

UNESP
Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá

Guaratinguetá
2014

ROGERIO AMARAL TUPINAMBÁ

ADESÃO BACTERIANA EM BRAQUETES METÁLICOS APÓS
TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE – estudo *in vitro*

Monografia apresentada à Faculdade de
Engenharia do Campus de Guaratinguetá,
Universidade Estadual Paulista, para a obtenção
do título de Mestre em Engenharia Mecânica na
área de Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Rosifini Alves Claro
Co-orientadores: Profa Dra. Cristiane Aparecida de Assis Claro
Prof. Dr. Celestino José Prudente Nóbrega

Guaratinguetá
2014

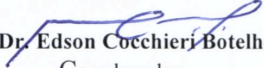
T928a	Tupinambá, Rogerio Amaral Adesão bacteriana em braquetes metálicos com tratamento de superfície: estudo in vitro / Rogerio Amaral Tupinambá – Guaratinguetá : [s.n], 2014. 77 f : il. Bibliografia: f. 69-75 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2014. Orientadora: Profª Drª Ana Paula Rosifini Alves Claro Coorientadores: Profª Drª Cristiane Aparecida de Assis Claro Prof. Dr. Celestino José Prudente Nóbrega 1. Braquetes Ortodônticos 2. Biofilme I. Título CDU 620.1(043)
-------	---

ROGERIO AMARAL TUPINAMBÁ

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
“MESTRE EM CIÊNCIAS”

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA
ÁREA: MATERIAIS

APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr.  Edson Cocchieri Botelho
Coordenador

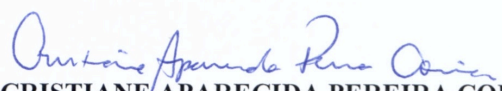
BANCA EXAMINADORA:


Prof.^ª. Dr.^a. ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO

Orientador / Unesp-Feg


Prof.^ª. Dr.^a. ROSANA VILELA CHAGAS

Unesp-Feg


Prof.^ª. Dr.^a. CRISTIANE APARECIDA PEREIRA CORREIA

ICT.SJC/Departamento de Odontologia

Janeiro de 2014

DADOS CURRICULARES

ROGERIO AMARAL TUPINAMBÁ

NASCIMENTO 02.10.1975 – CAÇAPAVA / SP

FILIAÇÃO Norival Miranda Tupinambá
Lais Amaral Tupinambá

1993/1996 Curso de Graduação em Odontologia
Universidade de Taubaté – UNITAU

2007/2009 Curso de Especialização em Ortodontia
Universidade de Taubaté – UNITAU

2011/2013 Aluno do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica,
Nível de Mestrado, da Faculdade de Engenharia
do Campus de Guaratinguetá da Universidade Estadual Paulista/UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a minha esposa Adriana e a meus filhos, Cassiano e Murilo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, pelo dom da vida e por todas as experiências maravilhosas que Ele tem me proporcionado.

A minha esposa Adriana por toda compreensão e apoio, especialmente nos momentos de ausência e aos meus filhos, Cassiano e Murilo, que juntos são meu porto seguro e razão de viver.

Aos meus pais, Norival e Lais (in memorium), que sempre foram um exemplo de companheirismo e que nunca mediram esforços para me proporcionarem os meios para que eu me tornasse a pessoa que hoje sou.

A minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Paula Rosifini Alves Claro, pela atenção e confiança a mim dedicados e, por ter me recebido de braços abertos na FEG.

A minha co-orientadora, professora e amiga Cristiane Aparecida de Assis Claro que sempre foi fonte de incentivo e motivação em minha vida acadêmica e profissional, além de sua grande contribuição para o tratamento estatístico dos dados deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Celestino José Prudente Nobrega por sua co-orientação, que transcende a esfera profissional e científica, sua confiança e receptividade.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, em especial ao Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge, chefe do Departamento de Microbiologia, pela disponibilização de seu laboratório e a aluna Nádia Domingues pelo auxílio na realização dos experimentos microbiológicos.

Ao Prof. Dr. Rogerio Pinto Mota pela disponibilização do Laboratório de Plasmas da Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá – UNESP e, em especial, aos alunos André Luiz Reis Rangel e Felipe Vicente de Paula Kodaira pelo auxílio nos experimentos de deposição e operação do Goniômetro.

Ao Prof. Dr. Luis Rogério de Oliveira Hein, do Laboratório de Microscopia e Microanálise da Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá – UNESP, pela atenção e esmero para a obtenção das imagens de MEV e Microscópio Confocal.

A todos os professores do Departamento de Materiais e Tecnologia da FEG/UNESP, pela atenção e dedicação, dos quais tive a honra de ser aluno.

Aos funcionários de Seção de Pós-Graduação da FEG/UNESP, Regina Célia Galvão Faria Alves, Sydney Eustáquio Ramos Rabelo e Maria Cristina Silva se Oliva, pela atenção no atendimento.

Às secretárias do Departamento de Materiais e Tecnologia Maria Aparecida R. Vasconcelos e Juliana Casella, pela gentileza no atendimento.

A empresa Morelli Ortodontia, pela disponibilização dos materiais utilizados para a realização deste trabalho.

Aos amigos Maurício Rangel Seixas, Maria Isabel Eboli Kimaid, Ana Lúcia do Amaral Escada, Marisa de Sousa e Reginaldo Toshihiro Konatu pelo apoio, atenção e companheirismo.

Para meus amigos e todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado, o meu mais sincero obrigado!

“Se eu vi mais longe, foi por estar de pé sobre ombros de gigantes”

(Isaac Newton)

TUPINAMBÁ, R. A. **Adesão Bacteriana em Braquetes Metálicos com Tratamento de Superfície – estudo *in vitro***. 2014 Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá. São Paulo, Guaratinguetá, 2014.

RESUMO

A evolução dos acessórios utilizados em Ortodontia, especialmente no desenho e nos materiais empregados na confecção dos braquetes, tem apresentado grandes avanços tecnológicos. A presença dos aparelhos dentários aumenta a possibilidade de adesão bacteriana sobre estas superfícies e assim, o risco à cárie nos pacientes ortodônticos. Modificações na superfície dos braquetes, como o aumento da hidrofobicidade, redução da rugosidade superficial e deposição de filmes, tem sido empregadas como opção para redução da adesão bacteriana. Neste estudo *in vitro*, filmes de polímero de hexametildisiloxano foram depositados sobre braquetes metálicos convencionais e autoligantes, empregando a técnica PECVD (Deposição Química por Plasma de Rádio Frequência). As amostras foram divididas em quatro grupos, dois com e dois sem tratamento de superfície. Foram avaliadas a variação da molhabilidade, rugosidade superficial e adesão de biofilme de *Streptococos mutans*. Os valores obtidos para adesão de biofilme foram analisados usando o teste de Kruskal-Wallis e SNK. Os resultados mostraram diferença estatística significativa ($p \leq 0.05$) entre os braquetes convencionais com e sem filme e, entre os braquetes convencionais e braquetes autoligantes. Portanto se conclui, que o tratamento de superfície foi efetivo na redução da adesão bacteriana nos braquetes convencionais, se observou também, que os braquetes convencionais apresentaram menor adesão de biofilme que os braquetes autoligantes.

PALAVRAS-CHAVE: Braquetes Ortodônticos, Biofilme, PECVD, Hexametildisiloxano.

TUPINAMBÁ, R. A. **Bacterial Adhesion on Metallic Brackets after Surface Treatment – *in vitro* study**. 2014 Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá. São Paulo, Guaratinguetá, 2014.

