. Para espécies *Prevotella*, a redução foi de 49%; para *Streptococcus beta-hemoliticus* foi de somente 18% e para espécies *Fusobacterium*, a redução foi de 72%. Em nosso trabalho, tivemos uma redução de 98,8%, 77% e 100% para *Prevotella sp.*, *Streptococcus beta-hemoliticus* e *Fusobacterium sp.*, respectivamente. Estes achados comprovam que a eficiência do efeito fotodinâmico depende do fotossensibilizador utilizado, do comprimento de onda da luz, dos parâmetros utilizados e da sensibilidade do microorganismo.

Em nosso trabalho, a pasta à base de azuleno demonstrou um efeito bactericida semelhante àquele obtido com a terapia convencional, porém sem a necessidade de cirurgia a retalho. Em estudos anteriores, o fotossensibilizador azuleno já havia mostrado resultados expressivos para desinfecção intracanal. Sua formulação em pasta é para se evitar o manchamento dos tecidos orais²⁵.

Apesar de um estudo radiográfico quantitativo não ter sido realizado, as radiografias obtidas antes do tratamento mostraram a osseointegração e a doença instalada com as perdas ósseas; entretanto, após os tratamentos realizados, observou-se uma regressão da doença, ou seja, a interrupção da perda óssea.

Recentemente, Kömerik e colaboradores avaliaram a progressão da periodontite inoculando-se *P. gingivalis* em molares superiores de ratos. Tratou-se com a terapia fotodinâmica (PDT) utilizando como fotossensibilizador o azul de toluidina (1 mg/ml), com luz laser de comprimento de onda de 630 nm e energia de 48 J. Os resultados desse trabalho mostraram que a perda óssea do grupo laser foi significativamente menor que o grupo controle e sugere que a PDT pode ser uma técnica alternativa para o tratamento antimicrobiano de periodontite⁷⁵.

Portanto, de acordo com os achados obtidos neste trabalho, a terapia fotodinâmica é um método tão eficiente para redução bacteriana em doença periimplantar quanto o método convencional, com a vantagem de ser uma técnica não-invasiva, já que não é necessária a cirurgia a retalho para acesso à bolsa periimplantar, o que elimina o desconforto pós-operatório e a indicação de medicamentos antiinflamatórios.

Além disso, A PDT antimicrobiana mostrou-se eficaz para tratar infecção localizada, evitando a necessidade do uso de antibióticos sistêmicos, já que sua aplicação é feita de forma tópica diretamente no local da infecção. As vantagens do uso deste tipo de terapia em relação aos antibióticos estão na diminuição do número de microorganismos resistentes a antibióticos, pois sabe-se que um dos grandes problemas que a medicina enfrentará nos próximos anos é o tratamento de microorganismos resistentes aos antibióticos atualmente empregados. Outra vantagem diz respeito ao custo do tratamento e conforto oferecido ao paciente, pois a aplicação é feita pelo profissional da área de saúde em uma sessão de poucos minutos de duração, evitando que o paciente tenha que tomar medicação por vários dias.

Portanto, seu uso na Odontologia pode ser indicado, visto que a terapia fotodinâmica se mostrou bastante eficiente em infecção de microbiota conhecida. Outra grande vantagem é a possibilidade de se realizar várias sessões de tratamentos, em contraste com a técnica a retalho que é inviável; além disso, evita-se o dano superficial ao implante, uma vez que, os instrumentos utilizados no tratamento convencional podem danificar o implante⁵⁶.

Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que:

- A terapia fotodinâmica, como método não-invasivo, nas condições utilizadas neste trabalho, reduziu significativamente a população bacteriana em periimplantite induzida em mandíbula de cães;
- Não foram observadas diferenças estatísticas significantes na redução bacteriana entre os grupos laser e terapia convencional.

