



Romeu Belon Fernandes Filho

**Avaliação da rugosidade, corrosão e aderência
bacteriana no Titânio comercialmente puro
após ação de fluoretos em diferentes períodos**

ARARAQUARA
2008



Romeu Belon Fernandes Filho

Avaliação da rugosidade, corrosão e aderência bacteriana no Titânio comercialmente puro após ação de fluoretos em diferentes períodos

Dissertação apresentado a Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Periodontia.

Orientador: *Profº Drº Ricardo Samih Georges Abi Rached*

Co-orientador: *Profº Drº Luis Geraldo Vaz*

ARARAQUARA

2008

Fernandes Filho, Romeu Belon.

Avaliação da rugosidade, corrosão e aderência bacteriana no titânio comercialmente puro após ação de fluoretos em diferentes períodos / Romeu Belon Fernandes Filho. – Araraquara: [s.n.], 2008.

90 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador : Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached

Co-orientador: Prof. Dr. Luís Geraldo Vaz

1. Titânio 2. Fluoretos 3. Corrosão 4. Aderência bacteriana
5. Microscopia de força atômica 6. Microscopia eletrônica de varredura I. Título

Romeu Belon Fernandes Filho

Avaliação da rugosidade, corrosão e aderência
bacteriana no Titânio comercialmente puro após ação
de fluoretos em diferentes períodos

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE

COMISSÃO JULGADORA

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached

2º Examinador: Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon

3º Examinador: Prof. Dr. Gelson Luis Adabo

Araraquara, 01 de abril de 2008.

DADOS CURRICULARES

Romeu Belon Fernandes Filho

NASCIMENTO	17.07.1981 Iepê - SP
FILIAÇÃO	Romeu Belon Fernandes Darcy Santana Vizzotto Belon
2000/2003	<i>Curso de Graduação em Odontologia</i> Universidade de São Paulo, USP – Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.
2004/2006	<i>Especialização em Implantodontia</i> Fundação Araraquarense de Ensino e Pesquisa Odontológica, FAEPO – UNESP Araraquara, São Paulo, Brasil.
2006/2008	<i>Pós-Graduação em Periodontia – Nível Mestrado</i> Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

FILOSOFIA DO SUCESSO

"Napoleon Hill"

" Se você pensa que é um derrotado,
você será derrotado.

Se não pensar, quero intensamente,
não conseguirá nada.

Mesmo que você queira vencer,
mas acha que não vai conseguir,
a vitória não sorrirá para você.

Se você fizer as coisas pela metade,
você será um fracassado.

Nós descobrimos, neste mundo,
que o sucesso começa pela intenção da gente
e tudo se determina pelo nosso espírito.

Se você pensa que é um malogrado,
se torna como tal.

Se você almeja atingir uma posição mais elevada deve,
antes de obter a vitória,
dotar-se da convicção de que conseguirá infalivelmente.

A luta pela vida nem sempre é vantajosa
aos fortes, nem aos espertos.

Mais cedo ou mais tarde,

Quem cativa à vitória é aquele que crê plenamente:

EU CONSEGUIREI!"

Dedicatória

A Deus

Meu maior mestre, meu Senhor, minha vida. Agradeço pela força, luz e por estar sempre presente em meu coração.

Ao meu pai Romeu

Meu maior incentivador na busca pelo conhecimento e o estudo. Meu eterno mestre e orientador na formação pessoal e profissional. Mesmo ausente após sua morte, seus princípios e ensinamentos prevalecem. A saudade é grande, mas sei que onde está continua cuidando dos meus passos e me abençoando na busca diária de tentar ser uma pessoa melhor e deixar algo de bom nessa vida passageira. Para mim é um orgulho e uma grande responsabilidade ter o mesmo nome que o seu.

A minha esposa Fernanda

Agradeço a Deus todos os dias por ter colocado você na minha vida. Minha mulher, obrigado pelo amor, incentivo, carinho, paciência e o companheirismo. Meu porto seguro, com você do meu lado a vida e os desafios são mais prazerosos.

A minha mãe Darcy

Obrigado por sempre acreditar em mim, pelo imenso amor, pelas rezas, pelo carinho, o apoio financeiro, as palavras amigas nos momentos de dificuldade e por entender minhas limitações. Você e meu pai são responsáveis por todas as minhas conquistas. Muito obrigado.

A minhas irmãs, cunhados e sobrinhos

Obrigado por me proporcionarem uma família tão extraordinária, bonita e feliz. A distância às vezes nos separa, mas no coração vocês estão sempre presentes. Vocês são fundamentais na minha vida.

As famílias Belon e Vizzotto

Tenho orgulho de fazer parte dessas famílias de pessoas tão lutadoras, guerreiras e perseverantes. A vocês meu eterno amor e agradecimento.

Agradecimentos especiais

Ao meu orientador Ricardo Abi Rached

Por ter me aceitado como orientado, pela disponibilidade e principalmente por confiar em meu trabalho.

Ao meu co-orientador Luis Geraldo Vaz

Pela atenção, amizade, carinho, confiança e disponibilidade. Obrigado por possibilitar meu crescimento científico, acadêmico e pessoal durante esses anos de pós-graduação. Serei eternamente grato a você!

A colega de pós-graduação Juliana Rico

Pela atenção e disponibilidade em sempre me ajudar, pela convivência agradável, pela amizade e pelo empenho no desenvolvimento deste trabalho.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, na pessoa de sua Diretora **Prof.^a Dr.^a Rosemary Adriana Chierici Marcantonio** e seu Vice-Diretor, **Prof. Dr. José Cláudio Martins Segala**, pelas condições para realização desta pesquisa.

À Coordenadora do curso de Pós-Graduação em Periodontia, **Prof.^a Dr.^a Silvana Regina Perez Orrico**, pela dedicação, competência e esforço empreendidos na realização deste curso.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa: **Roberto, Naná, Cássia, Aline, Glícea, Marcela e Sabrina** por todos os momentos que passamos juntos, pelo crescimento pessoal e profissional.

Aos docentes da disciplina de Periodontia e outras que se dedicaram às disciplinas durante curso de mestrado: **Silvana Regina Perez Orrico, José Eduardo Cezar Sampaio, Rosimary Adriana Chiérici Marcantonio, Élcio Marcantonio Júnior, Carlos Rossa Júnior, Joni Augusto Cirelli, Benedito Egbert Corrêa de Toledo e Ricardo Abi Rached, Elaine Maria Sgavioli Massucato, Glória Maria Thompson, Miriam Aparecida Onofre, Luís Carlos Spolidorio, Denise Madalena Palomari Spolidorio, Ary dos Santos Pinto, Mônica da Costa Serra**, pela excelente formação, competência, disponibilidade e conhecimentos transmitidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos do mestrado, doutorado e estagiários da UNESP: **Wagner, Andrés, Rubens, Sabrina, Rodrigo, Naná, Roberta, Aline, Marina, Yeon, Fernanda Bello, Dani Gonçalves, Gaby, Vanessa, Roberto, Bia, Dani Zandim, Rafaela, Alliny, Joseane, Miltom, Débora, Jú Ricco, Dani Spirandelli, Jú Moraes, Ishi, Andréa, Patrícia, Fernando, Ana Emília, Carla, Rafael Faeda, Rafael Sartori, Xicó e Fábio** o convívio com cada um de vocês me fez uma pessoa mais feliz!

Aos Funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia: **Regina Lúcia, Cláudinha, Zezé, Dona Maria do Rosário, Dona Tereza, Sueli, Toninho e Telma** pelo agradável convívio diário, dedicação e respeito.

A todos os Professores e Funcionários do **Departamento de Prótese e Materiais Odontológicos**, pelo convívio e amizade.

Aos Funcionários da Seção de Pós-Graduação **Alexandre, Sylvia, Rosângela, Flávia** e em especial a **Mara**, pela dedicação, amizade e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos **Funcionários da Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pela dedicação e gentileza em todos os momentos.

À **Profa. Dra. Denise Spolidorio**, por ter permitido a realização deste trabalho no Laboratório de Microbiologia desta Faculdade.

Aos professores do curso de especialização em Implantodontia: **Dr. Elcio, Elcio Júnior, Luís Borreli, Roberto Barbeiro, Francisco Mollo, Rogério Margonar e Rodolfo Boeck** pelos ensinamentos, humildade, disponibilidade e amizade.

A **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP** por proporcionar a excelente formação profissional e pessoal, além de alguns dos melhores anos da minha vida.

Ao colega de pós-graduação do IQ-UNESP **Ronald Tarantam** pelas análises em microscopia de força atômica.

Às técnicas do laboratório de Microbiologia por toda ajuda, carinho, paciência, amizade e atenção **Juliana e Sônia.**

A **Família Bello Corrêa** sempre presentes, apoiando, incentivando e torcendo por mim. Foi um grande presente ganhar essa nova família.

Aos meus amigos de república e de todos os momentos: **Roberto, Miltinho, Rubinho, Andrés, Wagner, Durval, João Marcos, Odari Júnior, Renato, Paula Nakazone, Gaby, Ju Rico, Andreza, Fer Lessa, Lícia, Khaís, Tia Rosangela, Théssia, os amigos da Especialização em Implantodontia** e tantos outros, uns perto, outros mais distantes, mas sempre me incentivando, apoiando nos momentos difíceis, curtindo os momentos de alegria e tornando minha vida muito mais feliz.

A todos aqueles que direta e indiretamente tornaram possível este trabalho,

O meu eterno reconhecimento.

SUMÁRIO

1 Introdução.....	16
2 Revisão de literatura.....	19
3 Proposição.....	35
4 Material e Método.....	36
Preparação das amostras.....	36
Aplicação dos fluoretos.....	37
Análise por microscopia de força.....	38
Análise por microscopia eletrônica de varredura.....	40
Avaliação da adesão bacteriana.....	41
5 Resultado.....	44
6 Discussão.....	70
7 Conclusão.....	82
8 Referências.....	83

Lista de abreviaturas e símbolos

μm	Micrômetro
μm^2	Micrômetro quadrado
$\mu\text{W}/\text{cm}^2$	Microwatts por centímetro quadrado
μl	Microlitro
Aa	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
Área	Área superficial projetada
ASMT	American Society for Testing Materials
BHI-caldo	Brain-Heart-Infusion – Infusão de coração-cerebro
EDX	Espectroscopia de dispersão de raios X
F^-	Íon fluoreto
HCl	Ácido clorídrico
HF	Ácido fluorídrico
HNO_3	Ácido nítrico
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
kg	Quilograma
kV	Quilovolts
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MFA	Microscopia de força atômica
ml	Mililitro
MO	Microorganismos
nm	Nanômetro

NaCl	Cloreto de sódio
NaF	Fluoreto de sódio
Na ₂ TiF ₆	Fluorotitanato de sódio
NiTi	Liga de níquel titânio
pH	Atividade de íons hidrogênio
ppm	Partes por milhão
Ra	Avarege roughness - Rugosidade média
Rms	Root mean square - Rugosidade média quadrática
rpm	Rotações por minuto
SB-20	Meio de cultura específico para crescimento de <i>S. mutans</i>
Ti cp	Titânio comercialmente puro
Ti-6Al-7Nb	Liga titânio alumínio nióbio
Ti-6Al-4V	Liga titânio alumínio vanádio
Ti-45Ni	Liga titânio - 45% níquel
TiN	Nitreto de titânio
TiO ₂	Dióxido de titânio
TiPd	Liga de titânio paládio
TiPt	Liga de titânio platina
UFC/ml	Unidades formadoras de colônias por mL
ZrN	Nitreto de zircônio
3D	Imagem em 3 dimensões

Fernandes Filho RB. Avaliação da rugosidade, corrosão e aderência bacteriana no titânio comercialmente puro após ação de fluoretos em diferentes períodos [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a rugosidade superficial e o processo de corrosão do titânio comercialmente puro (Ti cp), após simular períodos de contato com fluoretos de 5 (G5), 10 (G10), 15 (G15) e 20 (G20) anos, bem como avaliar a aderência de *S. mutans* nestas superfícies. Para cada respectivo período, discos de Ti cp foram previamente polidos e então imersos em solução fluoretada a 0,15% (1500 ppm, pH 5,3) ou em água destilada como controle (G0). A rugosidade média (Ra), rugosidade média quadrática (Rms) e a área superficial projetada (Área) foram avaliadas por microscopia de força atômica (MFA) antes e após a imersão. As mesmas superfícies foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV e EDX) e a aderência dos *S. mutans* avaliada pela contagem das unidades formadoras de colônia (UFC/ml). Todos os grupos teste aumentaram significativamente a Ra, Rms e Área após a imersão em solução fluoretada. Entretanto, na comparação entre os grupos (Kruskall-Wallis), somente a Área foi estatisticamente diferente. Os grupos G10 ($p=0,008$), G15 ($p=0,014$) e G20 ($p<0,001$) apresentaram maior Área quando comparados com G0. A análise por MEV mostrou a presença de corrosão por *pits* e uma superfície irregular em todos os grupos teste. O G0 não sofreu alteração em nenhum parâmetro avaliado. O EDX mostrou a presença de compostos de Ti-F-Na incorporados à superfície do G20. Na contagem das UFC/ml, o grupo G20 apresentou maior aderência que G0 e G5. Conclui-se que os íons fluoretos em baixa concentração foram capazes de promover corrosão do Ti cp em todos os grupos teste e alteraram a Área do Ti cp ao longo do tempo. Adicionalmente, a aderência bacteriana mostrou-se maior no período mais longo de exposição.

PALAVRAS CHAVE: Titânio; fluoretos; corrosão; aderência bacteriana; microscopia de força atômica; microscopia eletrônica de varredura.

Fernandes Filho RB. Evaluation of roughness, corrosion and bacteria adherence in commercially pure titanium after fluoride action in different periods [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the superficial roughness and the corrosion process of commercially pure titanium Ti cp, after simulating different periods of fluoride contact: 5 (G5), 10 (G10), 15 (G15) e 20 (G20) years, as well as the adherence of *S mutans* in those surfaces. For each respective period, Ti cp discs were previously polished and than submersed in fluoride solution 0.15% (1500 ppm, pH 5.3) or distilled water as control group (G0). The average roughness (Ra), root mean square roughness (Rms) and scanned area (Area) were assessed for atomic force microscopy (AFM) before and after the immersion. The same surfaces were examined for scanned electron microscopy (SEM, EDX) and *S mutans* adherence calculated by the counting of colony forming units (CFU/ml). All test groups increased significantly the Ra, Rms and Area after the immersion in fluoride solution. However, the comparison among the groups (Kruskall-Wallis), only the area showed significant difference. The groups G10 ($p=0.008$), G15 ($p=0.014$) and G20 ($p<0.001$) showed higher Area compared with G0. The SEM analysis showed the presence of corrosion by pits and irregular surface in all test groups. The G0 did not change for any parameter evaluated. The EDX showed the presence of Ti-F-Na in the surface of samples from G20. In the counting of CFU/ml, the G20 resulted in higher bacteria adherence compared with G0 and G5 (ANOVA, $p=0.015$). In conclusion the fluoride ions in low concentration promoted corrosion in Ti cp from all test groups and altered the Area of Ti cp over the time. Moreover, the longer is the period of immersion in fluoride solution, higher is the bacteria adherence.

KEY WORDS: Titanium; fluoride; corrosion; bacterial adherence; atomic force microscopy; scanned electron microscopy.

INTRODUÇÃO

O titânio tem sido amplamente usado como material odontológico na fabricação de implantes, e o alto índice de sucesso deste biomaterial é devido a uma combinação favorável de excelentes propriedades mecânicas, resistência à corrosão e biocompatibilidade¹⁵. As propriedades da superfície do titânio são particularmente relevantes para o primeiro contato do organismo com o biomaterial, garantindo estabilidade e possibilitando a ocorrência do processo de osseointegração²⁶. A estabilidade a longo prazo dos implantes dentários depende da integração do implante com o osso adjacente e os tecidos moles¹³, e também da relação com o ambiente bucal, que é particularmente favorável a biodegradação dos metais devido a suas características iônicas, térmicas, microbiológicas e enzimáticas¹⁰.

A corrosão é o resultado de reações eletroquímicas que ocorrem entre um material metálico e o meio ambiente ao redor. A presença de uma densa e estável camada de óxido formada na superfície do titânio é responsável por uma resistência superior à corrosão deste material³¹. Essa camada, conhecida também por camada de passivação é formada rapidamente pela alta reatividade do titânio com o oxigênio, formando vários óxidos, principalmente o TiO_2 , e sua espessura varia de 10 a 20 nm⁵⁰. Em um estudo comparativo de 12 diferentes metais e ligas em contato com meio corrosivo, foi encontrado que o Ti cp exibia a menor

tendência de corrosão em um meio representando as condições normalmente encontradas no ambiente bucal¹⁹.

Entretanto, tem sido sugerido por diversos autores que os fluoretos, provenientes de produtos de higiene oral como dentifrícios e bochechos fluoretados, podem causar injúria à superfície do Ti, danificando, assim, a camada de óxido de titânio^{27,37,45,48-50}. Os fluoretos, conhecidos por causarem corrosão no Ti, estão presentes nos produtos de higiene oral na forma de fluoreto de sódio (NaF) nas concentrações que variam de 0,1% (1000 ppm) a 1% (10000 ppm)^{1,44}. Além disso, alguns estudos têm demonstrado que a ação dos fluoretos promove um aumento significativo da rugosidade do Ti comercialmente puro (Ti cp) e de ligas de níquel titânio (NiTi) e Ti-6Al-4V^{17,25,33}.

