

UNIVERSIDADE PAULISTA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E PROTEÔMICO NA REGIÃO
TRANSCUTÂNEA DE IMPLANTES EXTRAORAIS EM
DIFERENTES CONDIÇÕES CLÍNICAS**

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

DANIELA LATTUF CORTIZO

SÃO PAULO

2023

UNIVERSIDADE PAULISTA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E PROTEÔMICO NA REGIÃO
TRANSCUTÂNEA DE IMPLANTES EXTRAORAIS EM
DIFERENTES CONDIÇÕES CLÍNICAS**

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

Orientador: Prof. Dr. Luciano Lauria Dib

DANIELA LATTUF CORTIZO

SÃO PAULO

2023

Cortizo, Daniela Lattuf.

Perfil microbiológico e proteômico na região transcutânea de implantes extraorais em diferentes condições clínicas/ Daniela Lattuf Cortizo. - 2023.

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

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2023.

Área de concentração: Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Lauria Dib.

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati.

1. Microbioma. 2. Proteoma. 3. Implante extraoral.
4. Reabilitação facial. 5. 16S. I. Dib, Luciano Lauria (orientador).
II. Casati, Márcio Zaffalon (coorientador). III. Título.

DANIELA LATTUF CORTIZO

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E PROTEÔMICO NA REGIÃO
TRANSCUTÂNEA DE IMPLANTES EXTRAORAIS EM
DIFERENTES CONDIÇÕES CLÍNICAS**

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

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Monica Valeria Veneziano Labatte
ESALQ - USP

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Mabelle de Freitas Monteiro
Universidade Paulista - UNIP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Marcio Zaffalon Casatti
Universidade Paulista - UNIP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Renato Correa Vianna Casarin
FOP - UNICAMP

_____/_____/_____
Prof. Dr. Luciano Lauria Dib
Universidade Paulista - UNIP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de pesquisa ao meu orientador Luciano Lauria Dib, por ter me mostrado a importância de ser uma pesquisadora científica na área de reabilitação BMF. Assim como, aos pacientes oncológicos que sofrem com a ressecção de partes da face e confiaram a mim seus cuidados, a fim de descobrir as causas das infecções nos implantes extraorais que retém a prótese. Alguns deles não estão mais entre nós, mas como os outros desprovidos de qualquer vaidade nos permitiram fotografar seus rostos para que servissem de estudo e exemplo para ajudar muitos que passam pelo mesmo problema.

Nossos pacientes são exemplo de vida, pois continuam lutando e têm a certeza de que tudo é um grande aprendizado.

Sinceramente, muito obrigada!

Daniela Lattuf Cortizo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo privilégio da vida e muitas oportunidades para continuar meu trabalho de pesquisa, que eu tanto me dediquei. Aos meus pais e minhas irmãs, por acreditarem na minha escolha e me apoiarem nos meus objetivos.

Agradeço a todos os desafios que apareceram durante essa jornada de Doutorado, à pandemia do COVID-19, que eu acreditava que estava somente nos livros de história e foi muito importante para que eu seguisse na luta pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Aos professores que foram sempre exemplo de dedicação ao ensino e realmente têm o dom de transformar o mundo, pois conseguem isso em de cada aluno, mesmo que estes lhes apresentem muitos problemas, tudo fica mais fácil com o apoio do professor. Agradeço a Prof.^a Dr.^a Marina Soligo e Profa. Dra. Cintia Saraceni, professores da UNIP, membros da banca, por estarem presentes e acreditarem na evolução científica de novos profissionais passando suas diretrizes, críticas e conhecimento. À Prof.^a Dr.^a Mônica Labate, por se sensibilizar com a nossa causa da pesquisa e não medir esforços em participar com seus conhecimentos e análises. Assim como, ao Prof. Dr. Renato Casarin, que esteve presente desde o início do projeto, agora em outro país, acreditando na importância do projeto para os pacientes, me auxiliou com seus conhecimentos, sendo fundamental para o projeto e meu aprendizado.

Agradeço ao meu Orientador Prof. Dr. Luciano Dib, por ter me orientado no mestrado e doutorado, deixando meu desenvolvimento cada vez mais completo. Sem sua interferência, ele acreditou no meu potencial e me apoiou a buscar novos caminhos, sempre que aquele inicial se fechava.

Agradeço aos colegas de Pós-Graduação, por participarem das coletas, por serem companheiros e por deixarem tudo mais leve e divertido. Agradeço à CAPES-PROSUP e CNPQ-UNIVERSAL, pelo auxílio com a bolsa de estudo e financiamento respectivamente.