Referências Bibliográficas

- ¹ BRANEMARK, P.I., ZARB, G.A.; ALBREKTSSON, T., eds. **Tissue-integrated prostheses. Osseointegration in clinical dentistry.** Chicago: Quintessence, 1985. p. 11-76.
- ² BEUMER III, J.; LEWIS, S.G. Sistema de Implantes Branemark. **Procedimentos Clínicos de Laboratório.** Pancast Editora Comércio e Representações Ltda., São Paulo, Brasil, 1996.
- ³ WORTHINGTON, P.; BRANEMARK, P.I. **Advanced osseointegration surgery.** Berlim, Quintessenz, 1992.
- ⁴ ADELL R., LEKHOLM U., ROCKLER B., BRANEMARK P.I. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous. **Int Oral Maxillofax Surg**, 6:387-416, 1981.
- ⁵ NEWMAN, M.G.; FLEMING, T.F. Periodontal considerations of implants and implants associated. Microbiota. **J Dental Education**, 52:737-744, 1988.
- ⁶ NEWMANN, M.G.; FLEMING, T.F. Bacteria-host interactions. In: WORTHINTON P, BRANEMARK, P.I. **Advanced osseointegration surgery.** Quintessenz, Berlin, 1992.
- ⁷ MCKINNEY Jr., R.V.; STEFLIK, D.E.; KOTH, D.L. The epithelium-dental implant interface. **J Odont Impl**, 13:622-637, 1988.
- ⁸ FLEMING, I. Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants. A clinical and radiographic study in monkeys. **Clin Oral Impl Res**, 7:143-152, 1996.
- ⁹ MOMBELLI, A.; VAN OOSTEN, M.A.C.; SCHURCH, E.; LANG, N.P. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. **Oral Microbiol Immunol**, 2: p.145-151, 1987.
- ¹⁰ MOMBELLI, A.; BUSER, D.; LANG, N. P. Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. **Int Assoc Dent Res**, 67:287 (abstract), 1988.
- ¹¹ LINDHE, J.; BERGLUNDH, T.; ERICSSON, I.; LILJENBERG, B.; MARINELLO, C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. **Clin Oral Impl Res**, 3:9-16, 1992.

- ¹² GOUW-SOARES, S.; GUTKNECHT, N.; CONRADS, G.; MATSON, E.; EDUARDO, C.P. The bactericidal effect of Ho:YAG laser irradiation within contaminated root dentinal samples. **J. Clin Laser Med Surg.**, 18:81-87, 2000.
- ¹³ ZECELL, D.M.; CECCHINI, S. M.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Temperature changes under Ho:YLF irradiation. In: **Proceedings of International Symposium on Biomedical Optics**, 2672:34-39, 1996.
- ¹⁴ TOMASELLI, F.; MAIER, A.; SANKIN, O.; ANEGG, U.; STRANZL, U.; PINTER, H.; KAPP, K.; SMOLLE-JUTTNER, F.M. Acute effects of combined photodynamic therapy and hyperbaric oxygenation in lung cancer - A clinical pilot study. **Lasers Surg Med.**, 28:399-403, 2001.
- ¹⁵ BAUER, T.W.; HAHN, S.M.; SPITZ, F.R.; KACHUR, A.; GLATSTEIN, E.; FRAKER, D.L. Preliminary report of photodynamic therapy for intraperitoneal sarcomatosis. **Ann Surg Onc**, 8:254-259, 2001.
- ¹⁶ NELSON, J.S.; MCCULLOUGH, J.L.; BERNS, M.W. Principles and applications of photodynamic therapy in dermatology. In: ARNDT, K.A.; DOVER, J.S.; OLBRICHT, S.M. **Lasers in cutaneous and aesthetic surgery**. Cap. 17. Filadélfia-Estados Unidos, Lippincott-Raven Publishers, 1997. pp. 349-382.
- ¹⁷ RAAB, C. Über die Wirkung fluoreszierenden Stoffe auf Infusoria. *Z. Biol.*, 39:524-526, 1900 *apud* NELSON, J.S.; MCCULLOUGH, J.L.; BERNS, M.W. Principles and applications of photodynamic therapy in dermatology. In: ARNDT, K.A.; DOVER, J.S.; OLBRICHT, S.M. **Lasers in cutaneous and aesthetic surgery**. Cap. 17. Filadélfia-Estados Unidos, Lippincott-Raven Publishers, 1997. pp. 349-382.
- ¹⁸ ACKROYD, R.; KELTY, C.; BROWN, N.; REED, M. The history of photodetection and photodynamic therapy. **Photochem Photobiol**, 74: 656-669, 2001.
- ¹⁹ WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy. **J Antimicrob Chemother**, 42:13-28, 1998.
- ²⁰ BHATTI, M.; MACROBERT, A.; MEGHJI, S.; HENDERSON, B.; WILSON, M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. **Photochem Photobiol**, 65:1026-1031, 1997.
- ²¹ JOVANOVIC, S.A. Parodontale aspecten von tandheelkundige implantate. *Tandstsprakijk*, 3:16, 1990 *apud* AMORIM D. **Periimplantite em implantes osseointegrados**. Monografia de Especialização em Implantodontia, Fundação para

Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia da Universidade de São Paulo, 1997.

