

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA MICROINFILTRAÇÃO BACTERIANA NA INTERFACE IMPLANTE/PILAR PROTÉTICO

IN VITRO ANALYSIS OF THE BACTERIAL INFILTRATION IN THE IMPLANT/ABUTMENT INTERFACE CONNECTION

Kátia Regina Prado Nasser¹, Silvia Maria Rodrigues Querido^{2*}, Graziella Nuernberg Back Brito², Luís Otávio Palhari³

¹Especialista em Implantodontia pelo Programa de Pós-graduação Lato Sensu, Centro Universitário FUNVIC,, Pindamonhangaba-SP

²Docente do curso de Odontologia e do Programa de Pós-graduação Lato Sensu, Centro Universitário FUNVIC,, Pindamonhangaba-SP

³Docente do Programa de Pós-graduação Lato Sensu, Centro Universitário FUNVIC,, Pindamonhangaba-SP

*Correspondência: silviamrquerido@gmail.com

RECEBIMENTO: 28/07/20 - ACEITE: 05/10/20

Resumo

A infiltração bacteriana na interface entre o implante e o conector protético podendo resultar no comprometimento do implante tem sido relatada em diversos estudos. O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* a microinfiltração bacteriana na interface implante/pilar protético, em quatro tipos de implantes produzidos pela empresa Titanium Fix. Os conjuntos implante/pilar protéticos foram inoculados em seu interior por uma solução contendo *Escherichia coli*. Os períodos predeterminados para observação foram 1, 2, 5, 7, e 14 dias após a inoculação. Observou-se se houve extravasamento da solução contaminada para o meio de cultura, por meio de turvamento do mesmo. Verificou-se que o grupo com maior turvamento foi o do tipo Hexágono Interno, com 62,5% de contaminação dos implantes, seguido de Hexágono Externo (50%), Black Fix (37,5%) e Cone Morse (25%). No que se refere à porcentagem de microinfiltração bacteriana entre os quatro grupos experimentais, observou-se que o Hexágono Interno apresentou a maior contaminação (35,71%) e o Cone Morse (14,29%) a menor contaminação. Concluiu-se que todos os grupos de implantes avaliados apresentaram microinfiltração bacteriana, sendo estatisticamente maior no tipo Hexágono Interno. O sistema Cone Morse apresentou a menor infiltração bacteriana.

Palavras-chave: Implantes dentários. Bactérias. Peri-implantite.

Abstract

Bacterial infiltration at the interface between the implant and the prosthetic connector, which may result in impairment of the implant, has been reported in several studies. The objective of the present study was to evaluate *in vitro* bacterial micro leakage at the implant/prosthetic abutment interface, in four types of implants from the company Titanium Fix. The prosthetic implant/abutment sets were inoculated inside with a solution of *Escherichia coli*. The pre-determined observation periods were 1, 2, 5, 7, and 14 days after inoculation. It was observed that the contaminated solution was leaked into the culture medium, by turbidity. It was verified that the group with greater turbidity was the Internal Hexagon type, with 62.5% of contamination of the implants, followed by External Hexagon (50%), Black Fix (37.5%) and Morse Cone (25%). Regarding the percentage of bacterial micro leakage among the four experimental groups, it was observed that the Internal Hexagon had the highest contamination (35.71%) and the Morse Cone (14.29%) the lowest contamination. It was concluded that all groups of implants evaluated presented bacterial micro leakage, being statistically higher in the Internal Hexagon type. Cone Morse system had the lowest bacterial infiltration.

Keywords: Dental implants. Bacteria. Peri-implantitis.