ABSTRACT

The evolution of the accessories in Orthodontics, especially in the design and materials used in the brackets manufacture, has exhibited major technological advances. The presence of dental appliances increases the possibility of bacterial adhesion on these surfaces and thus the risk of caries in orthodontic patients. Changes on the brackets surface, as the increased hydrophobicity, reduced surface roughness and film deposition have been employed as an option for reducing bacterial adhesion. In this *in vitro* study, hexamethyldisiloxane polymer films were deposited on conventional and self-ligating stainless steel brackets, using the Radio Frequency PECVD technique (Plasma- Enhanced Chemical Vapor Deposition). The samples were divided into four groups according to the surface treatment, two treated and two untreated. The changes in wettability, surface roughness and adhesion of the *Streptococcus mutans* biofilm were evaluated. The values obtained for biofilm adhesion were analyzed using the Kruskal-Wallis and SNK test. The results showed statistically significant difference ($p \leq 0.05$) between conventional brackets before and after surface treatment and between conventional and self-ligating brackets. Therefore it was concluded that surface treatment was effective in reducing bacterial adhesion in conventional brackets, it was also noted that the conventional brackets showed lower biofilm adhesion than self-ligating brackets.

KEYWORDS: Orthodontic Brackets, Biofilm, PECVD, Hexamethyldisiloxane.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Primeiros aparelhos industrialmente produzidos por Angle.....	17
FIGURA 2	Região com acúmulo de biofilme durante o tratamento ortodôntico (a) e presença de lesão de esmalte após a remoção do aparelho (b).....	18
FIGURA 3	Diagrama multifatorial da cárie.....	18
FIGURA 4	Formação do biofilme a partir da película adquirida do esmalte (linha escura).....	19
FIGURA 5	Braquete convencional com suas respectivas partes em vista posterior (a), vista frontal (b) e vista lateral (c).....	22
FIGURA 6	Braquete autoligante interativo com suas respectivas partes em vista posterior (a), vista frontal (b) e vista lateral (c).....	23
FIGURA 7	Braquete com sistema passivo.....	24
FIGURA 8	Diferentes tipos de meio de ligação e asteriscos indicando as regiões com maior acúmulo de bactérias.....	26
FIGURA 9	Braquete sem a presença de cálculo (a) e com cálculo em seu interior (b).....	27
FIGURA 10	Os quatro estados da matéria.....	29
FIGURA 11	Plasma de íons e elétrons livres gerados pela ionização total do gás de hidrogênio.....	30
FIGURA 12	Modelo hipotético de um filme de etileno polimerizado a plasma.....	31
FIGURA 13	Esquema dos processos de polimerização a plasma aplicadas aos biomateriais.....	33
FIGURA 14	Estrutura química do HMDSO.....	34
FIGURA 15	Fluxograma de metodologia empregada no trabalho.....	36
FIGURA 16	Microscópio DCMD3 (a) e conjunto de lentes em detalhe (b).....	38
FIGURA 17	Equipamento empregado para a deposição do filme de HMDSO.....	39
FIGURA 18	Diagrama de blocos do sistema utilizado para a deposição dos filmes poliméricos.....	40
FIGURA 19	Microscópio Óptico e Interferômetro.....	41
FIGURA 20	Equipamento empregado para medida do ângulo de contato	

	e energia de superfície.....	42
FIGURA 21	Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).....	42
FIGURA 22	Amostras e lâminas de vidro posicionados sobre a placa de deposição (a) e plasma de limpeza de argônio com amostras posicionadas no interior do reator (b).....	43
FIGURA 23	Degrau para medida de espessura.....	45
FIGURA 24	Espectrofotômetro utilizado para controle da suspensão bacteriana.....	46
FIGURA 25	Amostras acondicionadas nos poços para formação do biofilme.....	47
FIGURA 26	Amostras sendo agitadas em PBS para remoção das bactérias não aderidas.....	47
FIGURA 27	Sonicador utilizado (a) e amostra sendo sonicada no interior do tubo Falcon (b).....	48
FIGURA 28	Filme sendo medido nas potências de 20(a), 30(b) e 40W(c).....	51
FIGURA 29	Amostras observadas nas diferentes ampliações.....	52
FIGURA 30	Região da aleta do braquete dos grupos CS e CC.....	54
FIGURA 31	Região da aleta do braquete dos grupos AS e AC.....	55
FIGURA 32	Região do fundo do slot dos grupos AS e AC.....	56
FIGURA 33	Grupo CS (a), grupo AS (b), grupo CC (c) e grupo AC (d).....	57
FIGURA 34	Grupo CS (a), grupo AS (b), grupo CC (c), grupo CS (d) em BSE.....	58
FIGURA 35	Grupo AS, vista frontal em “a” e vista lateral em “c” e “d”.....	61
FIGURA 36	Grupo AC, vista frontal em “a” e vista lateral em “c” e “d”.....	62
FIGURA 37	Grupo CS, vista frontal em “a” e vista lateral em “c” e “d”.....	63
FIGURA 38	Grupo CC, vista frontal em “a” e vista lateral em “c” e “d”.....	63
FIGURA 39	Evidência da ausência de recobrimento de polímero no interior da canaleta horizontal.....	64
FIGURA 40	Braquete do grupo AC, evidenciando a falha na deposição do polímero.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química dos materiais empregados.....	37
Tabela 2 – Distribuição dos grupos analisados.....	46
Tabela 3 - Valores de rugosidade das regiões observadas.....	49
Tabela 4 – Medidas dos ângulos obtidos pelo Goniômetro e energia de superfície.....	50
Tabela 5 - Espessura de filmes obtidas a partir dos diferentes parâmetros de deposição.....	51
Tabela 6 - Valores de rugosidade nas regiões avaliadas e percentual de variação em relação as amostras sem deposição.....	53
Tabela 7 - Estatística descritiva (média, desvio-padrão (DP), mediana, primeiro quartil (Q1), terceiro quartil (Q3), valores mínimo e máximo).....	59
referentes ao valores de contagem de colônias (log).	
Tabela 8 - Resultados dos testes de Kruskal-Wallis e de SNK para comparação entre os grupos.....	60

SUMÁRIO

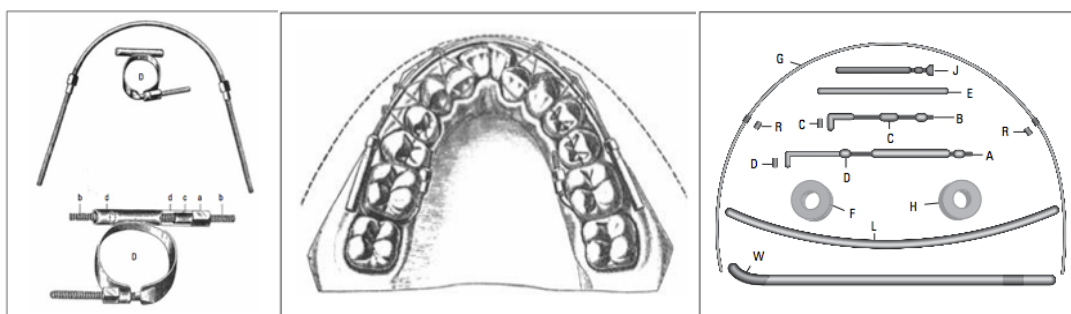
1 INTRODUÇÃO	17
1.1 OBJETIVOS	20
1.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 OS BRAQUETES UTILIZADOS EM ORTODONTIA	22
2.2 ADESÃO BACTERIANA	25
2.3 TRATAMENTOS DE SUPEFÍCIE	29
2.3.1 A Polimerização a plasma por rádio-frequência	29
2.3.2 A deposição química de vapor melhorada a plasma (PE-CVD)	31
2.3.3 Polimerização a plasma	31
2.3.4 Modificações das propriedades físico-químicas de superfície	32
2.3.5 O Polímero de Hexametildisiloxano (HMDSO)	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS	36
3.1.1 Limpeza dos substratos	36
3.1.2 Avaliação da rugosidade superficial	38
3.2 SISTEMA DE DEPOSIÇÃO DOS FILMES DE POLÍMERO DE HMDSO	38
3.3 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO IDEAL DE DEPOSIÇÃO	40
3.3.1 Condição de deposição sobre lâmina de vidro	40
3.3.2 Condição de deposição sobre tira de aço	41
3.3.3 Condição de deposição sobre os braquetes	43
3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	44
3.4.1 Medida do ângulo de contato e energia de superfície	44
3.4.2 Espessura dos filmes – interferometria	44
3.4.3 Microscopia eletrônica de varredura	45
3.5 ESTUDO DA FORMAÇÃO DO BIOFILME	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS	49
4.1.1 Avaliação da rugosidade superficial	49
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO FILME DE HMDSO	50