A aderência e colonização bacteriana são consideradas importantes por desenvolverem um papel chave na patogênese das infecções associadas aos biomateriais^{8,12}. A exposição do titânio na cavidade oral representa uma superfície que pode interagir com as bactérias da flora nativa levando a formação do biofilme. As espécies de microorganismos das famílias dos *Streptococos* e *Aggregatibacter* são consideradas os colonizadores iniciais, preparando o ambiente para outros colonizadores que requerem condições especiais de crescimento^{13,23}.

O fator inicial que influencia no processo de adesão é a energia livre de superfície, que determina as ligações entre as bactérias e

o biomaterial. O segundo, e mais importante, fator a ser considerado é a rugosidade da superfície. A presença de sulcos, ranhuras, riscos, depressões e irregularidades na superfície facilitam a colonização, pois essas irregularidades servem como abrigo para as bactérias contra forças de remoção vindas do fluxo salivar, mastigação, deglutição e procedimentos de higiene, tornando o ambiente mais favorável para se estabelecerem as ligações entre bactérias e o titânio³⁹. Além disso, em superfícies mais rugosas o biofilme apresenta um grau de maturação maior e o número de bactérias aumenta em grande quantidade³⁴. Diversos outros estudos, in vivo e in vitro, têm demonstrado uma forte correlação entre uma maior adesão bacteriana inicial e uma maior rugosidade na superfície de titânio^{5,7,19,32,34-36,39,51,53}.

Tendo em vista que o processo corrosivo do titânio pode acontecer na presença de íons fluoretos e causar alterações na superfície deste material, e também, que a adesão inicial de microorganismos é fundamental para formação do biofilme no ambiente bucal, a avaliação desses fatores torna-se pertinente para o estudo.

REVISÃO DE LITERATURA

CORROSÃO

Campus et al.⁶ (2003) em estudos experimentais, clínicos e epidemiológicos demonstraram que a ação tópica dos íons fluoretos é o fator de maior importância na prevenção de cáries. Os fluoretos inibem a desmineralização, aumentam a remineralização e inibem a formação da placa bacteriana nos dentes. Produtos como dentifrícios, bochechos e vernizes contendo fluoretos em concentrações variando de 0,1% a 1% são frequentemente usados para aplicações profiláticas, e freqüentemente também se encontram fluoretos na água potável de algumas cidades^{1,44,38,40,47}.

Um expressivo número de produtos disponíveis comercialmente contendo fluoretos, para o uso doméstico e profissional, tem sido aceitos pelas Diretrizes do Programa de Aprovação (ADA *Acceptance Program Guidelines*) do Conselho de Assuntos Científicos da *American Dental Association* (ADA *Council on Scientific Affairs*)¹. A importância dos dentifrícios fluoretados como material eficaz de aplicação de fluoretos e a relação custo benefício, leva a crer que provavelmente continuarão sendo utilizados em muitos países.

Siirila, Könönen⁴⁵, em 1991, avaliaram os efeitos dos fluoretos sobre amostras de Titânio comercialmente puro (Ti c.p.). 36

amostras foram imersas durante 1, 3 e 6 dias em dentifrício com 0,125% de fluoretos (Elmex e Sensodyne), gel dental com 1,25% de fluoretos (Elmex) e verniz fluoretado com 2,26% de fluoretos (Duraphat). Adicionalmente, o grupo da pasta Elmex ficou imerso até 14 dias. Após o período de teste, as amostras foram analisadas em microscopia ótica e eletrônica de varredura, encontrando indícios de deterioração superficial como aparecimento de *pits* após 3 dias de imersão em gel, que se agravaram após o 6 dia.

Könönen et al.²¹ (1995), estudaram o efeito corrosivo de uma solução fluoretada a 1,25% com pH de 5,5 na superfície do Ti cp. Após a imersão das amostras por 1, 5, 10 e 20 dias e observações por MEV, os autores encontraram um intenso aumento da rugosidade a partir do dia 1, e estendendo-se de forma mais agressiva para os outros períodos. Segundo os autores a solução fluoretada tinha atacado a superfície do Ti cp, onde se observava o aparecimento de *pits*.

Em 1996, Toumelin-Chemla et al.⁵⁰, analisaram as propriedades corrosivas do gel fluoretado sobre o titânio utilizando-se da análise voltamétrica. A corrosão das amostras foi medida de acordo com a resistência de polarização (R_p) das amostras de Ti cp e Ti-6Al-4V em solução de Ringer, gel fluoretado (10.000 ppm/ pH 5,5) e solução de Ringer fluoretada (10.000 ppm/ pH 6,75). Os autores encontraram uma excelente resistência à corrosão do Titânio nas soluções fisiológicas, porém quando o meio apresentava-se ácido e fluoretado, o processo de

corrosão foi significativamente prejudicial para as amostras, sendo que este processo inibe a formação da camada protetora de óxido de Titânio.

Resultados semelhantes foram encontrados por Reclaru, Meyer²⁴, em 1998. Os autores testaram o efeito dos fluoretos em implantes de Ti c.p., utilizando solução fisiológica ou solução com saliva artificial com e sem presença de fluoretos (1.000 ppm) com diversos pHs (6,15 a 3,0). Na análise superficial por microscopia eletrônica de varredura, foi encontrada a presença de *pits* e fissuras quando o pH foi inferior a 3,5, o que caracterizou o processo de corrosão do Titânio. Pela análise da composição atômica de superfície, verificou-se a presença de Flúor e Cloro.

A corrosão é um parâmetro que determina a biocompatibilidade de um metal para o uso odontológico. Devido a esse fato, Strietzel et al.⁴⁸, em 1998, avaliaram a resistência à corrosão do Ti c.p. em diferentes meios, verificando que em meios fluoretados ocorre uma liberação acelerada de íons metálicos e que esta liberação é potencializada quando o pH decresce. Os autores também afirmam que os fluoretos presentes nos dentifrícios ou agentes profiláticos podem reagir com a superfície, formando complexos solúveis com íons Titânio derivados das camadas de óxido, aumentando a corrosão do material.

Kedici et al.¹⁹, em 1998, avaliaram a resistência à corrosão de 17 metais e ligas odontológicas em saliva artificial, saliva artificial contendo ácido cítrico e em uma solução fluoretada com pH 6,5. O titânio

foi o metal mais resistente à corrosão, mais até que a liga de ouro. Entretanto, os autores ressaltaram que o uso do titânio com ligas não preciosas, pode ser um risco para corrosão.

Em 1999, Nakagawa et al.²⁷, estudaram os efeitos da concentração de fluoretos e do pH no processo de corrosão do Ti cp, por meio de polarização anódica em testes de imersão em soluções de NaF, com diferentes concentrações variando de 90,5 a 9048 ppm (0,02 a 2 %) e valores de pH variando de 3 a 7. Os resultados revelaram que o titânio foi corroído tanto pela existência de pequena quantidade de fluoretos em baixo pH, como também em meios com alta concentração de fluoretos e com alto pH. Os autores afirmam que o titânio é facilmente corroído no ambiente bucal após o uso de gel, enxagüatórios ou dentifrícios contendo fluoretos ácidos.

Procurando demonstrar os efeitos dos pH = 2,4, pH = 5,6 e pH = 10,8 na corrosão de 21 ligas metálicas odontológicas, por soluções a base de ácido sulfúrico, Bayramoglu et al.⁴, em 2000, reportaram que o titânio apresentou moderada corrosão, independentemente do pH, entretanto, concluíram que o titânio poderia ser efetivamente usado em ambientes com potencial corrosivo.

A resistência à corrosão do Titânio em ácidos orgânicos foi avaliada por Koike, Fujii²⁰, em 2001, utilizando amostras em Ti c.p. e soluções de ácido fórmico e láctico (pH 1,0 a 8,5). Na cavidade oral, estes ácidos podem ser precipitados na superfície do Titânio e a concentração

dos ácidos orgânicos pode variar dependendo de um ambiente aeróbio ou anaeróbio. As amostras sofreram significativa descoloração macroscópica e a corrosão foi diretamente dependente do pH no ácido fórmico e relativamente dependente no ácido láctico.

A estabilidade química e a resistência à corrosão exibida pelo Titânio são características essenciais para um biomaterial. Em 2001, Aziz-Kerrzo et al.³, avaliaram estas características em materiais à base de Ti c.p. e duas ligas (Ti-6Al-4V, Ti-45Ni) em solução salina tamponada, utilizando polarização anódica e impedância eletroquímica. Os autores concluíram que o titânio exibia alta resistência para o início da corrosão.

Na última década, novas ligas de Titânio têm sido desenvolvidas na odontologia tais como o Ti6AlV4 e NiTi. Simultaneamente, tratamentos usando suplementos fluoretados, como os géis fluoretados, também têm sido amplamente utilizados. Schiff et al.⁴³ (2002) avaliaram a influência dos fluoretos e do pH na resistência à corrosão do Ti cp e suas ligas. As amostras foram expostas à saliva artificial Fusayama-Meyer com e sem presença de fluoretos (1000 ppm) e com variação de pH (5,3 e 2,5). Em todas as amostras, houve um efeito negativo na resistência à corrosão quando expostas as soluções fluoretadas e baixo pH. Os autores sugerem que pacientes que possuem prótese e/ou implantes em Titânio, deveriam ser avisados para não usar géis fluoretados.

Diversos trabalhos in vitro descreveram que ambientes contendo fluoretos podem atacar o Titânio por meio do processo de corrosão. Huang¹⁵, em 2002, avaliou o efeito dos fluoretos e da tensão elástica à tração na resistência à corrosão do Titânio. Amostras de Ti cp foram preparadas e imersas em solução de NaCl (pH 6,0) com diversas concentrações de NaF (0 a 1%, ou seja, 0 a 10.000 ppm). Foi aplicada força de tração nas amostras e a avaliação da resistência à polarização. Observações da morfologia superficial por MEV e análise de EDX também foram mensuradas. Após 8 horas de imersão em solução contendo 10.000 ppm, foram observadas pela MEV evidências de corrosão por *pits* e a presença de cristais de fluorotitanato de sódio (Na_2TiF_6) impregnados na superfície do Ti cp. O autor concluiu que, independentemente da força de tração aplicada, todas as amostras sofreram corrosão quando a concentração de NaF foi maior que 0,1%.

Segundo Aparício et al.², em 2003, o Ti c.p. é altamente usado como material para implantes odontológicos devido as suas adequadas propriedades mecânicas e excelente biocompatibilidade. Os autores testaram duas diferentes superfícies de Ti c.p., jateados com óxido de Alumínio ou Sílica, e avaliaram o comportamento eletroquímico em solução polarizada, sem a presença de fluoretos. Como conclusão, todos os materiais avaliados possuíam um adequado comportamento eletroquímico e de corrosão, sendo seu uso indicado como material para implante odontológico.

Huang¹⁶ (2003) estudou efeito corrosivo dos fluoretos na liga de Ti6Al4V pelo testes de polarização linear, MEV e EDX. Foi utilizada saliva artificial com adição de fluoretos com concentrações variando de 0,01 a 0,5% (100 a 5.000 ppm) e pH 5. O tempo de imersão foi de 2 horas. Foi observado que a partir do momento que a concentração de NaF era maior que 0,1% (1.000 ppm) a proteção da camada de óxido de titânio (TiO_2) era destruída pelos fluoretos, e isso levava a formação de complexos de Na_2TiF_6 . Após observar os resultados do teste de polarização, o autor concluiu que o aumento gradativo da concentração dos fluoretos diminuía a resistência à corrosão do Ti6Al4V, especialmente quando a concentração era maior ou igual a 0,15% (1500 ppm).

A liga de titânio beta (titânio-molibdênio), utilizada em fios ortodônticos, foi estudada por Kaneko et al.¹⁸ (2003) após a imersão em soluções fluoretadas de 0,2% (2000 ppm) e 2% (20.000 ppm), com pH 6,5. Para ambas as concentrações foi encontrado uma descoloração da superfície das amostras após os testes. Na análise por EDX foi encontrado o composto $\text{Na}_5\text{Ti}_3\text{F}_{14}$ após imersão por 24 horas na solução de 2,0% e a corrosão foi observada pela presença de pits e uma superfície descamada.

Shim et al.²⁹ (2005) estudaram a resistência à corrosão por teste de polarização estática do Ti cp e de 5 diferentes composições de um liga de titânio-prata. Foi utilizada saliva artificial contendo fluoretos com concentrações de 0,1% e 1% (1.000 e 10.000 ppm) com um pH

médio de 6,3. Os resultados demonstraram que a densidade da corrente passiva do Ti cp e da liga titânio-prata aumentaram na maior concentração de íons fluoretos, e ambas reagiram sensivelmente com estas substâncias. Entretanto, quando a liga tinha em sua formulação 3% de prata a sua resistência contra os ataques dos fluoretos era maior que a do Ti cp.

Com o intuito de desenvolver ligas de titânio resistentes à corrosão, Nakagawa et al.²⁸ (2005) avaliaram o efeito corrosivo de duas ligas experimentais de Ti-Pt (titânio-platina) e Ti-Pd (titânio-paládio) comparadas com Ti cp, Ti-6Al-4V e Ti-6Al-7Nb usando o teste de polarização anódica e a mensuração do potencial de corrosão eletroquímica. Foi utilizada saliva artificial contendo 0,2% de NaF (2.000 ppm). Os resultados demonstraram que o Ti cp, Ti-6Al-4V e Ti-6Al-7Nb eram expressivamente atacados pelos fluoretos (testes eletroquímicos) e apresentavam superfície rugosa e com presença de *pits* (MEV), fato que não foi observado para as ligas experimentais, que permaneceram inalteradas.

Mabilleau et al.²⁵ (2006) usaram microscopia de força atômica (MFA), MEV e EDX para investigar a resistência à corrosão de discos de Ti cp depois de 3, 6, e 9 dias de imersão em solução de saliva artificial contendo fluoretos a 0,5% (5.000 ppm) e 2,5% (25.000 ppm). A rugosidade superficial (Ra) aumentou consideravelmente após os períodos de imersão para ambas as concentrações, sendo mais

exacerbada na concentração maior. Nas observações por MEV foi constatada a presença de um ataque uniforme a superfície com a presença de *pits*, que são indicativos de processo corrosivo, além da presença de compostos piramidais identificados pela análise de EDX como Na₂TiF (fluorotitanado de sódio). Os resultados indicaram que o ataque à camada de óxido foi progressivo à medida que o tempo de imersão aumentava.

Usando uma metodologia semelhante, Huang¹⁷ (2007) avaliou a topografia superficial de arcos ortodônticos de níquel-titânio (NiTi) por MFA de quatro marcas comerciais após imersão em ambientes fluoretados por 28 dias. O autor encontrou um significativo aumento nos padrões de rugosidade avaliados (Ra e Rms) após a imersão em saliva artificial contendo gel fluoretado (cerca de 17000 ppm de fluoretos), independente da marca comercial. Entretanto, em baixas concentrações de fluoretos (menor que 2500 ppm) não foi observado diferença estatisticamente significativa na rugosidade.

Popa et al.³³ (2008), avaliaram a resistência a corrosão por testes eletroquímicos e a rugosidade (Ra e Rms) do Ti cp e da liga de Ti-5Al-4V. Foi utilizada saliva artificial de Tani&Zucchi com concentração de fluoretos a 0,01 M por 500 horas. Foi registrada corrosão por *pit* em ambos biomateriais e os valores da rugosidade superficial aumentaram com o tempo e a presença de fluoretos, denotando aumento na atividade anódica, segundo os autores.

ADESÃO BACTERIANA

Apesar das diferenças de rugosidade de superfícies, energia livre e carga, os fatores mais importantes no desenvolvimento inicial da placa são semelhantes na dentina, esmalte, metais e resinas. Entretanto, a colocação de outras superfícies sólidas na cavidade oral, como os implantes, gera sítios adicionais para a adesão e colonização bacteriana. Esta adesão e colonização podem variar de acordo com o biomaterial, com o tipo de microrganismo, fase de crescimento e propriedades superficiais dos materiais (energia livre de superfície e rugosidade)⁹.

Imediatamente após a imersão de um substrato sólido dentro de um meio líquido da cavidade bucal, macromoléculas hidrofóbicas são absorvidas pelas superfícies, formando um filme condicionante formado por glicoproteínas salivares e anticorpos, denominado película adquirida. Este filme condicionante altera a carga e a energia livre de superfície, aumentando assim, a eficiência da adesão bacteriana²⁴.

Os *Streptococcus mutans* são os primeiros colonizadores do biofilme. Interações hidrofóbicas são importantes na aderência do *Streptococcus mutans* em superfícies de Ti cp¹¹, porém a aderência de bactérias orais em diferentes biomateriais indica que a rugosidade superficial pode ser mais importante que a energia livre de superfície do material²⁹.