Obrigada!

“Você encontra sua missão de vida quando os desafios aparecem
e você os enfrenta”

Autor desconhecido

“Todos os sonhos podem se tornar realidade, se tivermos coragem
de persegui-los”

Walt Disney

“Ninguém bate mais forte do que a vida, o importante é se levantar
e continuar lutando, e assim é que você ganha!”

filme Roky IV

RESUMO

Objetivo: A proposta do presente estudo foi investigar os perfis microbiológico, proteômico e a resposta imunológica dos pacientes, na pele ao redor dos implantes extraorais, utilizados para a retenção de próteses faciais, nas condições de saúde e doença. Métodos: Foram selecionados para o presente estudo 12 pacientes de acordo com os critérios descritos por Holgers *et al.* (1988), para coleta de amostras na região transcutânea de pilar e implante, sendo um em condição de saúde (graus 0 e 1) e outro de doença (graus 2,3 e 4). No total 24 amostras foram coletadas, sendo 12 no grupo Doença e 12 no grupo Saúde. Foi avaliado o perfil microbiológico das amostras, por meio da extração de DNA e sequenciamento. Para este estudo, foi utilizado o primer 16S pela Illumina Miseq 2x250bp, e selecionada a região V3-V4 do gene. As análises foram feitas por meio de ferramentas de bioinformática, (QIIME2-2020, arquivos FASTQ desmultiplexados, METAGENOM, BIOsource, EBio), para a identificação bacteriana. Foi realizada a análise proteômica por meio da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS), e as análises estatísticas, utilizando-se o software Metaboanalyst. Resultados: Os resultados do microbioma identificaram diversidade alfa e beta na comunidade microbiana nos dois grupos, sendo que no grupo doença houve abundância de *Streptococcus Intermedius*, *Corynebacterium Diphtheriae* e *Prevotella Bivia* em relação ao grupo saúde. A análise proteômica evidenciou uma diferenciação de proteínas entre os dois grupos, sendo maior riqueza e abundância no grupo saúde em relação ao grupo doença. Conclusão: A investigação dos perfis estudados demonstrou diferenças entre os grupos no microbioma e proteoma que podem responder questões relativas à diferença de comportamento clínico e que impactam o sucesso da reabilitação. O crescimento bacteriano em abundância e diversidade no grupo doença foi um fator evidente, responsável pela diferenciação dos grupos, relacionado ao ponto específico de diferenciação das proteínas entre os grupos e influenciando diretamente na resposta imunológica dos pacientes. Novos estudos com maior amostragem devem ser realizados para correlacionar o impacto desses achados nas condições periimplantares e sucesso da osseointegração.

Palavras chaves: Implantes extraorais; 16S RNA; Microbioma, proteoma; Reabilitação facial.

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study was to investigate the microbiological, proteomic and immunological response profiles of patients in the skin around extraoral implants, used for retaining facial prostheses, in health and disease conditions. **Methods:** Twelve patients were selected for this study according to the criteria described by Holgers et al. (1988), for collection of samples in the transcutaneous region of the abutment and implant, one in health condition (grades 0 and 1) and the other in disease condition (grades 2, 3 and 4). A total of 24 samples were collected, 12 in the Disease group and 12 in the Health group. The microbiological profile of the samples was evaluated through DNA extraction and sequencing. For this study, the 16S primer by Illumina Miseq 2x250bp was used, and the V3-V4 region of the gene was selected. Analyzes were performed using bioinformatics tools (QIIME2-2020, demultiplexed FASTQ files, METAGENOm, BIOsource, EBio), for bacterial identification. Proteomic analysis was performed using liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UHPLC-MS/MS), and statistical analyzes were performed using the Metaboanalyst software. **Results:** The results of the microbiome identified alpha and beta diversity in the microbial community in both groups, and in the disease group there was an abundance of *Streptococcus Intermedius*, *Corynebacterium Diphtheriae* and *Prevotella Bivia* in relation to the health group. The proteomic analysis showed a differentiation of proteins between the two groups, with greater richness and abundance in the health group in relation to the disease group. **Conclusion:** The investigation of the studied profiles showed differences between the groups in the microbiome and proteome that can answer questions related to the difference in clinical behavior and that impact the success of rehabilitation. The bacterial growth in abundance and diversity in the disease group was an evident factor, responsible for the differentiation of the groups, related to the specific point of differentiation of the proteins between the groups and directly influencing the immunological response of the patients. New studies with larger samples should be carried out to correlate the impact of these findings on peri-implant conditions and success of osseointegration.

