

**UNIVERSIDADE PAULISTA-UNIP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU***  
**EM ODONTOLOGIA**

**IMPACT OF d-PTFE BARRIER INTENTIONALLY EXPOSED  
TO ORAL ENVIRONMENT TO ALVEOLAR RIDGE  
PRESERVATION IN THE MICROBIOME: A RCT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

**SILVIA HELENA GARCIA BRAZ**

**SÃO PAULO**

**2021**

**UNIVERSIDADE PAULISTA-UNIP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU***  
**EM ODONTOLOGIA**

**IMPACT OF d-PTFE BARRIER INTENTIONALLY EXPOSED  
TO ORAL ENVIRONMENT TO ALVEOLAR RIDGE  
PRESERVATION IN THE MICROBIOME: A RCT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernanda Vieira Ribeiro.

**SILVIA HELENA GARCIA BRAZ**

**SÃO PAULO**

**2021**

Braz, Silvia Helena Garcia Braz.

Impact of d-PTFE barrier intentionally exposed to oral environment to alveolar ridge preservation in the microbiome: a RCT / Silvia Helena Garcia Braz. - 2021.

20 f. : il. color. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2021.

Área de concentração: Clínica odontológica.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernanda Vieira Ribeiro.

1. Implantes dentários. 2. Regeneração óssea. 3. Bactérias.  
4. Biofilmes. 5. 16S. I. Ribeiro, Fernanda Vieira (orientadora).  
II. Título.

**SILVIA HELENA GARCIA BRAZ**

**IMPACT OF d-PTFE BARRIER INTENTIONALLY EXPOSED  
TO ORAL ENVIRONMENT TO ALVEOLAR RIDGE  
PRESERVATION IN THE MICROBIOME: A RCT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

\_\_\_\_\_- \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernanda Vieira Ribeiro  
Universidade Paulista – UNIP

\_\_\_\_\_- \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Monica Grazieli Corrêa  
Universidade Paulista – UNIP

\_\_\_\_\_- \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mabelle de Freitas Monteiro  
Universidade de Campinas – UNICAMP

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Ineide e Osvaldo, que, em sua simplicidade, exemplificaram o caminho do bem e nos estimularam, a mim e aos meus irmãos, a trilharmos esse mesmo caminho e a sermos perseverantes.

Ao meu esposo, Fernando, que me apoiou nos momentos difíceis, tendo paciência e me encorajando durante esta jornada.

Aos meus filhos, Gabriel e Marianna, para que o meu esforço seja exemplo de que limites podem ser transformados em desafios.

Ao meu irmão, Eduardo, e às minhas irmãs, Alessandra e Patrícia, por torcerem por mim e comemorem minhas conquistas como deles.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade dos desafios e pela disposição e coragem em encará-los.

Agradeço à toda a equipe da disciplina de Periodontia da Unip, pela organização e estrutura oferecida a mim e aos meus colegas para que pudéssemos desenvolver os nossos trabalhos.

Ao Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati por formar uma equipe tão vencedora e talentosa e pela oportunidade de ouvir seus ensinamentos a cada encontro.

Ao Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano, à Prof.a Dra. Suzana Perez Pimentel e à Profa. Mônica Grazieli Corrêa por participarem de maneira tão brilhantes em minha formação como Mestre.

À minha orientadora, Profa. Dra. Fernanda Vieira Ribeiro, por também ter participado de maneira brilhante em minha formação como Mestre e, para além disso, por ter me pego pela mão e trazido até aqui com tanta paciência e elegância.

Ao meu parceiro, professor Edson Ken Matumoto, por encarar comigo a realização deste projeto. A convivência me mostrou o seu generoso coração, estando sempre pronto a ajudar de maneira organizada e calma, sempre se mostrando disponível. Poder contar com sua parceria foi um privilégio. Obrigada meu amigo!