4.2.1 Molhabilidade do filme de HMDSO	50
4.2.2 Perfilometria	50
4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura do filme	52
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS BRAQUETES APÓS DEPOSIÇÃO DO FILME	53
4.3.1 Avaliação da rugosidade superficial	53
4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	57
4.3.3 Avaliação da adesão bacteriana	59
5 CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICE A – VERIFICAÇÃO DA NORMALIDADE ENTRE OS GRUPOS ESTUDADOS	76

1 INTRODUÇÃO

A utilização de aparatos específicos para a movimentação dentária em Ortodontia data de 1890, quando Angle inventou e patenteou uma série de aparelhos para correção das posições dentárias (GRABER et al., 2000). Desde então, passando por diversas modificações e evoluções técnicas, a produção industrial destes aparatos foi padronizada (figura 1) e diferentes métodos de fabricação foram desenvolvidos, contribuindo para o avanço tecnológico da especialidade e precisão das técnicas (BRITO JR; URSI, 2006).

Figura 1 - Primeiros aparelhos industrialmente produzidos por Angle.

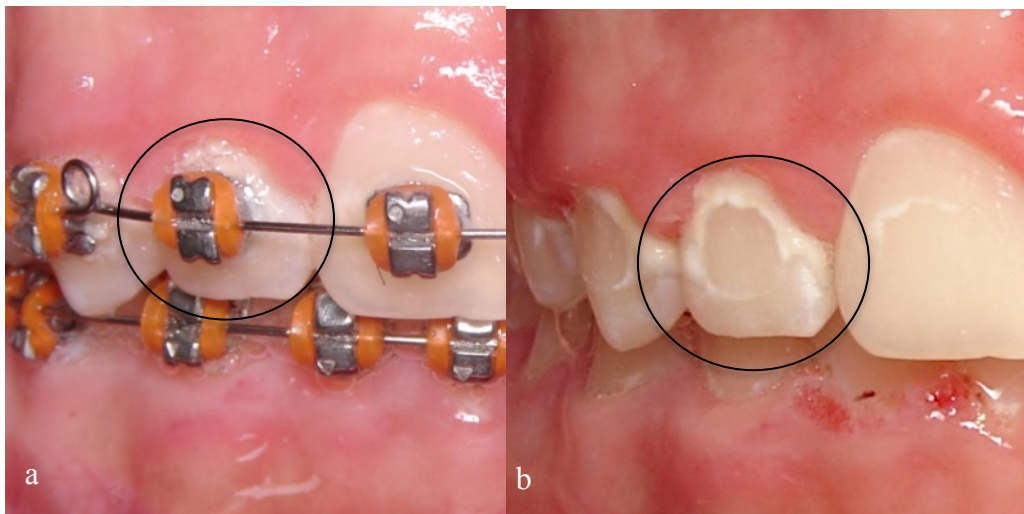


FONTE: Adaptado de Brito Jr.; Ursi, 2006.

A preocupação da população em geral com a saúde bucal e a estética, aliada a redução do custo dos tratamentos ortodônticos, impulsionou vultosamente o número de pessoas que se submetem à tratamentos ortodônticos (KOK et al., 2004; ACKERMAN, 2010). Consequentemente houve aumento da incidência de problemas associados a estes tratamentos, tais como reabsorções radiculares, traumatismos de mucosa, reabsorções ósseas e lesões de esmalte dentário (DAVIDOVITCHA; KRISHNAN, 2009).

A instalação do aparelho ortodôntico aumenta a quantidade de locais propícios a proliferação bacteriana (figura 2), tornando superfícies pouco susceptíveis ao desenvolvimento da cárie, em áreas de alta incidência (TUFEKCI et al., 2011), sendo que, na ausência de métodos profiláticos, as lesões de cárie se instalam em quatro semanas (OGAARD et al., 1988).

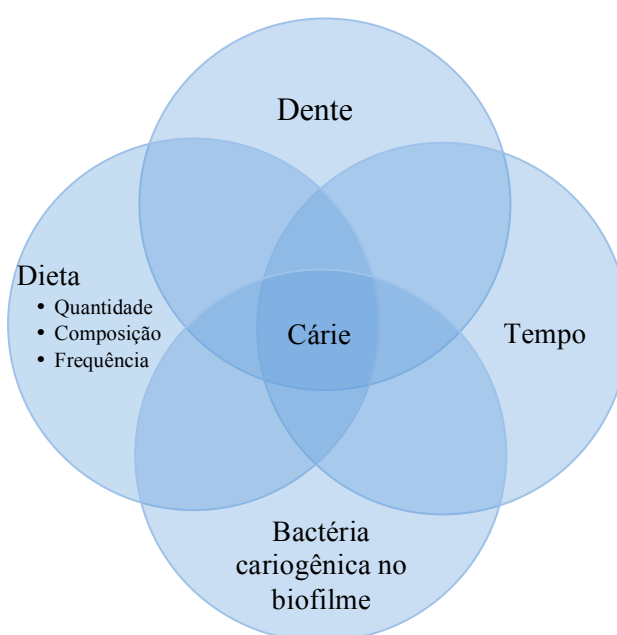
Figura 2 - Região com acúmulo de biofilme durante o tratamento ortodôntico (a) e presença de lesão de esmalte após a remoção do aparelho (b)



Fonte: Fotos do arquivo pessoal do autor.

A doença cárie tem característica multifatorial, sendo dependente da presença do hospedeiro (dentes), dieta (ingesta de açúcares), bactérias cariogênicas (biofilme) e do tempo de permanência do biofilme (figura 3). Assim sendo, a ausência de um destes fatores inviabiliza a instalação e desenvolvimento da doença (SELWITZ et al., 2007)

Figura 3 - Diagrama multifatorial da cárie

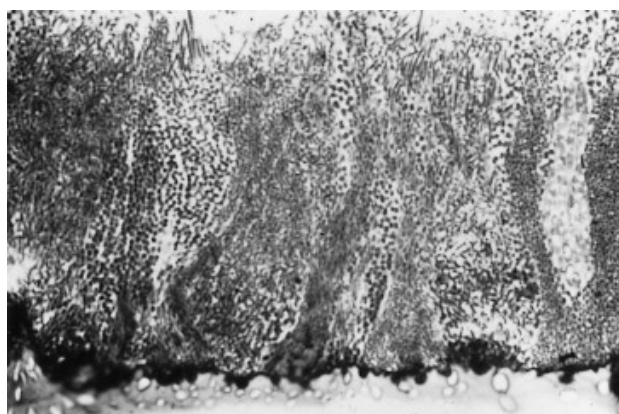


Fonte: Adaptado de Selwitz et al., 2007.