- ²² JACKSON, Z.; MEGHJI, S.; MACROBERT, A.; HENDERSON, B.; WILSON, M. Killing of the yeast and hyphal forms of *Candida albicans* using a light-activated antimicrobial agent. **Lasers Med Sci**, 14:150-157, 1999.
- ²³ SHIBLI, J.A., MARTINS M C, THEODORO L H, LOTUFO R F, GARCIA V G, MARCANTÔNIO E J. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. **Journal Oral Sci**, 45:17-23, 2003.
- ²⁴ DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; BERNHART, T.; MAILATH-POKORNY, G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. **Clin Oral Impl Res** 12:104-108, 2001.
- ²⁵ GARCEZ, A.S. Laser em baixa intensidade associado a fotossensibilizador para redução bacteriana intracanal comparado ao controle químico. São Paulo, 2002. Dissertação (Mestrado Profissionalizante de Lasers em Odontologia), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares e Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
- ²⁶ KAPUR, K.K. Veterans administration cooperative dental implant study – comparisons between fixed partial dentures supported by blade-vent implants and removable partial dentures. Part IV : Comparisons of patient satisfaction between two treatment modalities. **J Prosthet Dent**, 66:517-530, 1991.
- ²⁷ LANCY, W.R. NIH Consensus conference statement: dental implants. **Int J Oral Maxillofac Implant**, 3:290-293, 1988.
- ²⁸ HURZELER, M.B.; QUINONES, C.R.; SCHUPBACK, P.; MORRISON, E.C.; JEMT, T.; BOOK, K.; LINDEN, B.; URDE, G. Failures and complications in 92 consecutively inserted overdentures supported by Branemark implants in severely resorbed edentulous maxillae: a study from prosthetic treatment to first annual check-up. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 7:162-167, 1992.
- ²⁹ SMITH, D.E.; ZARB, G.A. Criteria of success of osseointegrated endosseous implants. **Prosthet Dent**, 62:567-572, 1989.
- ³⁰ SPIEKERMANN, H. **Implantology**. Chicago: Quintessence, 1995. The color atlas of dental medicine.

- ³¹ LOE, H.; SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. **Acta Odontol Scand**, 21:533, 1963.
- ³² SILNESS, J.; LOE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Acta Odontol Scand**, 22:121, 1964.
- ³³ DANSER, M.M.; VAN WINKELHOFF, A.J.; VAN DER VELDEN, U. Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. **J Periodontol**, 68:209-216, 1997.
- ³⁴ O'NEAL, R.B.; SAUK, J.J.; SOMERMAN, M.J. Biological requirements for material integration. **J Oral Implant**, 18:243-251, 1992.
- ³⁵ CANALIS, E.C.; MCCARTHY, T.L.; CENTRELLA, M. Growth factors and cytokines in bone metabolism. **Ann Rv Med**, 42:17-24, 1991.
- ³⁶ SILVERSTEIN, L.H.; LEFKOVE, M.D.; GARNICK, J.J. The use of free gingival soft tissue to improve the implant/soft-tissue interface. **J Oral Implant**, 20:36-40, 1994.
- ³⁷ KENEDY, J.; BIRD, W.; PALCANIS, K.; DORFMAN, H. A longitudinal evaluation of varying width of attached gingiva. **J Clin Periodontol**, 12:667, 1985.
- ³⁸ MCKINNEY, Jr., R.V.; STEFLIK, D.; KOTH, D. Evidence for a junctional epithelial attachment for ceramic implants: a transmission electron microscope study. **J Periodontol**, 56:579-591, 1985.
- ³⁹ WALLACE, S.S. Beyond osseointegration - a periodontal perspective. Part 1: long-term gingival health. **Organização Mundial da Saúde**, n.1-7, p.923-927, 1990.
- ⁴⁰ VILLA, N.; LEME, M.L.S.F.; JAHN, R. S.; BANDETINI, B.O.; WEINFELD, I. Periimplantite: Mito ou Realidade? **Rev Odonto UNISA**, 7:70-74, 2002.
- ⁴¹ LINDQUIST, L. W.; ROCKLER, B.; CARLSSON, G.E. Bone resorption around fixtures in edentulous patients treated with mandibular fixed-tissue-integrated prostheses. **J Prosth Dental**, 59:59-63, 1988.
- ⁴² WOLINSKY, L.E., CAMARGO, P.M.; ERARD, J.C.; NEWMAN, M.G. A study of in vitro attachment of *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus* to saliva-treated titanium. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 4:27-31, 1989.
- ⁴³ ZARB, G.; SCHMITT. Osseointegration and the edentulous predicament. 1990. In: THE 10 YEAR OLD TORONTO STUDY. **Drit Dent J**, 170:439-44, 1991.