À Profa. Dra. Mabelle de Freitas Monteiro, por ter se dedicado seu tempo ao processamento e análises do meu trabalho, com tanta capacidade e conhecimento, além de toda ajuda para que o trabalho fosse concluído.

Ao Prof. Dr. Nilton de Bortolli Junior pela oportunidade de participar de um time que presa pela excelência e pelo apoio neste momento de estudo.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Silveira Zanatta pela ajuda e amizade e pelo apoio.

A todos os pacientes por colaborarem de maneira tão comprometida para que realizássemos nossas pesquisas.

Aos funcionários da Unip, em especial ao Oscar, que me acolheram e não pouparam esforços para me ajudar no que precisei.

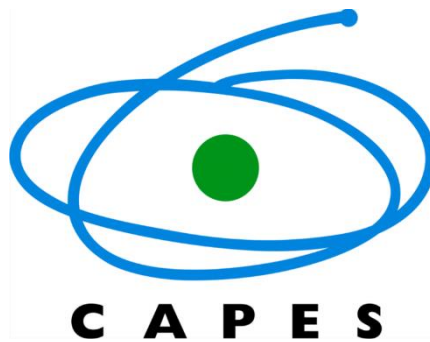
Agradeço especialmente aos meus amigos e companheiros de mestrado, André Marques Chanquini e Vivian A. Machado, por caminharem do meu lado o tempo todo. Um apoiando ao outro. Verdadeiros amigos que a odontologia me trouxe. Obrigada meus amigos!

Enfim, agradeço a todos os meus amigos que, de uma maneira ou de outra, me apoiaram, seja com palavras ou com atitudes ou desafios.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) sob código de financiamento 001.

Meu agradecimento à CAPES/PROSUP pela bolsa recebida.





## RESUMO

Este ensaio paralelo controlado randomizado avaliou o impacto da barreira PTFE-d intencionalmente exposta ao meio oral na regeneração óssea guiada (ROG) para preservação do rebordo alveolar na colonização microbiana, durante a cicatrização óssea. Foram recrutados pacientes com indicação para extração de dentes maxilares unirradiculares e futura reabilitação com terapia com implantes. Os indivíduos foram randomizados em dois grupos após a extração dentária: ROG (Grupo Experimental, n = 20) - extração dentária seguida por terapia de regeneração óssea guiada usando uma membrana PTFE-d intencionalmente exposta ao ambiente oral e Não ROG (Grupo Controle, n = 23) - extração de dente e nenhuma terapia adicional. Amostras de biofilme foram coletadas na superfície externa da barreira no grupo ROG e no local de cicatrização natural no grupo Não ROG após 3 e 28 dias para avaliação do microbioma pelo sequenciamento de DNA usando o sistema Illumina MiSeq e análise de bioinformática. O tratamento ROG foi determinante na modulação da diversidade microbiana. Após 28 dias, o ROG altera as espécies do microbioma central presentes no biofilme e regula a maturação da comunidade. O ROG promoveu a seleção ambiental de microrganismos específicos que permitiram a discriminação das comunidades microbianas para cada tratamento. Após 28 dias, observou-se que o tempo e o tratamento impactam na diversidade beta (weighted Unifrac), e aos 28 dias, diferentes comunidades microbianas foram identificadas entre GBR e não GBR. Embora a maturação do biofilme tenha sido observada dos 3 aos 28 dias em ambos os tratamentos, GRB produziu uma mudança mais significativa entre os períodos de avaliação ( $p = 0,048$ ). A distância de Jaccard entre pares de amostras (3 e 28 dias para cada paciente) revelou que o tratamento ROG promoveu maior perda / ganho de espécies durante o crescimento do biofilme do que o grupo controle ( $p = 0,006$ ), sugerindo que ROG modula o desenvolvimento da microbiota. O microbioma central demonstrou que a ROG, aos 3 dias, já produziu algumas espécies centrais de colonização semelhante a 28 dias. Aos 28 dias, o ROG promoveu as diferenças mais significativas, passando a ser caracterizado por espécies anaeróbicas como *Catonella morbi*, *Gemella morbillorum* e pertencentes aos gêneros *Selenomonas*, *Peptostreptococcaceae* e *Ruminocaccaceae*, enquanto o grupo Não ROG apresentou espécies aeróbicas de colonizadores precoces como *Rothia mucilaginosa*, *Streptococcus* e *Haemophilus*, indicando que essa terapia altera as espécies centrais do biofilme e regula a maturação da comunidade. Por fim, o presente estudo demonstrou que