Fujioka-Hirai et al.¹¹ (1987) avaliaram in vitro a adesão de *S. mutans* em seis diferentes materiais de implantes, entre eles uma liga de titânio. A mudança da energia livre de superfície foi avaliada por meio das interações hidrofóbicas entre dois tipos de películas adquiridas (saliva ou soro humano) com as superfícies testes. Os autores concluíram que a aderência de *S. mutans* para o titânio tinha uma alta correlação com a mudança da energia livre de superfície, o que sugere que a interação hidrofóbica tem um importante papel na aderência dos *S. mutans*.

Nakazato et al.²⁹ (1989) estudaram a adesão bacteriana em diferentes materiais de implantes (Alumina, zircônia, hidroxiapatita e titânio) adaptados em dispositivos especialmente confeccionados e colocados na região gengival de humanos. Eles notaram que havia a formação de uma fina película adquirida e a aderência inicial dependia mais da rugosidade do que da energia livre de superfície. Além disso, a adesão inicial nas quatro primeiras horas era predominante de microorganismos da espécie dos estreptococos e dependia da superfície em estudo, mas após 48 horas não havia diferença. A maturação da placa não dependia do material em estudo e após 48 horas havia um aumento das bactérias anaeróbias.

Em 1993, Quirynen et al.³⁴ avaliaram amostras de placa provenientes de um componente protético liso e um rugoso de nove pacientes após três meses de uso no ambiente bucal. Os autores notaram que a placa da parte supragengival dos componentes rugosos eram mais

maduras do que as dos lisos, por meio de uma diminuição dos microorganismos da espécie dos cocos. As regiões subgengivais dos componentes rugosos apresentavam 25 vezes mais bactérias que a superfície lisa, com uma ligeira diminuição da densidade de cocos e aumento dos microorganismos móveis. Esses resultados sugerem que as superfícies mais lisas reduziram a colonização bacteriana.

Resultados semelhantes in vitro foram encontrados por Wu-Yuan et al.⁵³, em 1995, e mostraram que nas superfícies de titânio rugosas havia uma maior aderência bacteriana.

Num estudo em humanos com seis pacientes, Leonhardt et al.²³ (1995) encontraram uma adesão de diversas espécies de microorganismo semelhante para superfícies de titânio, hidroxiapatita e amálgama em diferentes períodos. As espécies de estreptococos constituíam em mais de 50% das bactérias viáveis na contagem, e não foi encontrada diferença entre as superfícies estudadas.

Estudando o efeito de diferentes rugosidades superficiais ($R_a = 0,21 \mu m$, $0,11 \mu m$, $0,13 \mu m$ e $0,05 \mu m$) de componentes protéticos na formação da placa bacteriana supra e sub-gengival de seis pacientes, Quirynen et al.³⁵ (1996), encontraram parâmetros de formação da placa semelhantes para as diferentes superfícies após um e três meses. Os autores sugeriram que a rugosidade média de $0,2 \mu m$ seria um limite aceitável para a adesão bacteriana no titânio, sendo, portanto não prejudicial aos tecidos adjacentes.

Em um estudo semelhante, Bollen et al.⁵ (1996), encontraram subgengivalmente espiroquetas e microorganismos móveis somente ao redor de componentes com $Ra=0,2\text{ }\mu\text{m}$ após três meses, não sendo encontrados em componentes super polidos com $Ra=0,06\text{ }\mu\text{m}$. Porém, após um período de 12 meses a proporção desses microorganismos na flora subgengival era igual. Os resultados desse estudo confirmam o estudo prévio indicando que uma $Ra=0,2\text{ }\mu\text{m}$ não teria maior impacto na composição da microbiota supra e subgengival.

Rimondini et al.³⁹ (1997), avaliaram a rugosidade superficial necessária para redução da colonização bacteriana no titânio após 24 horas e testaram três tipos de polimento (Ra dos grupos avaliados $A=0,088\text{ }\mu\text{m}$, $B=0,201\text{ }\mu\text{m}$ e $C=2,142\text{ }\mu\text{m}$). Os autores encontraram uma menor quantidade de microorganismos no grupo A do que nos grupos mais rugosos. E concluíram que a superfície com rugosidade média de $0,088\text{ }\mu\text{m}$ inibia fortemente o acúmulo e maturação da placa bacteriana após 24 horas, e sugeriram que uma superfície extremamente polida deveria ser usada em componentes protéticos e cicatrizadores para implantes dentários.

Rasperini et al.³⁶, em 1998, compararam a formação inicial de placa bacteriana nas superfícies do titânio e de uma cerâmica usados na fabricação de componentes protéticos em quatro pacientes. Os autores demonstraram que após seis horas já havia colonização bacteriana de ambas as superfícies, e após o período de 24 horas ocorre

o ponto máximo de colonização e a contagem permanece constante após o período de 14 dias, também não encontrando diferenças para as duas superfícies.

Em 1998, Steinberg et al.⁴⁶ avaliaram a adesão de *A. viscosus*, *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* na superfície do titânio (Ti) e em uma liga de Ti-6Al-4V (liga-Ti) revestidos com albumina ou saliva humana. Todos os testes demonstraram uma maior adesão à liga-Ti do que no Ti. *P. gingivalis* exibiu uma menor adesão ao Ti e a liga-Ti do que as outras espécies, e também uma redução na adesão para a albumina ou saliva. A adesão de *A. viscosus* e *A. actinomycetemcomitans* foram reduzidas para as duas superfícies quando elas foram revestidas com albumina ou saliva. Os resultados mostraram que as bactérias bucais têm uma diferente afinidade na adesão para o Ti e a liga-Ti. Além disso, tanto a albumina quanto a saliva reduzem a adesão bacteriana.

A adesão bacteriana na superfície de implantes de titânio tem uma grande influência nos resultados de longo prazo dos implantes dentais. Parâmetros como rugosidade superficial e composição química são tidas como um significativo impacto na formação da placa. Groessner-Schreiber et al.¹³ (2001), avaliaram a adesão de *S. mutans* e *S. mitis* em superfícies de rugosidade semelhante, porém diferentes revestimentos de superfície, como o nitreto de titânio (TiN) ou nitreto de zircônio (ZrN). Uma redução significativa no número de bactérias aderidas foi observada nas superfícies TiN e ZrN quando comparadas com o Ti polido. Os autores

concluíram que modificações físicas nas superfícies de implantes de titânio podem reduzir a aderência bacteriana e melhorar os resultados clínicos.

Em outro estudo em humanos, Scarano et al.⁴¹ (2003) avaliaram a adesão bacteriana em implantes revestidos com TiN e sem revestimento (controle). Os autores encontraram uma adesão significativamente menor na superfície do TiN quando comparada com a superfície controle, além de uma rugosidade semelhante para as duas superfícies. Assim, a superfície de TiN provavelmente poderia ser importante para reduzir o desenvolvimento da peri-implantite.

Resultados semelhantes mostrando uma menor adesão de microorganismos em superfícies TiN e ZrN foram encontrados novamente por Groessner-Schreiber et al.¹⁴, em 2004.

Em 2004, Scarano et al.⁴² demonstraram em um estudo semelhante ao realizado em 2003 que em uma superfície de óxido de zircônio a adesão bacteriana era menor que em uma superfície de titânio cp.

A aderência bacteriana nas superfícies de implantes de Ti cp é influenciada pelos parâmetros de rugosidade superficial e energia livre de superfície. Tendo em vista esse conceito, Píer-Francesco et al.³² (2004), modificaram essas propriedades em discos de Ti cp e avaliaram a aderência de *Porphyromonas gingivalis*. As diferentes rugosidades das amostras foram obtidas por polimento específico e avaliadas por MFA. Os

grupos foram divididos em: “muito liso” ($R_a=34,57$ nm), “liso” ($R_a=155,00$ nm), “rugoso” ($R_a=223,24$ nm) e “muito rugoso” ($R_a=449,42$ nm). A modificação da energia livre de superfície foi feita por tratamento químico e dois grupos avaliados foram: controle e tratado. Foi encontrada uma significativa redução na adesão do grupo “muito liso”, não sendo encontrado o mesmo para os outros grupos. A mudança na hidrofobicidade, não exerceu influencia na adesão bacteriana. A adesão bacteriana foi mais influenciada pelos padrões físicos (rugosidade) do que os padrões químicos (energia livre de superfície).

Chin et al.⁷ (2007) avaliaram in vitro a formação do biofilme em microimplantes a base de titânio de diferentes marcas comerciais, sendo que anteriormente foi avaliada a R_a por MFA. A comparação entre os diferentes sistemas de implantes usando a análise de regressão linear múltipla indicou que a formação do biofilme foi influenciada pela rugosidade da superfície do implante.

Sendo a rugosidade um importante fator na adesão e extensão da colonização bacteriana, julga-se necessário, a análise do efeito corrosivo que os fluoretos podem causar no Ti cp, bem como, a análise da aderência bacteriana nessas superfícies.

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar, in vitro, a rugosidade superficial e o processo de corrosão do Titânio comercialmente puro (Ti cp) submetido à ação de fluoretos nos períodos de simulação de 5, 10, 15 e 20 anos. Bem como, estudar a adesão de *Streptococcus mutans* a superfície do Ti cp após a exposição aos fluoretos.

MATERIAL E MÉTODO

Preparação das amostras

No presente estudo utilizou-se 25 discos de Ti cp grau II, com 5 mm de espessura e 6 mm de diâmetro, obtidos por meio do corte de uma barra estoque ASTM F67-88 (Titânia S.P.A, Texas, USA) em um torno mecânico convencional. Para se obter uma superfície homogênea dos discos, eles foram inicialmente embutidos com resina acrílica (Jet, Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, Brasil) em uma embutidora Pre30Mi (Arotec, Cotia, Brasil) (Figura 1a). Após esse procedimento, os discos foram lixados com lixas d'água de carboneto de silício nas granulações de 280, 400, 600, 800 e 1200 (Buehler, Illinois, EUA) até a remoção das ranhuras e riscos grosseiros, utilizando-se uma politriz universal Aropol-2V (Arotec, Cotia, Brasil) a uma velocidade de 300 rpm, adaptada com um dispositivo de polimento múltiplo com uma força controlada de 0,5 kg para cada amostra (Figura 1b). Para o polimento final foram utilizados panos especiais Ultrapol® e Microcloth® (Buehler, Illinois, EUA), associado às suspensões de diamante de 3 µm e 1 µm Metadi® Supreme (Buehler, Illinois, EUA), com a mesma velocidade e força utilizadas no lixamento por 15 minutos para cada suspensão, obtendo-se uma superfície polida e espelhada²⁵.

O polimento foi realizado para ambas as faces do disco. Após a remoção cuidadosa da resina acrílica eles foram lavados sucessivamente em água destilada e posteriormente em acetona pura (Merck, Darmstadt, Alemanha) em um aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner 1440 Plus, Odontobrás, Ribeirão Preto, Brasil). Os discos polidos e limpos foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos com 5 discos cada, que foram colocados na solução teste simulando os períodos de contato com fluoretos de 5 anos, 10 anos, 15 anos, 20 anos e controle.

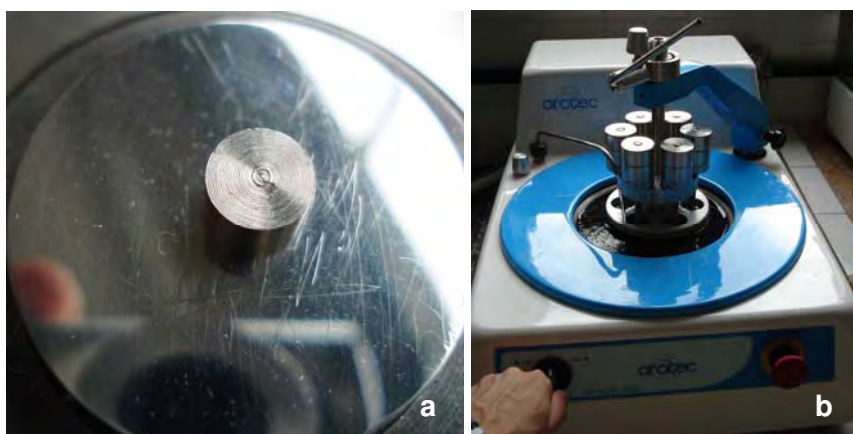


FIGURA 1 – a) disco de Ti cp embutido em resina acrílica. b) politriz com dispositivo de polimento múltiplo acoplado.

Aplicação dos fluoretos

A aplicação dos fluoretos foi realizada por meio da imersão dos discos em solução fluoretada a 0,15% (1500 ppm), pH 5,3, dispostos em micro tubos tipo *ependorfs*⁴³. Essa concentração foi escolhida por

ser a mais comumente utilizada em dentifrícios comercialmente disponíveis no mercado. A escolha da solução foi realizada devido à necessidade de somente avaliar a ação dos fluoretos, evitando assim a interferência de outras substâncias que poderiam estar na formulação dos dentifrícios ou saliva artificial. Para o preparo da solução foi utilizado fluoreto de sódio (NaF, Merck, Darmstadt, Alemanha) que foi dissolvido em água destilada na proporção de 1,5%, e o pH ajustado em 5,3 com solução de ácido fluorídrico (HF, Merck, Darmstadt, Alemanha) em um phmetro (Phmetro 8010, Qualxtron, Jundiaí, Brasil).

Os grupos foram divididos simulando o tempo de contato do Ti cp com os íons fluoretos durante uso em ambiente bucal por 5 anos (G5), 10 anos (G10), 15 anos (G15) e 20 anos (G20), com o tempo de imersão em solução de 182,5 horas, 365 horas, 547,5 horas e 730 horas respectivamente. Essa estimativa de tempo foi baseada em um procedimento de higiene bucal, estimando-se que o mesmo seja realizado 3 vezes ao dia com um tempo médio de 2 min por vez. A solução foi trocada a cada 12 horas em todos os grupos. O grupo controle (G0) foi imerso em água destilada com trocas a cada 12 horas³⁰.

Análise por Microscopia de força atômica

No presente estudo foram realizadas 3 imagens aleatórias de 50x50µm de área em três discos de cada grupo, utilizando-se um

microscópio de força atômica Nanoscope IIIA™ (Digital Instruments, Santa Barbara, EUA) no Contact Mode™, sendo o operador calibrado e cego para o estudo. As leituras foram feitas antes da aplicação dos fluoretos e após os tempos experimentais (G0, G5, G10, G15 e G20)^{17,25}.

Os padrões de superfície avaliados foram a rugosidade média (Ra), a rugosidade média quadrática (Rms) e área superficial projetada (Área) e foram obtidos por meio do *software* Gwyddion 2.5 (Praga, República Tcheca). As imagens topográficas da superfície em 3D foram normalizadas na escala Z, para comparação entre os grupos (Figura 2). A Ra é o parâmetro de rugosidade mais utilizado na literatura, ela consiste na média aritmética dos valores absolutos dos pontos do perfil em relação a uma linha média dentro do percurso de medição. A Rms consiste na média aritmética dos valores dos pontos do perfil elevados ao quadrado. A Área consiste no cálculo da área da superfície projetada na leitura.

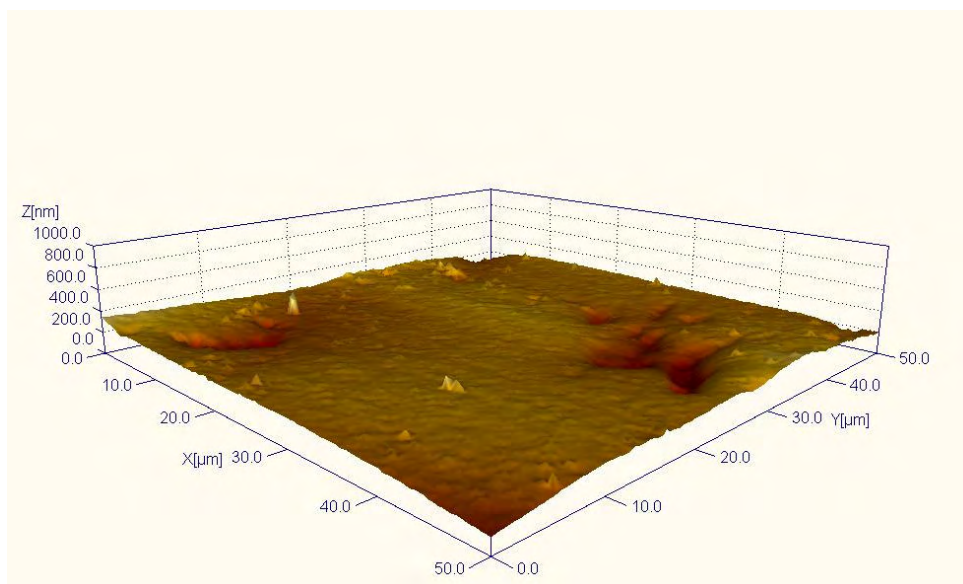


FIGURA 2 – Imagem topográfica em 3D após normalização na escala Z.