Introdução

Durante muito tempo, a pesquisa em Implantodontia teve seu principal foco na interface óssea e na capacidade de carga funcional dos implantes em longo prazo. Entretanto, considerando que os implantes dentários, em sua maioria, são constituídos por duas peças, tem-se observado frequentemente a ocorrência de peri-implantites. A peri-implantite caracteriza a condição de doença nos tecidos de suporte dos implantes e foi definida no Workshop Europeu de Periodontia em 1993, sendo que o desenvolvimento da doença não deve ser entendido como insucesso do implante.¹

A presença de uma inflamação nos tecidos peri-implantares não significa que inevitavelmente haverá um comprometimento da osseointegração e consequente perda do implante. Isso ocorre em virtude da colonização bacteriana na interface pilar/implante, mesmo a despeito de uma osseointegração adequada e satisfatória.¹⁻³ A maioria dos sistemas de implantes é composta por duas partes principais: uma intraóssea (implante propriamente dito), que é instalada em uma primeira fase cirúrgica (implantes de dois estágios), e a outra uma conexão transmucosa (intermediário), que é instalada normalmente após o período predeterminado para a osseointegração do implante.⁴

A fase de escolha do tipo de conexão do implante e componentes protéticos a serem utilizados é de extrema importância para o sucesso e a previsibilidade do tratamento. O componente ideal terá que possuir uma adaptação justa e passiva ao implante para que não ocorram fendas e acúmulo de biofilme favorecendo a peri-implantite. A contaminação ao redor do implante e especialmente aquela confinada na interface implante/pilar protético, pela proximidade do osso alveolar, sustentaria a ativação de células inflamatórias que podem promover a formação e ativação de osteoclastos, cuja ação resultaria na perda óssea alveolar comprometendo a longevidade dos implantes e podendo ocasionar também a corrosão e oxidação dos parafusos protéticos, possibilitando sua fratura ao longo do tempo.⁵⁻⁷

Estudos têm sugerido que o papel dos microrganismos é um fator que deve ser considerado nos casos de sucesso dos implantes dentários por períodos prolongados.⁸⁻¹⁰ O espaço microscópico existente entre o implante e o componente protético (*microgap*) facilita a infiltração de líquidos e macromoléculas oriundos dos fluidos teciduais e da saliva, mesmo em pacientes que apresentam boa higiene oral.⁸⁻¹⁰

Vários estudos sobre a microbiota presente ao redor de implantes dentários têm sido publicados, sugerindo que patógenos periodontais como *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis* e *Porphyromonas gingivalis* podem habitar o sulco peri-implantar e estarem associados à perda óssea peri-implantar.¹¹⁻¹³ Tais microrganismos periodontopatogênicos e seus produtos metabólicos instalam-se nas fendas existentes entre os componentes do implante e são responsáveis pelo comprometimento dos tecidos peri-implantes, incluindo a perda óssea.^{4,9,14,15}

Diante dessas considerações, pode-se dizer que a chance de contaminação do implante é significativa, ainda mais quando se sabe que a união entre implante/conector protético não é perfeita.^{3,16,17} Tal falha pode favorecer a colonização bacteriana peri-implantar, podendo levar à perda do selamento mucoso peri-implantar, ocorrendo assim alterações dos parâmetros clínicos e microbiológicos dos tecidos peri-implantares.^{6,18-20}

Uma vez que a microinfiltração microbiana pode acarretar o fracasso da reabilitação protética por implantes dentários, o objetivo deste estudo foi avaliar a microinfiltração bacteriana na interface implante/pilar protético, em quatro tipos de implantes fabricados pela empresa Titanium Fix.

Método

Este trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia e Imunologia do Centro Universitário FUNVIC, de Pindamonhangaba e os implantes e componentes protéticos foram fornecidos pela empresa Titanium Fix (São José dos Campos, São Paulo).

Os implantes utilizados apresentavam em comum o tratamento de superfície híbrido com deformação por jateamento e subtração por ácido (superfície porosa e hidrofílica), a forma cilíndrica com ápices cônicos e as roscas com dupla entrada. As características e a divisão dos grupos experimentais estão apresentadas nos Quadro 1 e 2.