a barreira PTFE-d intencionalmente exposta ao meio oral na ROG conduziu a colonização microbiana em uma área regenerada, modulando a velocidade de maturação do biofilme e criando uma comunidade mais homogênea e anaeróbia após 28 dias de preservação do rebordo alveolar.

Palavras-chave: Implantes Dentários. Regeneração óssea. Bactérias. Biofilmes. 16S.

## ABSTRACT

This randomized controlled parallel trial evaluated the impact of the PTFE-d barrier intentionally exposed to the oral environment on guided bone regeneration (ROG) to preserve the alveolar ridge in microbial colonization during bone healing. Patients were recruited with an indication for extraction of uniradicular maxillary teeth and future rehabilitation with implant therapy. Subjects were randomized into two groups after tooth extraction: ROG (Experimental Group, n = 20) - tooth extraction followed by guided bone regeneration therapy using a PTFE-d membrane intentionally exposed to the oral environment and Non-ROG (Control Group, n = 23) - tooth extraction and no additional therapy. Biofilm samples were collected on the outer surface of the barrier in the ROG group and at the natural healing site in the Non-ROG group after 3 and 28 days for evaluation of the microbiome by DNA sequencing using the Illumina MiSeq system and bioinformatics analysis. The ROG treatment was instrumental in modulating microbial diversity. After 28 days, the ROG changes the species of the central microbiome present in the biofilm and regulates the maturation of the community. The ROG promoted the environmental selection of specific microorganisms that allowed the discrimination of microbial communities for each treatment. After 28 days, it was observed that time and treatment impact beta diversity (weighted Unifrac), and at 28 days, different microbial communities were identified between GBR and non-GBR. Although the biofilm maturation was observed from 3 to 28 days in both treatments, GRB produced a more significant change between the evaluation periods ( $p = 0.048$ ). The Jaccard distance between pairs of samples (3 and 28 days for each patient) revealed that the ROG treatment promoted greater loss / gain of species during the growth of the biofilm than the control group ( $p = 0.006$ ), suggesting that ROG modulates the microbiota development. The central microbiome demonstrated that ROG, at 3 days, already produced some central species of colonization similar to 28 days. At 28 days, the ROG promoted the most significant differences, becoming characterized by anaerobic species such as *Catonella morbi*, *Gemella morbillorum* and belonging to the genera *Selenomonas*, *Peptostreptococcaceae* and *Ruminocaccaceae*, while the Non ROG group presented aerobic species of early colonizers such as *Rothia mucilaginosa*, *Streptococcus* and *Haemofilus*, indicating that this therapy alters the central species of the biofilm and regulates the maturation of the community. Finally, the present study demonstrated that the PTFE-d barrier intentionally exposed to the oral environment in the ROG led to microbial colonization in a regenerated area, modulating the maturation speed

of the biofilm and creating a more homogeneous and anaerobic community after 28 days of preservation of the alveolar ridge.