Key-words: Extraoral implants; 16S RNA; Microbiome; Proteome; Facial rehabilitation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DDT – diiodotritol

Fig. – figura(s)

g. – gramas

nm – nanômetro

pb – pares de base

UHPLC-MS/MS – Ultra-high performance liquid chromatograph - Spectrometria de massa

uL– micro litro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 CONCLUSÃO GERAL.....	14
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	15

1 INTRODUÇÃO

Implantes extraorais osseointegráveis são utilizados para promover a retenção de próteses faciais em pacientes oncológicos com ressecção. A higienização insuficiente no espaço entre o pilar e o implante, bem como no espaço entre a pele e a armação, contribuem para o acúmulo de crostas ao redor dos implantes produzindo reações de pele (1-6). O estudo de Holgers et al. (1988), classificou as reações de pele ao redor dos pilares transmucosos, variando na escala de 0 a 4, procurando estabelecer uma relação entre o diagnóstico e a terapêutica associada (7).

A origem das reações de pele está localizada na região transcutânea do pilar-implante, onde o pilar encontra-se posicionado sobre a flange do implante extraoral, local onde se forma um infiltrado inflamatório, sujeito à microbiota patogênica, com presença de células polimorfonucleares e células B plasmocitárias, além de fatores exógenos, pois há movimentação da pele ao redor do pilar (8, 9).

Para redução dessa reação inflamatória local, modificações nos padrões dos pilares de implantes foram propostas. A redução do tecido subcutâneo e a remoção do folículo piloso foram preconizadas para diminuir a movimentação da pele ao redor do conector de implante, evitando que houvesse espaço entre a região transcutânea e o pilar-implante (RTPI), suscetível de colonização bacteriana local (10-12). Outros autores, preconizam cirurgia sem afinamento subcutâneo, sugerindo que a eliminação deste tecido poderia reduzir a resposta imunológica local, importante no processo de cicatrização (13, 14).

Recentemente, estudos microbiológicos e de mensuração do micro espaço pilar-implante foram realizados em um novo modelo de implante(15). Este implante apresenta modificações na forma de conexão pilar-implante, demonstrando diminuição da infiltração bacteriana local (12). Entretanto, ainda não é sabido o possível impacto na saúde peri-implantar, em relação ao padrão microbiano e inflamatório.

Alguns estudos, realizaram uma avaliação da comunidade microbiana nas próteses faciais, identificando alguns patógenos, que podem estar relacionados a infecções locais, como *S. mutans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. grabata*, foram presentes nas cavidades abertas e nas próteses, em contato com a pele sendo enviados para avaliação anti microbiana e protocolo de higiene. Estudos comparativos entre as regiões de pele sem prótese e com prótese e observaram um

aumento significativo da presença de bactérias e fungos quando da presença da prótese, incluindo mais espécies como *P. mirabilis*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *P. avidum*, *C. amicolatum* (16, 17). Entretanto, em relação à região peri-implantar de implantes extraorais observam-se poucos trabalhos (18).

A comunidade microbiana identificada na saúde e inflamação em região mastóide foi avaliada por um estudo do microbioma, com melhor definição na localização de implantes extraorais, os quais retém um aparelho auditivo, BAHA, onde foram comparadas as regiões de pele de um lado auricular sem implantes e do outro com a retenção do aparelho auditivo, onde foram associados alguns microorganismos como *S. aureus* e *S. epidermidis* que mostraram relevante associação com a inflamação percutânea no local do *peri-abutment* BAHA. Outras bactérias também foram identificadas, com baixo nível de patogenicidade como *S. hominis* e *S. pneumoniae/mitis*. Estes estudos demonstram a importância da identificação da comunidade microbiana ao redor dos implantes, com e sem doença, a fim de identificar as de com maior relação com a infecção (18, 19).

Os dados obtidos nas análises do microbioma e proteoma estão relacionados com as condições de saúde e inflamação, baseado na literatura serão realizadas buscas de identificação da comunidade microbiana e perfil proteico em região de ressecção orbitária.