Quadro 1- Características dos implantes e grupos experimentais

Sistema	Modelo do Implante	Diâmetro/Comprimento	Referência	Lote	Torque (Ncm)
Hexágono Externo (HE)	Autorrosqueável	4.0 X 10.0 mm	IT 410	149211	32
Hexágono Interno (HI)	Autorrosqueável	4.0 X 10.0 mm	HI 410	180911	32
Cone Morse (CM)	Autorrosqueável	4.0 X 10.0 mm	CM 410	080211	32
Black Fix (BF)	Autorrosqueável	4.0 X 10.0 mm	BF 4010	145011	20

Quadro 2- Características dos pilares protéticos e torques recomendados

Sistema	Modelo do Pilar	Diâmetro	Referência	Lote	Torque (Ncm)
Hexágono Externo (HE)	Pilar UCLA; Titânio com hexágono; Plataforma regular	Regular	AUHT	024210	32
Hexágono Interno (HI)	Pilar UCLA; Titânio com hexágono; Plataforma regular	Regular	IHAUHT	001011	32
Cone Morse (CM)	Pilar provisório parafusado com Octágono; Plataforma regular	Regular	CMAPPT	046110	10
Black Fix (BF)	Pilar temporário com hexágono	3.5/4.0	406.702	077312	20

Neste estudo os conjuntos implante/pilar protéticos foram inoculados em seu interior por uma solução de *Escherichia coli*, cujos prazos pré-determinados para observação foram de 1, 2, 5, 7 e 14 dias após a inoculação. Observou-se se houve extravasamento da solução contaminada para o meio de cultura pelo seu turvamento.

Os procedimentos laboratoriais foram realizados em fluxo laminar (Bancada PACHANE Vertical – lâmpada fluorescente/UV) sob condições assépticas.

A viabilidade da cepa foi confirmada pelo controle positivo de crescimento, inoculado 0,1 µl da suspensão de *Escherichia coli* (referência – 25922 – ATCC), com caldo MacConkey (Difco TM – MacConkey Broth BD – Becton & Dickinson Co. USA) em tubos de ensaio estéreis. Foram inoculados a 37°C, por 48 horas, onde se observou o crescimento bacteriológico pela turvação do caldo de cultura (Tabela 3) (Figura 4).

Dois implantes de cada grupo foram utilizados para confirmação do controle negativo. O meio de cultura seletivo para enterobactérias foi aplicado no interior dos implantes com micropipeta (*Labmate+*, HT, Polônia – 0,1 – 2,0 µl) e colocado em um tubo de ensaio individual estéril (Normax – Portugal – 10 ml), e seus respectivos *swabs* (Tabela

4) (Figura 5), também inoculados a 37°C, por 48 horas.

Com a utilização de kit cirúrgico e luvas estéreis, o torno de bancada foi fixado em uma base dentro de um fluxo laminar sendo então feita a apreensão dos implantes (Figura 1). A inoculação dos implantes foi realizada com 0,1 µl de suspensão padronizada de *Escherichia coli* na porção interna dos implantes com o auxílio de micropipeta, visto que cada sistema possui uma anatomia interna diferente (Figura 2).