Key-words: Dental Implants. Bone Regeneration. Bacteria. Biofilms. Microbiome. 16s.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A terapia com implantes dentais tem sido amplamente utilizada na reabilitação de pacientes parcial e totalmente edêntulos, com altas taxas de sucesso clínico em longo prazo (Jung et al., 2008; Jung et al., 2012; Tev et al., 2017). No entanto, o volume ósseo insatisfatório pode inviabilizar a utilização de implantes ou resultar em complicações indesejáveis, como exposição da superfície do implante, redução do contato osso/implante, formação de deiscências ou fenestrações para obtenção de um correto posicionamento do mesmo e maior risco de infecções peri-implantares (Chrcanovic et al., 2016; De Kok et al., 2019; Jovanovic, 1994; Newman, Flemmig, 1988; Von Stein-Lausnitz et al., 2019; Zablotsky et al., 1991).

Em geral, durante o curso natural de reparo do alvéolo após a exodontia, ocorre remodelação óssea alveolar acompanhada de atrofia do rebordo, gerando contração vertical e horizontal da crista óssea alveolar (Araújo, Lindhe, 2005; Araújo, Lindhe, 2009; Chapuis et al., 2017; Horváth et al., 2013; Schropp et al., 2003; Van der Weijden, Dell'Acqua, Slot, 2009). Desse modo, protocolos para a preservação do rebordo alveolar durante procedimentos de exodontias são importantes a fim de que o subsequente tratamento com implantes dentais seja realizado da melhor forma possível, visando a maior sobrevida dos implantes e o maior sucesso protético dessa terapia, tanto do ponto de vista estético quanto funcional (Ávila-Ortiz, Chambrone, Vignoletti, 2019; Bassir et al., 2018).

É importante ressaltar que muitos estudos na literatura analisaram o papel da regeneração óssea guiada (ROG) associada a enxertos ósseos ou outras abordagens terapêuticas em alvéolos pós-extração (Hu et al., 2021; Scheyer et al., 2016; Walker et al., 2017). As barreiras de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e), um dos polímeros mais utilizados na ROG, é inerte, estável e não induz reações imunológicas (Sheikh et al., 2014). Porém, a exposição da membrana de PTFE-e à cavidade oral pode induzir a colonização bacteriana e comprometer os resultados desejados em termos de ganho ósseo (Carbonell et al., 2014; Horváth et al., 2013; Liu, Kerns, 2014; Trobos et al., 2018; Turri et al., 2020).

Frente à necessidade do aprimoramento da técnica de ROG com as barreiras convencionalmente utilizadas, membranas de PTFE de alta densidade (PTFE-d) passaram a ser estudadas (Trobos et al., 2018). As barreiras de PTFE-d são bioinertes, densas, não expandidas e não permeáveis (Bartee, Carr, 1995). Adicionalmente, como alternativa às membranas de PTFE-e ou membranas absorvíveis, cujos macroporos (5-30  $\mu\text{m}$ ) favorecem a incorporação bacteriana, as barreiras de PTFE-d, por apresentarem o tamanho dos poros

reduzidos, poderiam minimizar os efeitos deletérios ocasionados pela eventual exposição da mesma ao meio bucal. Essa vantagem relacionada às barreiras de PTFE-d estaria relacionada à menor dimensão dos poros (0,2- 0,4  $\mu\text{m}$ ), reduzindo as chances de contaminação bacteriana e prevenindo o acúmulo de microorganismos na barreira, ainda que em contato com o ambiente oral (Bartee, 1995; Bartee, 1998).

Neste contexto, Krauser (1996) examinaram em microscopia eletrônica de varredura (MEV) membranas de PTFE-d que ficaram expostas por 21 dias, mostrando ocasionais células semelhantes a fibroblastos e sem bactérias na superfície, sugerindo que esse material seria interessante para ROG, sem risco significativo de infecção. Posteriormente, em um estudo *in vitro*, Sela et al. (1999) mostraram que a aderência e colonização de periodontopatógenos foram maiores em barreiras de colágeno absorvíveis do que em membranas de PTFE-d ou PTFE-e, não havendo diferenças na propriedade de adesão bacteriana entre os materiais de PTFE. Apesar dos estudos iniciais sobre esse biomaterial serem da década de 90, a maior parte da literatura existente focou no estudo das barreiras de PTFE-e e poucas pesquisas investigaram o impacto de membranas de PTFE-d em tratamentos regenerativos, seja na regeneração óssea como na regeneração tecidual guiada.