Análise por Microscopia eletrônica de varredura

Para uma análise qualitativa de uma maior área superficial do Ti cp, após a exposição aos fluoretos, foram feitas fotomicrografias por microscopia eletrônica de varredura (MEV), obtidas em um equipamento LEO 440 (LEO Electron Microscopy Ltd, Cambridge, England) com detector Oxford (Oxford Instruments Inc., Concord, USA), operando com feixe de elétrons de 20kV. A análise de espectroscopia de dispersão de raios X (EDX), que permite analisar os elementos químicos presentes na superfície do Ti cp, foi realizada em um equipamento EDX LINK ANALYTICAL modelo QX 2000, acoplado ao microscópio eletrônico, utilizando-se um feixe de elétrons de 20 keV e uma distância de 25 mm

do canhão de elétrons até a amostra. Essa análise foi realizada em três imagens com aumento de 600 vezes para cada amostra e foram realizadas em um mesmo disco analisado por MFA para cada grupo.

Avaliação da adesão bacteriana

Realizada a avaliação por MFA e MEV, após aplicação dos fluoretos, foi feita a contaminação bacteriana com *Streptococcus mutans*. A avaliação da adesão bacteriana consistiu em contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/ml). Cinco discos de Ti cp de cada grupo foram esterilizados pela exposição à luz ultravioleta ($300 \mu\text{w}/\text{cm}^2$) por 20 minutos⁹.

Previamente a contaminação, foi verificada a viabilidade da cepa padrão de *Streptococcus mutans* (NTCC 1023) pela inoculação de 500 μl da suspensão de microorganismos (MO) em 5 ml de BHI caldo (Brain Heart Infusion, BHITM, Difco Laboratories, Detroit, EUA), em jarra de microaerofilia a 37°C por 24 horas. Após a verificação do crescimento dos microorganismos, pelo turvamento do meio, três alçadas da suspensão foram semeadas em placa de Petri com meio de cultura SB-20, meio este específico para *S mutans*, e levados à estufa bacteriológica a 37°C em jarra de microaerofilia por 48 horas. Concretizado o período de crescimento bacteriano, foi avaliada a morfologia da colônia para confirmação da espécie dos microorganismos. Confirmada a viabilidade

da cepa foi repetido o procedimento de inoculação de 500 µl da suspensão de MO em 5 ml de BHI caldo, com as mesmas condições e tempo de crescimento, para serem utilizados na contaminação das amostras⁵².

Para a contaminação, as amostra foram colocadas em tubos falcon com 5 ml de Muller Hinton (Difco Laboratories, Detroit, EUA) e inoculados com 100 µl de inócuo (correspondente a 10^7 UFC/ml de *Streptococcus mutans*). A seguir foram mantidas em uma incubadora 430 RD com *shaker* (Nova ética, Piracicaba, Brasil) por 24 horas, a 37°C com agitação de 100 rpm. Esta foi utilizada com o intuito de simular o ambiente dinâmico da cavidade bucal.

A recuperação e contagem das células viáveis foram feitas nas 5 amostras de cada grupo. O disco foi cuidadosamente transferido para um tubo contendo solução salina e submetido à agitação por 1 minuto em agitador com alta velocidade para remover as bactérias aderidas na amostra. Após este procedimento 500 µl do conteúdo do tubo foi diluído seqüencialmente em três tubos com solução salina para se obter as diluições de 10^{-1} a 10^{-4} . Em seguida foi realizada a semeadura com o gotejamento de 25 µl de cada diluição em placas com meio SB 20. Após o crescimento bacteriano (Estufa 37°C por 48 horas) foi realizada a contagem das UFC com auxílio de lupa esteroscópica. Todo o procedimento de contaminação e contagem foi realizado em triplicata⁵².

Análise estatística

A análise estatística foi executada com a ajuda do programa BioEstat 4.0 (Belém, Pará, Brasil). Para a análise dos dados da MFA, na comparação intra-grupo foi utilizado o teste de Wilcoxon e na comparação entre os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. As diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

Para a análise estatística da contagem das UFC/ml, os dados foram transformados em logaritmo para a normalização e depois foram comparados por meio do teste estatístico ANOVA/Tukey, considerando as diferenças significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADO

RUGOSIDADE e CORROSÃO

Análise por microscopia de força atômica

Os valores da rugosidade média (Ra) e rugosidade média quadrática (Rms) estão representados em nanômetros (nm) e da área superficial projetada (Área) em micrometros quadrados (μm^2). Os resultados demonstram as leituras superficiais por microscopia de força atômica (MFA) do Ti cp antes e depois da imersão das amostras em solução controle (água destilada - grupo G0), e em solução fluoretada (1500 ppm, pH 5,3) para os diferentes períodos de simulação: G5 (5 anos), G10 (10 anos), G15 (15 anos) e G20 (20 anos).

A Tabela 1 mostra os valores médios e os desvios padrão da Ra antes e depois da imersão em solução controle ou fluoretada para os diferentes grupos.

Tabela 1 – Valores médios com seus respectivos desvios padrão em nm da Ra das amostras antes e depois da imersão nas soluções controle e teste para os diferentes períodos

Grupos	Ra antes	Ra depois	p1	p2	p3
G0	27,56 ± 9,41	28,75 ± 8,33	0,953		
G5	26,52 ± 9,89	34,22 ± 14,75	0,038*		
G10	29,52 ± 7,57	40,63 ± 5,41	0,028*	0,695	0,199
G15	31,38 ± 7,84	45,4 ± 10,32	0,021*		
G20	30,43 ± 9,77	44,48 ± 17,19	0,028*		

* diferença estatisticamente significante $p \leq 0,05$.

p1- comparação entre Ra antes e Ra depois em cada grupo (Teste de Wilcoxon)

p2 - comparação dos valores de Ra antes entre todos os grupos (Teste de Kruskall-Wallis).

p3 - comparação dos valores de Ra depois entre todos os grupos (Teste de Kruskall-Wallis).

Na comparação intra-grupo antes e depois da imersão em solução (Teste de Wilcoxon), foi observado aumento estatisticamente significativo da Ra após a imersão em solução fluoretada para os grupos G5 ($p=0,038$), G10 ($p=0,028$), G15 ($p=0,021$) e G20 ($p=0,028$). Entretanto, o grupo controle (G0) não apresentou alteração significativa na Ra ($p=0,953$) (Tabela 1). O aumento da Ra nos grupos expostos aos íons fluoretos nos diferentes períodos demonstra o seu potencial de causar corrosão na superfície do titânio comercialmente puro, visto que o grupo controle não apresentou alteração em sua superfície.

Na comparação entre os grupos antes da imersão nas soluções utilizadas (Teste de Kruskall-Wallis), não foi encontrada

diferença entre eles ($p=0,695$), sugerindo que as amostras de todos os grupos tinham Ra semelhante antes da realização dos testes. Apesar de ter sido observado um aumento nos valores médios Ra depois nas amostras dos grupos expostos aos íons fluoretos, não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,119$). Além disso, esse aumento da Ra parece ser gradativo com o tempo de exposição e tende a se estabilizar após o período de simulação de 15 anos (Tabela 1).

A Tabela 2 mostra os valores médios e os desvios padrão da Rms antes e depois da imersão em solução controle ou fluoretada para os diferentes grupos.

Tabela 2 – Valores médios com seus respectivos desvios padrão em nm da Rms das amostras antes e depois da imersão nas soluções controle e teste para os diferentes períodos

Grupos	Rms antes	Rms depois	p1	p2	p3
G0	41,63 ($\pm 12,35$)	44,52 ($\pm 11,82$)	0,678		
G5	40,99 ($\pm 12,82$)	49,8 ($\pm 16,75$)	0,086		
G10	44,25 ($\pm 11,44$)	56,97 ($\pm 6,6$)	0,028*	0,766	0,276
G15	46,75 ($\pm 11,8$)	63,08 ($\pm 13,62$)	0,038*		
G20	46,72 ($\pm 10,34$)	60,89 ($\pm 18,31$)	0,038*		

* diferença estatisticamente significativa $p \leq 0,05$.

p1 - comparação entre Rms antes e Rms depois em cada grupo (Teste de Wilcoxon)

p2 - comparação dos valores de Rms antes entre todos os grupos (Teste de Kruskal-Wallis).

p3 - comparação dos valores de Rms depois entre todos os grupos (Teste de Kruskal-Wallis).

Na comparação entre o mesmo grupo antes e depois da imersão em solução (Teste de Wilcoxon), foi observado aumento estatisticamente significativo da Rms após a imersão em solução fluoretada para os grupos G10 ($p=0,028$), G15 ($p=0,038$) e G20 ($p=0,038$). Observou-se um aumento da Rms do grupo G5, entretanto, este não foi estatisticamente significativo ($p=0,086$). O grupo controle (G0) não apresentou alteração significativa na Rms ($p=0,678$) (Tabela 2). Novamente, o aumento do parâmetro de rugosidade Rms na superfície do Ti cp demonstra a capacidade de alteração superficial da solução fluoretada com o Ti cp.

Na avaliação dos resultados intra-grupo antes da imersão nas soluções (Teste de Kruskal-Wallis), não foi encontrada diferença entre eles ($p=0,766$), isto dá evidências de que as amostras de todos os grupos tinham Rms semelhante antes dos testes. De maneira semelhante aos resultados da Ra ocorreu um aumento nos valores médios da Rms das amostras dos grupos expostos aos íons fluoretos, porém, não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,276$). Além disso, o padrão gradativo de aumento da rugosidade com o tempo de exposição se repete na Rms e tende a se estabilizar após o período de simulação de 15 anos (Tabela 2).

Os resultados da Tabela 3 mostram os valores médios e os desvios padrão da Área antes e depois da imersão em solução controle ou fluoretada para os diferentes grupos.

Tabela 3 – Valores médios e seus respectivos desvios padrão em μm^2 da área superficial projetada das amostras antes e depois da imersão nas soluções controle e teste para os diferentes períodos

Grupos	Área antes	Área depois	p1	p2	p3	p4 [#]
G0	2500,6 ($\pm 1,33$)	2500 ($\pm 0,6$)	0,715			A
G5	2500 ($\pm 0,0$)	2515,71 ($\pm 20,11$)	0,028*			A,B
G10	2502,03 ($\pm 3,87$)	2524,99 ($\pm 12,42$)	0,012*	0,258	0,014*	B
G15	2500,29 ($\pm 0,59$)	2523 ($\pm 12,26$)	0,008*			B
G20	2500,7 ($\pm 1,33$)	2531,62 ($\pm 17,03$)	0,008*			B

*diferença estatisticamente significante $p \leq 0,05$.

[#]letras diferentes indicam grupos com características distintas

p1 - comparação entre Área antes e Área depois em cada grupo (Teste de Wilcoxon)

p2 - comparação dos valores da Área antes entre todos os grupos (Teste de Kruskal-Wallis).

p3 - comparação dos valores da Área depois entre todos os grupos (Teste de Kruskal-Wallis).

p4 – comparações múltiplas da Área depois entre grupos dois a dois, letras diferentes indicam diferença entre grupos.

Na avaliação dos resultados intra-grupo antes e depois da imersão em solução (Teste de Wilcoxon), observou-se aumento estatisticamente significante da Área após a imersão em solução fluoretada para os grupos G5 ($p=0,028$), G10 ($p=0,012$), G15 ($p=0,008$) e G20 ($p=0,008$). Entretanto, o grupo controle (G0) não apresentou alteração significativa na Área ($p=0,715$) (Tabela 3).

Na comparação entre os grupos antes da imersão nas soluções (Teste de Kruskal-Wallis), não foi encontrada diferença entre

eles ($p=0,258$), isto dá evidências de que as amostras de todos os grupos tinham Área semelhante antes dos testes. Entretanto, após aplicar o teste de Kruskal-Wallis nos resultados da Área depois da imersão em solução fluoretada, foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,014$). A aplicação do teste de comparações múltiplas (comparações entre grupos dois a dois) permite observar que o grupo $G0 \neq G10$ ($p=0,008$), $G0 \neq G15$ ($p=0,014$) e $G0 \neq G20$ ($p<0,001$). Ao avaliar os valores de p resultantes, verifica-se que há evidências de que a ação dos íons fluoretos é capaz de alterar a superfície do Ti cp aumentando a área superficial a partir o período de simulação de 10 anos. Além disso, esse padrão de aumento da Área depois parece ser gradativo com o tempo de exposição (Tabela 3).

As imagens por MFA em 3 dimensões (3D) representativas de uma leitura antes e depois estão representados na Figura 3 (G0), Figura 4 (G5), Figura 5 (G10), Figura 6 (G15) e Figura 7 (G20).

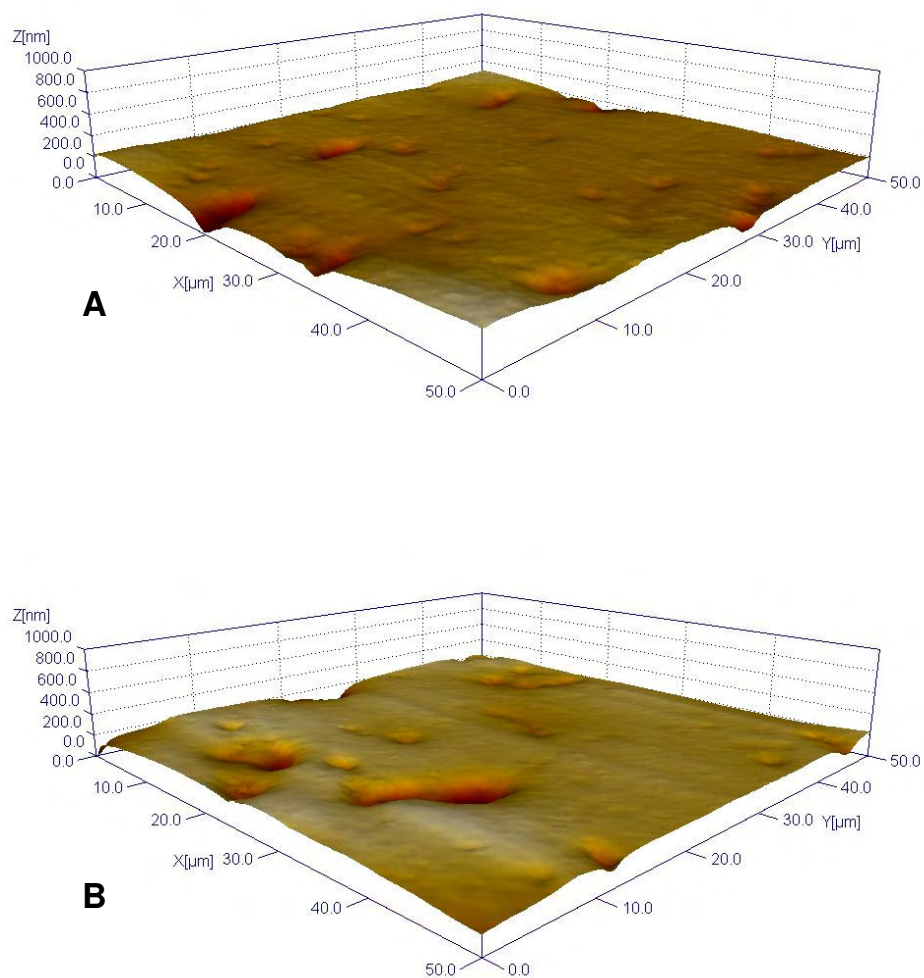


FIGURA 3 – Imagens em 3D por MFA do grupo GO (50x50 μm). (A) imagem antes da exposição à água destilada apresentando superfície lisa, com irregularidades decorrentes do polimento. (B) imagem depois da imersão em água destilada apresentando superfície lisa, semelhante à imagem A, com irregularidades decorrentes do polimento.

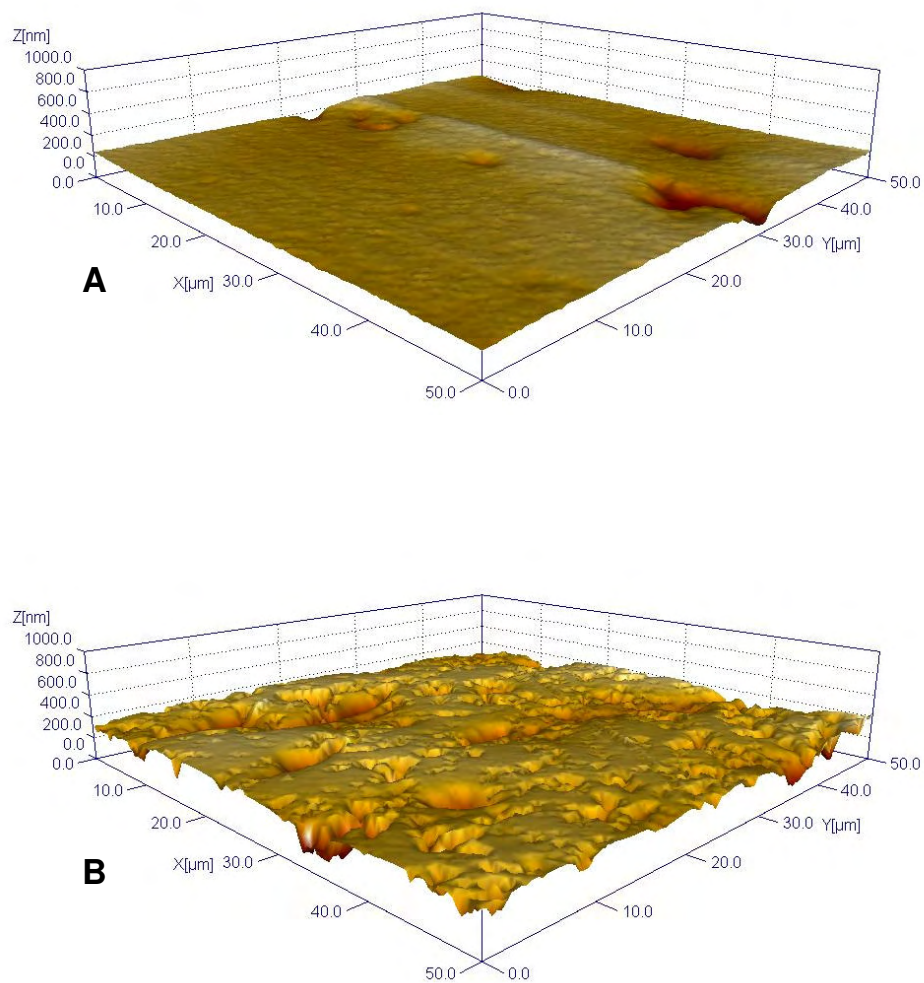


FIGURA 4 – Imagens em 3D por MFA do grupo G5 (50x50 μm). (A) imagem antes da exposição à solução fluoretada apresentando superfície lisa, com irregularidades decorrentes do polimento. (B) imagem depois da imersão em solução fluoretada apresentando superfície rugosa e irregular, com grande quantidade de micro-cavidades.