O conceito de disbiose e simbiose determina como o microbioma humano interfere no organismo e a reação de resposta do hospedeiro frente a este, podendo indicar em algumas situações de disbiose, casos de doenças autoimunes, má nutrição, alergias, distúrbios neurológicos e baixa imunidade, entre outras causas. Mediadores inflamatórios e citocinas, grande grupo de proteínas, peptídeos ou glicoproteínas, foram identificados como sendo associados ao processo de inflamação e resposta imunitária. Como por exemplo IL-6 e citocina pró-inflamatória são responsáveis pela reabsorção de colágeno em tecido gengival e IL-10, atuando como anti-inflamatória. Essas análises descritas se tornam muito indicadas também para a avaliação da imunidade do paciente oncológico, como para saber qual a relação de resposta do paciente com o microbioma na região transcutânea dos implantes extraorais (20-23).

Estudos com análise proteômica realizadas na região de peri-implantite intraoral demonstraram o aumento da concentração e diversidade de proteínas responsáveis pela inflamação peri-implantar e também pela perda de implantes.

Estudos pré e pós tratamentos revelaram a variação das proteínas locais, provavelmente responsáveis pela modificação da microbiota, neoformação óssea e regeneração tecidual local (15, 24-30). Esses estudos na implantologia oral promoveram uma grande modificação do conhecimento, mostrando a necessidade de avaliar as proteínas, para conhecer potencial do organismo específico no local do estudo e fazer a avaliação imunológica do paciente, a fim de se estabelecer a terapêutica individualizada e com maiores perspectivas de sucesso (31, 32).

As proteínas desempenham um importante papel na probabilidade de adesão microbiana e devem ser mais bem estudadas com a análise proteômica em pacientes que usam próteses oculopalpebrais. Algumas modificações nas estruturas dos implantes e pilares podem ser melhor avaliadas e modificadas após este estudo, para que tenham menor probabilidades de adesão e colonização microbiana, como o uso de nanopartículas de prata que são incorporadas em implantes de titânio na região de coluna vertebral e outras possibilidades (33), para isso deve-se conhecer melhor a comunidade microbiana e as proteínas e saber se há ou não relação com a imunidade dos pacientes.

Na literatura, não há estudos sobre análise proteômica relacionados à comunidade microbiana e resposta imunológica em implantes extraorais com as próteses faciais, o que impede a possibilidade de estabelecimento de tratamentos específicos para reduzir essas complicações, tão comuns e que afetam a sobrevida dos implantes. O conhecimento do microbioma por análise de sequenciamento de DNA, a avaliação do proteoma por espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS) e a avaliação da resposta imunológica dos pacientes são fundamentais e apropriados para o estabelecimento de condutas terapêuticas na RTPI. Estes métodos já validados para avaliar, identificar, qualificar e quantificar as espécies de microrganismos e proteínas, permitem a avaliação também de espécies não cultiváveis, podendo-se comparar as vias de resposta do organismo, relacionando-os a estes eventos (24, 25, 30, 34).

Dessa maneira, a proposta do presente estudo foi investigar o perfil microbiológico e proteômico na pele ao redor dos pilares transcutâneos dos implantes extraorais, na saúde e na inflamação juntamente com as vias de respostas dos pacientes. Diante da ausência de literatura sobre esses aspectos no campo da implantologia facial, o presente estudo pode trazer resultados importantes para a compreensão sobre o tema, contribuindo para o diagnóstico e terapêutica específica

associada à resposta imunológica individualizada, levando ao aumento do sucesso e longevidade dos implantes extraorais (35-40).