O *Streptococos mutans* é considerado o principal micro-organismo responsável pela cárie dentária. Sua instalação depende de contaminação vertical, horizontal ou de ambas e, tem características acidogênicas e acidúricas, Seu metabolismo de degradação de carboidratos, produz ácidos que desmineralizam o esmalte dentário e a instalam da cárie. (GARCÍA-GODOY; HICKS, 2008).

Conforme descrito por Rosan e Lamont (2000), a formação do biofilme dentário se dá em duas etapas distintas, a primeira etapa está associada com a adsorção das células bacterianas à película adquirida do esmalte; a segunda etapa envolve a união das células aderindo-se umas as outras. Grande variedade de adesinas e interações moleculares constituem a base destes processos adesivos e contribuem para o desenvolvimento e posteriormente na instalação de doenças como a cárie e problemas periodontais (figura 4).

Figura 4 - Formação do biofilme a partir da película adquirida do esmalte (linha escura).



Fonte: ROSAN; LAMONT (2000).

Com relação aos fatores associados à instalação da cárie, a maior evolução tecnológica está no controle da formação e adesão do biofilme às superfícies dentárias, com o desenvolvimento de substâncias, mecanismos e barreiras que dificultam a formação do biofilme, tanto nas superfícies dentárias, quanto nos aparelhos ortodônticos (SUDJALIM et al., 2007).

A adesão bacteriana possui características especiais e dependentes da interação direta do biofilme com a superfície do substrato com o qual este se relaciona. Fatores como presença da película adquirida do esmalte (ROSAN; LAMONT, 2000), polaridade, rugosidade (TEUGHEL et al., 2006), molhabilidade e energia de superfície (JANSEN; KOHNEN,

1995), desempenham papéis críticos neste relacionamento, interferindo não só na facilidade de adesão como nas características da formação do biofilme.

A modificação das características de superfície dos biomateriais, com a deposição de filmes que possam dificultar ou até mesmo impedir a adesão e reprodução bacteriana, abre nova perspectiva no controle da formação de biofilmes em meio bucal (GRÖBNER-SCHREIBER, 2001; MONTEIRO et al., 2009).

Este tipo de prática, bastante comum na Implantodontia (YOSHINARI et al., 2001), serve de inspiração para que estas estratégias também possam ser utilizadas na Ortodontia, como a deposição de filmes de polímeros sobre a superfície dos braquetes (DEMLING et al., 2010), visando o controle da adesão dos biofilmes durante o tratamento e reduzindo assim o risco de lesões de esmalte.

Tal recurso possibilita o desenvolvimento de uma nova linhagem de produtos que tem características de superfícies altamente reativas e tecnológicas, agregando mais segurança e conforto a todos os indivíduos que necessitem de tratamento ortodôntico.

1.1 OBJETIVOS

A partir do exposto, o objetivo do presente trabalho foi a utilização de técnicas de deposição de polímero a plasma, sobre braquetes metálicos, dos modelos convencional e autoligante, com o intuito de modificar suas propriedades e características de superfície e assim, avaliar a adesão bacteriana.

1.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação é constituída por seis capítulos e pelas referencias bibliográficas, tendo seu conteúdo distribuído da seguinte forma:

Capítulo 1, Introdução: expõe os aspectos gerais da dissertação, proposta do trabalho, justificativa, objetivos e estrutura da dissertação.

Capítulo 2, Revisão da Literatura: contém considerações gerais sobre os acessórios utilizados na ortodontia, suas composições de liga, as características da adesão bacteriana, da bioflora bucal, tratamento de superfícies a plasma, métodos e características de deposição de

polímeros, sua utilização nos biomateriais e especificamente sobre o hexametildisiloxano (HMDSO).

Capítulo 3, Materiais e Métodos: descreve a metodologia empregada para a escolha da melhor condição de deposição do filme de HMDSO. A caracterização dos substratos, a deposição e caracterização do filme, a técnica microbiológica para adesão bacteriana às amostras e caracterização das amostras após adesão bacteriana.

Capítulo 4, Resultados e Discussão: apresenta detalhadamente os resultados obtidos nos experimentos realizados no trabalho e suas respectivas análises, em confronto com outros autores e trabalhos revisados na literatura.

Capítulo 5, Conclusões: são apresentadas as conclusões obtidas a partir da avaliação criteriosa dos resultados obtidos neste estudo.

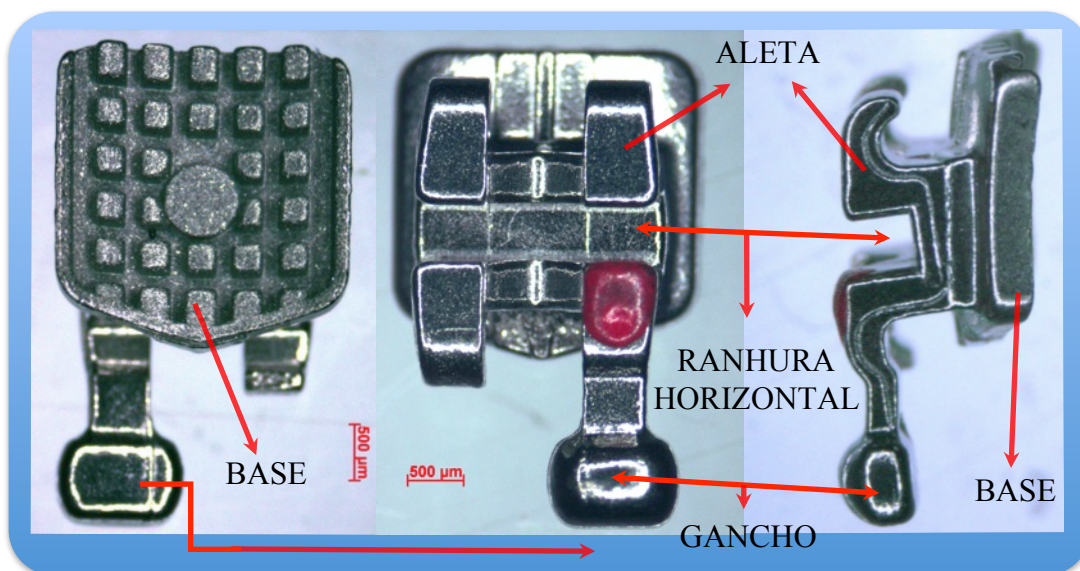
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 OS BRAQUETES UTILIZADOS EM ORTODONTIA

Brito Jr e Ursi (2006), em extenso estudo analisando as diversas técnicas ortodônticas e como cada uma delas se utilizava de diferentes prescrições de braquetes com angulações, inclinações e rotações que favoreciam cada uma das mecânicas distintamente, puderam observar que o ponto em comum dentre todas é a presença do braquete ortodôntico.

O braquete exibe como característica comum, independente da técnica utilizada, a presença de duas ou mais aletas, com a função de apoio para fixação do arco por meio de fios de amarrão ou ligaduras elásticas, ranhura horizontal (slot), por onde o arco ortodôntico é posicionado para transmissão das forças ao dente, base, onde em sua face voltada ao dente existe fina trama de malha metálica ou superfície rugosa o bastante para permitir a colagem direta do braquete ao dente. (Figura 5)

Figura 5 - Braquete convencional com suas respectivas partes em vista posterior (a), vista frontal (b) e vista lateral (c).



Fonte: Fotos realizadas pelo autor.