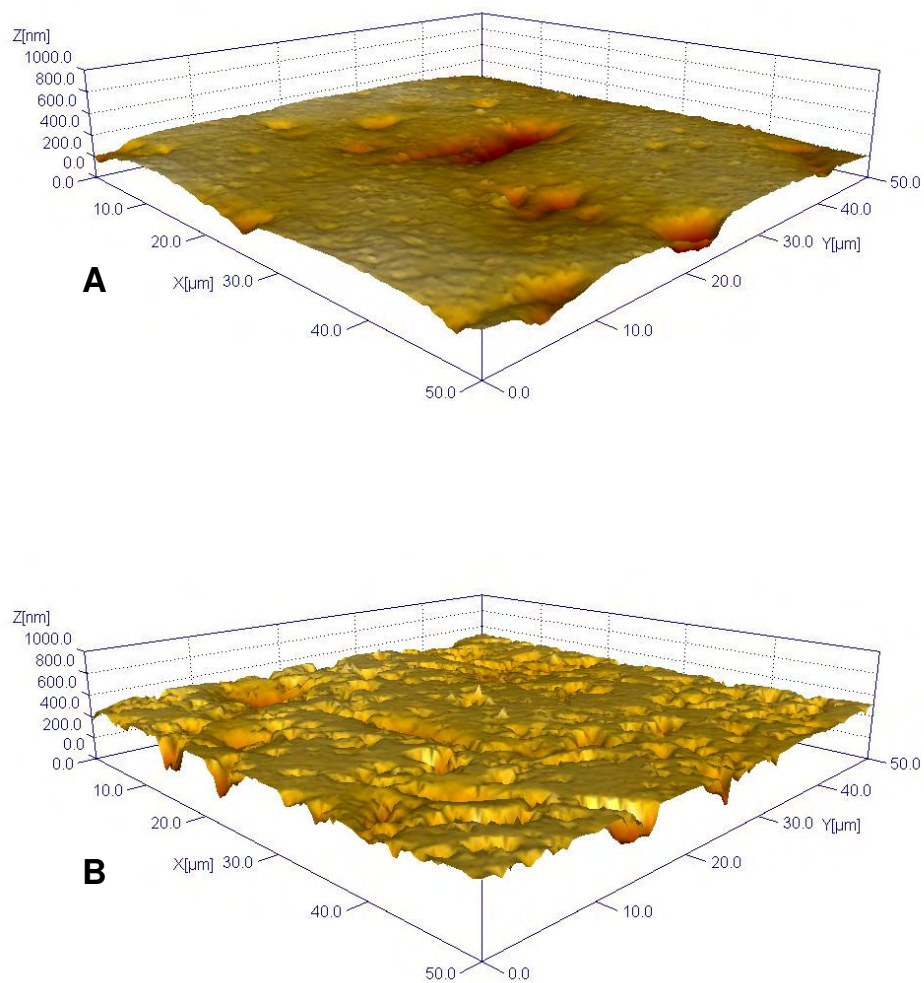


FIGURA 5 – Imagens em 3D por MFA do grupo G10 (50x50 μm). (A) imagem antes da exposição à solução fluoretada apresentando superfície lisa, com irregularidades decorrentes do polimento. (B) imagem depois da imersão em solução fluoretada apresentando superfície rugosa e irregular, com grande quantidade de micro-cavidades.

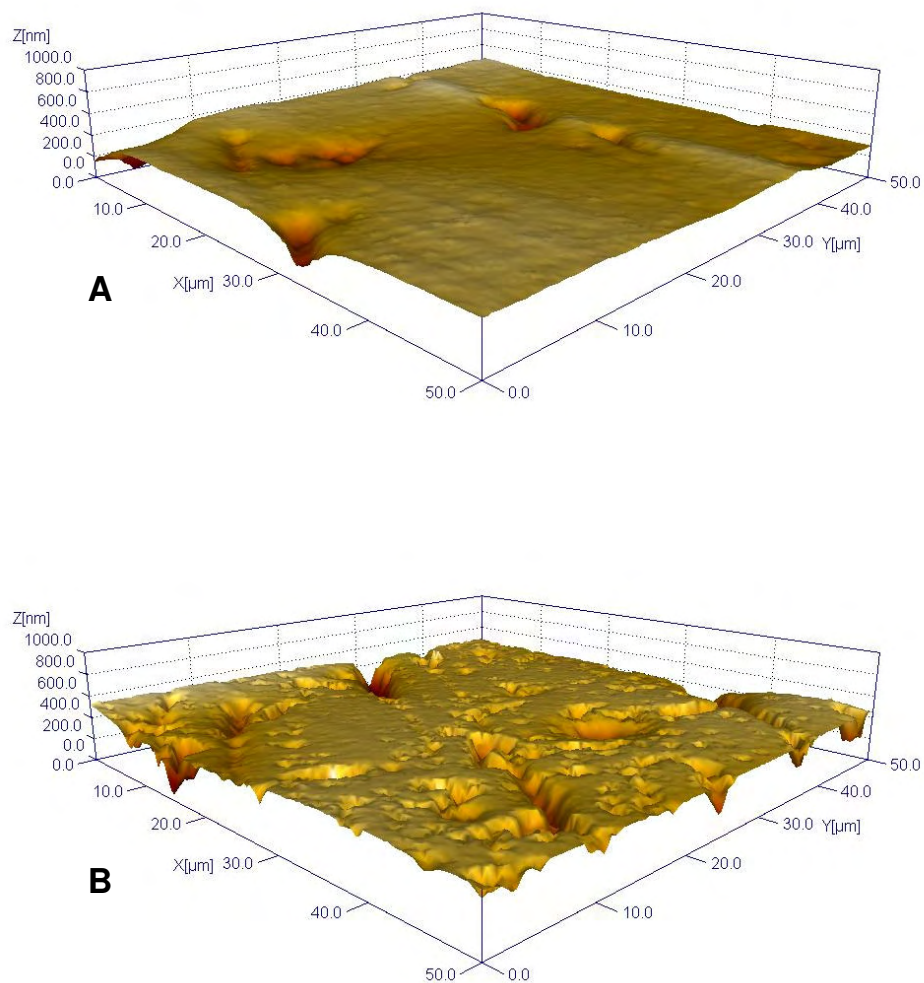


FIGURA 6 – Imagens em 3D por MFA do grupo G15 (50x50 μm). (A) imagem antes da exposição à solução fluoretada apresentando superfície lisa, com irregularidades decorrentes do polimento. (B) imagem depois da imersão em solução fluoretada apresentando superfície rugosa e irregular, com grande quantidade de micro-cavidades.

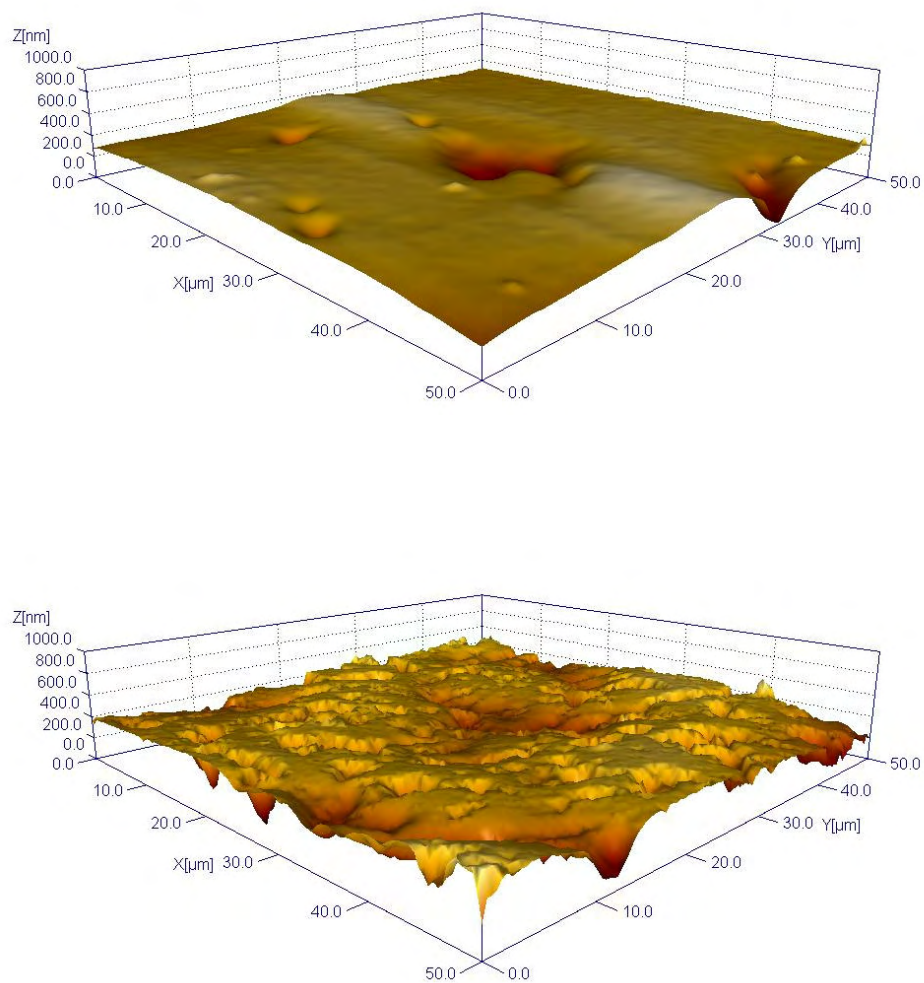


FIGURA 7 – Imagens em 3D por MFA do grupo G20 (50x50 μm). (A) imagem antes da exposição à solução fluoretada apresentando superfície lisa, com irregularidades decorrentes do polimento. (B) imagem depois da imersão em solução fluoretada apresentando superfície rugosa e irregular, com grande quantidade de micro-cavidades.

Análise macroscópica

Na avaliação macroscópica de amostras representativas de cada grupo observa-se perda de brilho e presença de manchas nos grupos G5, G10, G15 e G20 (Figura 8B, 8C, 8D e 8E, respectivamente). Esse fato é representativo de indicio de corrosão do Ti cp, e parece ser gradativo com o passar do tempo, visto que as amostras apresentam uma maior perda de brilho nos grupos de maior tempo de exposição. A amostra do grupo G0 apresenta superfície espelhada e não demonstra indicio de corrosão (Figura 8A).



FIGURA 8 – Imagem macroscópica de uma amostra representativa de cada grupo mostrando perda gradativa do brilho e presença de manchas nas amostras B (G5), C (G10), D (G15) e E (G20). Amostra A (G0) apresenta superfície espelhada.

Análise por microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas por MEV das amostras do grupo com imersão em água destilada (G0) (Figura 9) mostram características esperadas, como uma superfície plana e lisa, com algumas irregularidades decorrentes do polimento (Figura 9A), que, em uma aproximação maior (Figura 9B), observam-se algumas manchas (possível

impregnação da solução polidora), porém, sem apresentar indícios de corrosão como mostra a Figura 9.

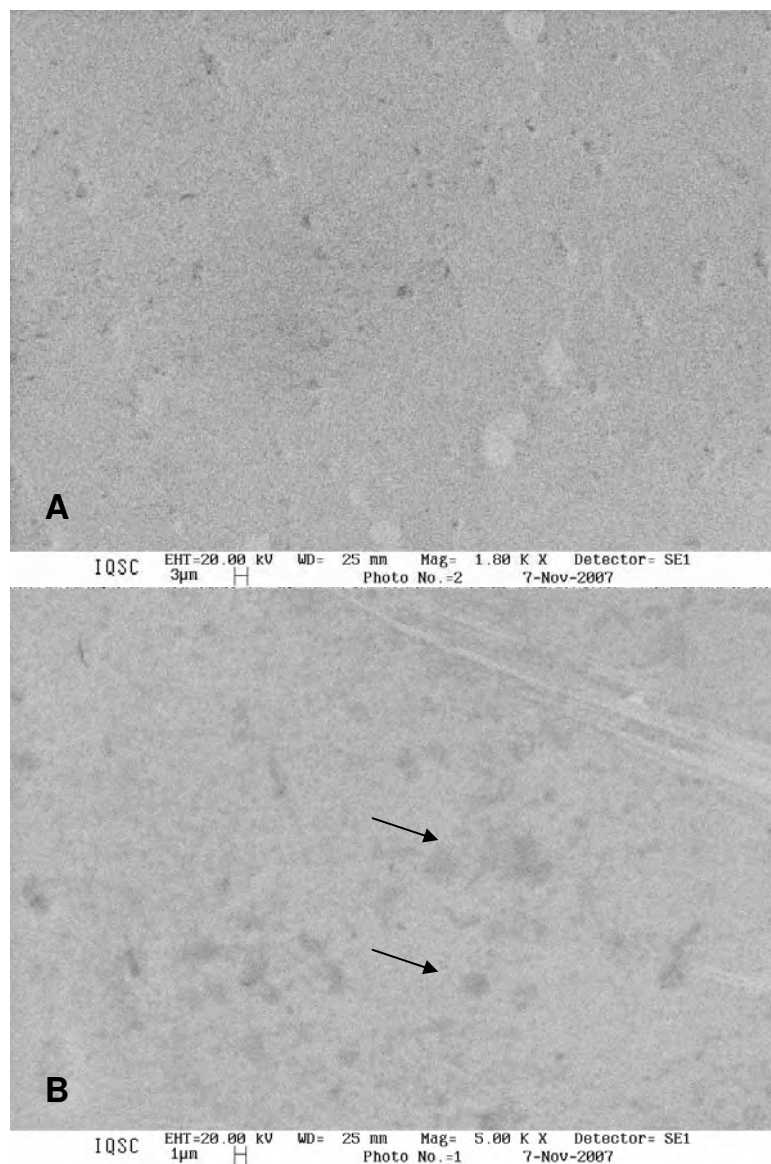


FIGURA 9 – MEV de amostra do grupo GO. A) Imagem em menor aumento demonstrando uma superfície lisa (1800x). B) Imagem em maior aumento demonstrando superfície lisa com algumas manchas (setas), possíveis resíduos da solução polidora (5000x).

Entretanto, nos grupos com exposição aos íons fluoretos G5, G10 e G15 encontram-se fortes indícios de corrosão como a presença de uma superfície com grande presença de *pits*, que são micro crateras causadas pela remoção de cristais de metal da superfície da amostra de Ti cp. Além disso, o aspecto de irregularidade e descamação causado pela corrosão é contínuo e uniforme ocorrendo em toda a superfície da amostra, descartando a possibilidade de ser um defeito superficial decorrente do processo de polimento (Figuras 10, 11 e 12).