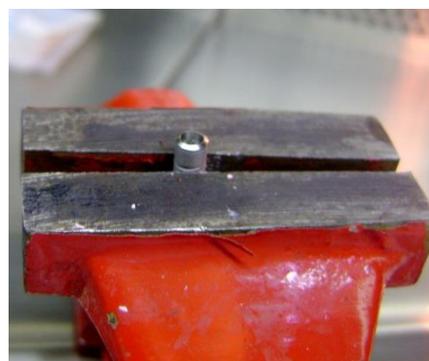


Figura 1- Fixação do implante no torno

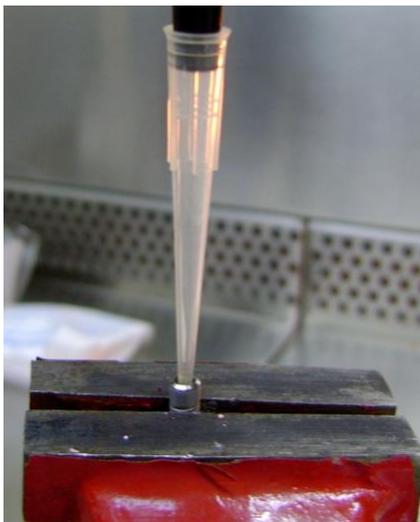


Figura 2- Inoculação dos corpos de prova



Figura 4- *Swab* estéril na interface implante/pilar

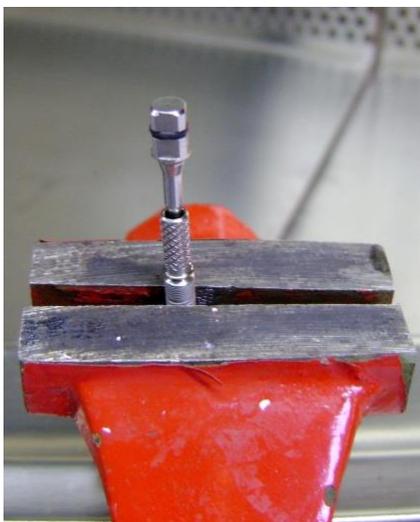


Figura 3- Instalação do pilar protético

Foram aplicados os torques recomendados pelo fabricante (HE e HI – 32 Ncm; cone morse – 10 Ncm e black fix – 20 Ncm) utilizando a chave digital de torque e torquímetro manual da Titanium Fix, obtendo o corpo de prova (Figura 3). Em seguida, os parafusos dos pilares foram selados com guta percha estéreis.

Um *swab* individual estéril (Absorve 23007) foi passado em cada interface implante/pilar para verificar possível contaminação externa (Figura 4). Cada *swab* foi colocado em um tubo de ensaio estéril contendo caldo MacConkey – controle negativo (Figura 5).

Os implantes foram colocados individualmente em tubos de ensaio estéreis, contendo caldo, ficando totalmente cobertos (Figura 5).



Figura 5- Corpo de prova com seu respectivo *swab*

Os tubos de ensaio contendo corpo de prova, *swabs*, controle positivo e o controle negativo foram incubados em estufa para cultura bacteriológica (Odontobrás ECB 1.2 Digital – Ribeirão Preto - SP) a 37°C.

A verificação da contaminação no meio de cultura foi realizada com 1, 2, 5, 7 e 14 dias após a inoculação, por turvação do meio de cultura.

Resultados

Após análise dos *swabs* 24 horas após o experimento, 02 amostras de cada grupo (G1 - HE, G2 - HI, G3 - CM e G4 - BF) apresentaram-se contaminadas após avaliação do controle de extravasamento, portanto foram excluídas do trabalho. A amostragem do estudo consistiu em 08 amostras de 04 modelos de conexões protéticas e seus respectivos implantes: Hexágono Externo, Hexágono Interno, Cone Morse e Black Fix, num total de 32 conjuntos de pilares e implantes.

Foi observado que o grupo G4 (Black Fix) apresentou resultado positivo para o controle de extravasamento da suspensão bacteriana realizado com os *swabs* pós-inoculados avaliados nas primeiras 24 h, indicando que o volume interno do implante foi excedido no teste piloto inicial com 0,3 µL de suspensão. Por isso, o estudo foi refeito com 0,1µL de suspensão de *Escherichia coli*. Foi realizada a verificação da viabilidade bacteriana comprovada através do turvamento do caldo e conferência dos *swabs*. Foram feitas as leituras dos grupos nos dias propostos: 1, 2, 5, 7 e 14 (Tabelas 1 a 4).