Nas diversas técnicas ortodônticas, diferentes meios de ligação entre fio e braquete podem ser encontrados. Na técnica de Edgewise, os meios de ligação utilizados mais comuns são os fios de amarrão metálico de aço. Na mecânica de Straight-Wire, onde cada um dos

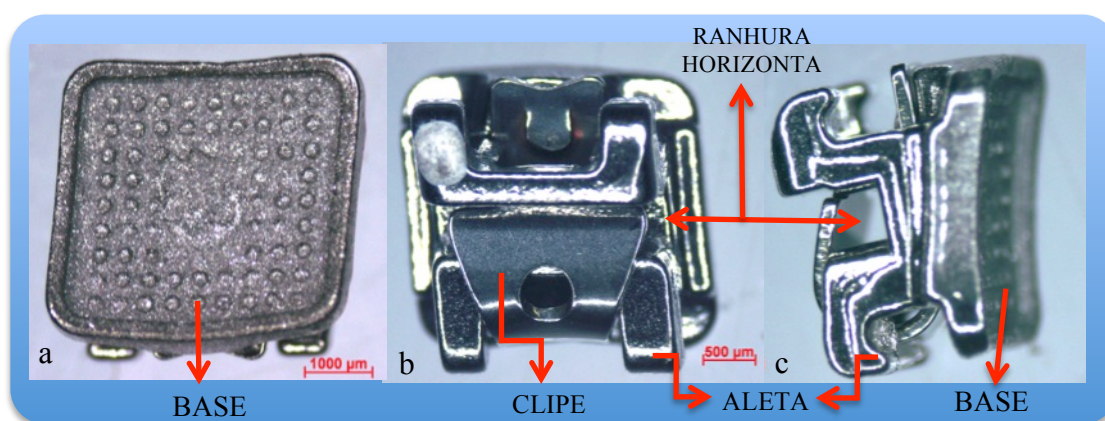
braquetes possui características específicas à seu elemento dentário correspondente, começou-se a utilizar ligaduras elásticas como meio de ligação (SHIVAPUJA et al. 1994).

Meios mecânicos de ligação entre arco ortodôntico e braquete, onde o próprio braquete possui meios ou acessórios que o transformem em um tipo de tubo, já eram propostos por Stolzenberg através do sistema Russel em 1930 (CHEN et al., 2010), nos primórdios da Ortodontia, ainda na técnica de Edgewise. A este tipo meio de união convencionou-se defini-la como autoligante.

Conforme observado por Almeida e Ursi (2010), braquetes autoligantes possuem o fechamento completo da ranhura horizontal, dessa forma, o fio ortodôntico fica contido por quatro superfícies, ao em vez das tradicionais três que se encontram nos braquetes Edgewise. O pressuposto desse conceito é que o controle adicional dado pelo fechamento do braquete provoca o assentamento total do arco dentro da ranhura horizontal, propiciando melhor controle tridimensional na posição dos dentes.

Conforme descrito por Rinchuse e Miles (2007), braquetes autoligantes podem ser divididos em dois grupos: aqueles com clipe ativo, que funciona como mola que pode pressionar-se contra o arco de alinhamento, os ativos ou como preferem alguns autores, interativos (figura 6) e; aqueles com sistema passivo de ligação, na qual o clipe, atuando como porta, preferencialmente não pressionando o arco (figura 7).

Figura 6 - Braquete autoligante interativo com suas respectivas partes em vista posterior (a), vista frontal (b) e vista lateral (c).



Fonte: Fotos realizadas pelo autor.

Figura 7 - Braquete com sistema passivo



Fonte: Adaptado de Almeida e Ursi (2008).

A ação de interatividade pode ser compreendida quando se observa a variação da característica do braquete dependendo do calibre do arco utilizado. Assim, quando fios de espessura pequena o suficiente para não tocarem o clipe estiverem presentes, o braquete assumirá características passivas. Já na presença de arcos de calibre grande o suficiente para tocarem o clipe e permitir que este aplique forças contra o arco levando-o de encontro ao fundo do slot, este então assumirá características ativas (OLIVER et al., 2011).

Quanto a composição e características biocompatíveis dos braquetes utilizados na ortodontia, Assad-Loss et al. (2008) observaram que os tipos básicos de aço inoxidável austenítico utilizados em ortodontia pertencem ao grupo 18-8, são o 302 e o 304. o primeiro possui em sua composição 18% de cromo, 8% de níquel e 0,15% de carbono. Já o segundo possui composição similar, mas com menos carbono (0,08%).

O aço austenítico 316L possui níquel em sua composição, funcionando como estabilizador primário. Sua corrosão é controlada pela adição de cromo, mas o carbono, níquel, molibdênio e o nitrogênio também aumentam esta propriedade. O fator biocompatibilidade tem sofrido problemas pela presença do níquel, que por possuir ligações mais fracas, pode ser liberado mais facilmente (SFONDRINI et al., 2010; RETAMOSO et al., 2012).

A corrosão ocorre nos braquetes de aço inoxidável sempre que sua camada passiva de Cr_2O_3 é rompida, assim como também em temperaturas elevadas verificadas durante processos de soldagem (ANUSAVICE, 1998).

Visando melhor qualidade de produção, com menor desperdício de material, e melhor qualidade de acabamento superficial, atualmente a grande maioria dos braquetes é produzida através de metalurgia do pó, por moldagem de injeção, (ZINELIS et al., 2005).

Em relação aos braquetes autoligantes, outra grande variação entre as diversas marcas presentes no mercado é na composição do clipe ativo presente nos braquetes interativos. Conforme observado por Harradine (2008), os diversos tipos de clips ativos são feitos de variedades de ligas, dentre elas, o níquel-titânio, aço inoxidável, Elgiloy (liga de Co-Cr-Fe-Ni), que por possuírem diferentes módulos de elasticidade, conferem aos clips diferentes quantidades de rigidez. Se o clipe é mais rígido, certa irregularidade defletirá mais arco e menos clipe e, vice versa.

No atual estágio de desenvolvimento dos materiais ortodônticos, com arcos de nivelamento com propriedades cada vez mais elaboradas e, biologicamente, compatíveis com a movimentação ortodôntica (LOMBARDO et al., 2013), o novo paradigma está no aprimoramento da interface entre braquetes e fios de nivelamento, tanto para melhora das qualidades físicas, como o atrito, quanto nas características de superfície, como em sua reatividade com os microrganismos do meio bucal (ELIADES, 2007).

2.2 ADESÃO BACTERIANA

A cavidade bucal apresenta certas peculiaridades decorrentes de sua característica inóspita, estando sujeita à variações constantes de temperatura, pH e a presença de micro-organismos que habitam este meio. Em uma cavidade bucal saudável, esses micro-organismos coexistem em estado de equilíbrio com o seu hospedeiro, mas quando ocorrem mudanças no ambiente bucal normal, a microbiota sofre desequilíbrio que pode resultar em doença. Algumas mudanças podem ser causadas pela introdução de aparelhos ortodônticos (ANHOURY et al, 2002)

Quando o indivíduo é submetido a tratamento ortodôntico, a superfície de contato resultante da instalação do aparelho fixo aumenta e, conseqüentemente, diferentes locais para adesão bacteriana estarão presentes e aumentados (HUSER et al., 1990).