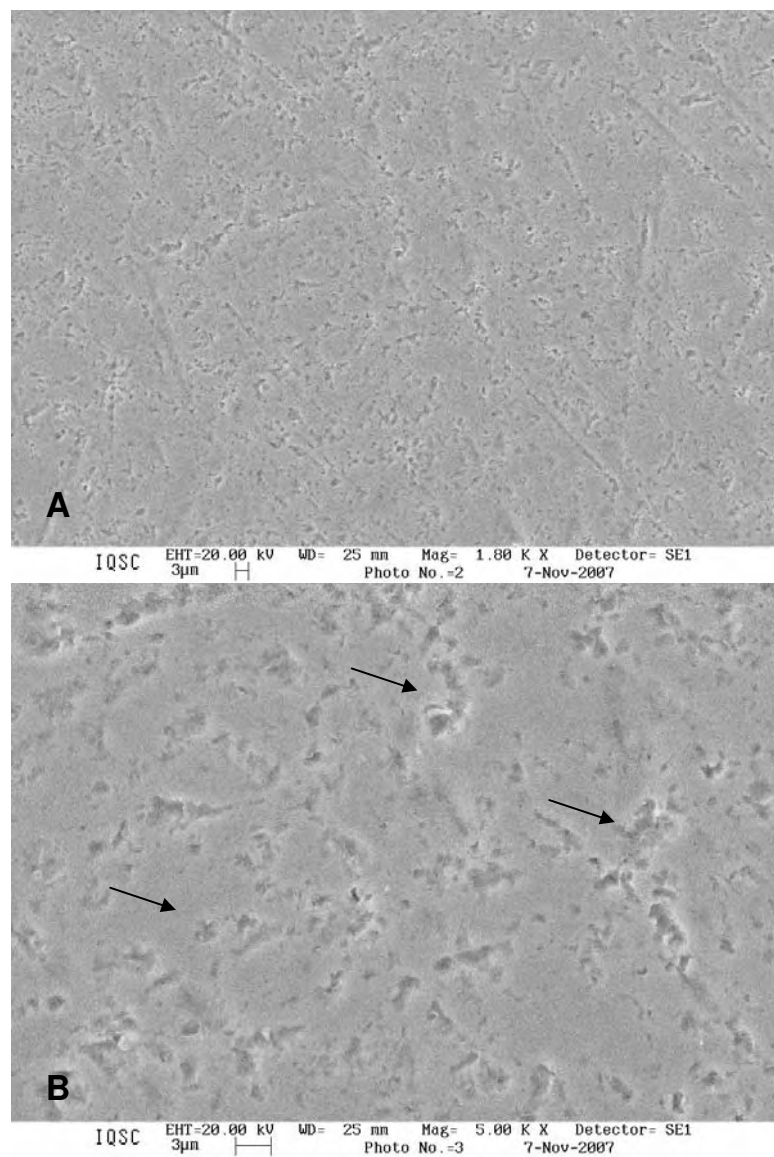


FIGURA 10 – MEV de amostra do grupo G5. A) Imagem em menor aumento demonstra superfície irregular e descamada com grande quantidade de *pits* decorrente do processo de corrosão causado pelos íons fluoretos (1800x). B) Imagem em maior aumento com presença de *pits* (setas) de diversos aspectos e tamanhos por toda a superfície da amostra (5000x).

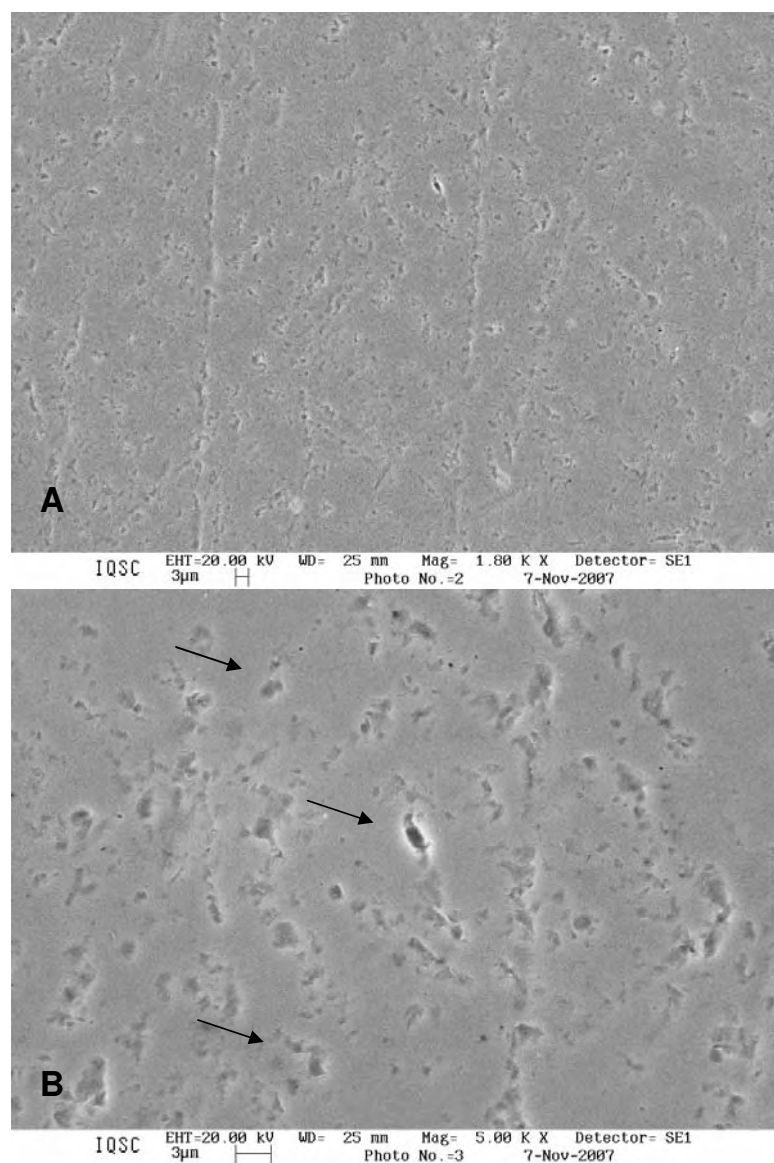


FIGURA 11 – MEV de amostra do grupo G10. A) Imagem em menor aumento demonstra superfície irregular e descamada com grande quantidade de *pits* decorrente do processo de corrosão causado pelos íons fluoretos (1800x). B) Imagem em maior aumento com presença de *pits* (setas) de diversos aspectos e tamanhos por toda a superfície da amostra (5000x).

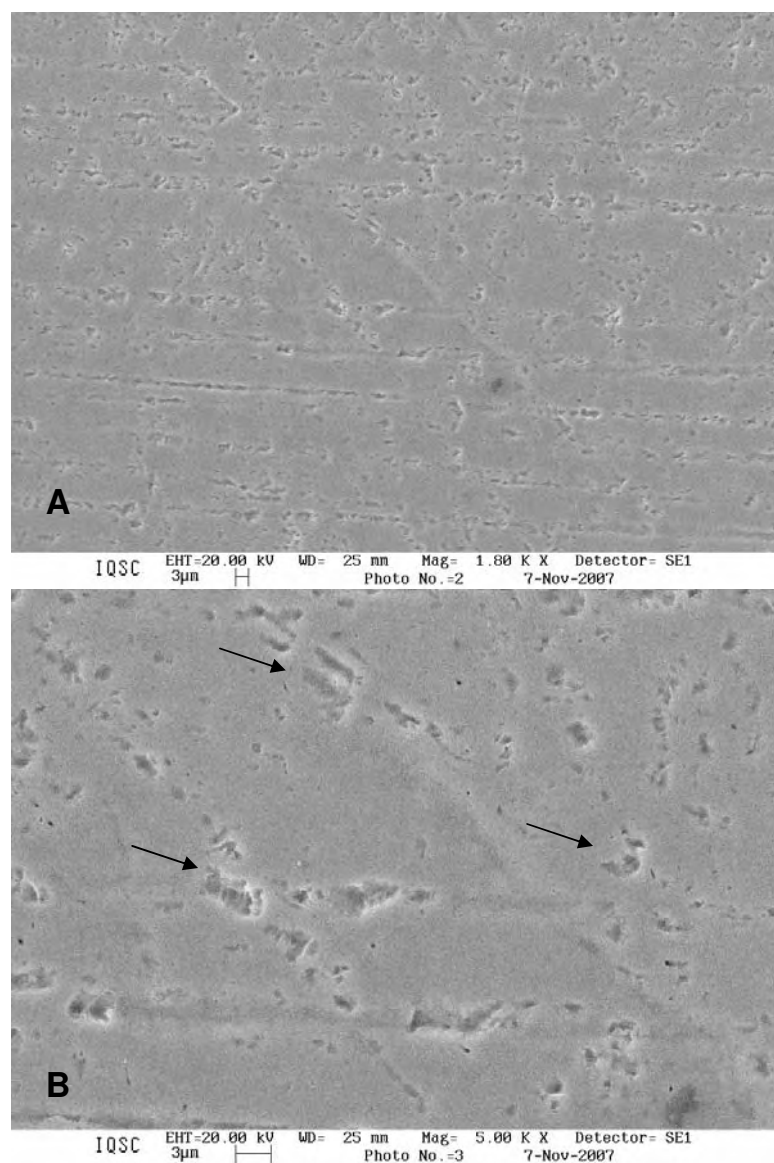


FIGURA 12 – MEV de amostra do grupo G15. A) Imagem em menor aumento demonstra superfície irregular e descamada com grande quantidade de *pits* decorrente do processo de corrosão causado pelos íons fluoretos (1800x). B) Imagem em maior aumento com presença de *pits* (setas) de diversos aspectos e tamanhos por toda a superfície da amostra (5000x).

Na análise das fotomicrografias do grupo G20, foi encontrada superfície irregular semelhante aos grupos com exposição à solução fluoretada, com grande quantidade de *pits* e aspecto de descamação, porém, as imagens mostram a presença de cristais, grânulos e manchas escuras incorporados à superfície do Ti cp (Figura 13). A presença dessas características na superfície das amostras do grupo G20, com simulação de 20 anos, sugere que em algum momento entre 15 e 20 anos de simulação do contato com íons fluoretos ocorre uma intensificação do processo de corrosão, visto que nos grupos com menor tempo de imersão não havia a presença de cristais e manchas. Outro aspecto observado é que a presença de cristais e manchas ocorre em toda a superfície da amostra e não isoladamente em alguns pontos, como mostra a Figura 14.

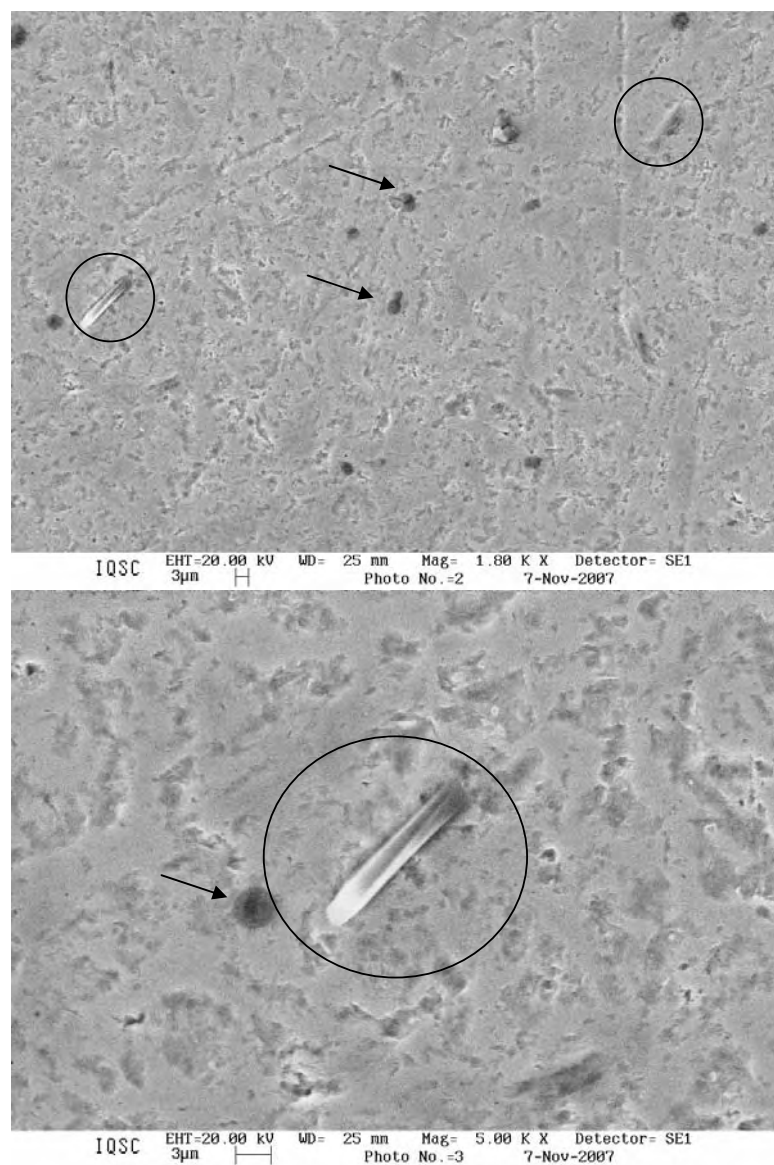


FIGURA 13 – MEV de amostra do grupo G20. A) Imagem em menor aumento demonstra superfície irregular e descamada com grande quantidade de *pits* decorrente do processo de corrosão causado pelos íons fluoretos, além de presença de cristais (círculo) e manchas escuras (seta) (1800x). B) Imagem em maior aumento com presença de um cristal (círculo) e mancha (seta) (5000x).

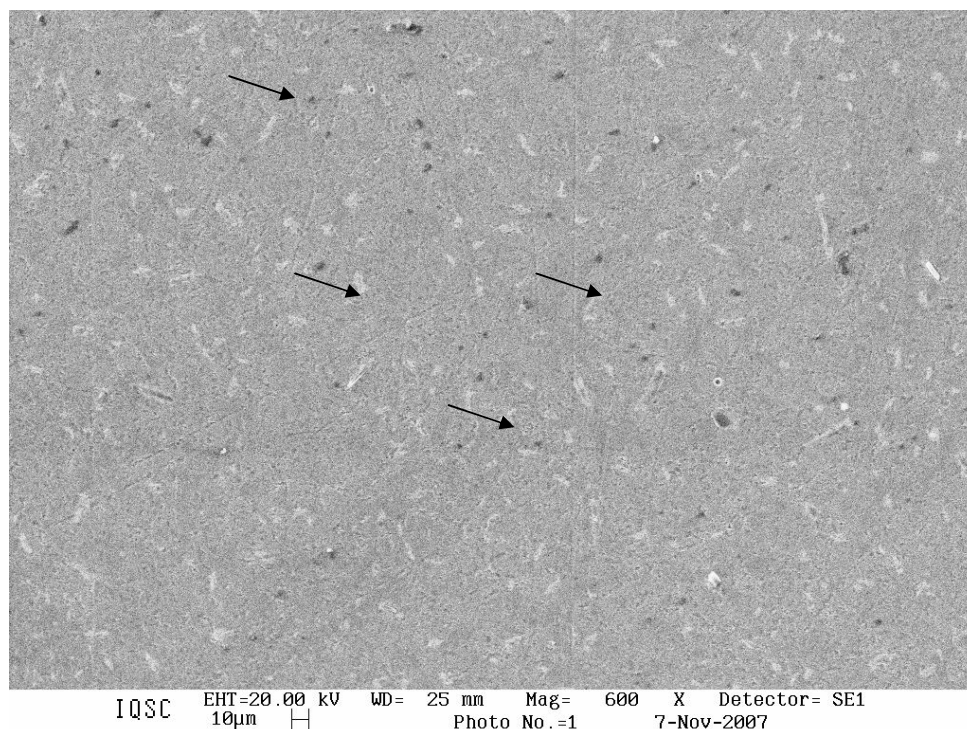


FIGURA 14 – MEV de amostra do grupo G20 em maior aumento demonstrando a quantidade e uniformidade da distribuição dos cristais (setas) e manchas escuras sobre a superfície da amostra (600x).

A análise de EDX para a observação dos elementos químicos presente nas amostras do grupo G0 evidencia a presença de 100% do elemento Ti, resultado esse que se confirmou para todos os grupos (Figura 15). Apesar de haver indício de presença do elemento flúor em algumas leituras dos grupos que receberam fluoretação, a porcentagem de F não ultrapassou 1%, portanto, não foi considerada a presença desse elemento por estar incluído na margem de erro de 1% do equipamento. Vale lembrar que as leituras foram feitas em 3 imagens para cada amostra com 600x de aumento que representa uma área considerável da amostra.

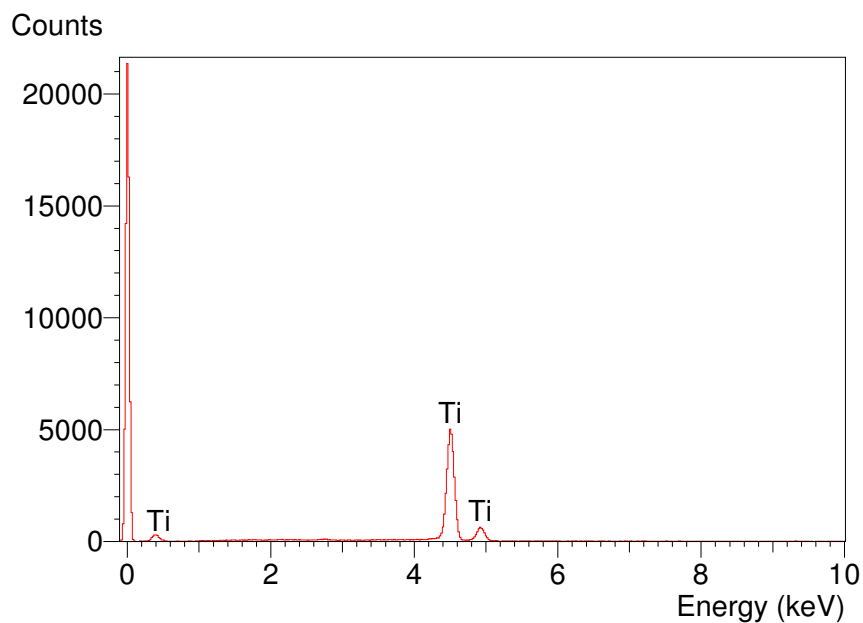


FIGURA 15 – Resultado do EDX representativo para todos os grupos do estudo demonstrando a presença de 100% do elemento Ti em uma imagem de 600x.