- ⁴⁴ BECKER, W.; BECKER, B.E.; NEWMAN, M.G.; NYMAN, S. Clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 5:31-38, 1990.
- ⁴⁵ HORNING; G.M.; MULLEN, M.P. Peri-implant free gingival grafts: rationale and technique. **Compend Contin Educ Dent**, 11:604-609, 1990.
- ⁴⁶ HUGHES, W.G.; HOWARD, C.W. Simultaneous split-thickness skin grafting and placement os endosteal implants in the edentulous mandible: a preliminary report. **Int J Oral Maxillofac Surg**, 50:448-451, 1992.
- ⁴⁷ BLOCK, M.S.; KENT, J.N. Factors associated with soft and hard tissue compromise of endosseous implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 48:1153-1160, 1990.
- ⁴⁸ AUGTHUN, N.; CONRADS, G.; NAT, R. Microbial findings of deep peri-implant bone deffects. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 12:106-112, 1997.
- ⁴⁹ HANISCH, O.; CORTELLA, C.A.; BOSKOVIC, M.M.; JAMES, R.A.; SLOTS, J.; WIKESJO, U.M.E. Experimental peri-implant tissue breakdown around hydroxyapatite-coated implants. **J Periodontol**, 68:59-66, 1997.
- ⁵⁰ ISIDOR, F. Histological evaluation of peri-implant bone at implants subjected to occlusal overload or plaque accumulation. **Clin Oral Impl Res**, 8:1-9, 1997.
- ⁵¹ WEBER, H.P.; FIORELLINI, J.P.; PAQUETTE, D.W.; HOWELL, T.H.; WILLIAMS, R.C. Inhibition of peri-implant bone loss with the nonsteroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen in beagle dogs. **Clin Oral Impl Res**, 5:148-153, 1994.
- ⁵² PERSSON. L.G.; LEKHOLM, U.; LEONHARDT, A.; DAHLIN, G.; LINDHE, J. Bacterial colonization on internal surfaces of Branemark system implant components. **Clin Oral Impl Res**, 7:90-95, 1995.
- ⁵³ GEORGE, K.; ZAFIROPOULOS, G.G.; MURAT, Y.; HUBERTUS, S.; NISENGARD, R. J. Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. **J Periodontol**, 65:766-770, 1994.
- ⁵⁴ NEWMAN. M.G.. MARINHO, V.C. Assessing bacterial risk factors for periodontitis and peri-implantitis: using evidence to enhance outcomes. **Compend Contin Educ Dent**, 15:958-968, 1994.
- ⁵⁵ JOVANOVIC, S.A. Parodontale aspecten von tandheelkundige implantate. **Tandastsprakijk**, 3:16, 1990 *apud* AMORIM D. Periimplantite em implantes

osseointegrados. Monografia de Especialização em Implantodontia, Fundação para Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia da Universidade de São Paulo, 1997.

⁵⁶ RAPLEY, J.; SWAN, R.H.; HALLMON, W.W.; MILLS, M.P. The surface characteristics produced by various oral hygiene instruments and materials on titanium implant abutments. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 4:47-51, 1990.

⁵⁷ DAHLIN, C.; SENNERBY, L.; LEKHOLM, U.; LINDHE, A.; NYMAN, S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 4:19-25, 1989.

⁵⁸ DAHLIN, C.; LEKHOLM, U.; LINDHE, A. membrane-induced bone apposition at titanium implants. A report on ten fixtures followed from 1 to 3 years after loading. **Int J Periodontol Rest Dent**, 11:273-280, 1991.