É importante observar, porém, que, embora alguns poucos estudos (Cheon et al., 2017; De Carvalho et al., 2019; Fotek, Neiva, Wang, 2009; Hoffmann et al., 2008; Sun, Lim, Lee, 2019; Yun, Jun, Oh, 2011) apontem benefícios do uso da membrana de PTFE-d utilizada com a técnica “aberta” para ROG, sugerindo que esta abordagem seja capaz de oferecer benefícios à regeneração de alvéolos pós-extração minimizando, concomitantemente, a invasão bacteriana, ainda não há evidências clínicas investigando, de maneira controlada, o real impacto dessa abordagem regenerativa na colonização bacteriana. Deste modo, o presente estudo propôs-se a avaliar, pela primeira vez na literatura, de forma prospectiva e controlada, por meio de avaliações do microbioma, a influência da exposição intencional ao meio bucal de barreiras de PTFE-d, usadas na ROG pós-exodontia, no perfil de colonização bacteriana durante o processo de reparo ósseo.

## **2 CONCLUSÃO GERAL**

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que o procedimento ROG e a membrana PTFE-d exposta impulsionam a colonização microbiana em uma área regenerada, promovendo uma rápida maturação do biofilme e estabelecendo uma comunidade mais homogênea e anaeróbia após 28 dias de ROG.



## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2005;32:212-218.

Araújo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2009 Jun;20(6):545-9.

Ávila-Ortiz G, Chambrone L, Vignoletti F. Effect of alveolar ridge preservation interventions following tooth extraction: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2019 Jun;46 Suppl 21:195-223. doi: 10.1111/jcpe.13057. Erratum in: *J Clin Periodontol.* 2020 Jan;47(1):129. PMID: 30623987.

Ávila-Ortiz G, Gubler M, Romero-Bustillos M, Nicholas CL, Zimmerman MB, Barwacz CA. Efficacy of Alveolar Ridge Preservation: A Randomized Controlled Trial. *J Dent Res.* 2020 Apr;99(4):402-409. doi: 10.1177/0022034520905660. Epub 2020 Feb 12. PMID: 32050833.

Barboza EP, Stutz B, Ferreira VF, Carvalho W. Guided bone regeneration using nonexpanded polytetrafluoroethylene membranes in preparation for dental implant placements--a report of 420 cases. *Implant Dent.* 2010 Feb;19(1):2-7. doi: 10.1097/ID.0b013e3181cda72c. PMID: 20147810.

Bartee BK, Carr JA. Evaluation of a high-density polytetrafluoroethylene (n-PTFE) membrane as a barrier material to facilitate guided bone regeneration in the rat mandible. *J Oral Implantol.* 1995;21(2):88-95.

Bartee BK. Evaluation of a new polytetrafluoroethylene guided tissue regeneration membrane in healing extraction sites. *Compend Contin Educ Dent.* 1998 Dec;19(12):1256-8, 1260, 1262-4.

Bartee BK. The use of high-density polytetrafluoroethylene membrane to treat osseous defects: clinical reports. *Implant Dent.* 1995; 4: 21–26.

Bassir SH, Alhareky M, Wangsrimongkol B, Jia Y, Karimbux N. Systematic Review and Meta-Analysis of Hard Tissue Outcomes of Alveolar Ridge Preservation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2018 Sep/Oct;33(5):979-994. doi: 10.11607/jomi.6399. PMID: 30231083.

Bokulich NA, Dillon MR, Zhang Y, Rideout JR, Bolyen E, Li H, et al. q2-longitudinal: Longitudinal and paired-sample analyses of microbiome data. *mSystems.* 2018b;3:e00219-e318.