Entretanto, quando é realizada uma análise pontual nos cristais presentes no grupo G20 (Figura 16), observa-se a presença dos elementos Ti (68,73%), F (23,49%) e Na (7,78%) (Figura 17), o que permite confirmar que esse cristal é um sal de fluorotitanato de sódio (Na_2TiF_6) resultado da reação do fluoreto de sódio (NaF) presente na solução fluoretada com o Ti cp.

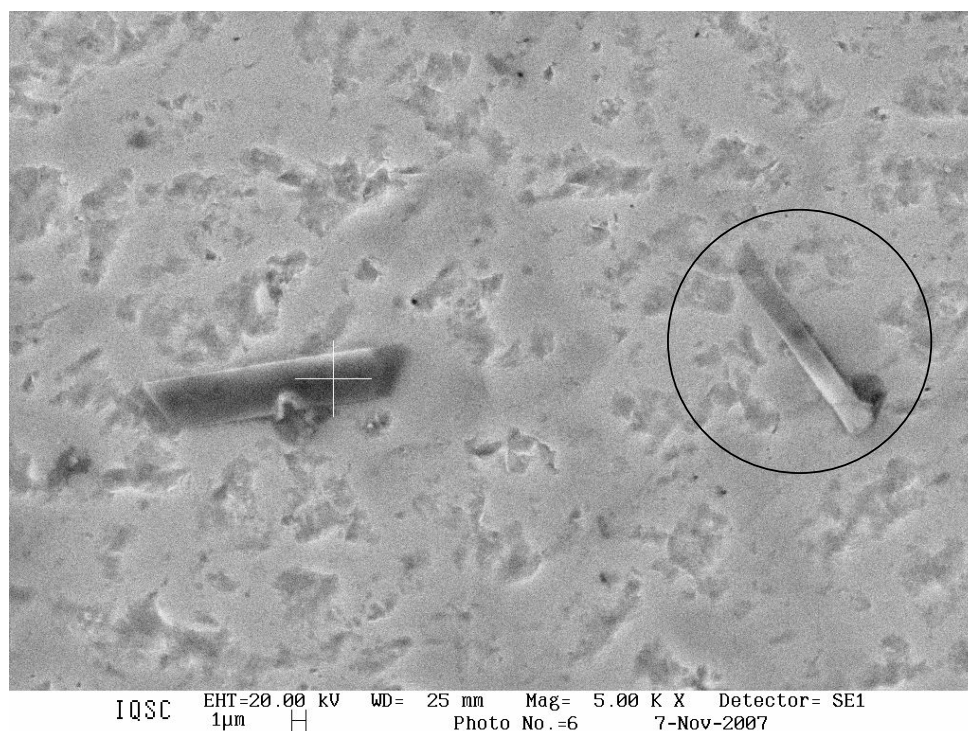


FIGURA 16 – imagem representado o local (cruz) de análise pontual por EDX de um cristal no grupo G20. A direita da imagem mostra um cristal ainda incorporado no Ti cp (circulo).

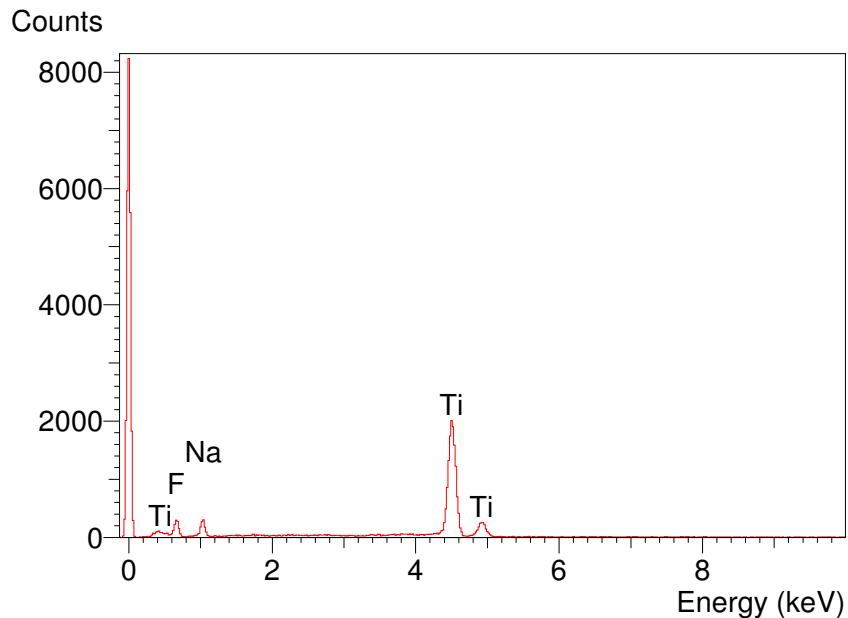


FIGURA 17 – resultado do EDX de um cristal representativo da amostra do grupo G20 demonstrando a presença dos elementos Ti (68,73%), F (23,49%) e Na (7,78%) em uma imagem de 600x.

Avaliação da adesão bacteriana

Na contagem e recuperação de microorganismos é importante ressaltar que a análise de adesão bacteriana foi realizada em triplicata, considerando-se para a contagem do número de colônias somente os valores entre 30 e 300 colônias, sendo escolhido, para cada grupo, o número de colônias referente a uma única diluição que representasse um valor entre a variação considerada (Figura 18). Os valores da contagem foram transformados em logaritmos.

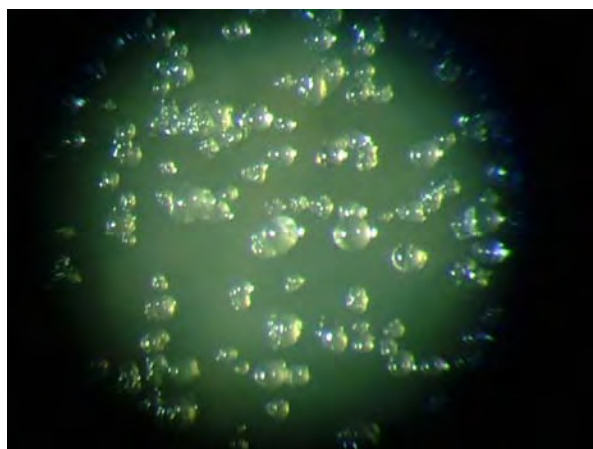


FIGURA 18 – imagem de uma diluição na ordem de 10^{-4} com a presença de colônias de *S. mutans*.

A Tabela 4 representa os valores médios e desvio padrão das unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL) para os grupos estudados após a contagem.

Tabela 4 – Valores médios com seus respectivos desvios padrão das UFC/mL após contagem das colônias viáveis.

Grupo	UFC/ml	p*
G0	5,601 ± 0,059	A
G5	5,608 ± 0,032	A
G10	5,689 ± 0,013	A,B
G15	5,779 ± 0,093	A,B
G20	5,901 ± 0,296	B

p* - comparação entre os grupos pelo teste ANOVA/Tukey (nível de significância $p < 0,05$) com diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,015$), letras diferentes representam diferença entre os grupos.

Na comparação dos valores de UFC/ml entre os grupos, observou-se um aumento gradativo das UFC/ml com o tempo (Tabela 4, segunda coluna), entretanto, pela análise de variância, foi encontrado

diferença estatisticamente significativa somente para o grupo G20 quando comparado com os grupos G0 e G5. Isso pode indicar que houve um maior número de bactérias aderidas à superfície do Ti cp quando as amostras ficaram expostas a um tempo de simulação mais prolongado, no caso a simulação de 20 anos, não indicando que a ação dos fluoretos possa interferir significativamente na adesão de microorganismos nos períodos iniciais (G0 e G5).

DISCUSSÃO

Durante as últimas décadas, o aumento do uso de implantes dentais fabricados com Ti cp aumentou consideravelmente para o tratamento de edentulismo parcial ou total. Além disso, o Ti cp é usado na fabricação de componentes e estruturas protéticas, *brackets* ortodônticos, fios e arcos linguais, e esses, ficam em contato direto com produtos corrosivos dissolvidos na saliva e fluido crevicular do ambiente bucal²⁵.

Está bem documentado que os fluoretos são agentes anticariogênicos extremamente eficazes e são utilizados rotineiramente na higiene bucal. Dentifrícios, bochechos e vernizes contendo fluoretos na forma de fluoreto de sódio (NaF) em concentrações variando entre 0,1% a 1% (1000 ppm a 10000 ppm) são frequentemente usados em aplicações profiláticas para a prevenção das cáries, adicionalmente, os fluoretos também podem ser encontrados na água potável de algumas cidades e em bebidas como alguns chás^{1,44,38,40,47}.

No presente estudo, foi utilizada uma concentração de 0,15% (1500 ppm), comum para dentifrícios disponíveis comercialmente. A exposição das amostras à solução teste para a simulação de contato com os íons fluoretos por 5 anos (G5), 10 anos (G10), 15 anos (G15) e 20 anos (G20) tomou como referência uma exposição média aos fluoretos de 2 minutos, que seriam gastos durante um procedimento de escovação,

com uma frequência de uso de 3 vezes ao dia. Sem levar em consideração para esses períodos às outras possíveis fontes de fluoretos e o flúor residual, que permanece na boca imediatamente após a escovação.

Sabe-se que a concentração de fluoretos na saliva cai drasticamente após realizar a escovação com um dentífrico de 1250 ppm durante 90 segundos, entretanto, ainda se encontram concentrações de fluoretos na saliva de até mais de 200 ppm, que caem nos próximos 30 minutos, estabilizando-se abaixo de 29 ppm e chegando a 7 ppm nas 24 horas seguintes⁶.

A corrosão de um metal pode ser descrita como trocas eletroquímicas realizadas entre o metal e o ambiente em que ele se encontra. A resistência à corrosão é determinada pela estabilidade química do metal, e o titânio é considerado um dos metais mais resistentes à corrosão. Uma camada de óxido de titânio (2 a 4 nm), conhecida como camada passivadora, altamente estável quimicamente e formada por vários óxidos, entre eles o TiO_2 , é que confere ao titânio alta resistência a corrosão e estabilidade química no organismo^{3,15,44}.

Entretanto, tem sido relatado em vários estudos que os íons fluoretos são capazes de interagir com a camada passivadora e causar corrosão no Ti cp^{27,37,45,48-50}. Os fluoretos são incorporados na camada de óxido, formando compostos de fluoreto óxido de titânio, fluoreto de titânio ou fluoreto sódio de titânio, desorganizando a estabilidade da camada de

óxido e diminuindo suas propriedades protetoras^{15,18,20,37,48,50}. Em outras palavras, os íons fluoretos podem formar um complexo solúvel com os íons titânio derivados da camada de óxido. Sem a camada de óxido, o processo corrosivo atua sobre o titânio.

Nesse estudo, a corrosão do Ti cp foi observada em todos os grupos teste na avaliação por MFA após a imersão em solução fluoretada (Figuras 4, 5, 6 e 7). O grupo controle, como esperado, não apresentou traços de corrosão (Figura 3).

Os indícios de corrosão e alteração superficial apareceram na avaliação da Ra observando-se um aumento significativo após a imersão em solução fluoretada para os grupos G5, G10, G15 e G20, e no grupo controle G0 imerso em água destilada essa alteração não foi observada (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com observado em outros estudos utilizando MFA, onde a Ra aumentou após a exposição aos íons fluoretos^{25,33}.

Entretanto discordam do estudo de Huang¹⁷ (2007), no qual o autor não encontrou aumento significativo da Ra para amostras de fios de níquel-titânio (NiTi) em concentrações abaixo de 2500 ppm mesmo em um período de exposição de 28 dias. Segundo o autor, isso provavelmente aconteceu devido à presença de outras substâncias na fórmula dos dentifrícios e bochechos utilizados no estudo que podem ter diminuído ou inibido a ação dos íons fluoretos, necessitando de investigações futuras detalhadas para esclarecer esse achado. Além

disso, Schiff et al.⁴³ (2002) demonstraram em seu estudo que a liga de NiTi apresenta um maior potencial corrosivo aos fluoretos do que o Ti cp grau II e a liga Ti-6Al-4V.

É importante salientar que na literatura não foi encontrado nenhum estudo que fizesse uma estimativa do tempo de imersão como a realizada nesse estudo. No estudo de Mabilieu et al.²⁵ (2006), as amostras foram imersas por 3, 6 e 9 dias em concentrações de 10.000 ppm e 1.000 ppm, e no estudo de Popa et. al.³³ (2008) os tempos de imersão foram de 1 e 50 dias em concentrações de 0,01 M, porém nenhum estudo apresentou justificativa para os tempos de imersão. Huang¹⁷, 2007, utilizou o período de 28 dias em diversas concentrações de dentifrícios e bochechos (variando de 0 a 17.010 ppm), e alegou que foi utilizado esse tempo, pois seria a média de tempo de substituição de um arco de NiTi de um paciente em tratamento ortodôntico, porém o autor não levou em consideração que o arco não ficaria 100% do tempo imerso em solução fluoretada em um ambiente bucal, podendo esse tempo ser considerado superestimado.

Todos os grupos apresentavam Ra semelhante antes da realização dos testes. Apesar de ter sido observado um aumento nos valores médios Ra depois das amostras dos grupos expostos aos íons fluoretos, não houve diferença significativa entre eles (Tabela 1). Além disso, o aumento da Ra parece ser gradativo com o tempo de exposição, fato esse também observado no estudo de Mabilieu et al.²⁵ (2006).

A Rms (Rugosidade média quadrática) é um padrão que consiste em uma média da altura de todos os pontos da superfície previamente elevados ao quadrado, semelhante a Ra que consiste em uma média da altura de todos os pontos da superfície. Por razão disso, a avaliação da Rms após a imersão em solução fluoretada confirma os achados da Ra, através dos quais foi observado aumento significativo da Rms para os grupos G10, G15 e G20. Para o grupo G5 observou-se um aumento da Rms, entretanto, este não foi estatisticamente significativo. O grupo controle (G0) não apresentou alteração significativa na Rms (Tabela 2). Novamente, o aumento do parâmetro de rugosidade Rms na superfície do Ti cp confirma a capacidade corrosiva da solução fluoretada empregada nesse estudo. Entretanto, contradizem os resultados do estudo de Huang¹⁷, 2007, que também avaliou a Rms e as justificativas para isso são as mesmas apresentadas para a Ra.

Na avaliação dos resultados intra-grupo antes da imersão nas soluções, não foi encontrada diferença entre eles. De maneira semelhante aos resultados da Ra ocorreu um aumento nos valores médios da Rms das amostras dos grupos expostos aos íons fluoretos, porém, não houve diferença significativa entre eles. O padrão gradativo de aumento da Rms com o tempo de exposição se repete (Tabela 2), como o encontrado na Ra.

Outro aspecto importante a ser ressaltado nesse estudo, consiste em que as leituras das superfícies por MFA foram realizadas por

um operador cego e calibrado para o estudo, de maneira que não havia por parte dele conhecimento de qual amostra estava sendo lida, nem de qual grupo ela pertencia, este é um aspecto importante, visto que esse cuidado não foi levado em conta nos outros estudos^{17,25,33}.

Além disso, as áreas projetadas nas leituras realizadas em outros estudos foram bem menores com $10 \times 10 \mu\text{m}^{35}$, $20 \times 20 \mu\text{m}^{25}$ e $30 \times 30 \mu\text{m}^{17}$, quando comparadas com a projeção de $50 \times 50 \mu\text{m}$ do estudo em questão. Uma maior área de projeção representa melhor a superfície da amostra, além do mais, áreas menores são mais sensíveis para a alteração dos parâmetros de rugosidade, favorecendo que o operador seja tendencioso no momento da leitura.

Na literatura não foi encontrado nenhum estudo que avaliasse a alteração na área da superfície do Ti cp corroído por íons fluoretos. No presente estudo quando a área superficial projetada (Área) foi avaliada intra-grupo, antes e depois da imersão em solução, observou-se aumento estatisticamente significativo da Área após a imersão em solução fluoretada para os grupos G5, G10, G15 e G20. Entretanto, o grupo controle (G0) não apresentou alteração significativa na Área ($p=0,715$) (Tabela 3).

As amostras de todos os grupos tinham Área semelhante antes dos testes, quando comparadas entre si. Entretanto, após a imersão na solução fluoretada a Área dos grupos estudados apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,014$). A aplicação do teste de

comparações múltiplas (comparações entre grupos dois a dois) permite observar que o grupo G0 apresentou área estatisticamente menor que os grupos G10 ($p=0,008$), G15 ($p=0,014$) e G20 ($p<0,001$). Ao avaliar os valores de p resultantes, verifica-se que há evidências de que a ação dos íons fluoretos é capaz de alterar a superfície do Ti cp aumentando a área superficial a partir do período de simulação de 10 anos. O aumento da Área observado nos permite afirmar que o processo corrosivo por íons fluoretos é progressivo à medida que o tempo de imersão aumenta (Tabela 3).