⁵⁹ NOVAES Jr., A.B. Gengiflex - membrana biológica. In: MANUAL do Curso de treinamento e credenciamento sobre a técnica da regeneração tecidual guiada com uso de gengiflex. 1991.

⁶⁰ ZABLOTSKY, M.; MEFFERT, R.M.; CAUDILL, R. Histological and clinical comparisons of guided tissue regeneration on dehisced hydroxyapatite-Coated and titanium endosseous implant surfaces: a pilot study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 6:294-302, 1991.

⁶¹ ZABLOTSKY, M.; DIEDRICH, D.; MEFFERT, R. Detoxification of endotoxin-contaminated titanium and hydroxyapatite-coated surfaces utilizing various chemotherapeutic and mechanical modalities. **Implant Dent**, 1:154, 1992.

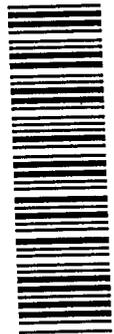
⁶² CAFFESSE, R.G. Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part II: histologic finds. **Int J Oral Maxillofac Implants**, 12:168-175, 1997.

⁶³ OKAMOTO H., IWASE T., MORIOKA T. Dye-mediated bactericidal effect of He-Ne laser irradiation on oral microorganisms. **Lasers Surg Med**, 12:450-458, 1992.

⁶⁴ WILSON M. Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease. **J Appl Bacteriol**, 75:299-306, 1993.

- ⁶⁵ WILSON M, BURNS T, PRATTEN J, PEARSON GJ. Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. **J Appl Bacteriol**, 78:569-574,1995.
- ⁶⁶ WILSON M, DOBSON J, SARKAR S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. **Oral Microbiol Immunol**, 8:182-187,1993.
- ⁶⁷ SOUKOS N.S.; WILSON M.; BURNS T.; SPEIGHT P.M. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated *in vitro*. **Lasers Surg Med**, 18:253-259, 1996.
- ⁶⁸ KÖNIG, K. et al. Red light kills bacteria via photodynamic action. **Cell Mol Biol**, 46:1297-1303, 2000.
- ⁶⁹ SEGUNDO, A.S.G., JORGE, A.O.C., MARQUES, J.L., RIBEIRO, M.S. Redução microbiana por terapia fotodinâmica. Relato de casos clínicos. Anais do 1^o. Encontro Nacional da ABLO, Maceió- AL, 01-03/05/2002.
- ⁷⁰ PERSSON, L.G.; BERGLUNDH, T.; LINDHE, J.; SENNERBY, L. Re-osseointegration after treatment of peri-implantitis at different implant surfaces. An experimental study in the dog. **Clin Oral Implants Res**, 12:595-603, 2001.
- ⁷¹ FLEMING, I.; NEWMAN, M.G. Antimicrobials in implant dentistry. In: NEWMAN, M.G., KORMAN, K., eds. **Antibiotic/Antimicrobial use in dental practice**. Chicago, Quintessence, 1990. 187p.
- ⁷² HAAS R., DORTBUDAK O, MENS DORFF-POUILLY N., MAILATH G. Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser. **Clin Oral Implants Res**, 8:249-254,1997.
- ⁷³ HAAS R., BARON M, DORTBUDAK O, WATZEK G. Lethal Photosensitization, Autogenous Bone, and e-PTFE Membrane for the Treatment of Peri-implantitis: Preliminary Results. **Int J Oral Maxillofac Surg**, 15:374-382, 2000.
- ⁷⁴ SHIBLI J A, MARTINS M C, NOCITI F H JR, GARCIA V G, MARCANTONIO e JR. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration : a preliminary histologic study in dogs. **J Periodontol**, 74:338-345, 2003.

⁷⁵ KOMERIK, N., NAKANISHI, H., MACROBERT, A.J., HENDERSON, B., SPEIGHT, P., WILSON, M. In Vivo of *Porphyromonas gingivalis* by Toluidine Blue-Mediated Photosensitization in an Animal Model. **Antimicrob Agents Chemother**, 47: 932-940, 2003.



M22870



Ministério
da Ciência
e Tecnologia

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Diretoria de Ensino & Informação Científica e Tecnológica
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3816 - 9148
SÃO PAULO - São Paulo - Brasil
<http://www.ipen.br>

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Turismo do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência e Tecnologia, e associada à Universidade de São Paulo.