Bokulich NA, Kaehler BD, Rideout JR, Dillon M, Bolyen E, Knight R, et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome.* 2018a;6(1):90.

Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology.* 2019; 37:852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.

Bradshaw DJ, Marsh PD, Allison C, Schilling KM. Effect of oxygen, inoculum composition and flow rate on development of mixed-culture oral biofilms. *Microbiology (Reading)*. 1996;142(Pt 3):623-629. doi:10.1099/13500872-142-3-623.

Bueno J, Sánchez MC, Toledano-Osorio M, Figuero E, Toledano M, Medina-Castillo AL, et al. Antimicrobial effect of nanostructured membranes for guided tissue regeneration: an in vitro study. *Dent Mater*. 2020;36(12):1566-1577. doi:10.1016/j.dental.2020.09.011.

Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016;13:581-583.

Carbonell JM, Martin IS, Santos A, Pujol A, Sanzmoliner JD, Nart J. High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: a literature review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014; 43: 75–84.

Chappuis V, Araújo MG, Buser D. Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction in esthetic sites. *Periodontol 2000*. 2017 Feb;73(1):73-83. doi: 10.1111/prd.12167. PMID: 28000281.

Cheon GB, Kang KL, Yoo MK, Yu JA, Lee D. Alveolar Ridge Preservation using Allografts and dPTFE membranes with Open Membrane Technique in Unhealthy Extraction Sockets. *J Oral Implantol*. 2017 Jun 8.

Dabdoub SM, Fellows ML, Paropkari AD, Mason MR, Huja SS, Tsigarida AA, et al. PhyloToAST: Bioinformatics tools for species-level analysis and visualization of complex microbial datasets. *Sci Rep*. 2016 Jun 30;6:1-9.

De Carvalho Formiga M, Dayube URC, Chiapetti CK, de Rossi Figueiredo D, Shibli JA. Socket Preservation Using a (Dense) PTFE Barrier with or without Xenograft Material: A Randomized Clinical Trial. *Materials (Basel)*. 2019 Sep 8;12(18):2902. doi: 10.3390/ma12182902. PMID: 31500375; PMCID: PMC6766191.

De Kok IJ, Duqum IS, Katz LH, Cooper LF. Management of Implant/Prosthetic Complications. *Dent Clin North Am*. 2019 Apr;63(2):217-231. doi: 10.1016/j.cden.2018.11.004. Epub 2019 Feb 5. PMID: 30825987.

De Sanctis M, Zucchelli G, Clauser C. Bacterial colonization of barrier material and periodontal regeneration. *J Clin Periodontol*. 1996;23(11):1039-1046. doi:10.1111/j.1600-051x.1996.tb00534.x.

De Sanctis M, Zucchelli G, Clauser C. Bacterial colonization of bioabsorbable barrier material and periodontal regeneration. *J Periodontol*. 1996;67(11):1193-1200. doi:10.1902/jop.1996.67.11.1193.

Escapa I, Huang Y, Chen T, Lin M, Kokaras A, Dewhirst FE, Lemon KP. Construction of habitat-specific training sets to achieve species-level assignment in 16S rRNA gene datasets. *Microbiome*. 2020 May 15;8(1):65. doi: 10.1186/s40168-020-00841-w.

Fedarko MW, Martino C, Morton JT, González A, Rahman G, Marotz CA, et al. Visualizing 'omic feature rankings and log-ratios using Qurro. *NAR Genom Bioinform.* 2020 Jun;2(2):lqaa023. doi: 10.1093/nargab/lqaa023. Epub 2020 Apr 28

Fotek PD, Neiva RF, Wang HL. Comparison of dermal matrix and polytetrafluoroethylene membrane for socket bone augmentation: a clinical and histologic study. *J Periodontol.* 2009;80:776–85.