Trabalhos encontrando diferenças na corrosão entre pHs variados em soluções e em géis fluoretados foram demonstrados em diversas pesquisas^{16,17,27,43,50}. Porém neste estudo, a variável pH não foi avaliada e necessita de futuras investigações. A perda do brilho das amostras submetidas às soluções fluoretadas foi observada macroscopicamente e se intensifica gradativamente com o aumento do tempo de exposição (Figura 8), devido a prováveis mudanças na camada de óxido decorrentes de reações corrosivas.

A análise das amostras do grupo G0 por MEV mostra características esperadas, como uma superfície plana e lisa, com algumas irregularidades decorrentes do polimento (Figura 9A), que, em uma aproximação maior (Figura 9B), podem ser observadas algumas manchas (possível impregnação da solução polidora), porém, sem apresentar indícios de corrosão. Entretanto, nos grupos com exposição aos íons

fluoretos G5, G10 e G15 encontram-se a presença de uma superfície com grande presença de *pits*, que são micro crateras causadas pela remoção de cristais de metal da superfície da amostra de Ti cp, decorrentes da corrosão (Figuras 10, 11 e 12).

Além disso, o aspecto de irregularidade e descamação é contínuo e uniforme ocorrendo em toda a superfície da amostra. Esta corrosão é caracterizada pela formação de fendas, dentro das quais não há repassivação da camada de óxido por inibição de oxigênio, havendo estabelecimento de um processo anódico. O aspecto de corrosão por *pits* também foi observado em diversos outros estudos de imersão em solução fluoretada^{11,25}.

Na análise das MEV do grupo G20, foi encontrada superfície irregular semelhante a dos grupos com exposição à solução fluoretada, porém, as imagens mostraram a presença de cristais, grânulos e manchas escuras incorporados à superfície do Ti cp (Figura 13). Esses aspectos também foram observados por outros estudos, entretanto, somente quando a concentração dos fluoretos era de 10.000 ppm (1%) com exposição de 8 horas¹¹ e de 25.000 ppm (2,5%) por 9 dias²⁵. A presença dessas características na superfície das amostras do grupo G20 sugere que em algum momento entre 15 e 20 anos de simulação do contato com íons fluoretos ocorre uma intensificação do processo de corrosão, visto que nos grupos com menor tempo de imersão não havia a presença de cristais e manchas.

A investigação por EDX nas amostras confirma a presença de 100% do elemento Ti para todos os grupos (Figura 15). Apesar de haver indício de presença do elemento flúor em algumas leituras dos grupos que receberam fluoretação, a porcentagem atômica do elemento F não ultrapassou 1%, que é a margem de erro do equipamento. Vale lembrar que as leituras foram feitas em 3 imagens para cada amostra com 600x de aumento que representa uma área considerável da amostra.

Entretanto, quando é realizada uma análise pontual nos cristais presentes no grupo G20 (Figura 16), observa-se a presença dos elementos Ti (68,73%), F (23,49%) e Na (7,78%) (Figura 12), de acordo com o estudo de Huang¹⁵ (2002) que encontrou composto semelhante (Ti:F:Na = 65:24:11 em % atômica) e Mabillean et al.²⁵ (2006). A análise dos elementos permite confirmar que o cristal formado é um sal de fluorotitanato de sódio (Na_2TiF_6) resultado da reação do fluoreto de sódio (NaF) presente na solução fluoretada com o Ti cp¹⁵. Esse mesmo composto foi encontrado após avaliação da corrosão da liga Ti-6Al-4V, e segundo o autor, a proteção da camada de TiO_2 da liga foi destruída pelos fluoretos via formação do composto Na_2TiF_6 ¹⁶.

A aderência de microorganismos nos biomateriais e o sucesso da colonização nessas superfícies são os principais fatores das infecções associadas aos biomateriais^{8,22}. Implantes dentais geralmente têm uma excelente taxa de sucesso ao longo do tempo, entretanto, podem falhar e um dos fatores de risco associados é a peri-implantite

causada principalmente pela presença de um biofilme rico em bactérias gram-negativas presentes no biofilme mais desenvolvido, entre elas as *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter. actinomycetemocomitans*, *Fusobacterium nucleatum* e *Tannerella forsythia*³².

No entanto, no ambiente intra-oral as espécies dos microorganismos das famílias dos *Actinomyces* e dos *Streptococos* são considerados os colonizadores iniciais, preparando o meio ambiente para os outros patógenos específicos para a peri-implantite, que requerem condições específicas de crescimento¹³. Por razão disso, nesse estudo o foco foi avaliar adesão bacteriana de espécie normalmente encontrada no processo inicial da formação do biofilme, ou seja, os que estariam primeiramente em contato com a superfície do Ti cp, nesse caso os *S. mutans* que são uma espécie comum no biofilme.

Na comparação da adesão bacteriana de *S. mutans* por contagem de UFC/ml entre os grupos estudados, observou-se que o grupo G20 tinha uma maior quantidade de bactérias aderidas a sua superfície do que as dos grupos G0 e G5. Isso pode indicar que há uma maior aderência de bactérias à superfície do Ti cp quando as amostras ficaram expostas aos fluoretos por um tempo maior, no caso a simulação de 20 anos. Entretanto, tal fato não indica que a ação dos fluoretos possa interferir na adesão de microorganismos nos períodos iniciais.

Tem sido relatado que a rugosidade superficial influencia na colonização microbiana pelo aumento da retenção das bactérias com as irregularidades superficiais^{5,7,19,32,34-36,39,51,53}. A presença de micro cavidades, *pits*, ondulações e outras irregularidades superficiais ajudam na aderência, pois servem como reservatórios para os microorganismos contra forças de remoção vindas do fluido crevicular, da mastigação, deglutição, e procedimentos de higiene bucal³⁹.

Apesar de não ter sido realizado nenhum teste específico de correlação entre as variáveis Ra, Rms e Área com a aderência bacteriana, os resultados levam a crer que o aumento da Área exerce maior influencia no processo de adesão das bactérias, visto que a Área e a contagem das bactérias aderidas apresentaram um aumento significativo dos seus valores nos grupos de maior exposição aos fluoretos. A justificativa para isso seria que a Área é um valor absoluto, no qual se houvesse o aparecimento de mais vales e picos na superfície vindos de uma degradação superficial o valor seria aumentado, e para Ra e Rms, que são valores médios, esses mesmos vales e picos poderiam não alterar a medida desses parâmetros por estarem incluídos em uma média.

Dentro das limitações desse estudo, os resultados demonstram o potencial deletério que os íons fluoretos exercem na superfície do Ti cp, bem como a possibilidade de existir uma maior aderência bacteriana quando esse biomaterial é exposto a essa

substancia por maiores períodos de tempo. Apesar disso, novos estudos são necessários para melhor entender o processo de corrosão e o processo de adesão bacteriana na superfície do Ti cp.

CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos deste estudo e em vista dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

1. Os fluoretos na concentração de 1500 ppm e pH 5,3 causaram corrosão no Ti cp nos períodos de simulação de 5, 10, 15 e 20 anos;
2. Os padrões de rugosidade avaliados aumentaram em todos os grupos teste após a imersão em solução fluoretada;
3. A área superficial projetada aumentou significativamente com o passar do tempo;
4. A adesão bacteriana foi maior no grupo de simulação de 20 anos;
5. A ação dos fluoretos na superfície do Ti cp no período de simulação de 5 anos não influenciou na adesão de *S. mutans*.

REFERÊNCIAS*

1. American Dental Association. Acceptance program guidelines for fluoride-containing dentifrices. Chicago, IL: American Dental Association Council on Scientific Affairs; 1998.
2. Aparício C, Gil FJ, Fonseca C, Barbosa M. Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications. *Biomaterials*. 2003; 24: 263-73.
3. Aziz-Kerrzo M, Conrou KG, Fenelon AM, Farrell S, Breslin CB. Electrochemical studies on the stability and corrosion resistance of titanium-based implant materials. *Biomaterials*. 2001; 22: 1531-9.
4. Bayramoğlu G, Alemdaroğlu T, Kedici SP, Aksüt AA. The effect of pH on the corrosion of dental metal alloys. *J Oral Rehabil*. 2000; 27: 563-75.
5. Bollen CML, Papaioannou W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, Van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness mucositis. *Clin Oral Impl Res*. 1996; 7: 201-11.
6. Campus G, Lallai MR, Carboni R. Fluoride concentration in saliva after use of oral hygiene products. *Caries Res*. 2003; 37: 66-70.

* De acordo com estilo Vancouver. Disponível no site:
http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

7. Chin YHM, Sandham A, de Vries J, van der Mei HC, Busscher HJ. Biofilm formation on surface characterized micro-implants for skeletal anchorage in orthodontics. *Biomaterials*. 2007; 28: 2032-40.
8. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284:1318-22.
9. Drake DR, Paul J, Keller JC. Primary bacterial colonization of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14: 226-32.
10. Fathi MH, Salehi M, Saatchi A, Mortazavi V, Moosavi SB. In vitro corrosion behavior of bioceramic, metallic, and bioceramic-metallic coated stainless steel dental implants. *Dent Mater*. 2003; 19: 188-98.
11. Fujioka-Hirai Y, Akagawa Y, Minagi S, Tsuru H. Adherence of streptococcus mutans to implant materials. *J Biomed Mater Res*. 1987; 21: 913-20.
12. Gristina AG. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*. 1987; 237: 1588-95.
13. Groessner-Schreiber B, Griepentrog M, Haustein I, Müller WD, Briedigkeit H, Göbel UB. Plaque formation on surface modified dental implants. An in vitro study. *Clin Oral Impl Res*. 2001; 12: 543-51.

14. Groessner-Schreiber B, Hannig M, Dück A, Griepentrog M, Wenderoth DF. Do different implant surfaces exposed in the oral cavity of humans show different biofilm compositions and activities? *Eur J Oral Sci.* 2004; 112: 516-22.
15. Huang HH. Effects of fluoride concentration and elastic tensile strain on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Biomaterials.* 2002; 23: 59-63.
16. Huang HH. Effect of fluoride and albumin concentration on the corrosion behavior of Ti-6Al-4V alloy. *Biomaterials.* 2003;24: 275-82.
17. Huang HH. Variation in surface topography of different NiTi orthodontic archwires in various commercial fluoride-containing environments. *Dent Mater.* 2007; 23: 24-33.
18. Kaneko K, Yokoyama K, Moriyama K, Asaoka K, Sakai J, Nagumo M. Delayed Fracture of beta titanium orthodontic wire in fluoride aqueous solutions. *Biomaterials.* 2003; 24: 2113-20.
19. Kedici SP, Aksüt AA, Kılıcarslan MA, Bayramoğlu G, Gökdemir K. Corrosion behaviour of dental metals and alloys in different media. *J Oral Rehabil.* 1998; 25: 800-8.
20. Koike M, Fujii H. The corrosion resistance of pure titanium in organic acids. *Biomaterials.* 2001; 22: 2931-6.

21. Könönen M, Lavonius E, Kivilahti J. SEM observations on stress corrosion cracking of commercially pure titanium in a topical fluoride solution. *Dent Mater.* 1995; 11: 269-72.
22. Kuula H, Könönen E, Lounatmaa K, Konttinen YT, Könönen M. Attachment of oral gram-negative anaerobic rods to a smooth titanium surface: an electron microscopy study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19: 803-9.
23. Leonhardt A, Olsson J, Dahlén G. Bacterial colonization on titanium, hydroxyapatite, and amalgam surfaces in vivo. *J Dent Res.* 1995; 9: 1607-12.
24. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral.* 3rd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. 720 p.
25. Mabileau G, Bourdon S, Joly-Guillou ML, Filmon R, Baslé MF, Chappard D. Influence of fluoride, hydrogen peroxide and lactic acid on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Acta Biomater.* 2006; 2: 121-9.
26. Massaro C, Roloto P, De Riccardis F, Milella E, Napoli A, Wieland M, et al. Comparative investigation of the surface properties of commercial titanium dental implants. Part I: chemical composition. *J Mater Sci Mater Med.* 2002; 13: 535-48.

27. Nakagawa M, Matsuya S, Shiraishi T, Ohta M. Effect of fluoride concentration and pH on corrosion behavior of titanium for dental use. *J Dent Res*. 1999; 78: 1568-72.
28. Nakagawa M, Matono Y, Matsuya S, Udoh K, Ishigawa K. The effect of Pt and Pd alloying additions on the corrosion behavior of titanium in fluoride-containing environments. *Biomaterials*. 2005; 26: 2239-46.
29. Nakazato G, Tsuchiya H, Sato M, Yamauchi M. In vivo plaque formation on implant materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1989; 4: 321-6.
30. Noriega Castañeda JR. Influência de um meio fluoretado nas propriedades mecânicas do conjunto implante-componente Ti c.p. com diferentes conexões [Dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2004.
31. Pan J, Leygraf C, Thierry K, Ektessabi AM. Corrosion resistance for biomaterial applications of TiO₂ films deposited on titanium and stainless steel by ion-beam-assisted sputtering. *J Biomed Mater Res*. 1997; 25: 309-18.
32. Pier-Francesco A, Adams RJ, Waters MGJ, Williams DW. Titanium surface modification and its effect on the adherence of *Porphyromonas gingivalis*: an in vitro study. *Clin Oral Impl Res*. 2006; 17: 633-7.

33. Popa MV, Vasilescu E, Drob P, Vasilescu C, Demetrescu I, Ionita D.
Long-term assessment of the implant titanium material-artificial
saliva interface. *J Mater Sci: Mater Med.* 2008; 19: 1-9.
34. Quirynen M, Van der mei HC, Bollen CML, Schotte A, Marechal M,
Doornbusch GI, et al. An in vivo study of the influence of the
surface roughness of implants on the microbiology of supra- and
subgingival plaque. *J Dent Res.* 1993; 9: 1304-9.
35. Quirynen M, Bollen CML, Papaioannou W, Van Eldere J, Van
Steenberghe D. The influence of titanium abutment surface
roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term
observations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996; 11: 169-78.
36. Rasperini G, Maglione M, Cocconcelli PS, Simion M. In vivo early
plaque formation on pure titanium and ceramic abutments: a
comparative micro-biological and SEM analysis. *Clin Oral Impl Res.*
1998; 9: 357-64.
37. Reclaru L, Meyer JM. Effects of fluorides on titanium and other dental
alloys in dentistry. *Biomaterials.* 1998; 19: 85-92.
38. Recommendations for using fluoride to prevent and control dental
caries in the United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2001;
50 (No. RR-14): 1-42.
39. Rimondini, L, Farè S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F,
Carrassi A. The effect of surface Roughness on early in vivo plaque
colonization on titanium. *J Periodontol.* 1997; 68: 556-62.

40. Rolla G, Saxegaard E: Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res.* 1990; 69: 780-5.
41. Scarano A, Piattelli M, Vrespa G, Caputi S, Piattelli A. Bacterial adhesion on titanium nitride-coated and uncoated implants: an in vivo human study. *J Oral Implantol.* 2003; 29: 80-5.
42. Scarano A, Piattelli M, Caputi S, Favero GA, Piattelli A. bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. *J Periodontol.* 2004; 75: 292-6.
43. Schiff N, Grosgeat B, Lissac M, Dalard F. Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys. *Biomaterials.* 2002; 23: 1995-2002.
44. Shim HM, Oh KT, Woo JY, Hwang CJ, Kim KN. Corrosion resistance of titanium-silver alloys in an artificial saliva containing fluoride ions. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.* 2005; 73B: 252-9.
45. Siirilä HS, Könönen M. The effect of oral topical fluorides on the surface of commercially pure titanium. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1991; 6: 50-4.
46. Steinberg S, Sela MN, Klinger A, Kohavi D. Adhesion of periodontal bacteria to titanium, and titanium alloy powders. *Clin Oral Impl Res.* 1998; 9: 67-72.
47. Stookey GK. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides. *J Dent Res.* 1990; 69: 805-12.

48. Strietzel R, Hosch A, Kalbfleisch H, Buch D. In vitro corrosion of titanium. *Biomaterials*. 1998; 19: 1495-9.
49. Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Corrosion behavior and surface characterization of titanium in solution containing fluoride and albumin. *Biomaterials*. 2005; 26: 829-37.
50. Toumelin-Chemla F, Rouelle F, Burdairon G. Corrosive properties of fluoride-containing odontologic gels against titanium. *J Dent*. 1996; 24: 109-15.
51. Verran J, Boyd RD. The relationship between substratum surface roughness and microbiological and organic soiling: a review. *Biofouling*. 2001; 17: 59-71.
52. Washington JA, Woods GL. Antibacterial susceptibility Tests: Dilution and Disk Diffusion Methods. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of clinical microbiology*. 6th ed. Washington: ASM Press; 1995. p.1327-41.
53. Wu-Yuan CD, Eganhouse KJ, Keller JC, Walters KS. Oral Bacterial attachment to titanium surfaces: a scanning electron microscopy study. *J Oral Implantol*. 1995; 21: 207-13.

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 01 de abril de 2008.

ROMEU BELON FERNANDES FILHO