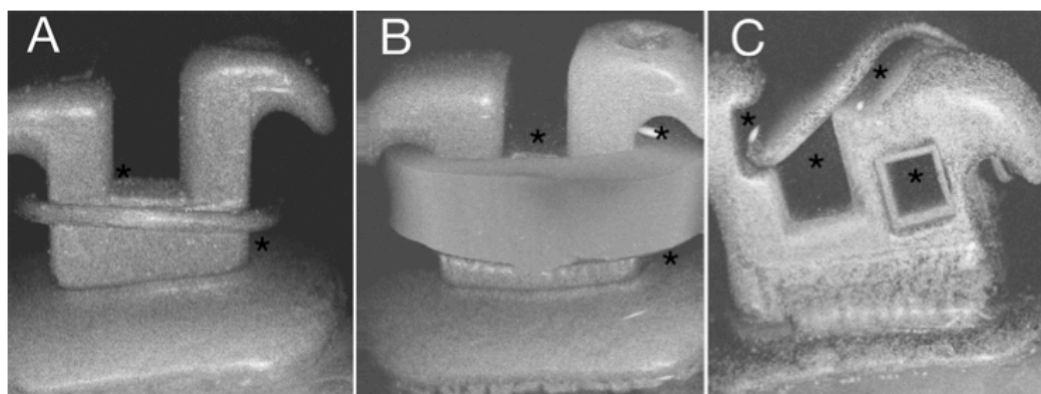
O padrão e grau de adesão bacteriana ao aço, tem influência na estrutura do biofilme maduro, estes ainda são dependentes da presença de diversos fatores, tais como:

- I) Hidrofobicidade, carga, tamanho da célula, presença de flagelos e pelos, característica exclusivas da superfície bacteriana (VAN LOOSDRECHT et al., 1990);
- II) Composição química, rugosidade superficial, fendas e inclusões, e cobertura por filmes de óxido ou revestimentos orgânicos, propriedades inerentes ao a liga utilizada (FLINT et al., 2000) e,

III) Composição, força iônica (VAN LOOSDRECHT et al., 1990) e regime de fluxo hidráulico (SCHEUERMAN et al., 1998), características exclusivas do meio.

O tipo de aparatologia ortodôntica utilizada também interfere na manutenção da higiene bucal. É sabido que braquetes ligados ao arco por ligaduras elastoméricas acumulam mais placa, seguidas dos braquetes auto ligados e aqueles ligados por ligaduras metálicas que acumulam, respectivamente, ainda menos placa (GARCEZ et al., 2011)(figura 8).

Figura 8 - Diferentes tipos de meio de ligação e asteriscos indicando as regiões apresentando maior acúmulo de bactérias

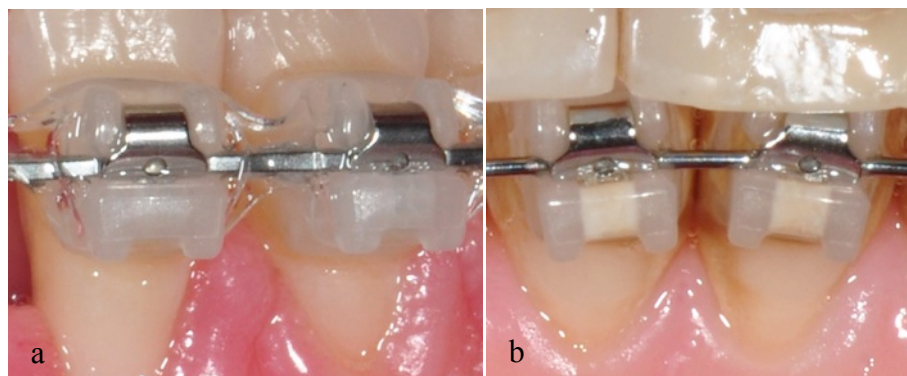


Fonte: Adaptado de Garcez et al. (2011).

Apesar de Sukontapatipark et al. (2001) não haver encontrado em seu estudo de microscopia eletrônica diferença entre os tipos de bactérias presentes ao se utilizar ligaduras elásticas ou metálicas, evidências atuais sugerem que a redução na adesão de biofilme pela ausência da ligação por elastômeros seria qualidade bastante bem vinda aos braquetes (Harradine, 2008).

O revés disto, seria que possíveis qualidades e vantagens da utilização dos braquetes autoligantes poderiam ter implicações adversas, quando o acúmulo de cálculos salivares ocorre nos braquetes, dificultando assim a abertura da tampa e até mesmo impedindo sua ativação e expressão total de suas características (ALMEIDA; URSI, 2008) (figura 9).

Figura 9 - Braquete sem a presença de cálculo (a) e com cálculo em seu interior (b).



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

Dentre os micro-organismos importantes mais prevalentes no ambiente bucal está o *Streptococcus mutans*, que tem a capacidade de metabolizar açúcares provenientes da dieta de seu hospedeiro. Produz energia para seu desenvolvimento e proliferação, liberando como resultante deste processo, ácidos que podem danificar a superfície dos elementos dentários. Levam a descalcificação destas estruturas, visualmente detectáveis pelo aparecimento de manchas brancas nas superfícies, conferindo assim a estes micro-organismos sua cariogenicidade (LOESCHE, 1986). Além disso, conforme demonstrado por Gaines et al. (2003) os *Streptococos* são os colonizadores iniciais no desenvolvimento do biofilme.

O tipo de colonização bacteriana secundária presente também guarda relação com o tipo de material com o qual os braquetes são produzidos, conforme constatou Anhoury et al. (2002). Não observaram diferenças estatisticamente significantes entre braquetes cerâmicos e metálicos em relação a contagem de micro-organismos indutores de cárie como *S. mutans* e *Lacidophilus*. Entretanto, houve grande disparidade entre a microbiota para contagens médias de *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum ss vincentii*, *Streptococcus anginosus* e *nodatum Eubacterium* em braquetes metálicos, enquanto maior contagem de *Eikenella corrodens*, *Campylobacter showae* e *Selenomonas noxia* foram encontrados em braquetes cerâmicos.

Eliades et al. (1995) observaram ainda que os braquetes metálicos apresentaram maior tensão superficial crítica e trabalho total de adesão, quando comparados aos braquetes cerâmicos e de policarbonato. Foi encontrado aumento da fração do trabalho de adesão por causa das forças não polares ou de dispersão para todos os materiais, implicando em uma maior probabilidade de fixação desses micro-organismos, com forças dispersivas (Van der Waals) na adesão inicial às superfícies.

Já Fournier et al. (1998) ao comparar a adesão de *S. mutans* sobre braquetes metálicos, cerâmicos e plásticos, com e sem película de saliva, observaram que inicialmente os primeiros apresentaram menor adesão bacteriana. Após 72 horas não houve diferença estatística significativa para nenhum dos grupos, mesmo com ou sem a presença de saliva. Já Papaioannou et al., (2007), observou maior adesão de *S. mutans* aos braquetes sem saliva.

Outra característica importante, quando se observa a adesão bacteriana às superfícies metálicas, é a rugosidade superficial, conforme observado por Medilanski et al. (2002). A adesão de bactérias cilíndricas rígidas, em ranhuras de largura semelhante ao seu diâmetro é mais forte do que a adesão à superfícies planas, por causa do aumento da área de contato com as paredes das ranhuras. Em contraste, a aderência em outras orientações diferentes das em paralelo das ranhuras é reduzida pois apenas uma pequena parte da superfície da célula rígida centraria em íntimo com a superfície sólida.

Pereira et al. (2011) também observaram relação direta entre a rugosidade superficial e adesão de *S. mutans*, ao analisarem sua adesão em resinas odontológicas de diferentes formulações.

A prevalência elevada de lesões de cárie decorrentes da higiene precária associada à presença do aparelho ortodôntico é ponto comum dos tratamentos ortodônticos. Conforme observado por Olympio et al. (2006), acessórios ortodônticos colados nas superfícies dentárias dificultam a higienização e funcionam como retentores adicionais de biofilme, levando à desmineralizações do esmalte, causando manchas brancas, cáries dentárias e gengivites. O autor também observou que a falta de preparo dos pacientes antes da instalação do aparelho ortodôntico e do reforço na motivação de higiene durante o tratamento, também contribuem com o problema.