Hoffmann O, Bartee BK, Beaumont C, Kasaj A, Deli G, Zafiroopoulos G-G. Alveolar Bone Preservation in Extraction Sockets Using Non-Resorbable dPTFE Membranes: A Retrospective Non-Randomized Study. *J Periodontol.* 2008;79:1355-1369.

Horváth A, Mardas N, Mezzomo LA, Needleman IG, Donos N. Alveolar ridge preservation. A systematic review. *Clin Oral Investig.* 2013 Mar;17(2):341-63.

Hu KF, Lin YC, Huang YT, Chou YH. A retrospective cohort study of how alveolar ridge preservation affects the need of alveolar ridge augmentation at posterior tooth implant sites. *Clin Oral Investig.* 2021 Jan 11. doi: 10.1007/s00784-021-03778-y. Epub ahead of print. PMID: 33432420.

Jovanovic SA. Diagnosis and treatment of peri-implant disease. *Curr Opin Periodontol.* 1994:194-204. PMID: 8032461.

Jung RE, Pjetursson BE, Glauser R, Zembic A, Zwahlen M, Lang NP. A systematic review of the 5-year survival and complication rates of implant-supported single crowns. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Feb;19(2):119-30. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01453.x. Epub 2007 Dec 7. PMID: 18067597.

Jung RE, Zembic A, Pjetursson BE, Zwahlen M, Thoma DS. Systematic review of the survival rate and the incidence of biological, technical, and aesthetic complications of single crowns on implants reported in longitudinal studies with a mean follow-up of 5 years. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Oct;23 Suppl 6:2-21. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02547.x. PMID: 23062124.

Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 2002;30:3059-3066.

Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan 7;41(1):e1.

Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(7):471-480. doi:10.1038/nrmicro2381

Krauser JT. High-density PTFE membranes: uses with root-form implants. *Dent Implantol Update.* 1996;7:65–9.

Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *Open Dent J.* 2014; 8: 56–65.

Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71:8228-8235.

Lozupone CA, Hamady M, Kelley ST, et al. Quantitative and qualitative beta diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73:1576-1585.

Mandarino D, Luz D, Moraschini V, Rodrigues DM, Barboza ESP. Alveolar ridge preservation using a non-resorbable membrane: randomized clinical trial with biomolecular analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018 Nov;47(11):1465-1473. doi: 10.1016/j.ijom.2018.06.011. Epub 2018 Jul 14. PMID: 30954146.

Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes?. *Microbiology (Reading).* 2003;149(Pt 2):279-294. doi:10.1099/mic.0.26082-0.

Martin M. Cutadapt Removes Adapter Sequences From High-Throughput Sequencing Reads. *EMBnet Journal.* 2011;17, 10-12. DOI: <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>.

Mazzucchi G, Lollobrigida M, Laurito D, Di Nardo D, Berlutti F, Passariello C, et al. Microbiological and FE-SEM Assessment of d-PTFE Membrane Exposed to Oral Environment after Alveolar Socket Preservation Managed with Granular nc-HA. *J Contemp Dent Pract.* 2020 Apr 1;21(4):404-409. PMID: 32584277.

Morton JT, Marotz C, Washburne A, Silverman J, Zaramela LS, Edlund A, et al. Establishing microbial composition measurement standards with reference frames. *Nat Commun.* 2019 Jun 20;10(1):2719. doi: 10.1038/s41467-019-10656-5.

Newman MG, Flemmig TF. Periodontal considerations of implants and implant associated microbiota. *J Dent Educ.* 1988 Dec;52(12):737-44. PMID: 3057018.

Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2—approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE.* 2010;5:e9490.

Rudolf JL, Moser C, Sculean A, Eick S. In-vitro antibiofilm activity of chlorhexidine digluconate on polylactide-based and collagen-based membranes. *BMC Oral Health.* 2019 Dec 26;19(1):291. doi: 10.1186/s12903-019-0979-y. PMID: 31878907; PMCID: PMC6933891.