2 CONCLUSÃO GERAL

A investigação do perfil microbiológico e proteômico ao redor dos pilares transcutâneos dos implantes extraorais, *evidenciou diferenças nos pacientes em condições de saúde e doença periimplantar, documentadas pelas análises de bioinformática*. A diferenciação das funções das proteínas nos grupos estudados, demonstrou relação de deficiência da resposta imune relacionada com o aumento em abundância na comunidade microbiana patogêna, no grupo doença constatando disbiose local. Os resultados obtidos trazem novas perspectivas para a compreensão dos fatores relacionados às reações inflamatórias periimplantares que afetam o sucesso da osseointegração, novos estudos devem ser realizados para ampliar o conhecimento do papel desses fatores.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”, e com o “financiamento de pesquisa do Conselho Nacional De Desenvolvimento Científico e Tecnológico da UNIVERSAL- CNPQ – processo número 402453/2021-2”.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery Supplementum*. 1977;16:1-132.
2. Oliveira JA, Abrahao M, Dib LL. Extraoral implants in irradiated patients. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*. 2013;79(2):185-9.
3. Tjellstrom A, Lindstrom J, Hallen O, Albrektsson T, Branemark PI. Osseointegrated titanium implants in the temporal bone. A clinical study on bone-anchored hearing aids. *The American journal of otology*. 1981;2(4):304-10.
4. Toljanic JA, Eckert SE, Roumanas E, Beumer J, Huryn JM, Zlotolow IM, et al. Osseointegrated craniofacial implants in the rehabilitation of orbital defects: an update of a retrospective experience in the United States. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2005;94(2):177-82.
5. van Oort RP, Reintsema H, van Dijk G, Raghoobar GM, Roodenburg JL. Indications for extra-oral implantology. *Journal of investigative surgery : the official journal of the Academy of Surgical Research*. 1994;7(4):275-81.
6. Beumer J, Curtis T, Marunick M. Maxillofacial rehabilitation: prosthodontic and surgical considerations. St Louis: Ishiyaku EuroAmerica, Inc. 1996:240-285.
7. Holgers KM, Tjellstrom A, Bjursten LM, Erlandsson BE. Soft tissue reactions around percutaneous implants: a clinical study of soft tissue conditions around skin-penetrating titanium implants for bone-anchored hearing aids. *The American journal of otology*. 1988;9(1):56-9.
8. Cornejeros J.M.T. GJD, Puchades V. M., Rocher F. P., Navas P. E.,. Comparison of Skin complications between dermatome end U-graft technique in BAHA surgery. *Acta Otorrinolaringologica Española*. 2009.
9. Baldassarri M, Hjerpe J, Romeo D, Fickl S, Thompson VP, Stappert CF. Marginal accuracy of three implant-ceramic abutment configurations. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2012;27(3):537-43.
10. Larsson A, Wigren S, Andersson M, Ekeröth G, Flynn M, Nannmark U. Histologic evaluation of soft tissue integration of experimental abutments for bone anchored hearing implants using surgery without soft tissue reduction. *Otol Neurotol*. 2012;33(8):1445-51.
11. Granstrom G. Craniofacial osseointegration. *Oral diseases*. 2007;13(3):261-9.

12. de Souza RS, Suffredini IB, Cortizo DL, Larsson A, Nannmark U, Dib LL. In Vitro Analysis of the Implant-Abutment Interface Connection and Bacterial Infiltration in Two Extraoral Implant Models. *The International journal of oral & maxillofacial implants.* 2020;35(1):63-9.
13. Falcone M.T. KDM, Lambadie R. F.,Haynes D. S. Bone anchored hearing aid abutment skin overgrowth reduction with Clobetasol. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;139:829-32.
14. Cass SPM, P.A. Bone-anchored hearing devices: indications, outcomes, and the linear surgical technique. *Operative Techniques in Otolaryngology - Head and Neck Surgery* 2010;vol.21:pages 197-206.
15. Verardi G, Cenci MS, Maske TT, Webber B, Santos LR. Antiseptics and microcosm biofilm formation on titanium surfaces. *Brazilian oral research.* 2016;30.
16. Ariani N, Vissink A, van Oort RP, Kusdhany L, Djais A, Rahardjo TB, et al. Microbial biofilms on facial prostheses. *Biofouling.* 2012;28(6):583-91.
17. Ariani N, Visser A, Teulings MR, Dijk M, Rahardjo TB, Vissink A, et al. Efficacy of cleansing agents in killing microorganisms in mixed species biofilms present on silicone facial prostheses--an in vitro study. *Clinical oral investigations.* 2015;19(9):2285-93.
18. Calon TGA, Trobos M, Johansson ML, van Tongeren J, van der Lugt-Degen M, Janssen AML, et al. Microbiome on the Bone-Anchored Hearing System: A Prospective Study. *Frontiers in microbiology.* 2019;10:799.
19. Johansson ML, Calon TGA, Omar O, Shah FA, Trobos M, Thomsen P, et al. Multimodal Analysis of the Tissue Response to a Bone-Anchored Hearing Implant: Presentation of a Two-Year Case Report of a Patient With Recurrent Pain, Inflammation, and Infection, Including a Systematic Literature Review. *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 2021;11:640899.
20. Belibasakis GN, Bostanci N, Marsh PD, Zaura E. Applications of the oral microbiome in personalized dentistry. *Archives of oral biology.* 2019;104:7-12.
21. Sanz-Martin I, Doolittle-Hall J, Teles RP, Patel M, Belibasakis GN, Hammerle CHF, et al. Exploring the microbiome of healthy and diseased peri-implant sites using Illumina sequencing. *Journal of clinical periodontology.* 2017;44(12):1274-84.
22. Ata-Ali J, Flichy-Fernandez AJ, Alegre-Domingo T, Ata-Ali F, Palacio J, Penarrocha-Diago M. Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: a prospective cross-sectional study. *BMC oral health.* 2015;15:43.