Nas 48 horas após inoculação, já se pôde observar os resultados, sendo que o grupo com maior crescimento microbiano, que pode ser evidenciado pelo turvamento do meio de cultura, o G2 – Hexágono Interno, com 62,5% (Tabela 2); G1 – Hexágono Externo, com 50% (Tabela 1); G4 – Black Fix, com 37,5% (Tabela 4) e G3 – Cone Morse, com 25% (Tabela 3) (Figura 6). Relacionando a porcentagem de microinfiltração bacteriana entre os 04 grupos, observamos que o G2(HI) – 35,71% apresentou a maior contaminação e o grupo G3(CM) – 14,29% apresentou a menor contaminação, seguido pelo G4(BF) – 21,43 que também apresenta um sistema de conexão Cone Morse (Figuras 7 e 8).

Tabela 1- Leitura do G1 – Hexágono Externo/Pilar

Leituras	Dias					%
	1	2	5	7	14	
(-)	8	8	8	8	8	100
<i>Swabs</i> (+)	0	0	0	0	0	0
Corpos (-)	7	5	4	4	4	50
de prova (+)	1	3	4	4	4	50

Tabela 2: Leitura do G2 – Hexágono Interno/Pilar

Leituras	Dias					%
	1	2	5	7	14	
(-)	8	8	8	8	8	100
<i>Swabs</i> (+)	0	0	0	0	0	0
Corpos (-)	4	3	3	3	3	37,5
de prova (+)	4	5	5	5	5	62,5

Tabela 3- Leitura do G3 – Cone Morse/Pilar

Leituras	Dias					%
	1	2	5	7	14	
(-)	8	8	8	8	8	100
<i>Swabs</i> (+)	0	0	0	0	0	0
Corpos (-)	7	6	6	6	6	75
de prova (+)	1	2	2	2	2	25

Tabela 4- Leitura do G4 – Black Fix/Pilar

Leituras	Dias					%
	1	2	5	7	14	
(-)	8	8	8	8	8	100
<i>Swabs</i> (+)	0	0	0	0	0	0
Corpos (-)	7	5	5	5	5	37,5
de prova (+)	1	3	3	3	3	62,5

Tabela 5- Porcentagem da microinfiltração bacteriana nos grupos

Grupos	%
G1 - Hexágono Externo	50
G2 - Hexágono Interno	62,5
G3 - Cone Morse	25
G4 - Black Fix	37,5

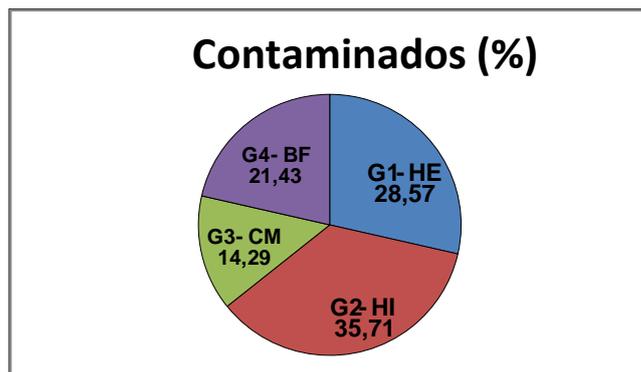


Figura 6- Porcentagem de corpos de prova contaminados e não contaminados por grupo