Scheyer ET, Heard R, Janakievski J, Mandelaris G, Nevins ML, Pickering SR, et al. A randomized, controlled, multicentre clinical trial of post-extraction alveolar ridge preservation. *J Clin Periodontol.* 2016 Dec;43(12):1188-1199.

Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23:313-323.

Sela MN, Steinberg D, Klinger Krausz AA, Kohavi D. Adherence of periodontopathic bacteria to bioabsorbable and non-absorbable barrier membranes in vitro. *Clin Oral Implants Res.* 1999;10:445–52.

Sheikh Z, Abdallah M, Hamdan N, Javaid M, Khurshid Z, Matlinna K. Barrier membranes for tissue regeneration and bone augmentation techniques in dentistry. In: MATINLINNA J, ed. *Handbook of oral biomaterials*. Singapore: Pan Stanford Publishing, 2014; 605–636

Spellerberg IF, Fedor PJ. A tribute to Claude Shannon (1916–2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the 'Shannon–Wiener' Index. *Global ecology and biogeography.* 2003; 12(3):177–9.

Sun DJ, Lim HC, Lee DW. Alveolar ridge preservation using an open membrane approach for sockets with bone deficiency: A randomized controlled clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019 Feb;21(1):175–182. doi: 10.1111/cid.12668. Epub 2018 Nov 5. PMID: 30394672; PMCID: PMC6587521.

Tey VHS, Phillips R, Tan K. Five-year retrospective study on success, survival and incidence of complications of single crowns supported by dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2017 May;28(5):620–625. doi: 10.1111/clr.12843. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27334865.

Trobos M, Juhlin A, Shah FA, Hoffman M, Sahlin H, Dahlin C. In vitro evaluation of barrier function against oral bacteria of dense and expanded polytetrafluoroethylene (PTFE) membranes for guided bone regeneration. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2018 Oct;20(5):738–748. doi: 10.1111/cid.12629. Epub 2018 Jul 24. PMID: 30039909.

Turri A, Čirgić E, Shah FA, Hoffman M, Omar O, Dahlin C, et al. Early plaque formation on PTFE membranes with expanded or dense surface structures applied in the oral cavity of human volunteers [published online ahead of print, 2020 Nov 9]. *Clin Exp Dent Res.* 2020;10.1002/cre2.344. doi:10.1002/cre2.344.

Van der Weijden F, Dell'Acqua F, Slot DE. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2009;36:1048–1058.

Von Stein-Lausnitz M, Nickenig HJ, Wolfart S, Neumann K, Von Stein-Lausnitz A, Spies BC, et al. Survival rates and complication behaviour of tooth implant-supported, fixed dental prostheses: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2019 Sep;88:103167. doi: 10.1016/j.jdent.2019.07.005. Epub 2019 Jul 12. PMID: 31306691.

Walker CJ, Prihoda TJ, Mealey BL, Lasho DJ, Noujeim M, Huynh-Ba G. Evaluation of Healing at Molar Extraction Sites With and Without Ridge Preservation: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol.* 2017 Mar;88(3):241–249.

Yun JH, Jun CM, Oh NS. Secondary closure of an extraction socket using the double-membrane guided bone regeneration technique with immediate implant placement. *J Periodontal Implant Sci.* 2011 Oct;41(5):253–8. doi: 10.5051/jpis.2011.41.5.253. Epub 2011 Oct 31. PMID: 22087417; PMCID: PMC3213237.

Zablotsky M, Meffert R, Caudill R, Evans G. Histological and clinical comparisons of guided tissue regeneration on dehisced hydroxylapatite-coated and titanium endosseous implant surfaces: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1991;6(3):294-303.

Zucchelli G, Pollini F, Clauser C, De Sanctis M. The effect of chlorhexidine mouthrinses on early bacterial colonization of guided tissue regeneration membranes. An in vivo study. *J Periodontol.* 2000 Feb;71(2):263-71. doi: 10.1902/jop.2000.71.2.263. PMID: 10711617.