23. Pimentel SP, Shiota R, Cirano FR, Casarin RCV, Pecorari VGA, Casati MZ, et al. Occurrence of peri-implant diseases and risk indicators at the patient and implant levels: A multilevel cross-sectional study. *Journal of periodontology*. 2018;89(9):1091-100.
24. Pantaroto HN, Amorim KP, Matozinhos Cordeiro J, Souza JGS, Ricomini-Filho AP, Rangel EC, et al. Proteome analysis of the salivary pellicle formed on titanium alloys containing niobium and zirconium. *Biofouling*. 2019;35(2):173-86.
25. Esberg A, Isehmed C, Holmlund A, Lundberg P. Peri-implant crevicular fluid proteome before and after adjunctive enamel matrix derivative treatment of peri-implantitis. *Journal of clinical periodontology*. 2019;46(6):669-77.
26. de Avila ED, Lima BP, Sekiya T, Torii Y, Ogawa T, Shi W, et al. Effect of UV-photofunctionalization on oral bacterial attachment and biofilm formation to titanium implant material. *Biomaterials*. 2015;67:84-92.
27. Shibli JA, Martins MC, Lotufo RF, Marcantonio E, Jr. Microbiologic and radiographic analysis of ligature-induced peri-implantitis with different dental implant surfaces. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2003;18(3):383-90.
28. Marcantonio Junior E, Romito GA, Shibli JA. Peri-implantitis as a "burden" disease. *Brazilian oral research*. 2019;33(suppl 1):e087.
29. de Barros Lucena GA, de Molon RS, Moretti AJ, Shibli JA, Rego DM. Evaluation of Microbial Contamination in the Inner Surface of Titanium Implants Before Healing Abutment Connection: A Prospective Clinical Trial. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 2018;33(4):853-62.
30. Correa MG, Pimentel SP, Ribeiro FV, Cirano FR, Casati MZ. Host response and peri-implantitis. *Brazilian oral research*. 2019;33(suppl 1):e066.
31. Blank E, Grischke J, Winkel A, Eberhard J, Kommerein N, Doll K, et al. Evaluation of biofilm colonization on multi-part dental implants in a rat model. *BMC oral health*. 2021;21(1):313.
32. Korsch M, Marten SM, Stoll D, Prechtel C, Dotsch A. Microbiological findings in early and late implant loss: an observational clinical case-controlled study. *BMC oral health*. 2021;21(1):112.
33. Secinti KD, Ozalp H, Attar A, Sargon MF. Nanoparticle silver ion coatings inhibit biofilm formation on titanium implants. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2011;18(3):391-5.

34. Monteiro MF, Altabtbaei K, Kumar PS, Casati MZ, Ruiz KGS, Sallum EA, et al. Parents with periodontitis impact the subgingival colonization of their offspring. *Scientific reports*. 2021;11(1):1357.
35. Artier J, da Silva Zandonadi F, de Souza Carvalho FM, Pauletti BA, Leme AFP, Carnielli CM, et al. Comparative proteomic analysis of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* periplasmic proteins reveals changes in cellular envelope metabolism during in vitro pathogenicity induction. *Molecular plant pathology*. 2018;19(1):143-57.
36. Galloway-Pena JR, Jenq RR, Shelburne SA. Can Consideration of the Microbiome Improve Antimicrobial Utilization and Treatment Outcomes in the Oncology Patient? *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2017;23(13):3263-8.
37. Galloway-Pena JR, Smith DP, Sahasrabhojane P, Wadsworth WD, Fellman BM, Ajami NJ, et al. Characterization of oral and gut microbiome temporal variability in hospitalized cancer patients. *Genome medicine*. 2017;9(1):21.
38. Korvala J, Jee K, Porkola E, Almangush A, Mosakhani N, Bitu C, et al. MicroRNA and protein profiles in invasive versus non-invasive oral tongue squamous cell carcinoma cells in vitro. *Experimental cell research*. 2017;350(1):9-18.
39. Laskowski RA, Watson JD, Thornton JM. From protein structure to biochemical function? *Journal of structural and functional genomics*. 2003;4(2-3):167-77.
40. Rezende HD, Almeida APM, Shimoda E, Milagre ACX, Almeida LM. Study of skin neoplasms in a university hospital: integration of anatomopathological records and its interface with the literature. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2019;94(1):42-6.