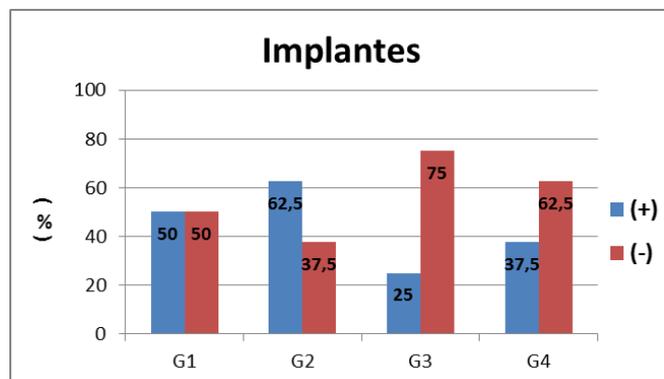


Figura 7- Porcentagem de corpos de prova contaminados por grupo

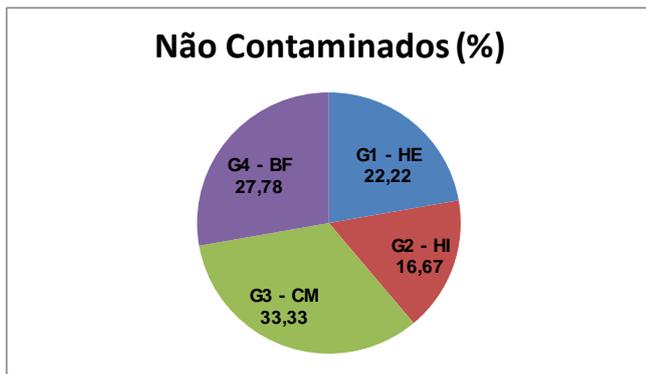


Figura 8- Porcentagem de corpos de prova não contaminados por grupo

Discussão

Os resultados do presente estudo, assim como de outros publicados na literatura atual, visam ao entendimento das possíveis causas que possam resultar no fracasso do tratamento com implantes. Apesar dos excelentes índices de sucesso em reabilitações com implantes osseointegrados, falhas têm sido descritas e relacionadas às técnicas cirúrgicas, aos fatores mecânicos e microbiológicos, frequentemente atuando associados.^{1,3,22} Em longo prazo, o papel dos microrganismos deve ser considerado na sobrevida dos implantes. As bactérias e seus subprodutos podem provocar reações inflamatórias nos tecidos moles peri-implantares.⁴⁻⁷ Três tipos de conexões protéticas utilizadas pelos profissionais da área foram avaliados neste estudo: hexágono externo (HE), hexágono interno, cone morse (CM) e black fix (BF).

Pode-se considerar que as características biológicas relacionadas ao sucesso da reabilitação com implantes estão intimamente relacionadas às características mecânicas dos componentes protéticos envolvidos. A ocorrência da infiltração bacteriana pela interface entre o pilar e o implante acontece em decorrência de muitos fatores que permitem o acúmulo de subprodutos bacterianos, entre os quais se destacam a precisão de adaptação entre os componentes, o grau de micromovimentação entre os componentes e as forças de torque usadas para conectar tais componentes.^{8,13,25}

É importante analisar se os *cover screw* (componente utilizado para vedar o implante no ato de sua instalação antes da sutura dos tecidos), cicatrizadores, pilares provisórios estão desadaptados neste tempo, pois, se isso acontece, pode ocorrer contaminação no interior do implante, acarretando fragilidade e/ou oxidação do implante e, no futuro, da prótese.⁹ A incidência de cargas e o afrouxamento 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.

Estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram a contaminação da porção interna dos implantes rosqueados osseointegráveis, plataforma regular tipo Branemark, por bactérias. A avaliação pode ser pela verificação da passagem das bactérias para o interior do implante ou no sentido contrário.^{4,16} Após 24h, as condições nas partes internas do implante ficaram extremamente adversas à sobrevivência, reprodução e motilidade das bactérias para o meio externo.^{1,10}

Temos que ressaltar também que a metodologia desenvolvida é de difícil execução e apresenta maior possibilidade de falsos resultados por utilizar sistemas diferentes de implantes. A verificação da passagem de bactérias no sentido contrário, ou seja, do interior do implante para o meio externo, parece ser mais confiável, porém, pode ocorrer contaminação externa por extravasamento de microrganismos após a inoculação e instalação do pilar; por este motivo foram considerados apenas aqueles que não apresentaram falha por vazamento na manipulação dos corpos de prova e das superfícies externas dos implantes.