Meios mecânicos de remoção de placa associados à enxaguatórios bucais e à motivação de higiene em pacientes submetidos à terapia ortodôntica, tem se mostrado eficientes no controle de biofilme prevenindo cáries dentárias e gengivites. Muitas vezes, os bons hábitos se perpetuam mesmo após o término do tratamento e remoção do aparelho ortodôntico (DERKS et al., 2004).

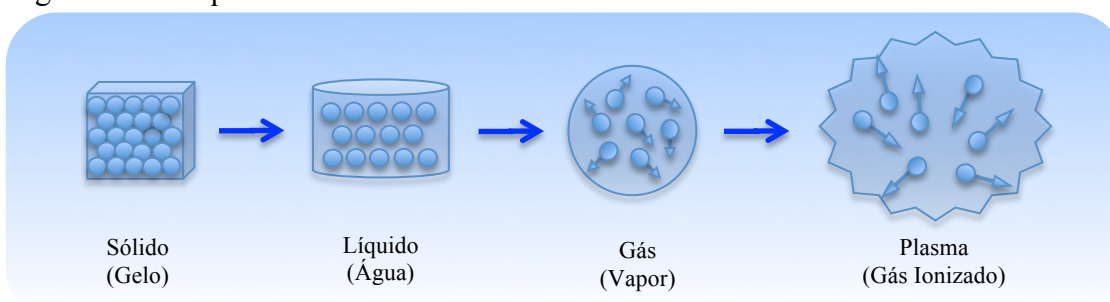
2.3 TRATAMENTOS DE SUPEFÍCIE

2.3.1 A Polimerização a plasma por rádio-frequência

Conforme definiu Bogaerts et al. (2002), plasmas são gases ionizados que consistem de íons positivos, negativos e elétrons, bem como de espécies neutras. Seu grau de ionização possui grande variação, podendo ser totalmente ionizado ou até mesmo entre valores muito baixos (10^{-4} - 10^{-6}) sendo assim, gases parcialmente ionizados.

O estado de plasma é frequentemente referido como o quarto estado da matéria (figura 10). Grande parte da matéria visível no universo está no estado de plasma, as estrelas, assim como toda a matéria interestelar visível, estão no estado de plasma.

Figura 10 - Os quatro estados da matéria.



Fonte: Ilustração confeccionada pelo autor.

Além dos astro-plasmas, pode-se distinguir dois grupos principais de plasmas laboratoriais, o de alta temperatura ou plasmas de fusão e os chamados plasmas de baixa temperatura ou descargas de gás.

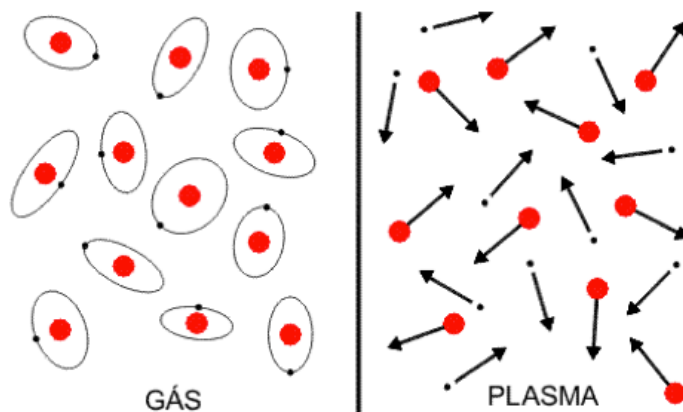
Os plasmas de descarga de gás também podem ser classificados em plasmas LTE e não-LTE. Esta subdivisão é relacionada com a pressão no plasma. Alta pressão de gás implica em muitas colisões no plasma (isto é, uma média de percurso livre de colisão pequena, em comparação com o comprimento de descarga), que conduz a troca de energia eficiente entre as espécies de plasma e, portanto, em temperaturas iguais.

Uma baixa pressão de gás, por outro lado, resulta em apenas alguns choques no plasma (ou seja, uma média de percurso livre de colisão longa em comparação com o comprimento de descarga) e, conseqüentemente, diferentes temperaturas da espécie de plasma, devido à transferência de energia eficiente.

Em geral, é o produto de ambos, que classifica os plasmas em não-LTE e LTE, pois não só a pressão desempenha um papel, mas também a duração de descarga ou a distância entre os eletrodos.

Plasmas não-LTE são normalmente utilizados para aplicações em que o calor não é desejável, como para ataque (etching) ou deposição de filmes. A temperatura da partícula pesada é baixa, muitas vezes não muito superior à temperatura ambiente, mas os elétrons tem temperaturas muito mais elevadas, pois são leves e facilmente acelerados pelos campos eletromagnéticos aplicados. A alta temperatura dos elétrons origina colisões inelásticas, as quais, mantém o plasma (ionização por impacto de elétrons) resultando num ambiente quimicamente rico. Os elétrons são, portanto, considerados os agentes iniciadores do plasma (Figura 11). Por outro lado, a maior parte das aplicações, como pulverização catódica (sputtering), deposição e implantação iônica, é resultado da cinética das partículas (BODAS et al., 2005).

Figura 11 - Plasma de íons e elétrons livres gerados pela ionização total do gás de hidrogênio.



Fonte: Adaptado de Guimarães (2008).

As frequências utilizadas para as tensões alternadas estão tipicamente na faixa de radiofrequência, variando de 1 kHz a 103 MHz. Na prática, operara-se a 13,56 MHz, pois esta frequência é atribuído pelas autoridades internacionais de comunicação, a fim de evitar interferências com outros meios (GODYAK; PIEJAK, 1990).

Nas radiofrequências típicas, os elétrons e os íons tem um comportamento completamente diferente, o que pode ser explicado pelas suas diferentes massas. Os elétrons por serem leves, podem seguir os campos elétricos instantâneos produzidos pela tensão de radiofrequência aplicada.

2.3.2 A deposição química de vapor melhorada a plasma (PE-CVD)

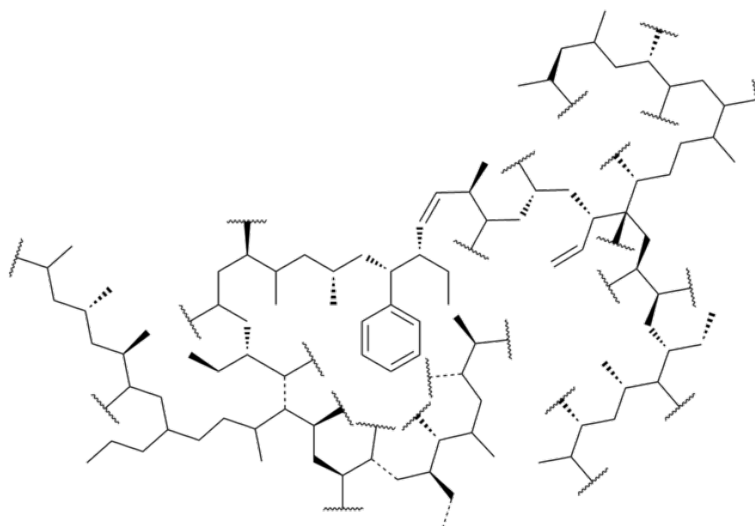
A descarga atua em um gás reativo através de reações químicas no plasma (ionização por impacto de elétrons e, principalmente, de dissociação), assim, os diferentes tipos de íons e radicais que são formados difundem-se para o substrato e são depositados através de reações químicas de superfície. O PE-CVD pode ser operado a temperaturas muito mais baixas, pois a temperatura do elétron de 2 a 5 eV em PE-CVD é suficiente para dissociação (BOGAERTS et al., 2002).