Estudos *in vitro* relatam que a maioria das infiltrações ocorre nos primeiros dois dias de acompanhamento,^{17,26} dados estes que se assemelham com os resultados encontrados no presente estudo. Isto se deve provavelmente pela diminuição de líquido e nutriente para as bactérias, acarretando na diminuição significativa do número delas.

Em vários estudos ficou comprovado que mesmo em conexões do tipo Cone Morse as infiltrações ocorreram.^{8,9,22,26} A infiltração bacteriana parece ser inevitável,¹⁰ entretanto, a forma de conexão na interface do implante desempenha um papel importante na contaminação. Harder et al.¹⁴ utilizando dois sistemas de implante (Astra Tech® e Ankylos®), evidenciaram a contaminação com endotoxinas no grupo Ankylos® após cinco minutos, os demais em até 168 horas.

Os resultados também suportam o fato de que a penetração de bactérias através da interface implante/intermediário ocorre, em diferentes proporções, em todos os sistemas de conexões de implantes,^{2,12,13,18,19} como pudemos comprovar no presente estudo.

Estudos são necessários para se elucidar como os diferentes tipos de implantes comportam-se frente à colonização bacteriana, tanto da superfície externa, quanto das internas dos implantes a fim de possibilitar um aumento na longevidade dessas

reabilitações dentárias e a manutenção da saúde dos tecidos peri-implantares.

Conclusões

Concluiu-se que todos os grupos de implantes avaliados estão sujeitos à microinfiltração bacteriana, embora o percentual de microinfiltração possa variar entre eles. O grupo G2 (Hexágono Interno) foi o de maior percentual e o grupo G3 (sistema Cone Morse) o de menor.

Referências

- Mombelli A, Decaillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol*. 2011;38:203-13.
- Passos SP, Gressler May L, Faria R, Özcan M, Bottino MA. Implant-abutment gap versus microbial colonization: Clinical significance based on a literature review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;101(7):1321-8. DOI: 10.1002/jbm.b.32945.
- Pimentel GHD, Martins LM, Ramos MB, Lorenzoni FC, Queiroz AC. Perda óssea peri-implantar e diferentes sistemas de implantes. *Faculdade de Odontologia de Bauru. Innov Implant J, Biomater Esthet*. 2010;5(2):75-81.
- Cosyn J, Van Aelst L, Collaert B, Persson GR, De Bruyn H. The peri-implant sulcus compared with internal implant and supra structure components: a microbiological analysis. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011;13(4):286-95.
- Assenza B, Tripodi D, Scarano A, Perrotti V, Piattelli A, Iezzi G, et al. Bacterial leakage in implants with different implant-abutment connections: an in vitro study. *J Periodontol*. 2012;83(4):491-7. DOI: 10.1902/jop.2011.110320.
- Mishra SK, Chowdhary R, Kumari, S. Microleakage at the Different Implant Abutment Interface: A Systematic Review. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(6):ZE10-ZE15. DOI: 10.7860/JCDR/2017/28951.10054.
- Corrêa MG, Pimentel SP, Ribeiro FV, Cirano FR, Casati MZ. Host response and peri-implantitis. *Braz Oral Res*. 2019;33(suppl 1):e066. <https://doi.org/10.1590/18073107bor-2019.vol33.0066>
- Dias EC, Bisognin ED, Harari ND, Machado SJ, da Silva CP, Soares GD, et al. Evaluation of implant-abutment microgap and bacterial leakage in five external-hex implant systems: an in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(2):346-51.
- Harder S, Quabius ES, Ossenkop L, Kern M. Assessment of lipopolysaccharide microleakage at conical implant abutment connections. *Clin Oral Investig*. 2012;16(5):1377-84.
- Nassar H I, Abdall MF. Bacterial leakage of different internal implant/abutment connection. *Future Dental Journal*. 2015:1-5. DOI: 10.1016/j.fdj.2015.09.001
- Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand*. 1981;52(2):155-70. DOI: 10.3109/17453678108991776
- Guerra E, Pereira C, Jorge AOC, Bottino MA, Melo RM. Impact of Conical and Nonconical Abutments on Bacterial Infiltration at the Implant-Abutment Interface. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2016;36(6):825-31. DOI: 10.11607/prd.2779.
- Vetromilla BM, Brondani LP, Pereira-Cenci T, Bergoli CD. Influence of different implant-abutment connection designs on the mechanical and biological behavior of single-tooth implants in the maxillary esthetic zone: A systematic review. *J Prosthet Dent*. 2019;121(3):398-403.e3. DOI: 10.1016/j.prosdent.2018.05.007.
- Harder S, Dimaczek B, Acil 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*. 2010;14(4):427-32.
- Lauritano D, Moreo G, Lucchese A, Viganoni C, Limongelli L, Carinci F. The Impact of Implant-Abutment Connection on Clinical Outcomes and Microbial Colonization: A Narrative Review. *Materials (Basel)*. 2020;13(5):11-31. DOI: 10.3390/ma13051131.
- Aloise JP, Curcio R, Laporta MZ, Rossi L, da Silva AM, Rapoport A. Microbial leakage through the implant abutment interface of Morse taper implants in vitro. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(3):328-35. DOI: 10.1111/j.1600-0501.2009.01837.x
- Silva-Neto JP, Nobilo MA, Penatti MP, Simamoto Jr PC, das Neves FD. Influence of methodologic aspects on the results of implant-abutment interface microleakage tests: a critical review of in vitro studies. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(4):793-800.
- Lopes AC, Rezende CEE, Fernandes MS, Weinfeld I. Infiltração bacteriana na interface implante/pilar: considerações ao implantodontista. *RGO - Rev Gaúcha Odontol*. 2010;58(2):239-42.
- Ricomini Filho AP, Fernandes FS, Straioto FG, da

20. Silva WJ, Del Bel Cury AA. Preload loss and bacterial penetration on different implant-abutment connection systems. *Braz Dent J.* 2010;21(2):123-9.
21. Anjos CM, Harari ND, Reis RSA, Vidigal Jr GM. Análise in vitro da infiltração bacteriana na interface de pilares protéticos e implantes cone-morse. *Implant News.* 2011;8(2):239-43.
22. Jansen VK, Conrads G, Richter E. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 1997;12:527-50.
23. Nascimento C, Miani PK, Pedrazzi V, Goncalves RB, Ribeiro RF, Faria AC, et al. Leakage of saliva through the implant-abutment interface: in vitro evaluation of three different implant connections under unloaded and loaded conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012;27(3):551-60.
24. Peruzetto WM, Martinez EF, Peruzzo DC, Joly JC, Napimoga MH. Microbiological Seal of Two Types of Tapered Implant Connections. *Brazilian Dental Journal.* 2016;27(3):273-7. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201600604>.
25. Stoichkov B, Kirov D. Analysis of the causes of dental implant fracture: A retrospective clinical study. *Quintessence Int.* 2018;49(4):279-86. DOI:10.3290/j.qi.a39846.
26. D'Ercole S, Scarano A, Perrotti V, Mulatinho J, Piattelli A, Iezzi G, et al. Implants with internal hexagon and conical implant-abutment connections: an in vitro study of the bacterial contamination. *J Oral Implantol.* 2014 Feb;40(1):30-6. DOI: 10.1563/AAID-JOI-D-11-00121.
27. Alves DCC, Carvalho PSP, Martinez EF. In Vitro Microbiological Analysis of Bacterial Seal at the Implant- Abutment Interface Using Two Morse Taper Implant Models. *Brazilian Dental Journal.* 2014;25(1):48-53. DOI: 10.1590/01036440201302178.