2.3.3 Polimerização a plasma

A Polimerização a plasma é essencialmente um processo de PE-CVD, onde ocorre a deposição de um filme de polímero por meio de dissociação e excitação a plasma de um gás de monômero orgânico e de subsequente deposição e polimerização das espécies excitadas deste monômero na superfície de um substrato.

Este processo é usado para deposição de filmes com espessuras variáveis entre dezenas a milhares de angstroms. Os filmes depositados são chamados polímeros a plasma, e são geralmente química e fisicamente diferentes do polímero convencional. Os polímeros formados por polimerização a plasma são, na maioria dos casos, altamente ramificados e com um grande número de ligações cruzadas, com aproximadamente uma ligação cruzada por 6 a 10 cadeias de átomos de carbono (figura 12) (BIEDERMAN, 2004).

Figura 12 - Modelo hipotético de um filme de etileno polimerizado a plasma.



Fonte: BOGAERTS et al. (2002).

A polimerização por plasma tem as seguintes características:

1. Os polímeros de plasma não são caracterizados por unidades que se repetem, como é típico para os polímeros convencionais.
2. As propriedades do polímero a plasma não são determinadas pelo monômero que está sendo utilizado, mas sim pelos parâmetros do plasma. Por exemplo, um plasma de etileno não dará origem simplesmente a polietileno, mas a uma variedade de produtos (incluindo os grupos insaturados, grupos aromáticos e ramos laterais), dependendo das condições do plasma.
3. O monômero utilizado para a polimerização a plasma não precisa conter um grupo funcional, como uma ligação dupla.

2.3.4 Modificações das propriedades físico-químicas de superfície

A modificação das propriedades físico-químicas de superfície em metais, visando entre outros fatores, modificar sua molhabilidade e assim modular o desenvolvimento de organismos vivos que entram em contato com estas superfícies, tem sido utilizada em diversas áreas, mas principalmente na área médica e odontológica (CORTIZO et al. 2012).

A molhabilidade superficial pode ser alterada de várias formas, tais como tratamento à plasma, filmes de superfície, introdução de camadas únicas de superfície de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos.

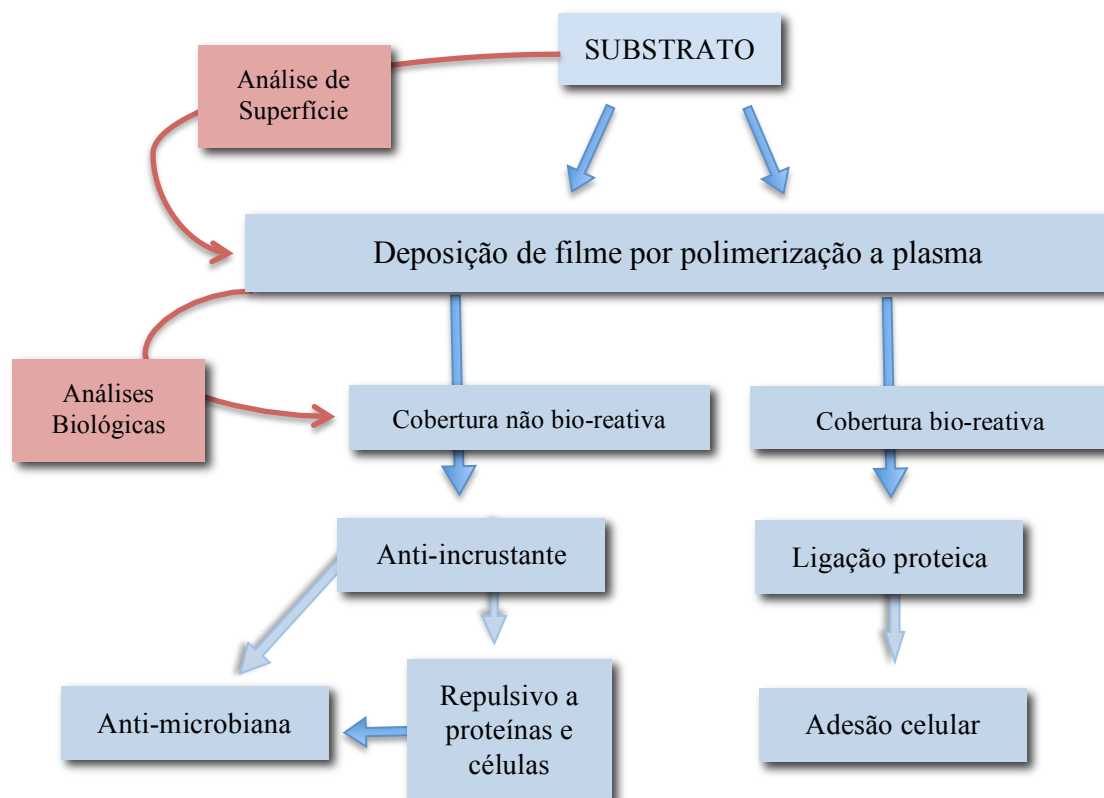
Usualmente modificações que aumentem as características hidrofílicas superficiais são empregadas para estimular o crescimento celular sobre estas superfícies, Van Wachem et al. (1985), observaram que as células endoteliais humanas aderem perfeitamente em polímeros moderadamente molháveis.

Já o incremento das propriedades hidrofóbicas visa a redução ou o aumento da dificuldade do crescimento celular adjacente. Um exemplo desta característica pode ser observada na liga Ti6Al4V, onde o efeito de oxidação térmica de liga aumenta a espessura da camada oxidada e também a resistência a corrosão, alterando assim suas características de molhabilidade superficial, aumentando seu ângulo de contato superficial e, consequentemente sua biocompatibilidade (HOSSAIN; GAO, 2008).

A utilização do tratamento de superfícies à plasma por deposição de filmes polimerizados a plasma, cria interfaces biosensíveis que compõem um sistema de

multicamadas que visa conectar transdutores inorgânico/metálicos com superfícies biologicamente reativas. Este tratamento pode ter diversas propriedades, dependendo do tipo de utilização visada, o diagrama da figura 13 resume suas aplicações (FÖRCH et al., 2007).

Figura 13 - Esquema dos processos de polimerização a plasma aplicadas aos biomateriais.



Fonte: Adaptado de Förch et al. (2007).

Förch et al. (2007) observaram ainda que, um esforço particular necessita ser feito para conceber etapas do processo que permitem a aderência controlada ou "não-aderência" das células. A natureza dispõe uma grande variedade de tipos de células, cada um com diferentes características de superfície e afinidades, que possuem a capacidade de sintetizar e modificar o ambiente circundante prontamente, colonizando quase sobre qualquer superfície em um dado tempo. Assim, o maior desafio muitas vezes não é promover o crescimento celular em um material, mas sim impedir o seu crescimento. Este é um desafio particular no caso da colonização bacteriana e formação de biofilme, uma área onde as soluções baseadas em plasma estão apenas começando.

A polimerização à plasma e o tratamento de superfície a plasma tem se tornado modalidades atraentes para o desenvolvimento de revestimentos antibacterianos. Várias estratégias têm sido relatadas pela literatura (CORTIZO et al., 2012; DENES et al., 2001) nas

quais os polímeros de plasma têm sido utilizados como reservatórios, carregados com agentes antibacterianos que são posteriormente libertados. Camadas de polímero a plasma também podem servir como uma barreira de difusão, para controlar a taxa de liberação destes agentes, conforme demonstrado por Simovic et al (2010), que utilizaram esta técnica ao selar nanotubos de carbono preenchidos por medicação. As superfícies modificadas à plasma também são utilizados como revestimentos funcionais para ligação de moléculas de biocidas ou bacteriostáticas (SU et al., 2010)

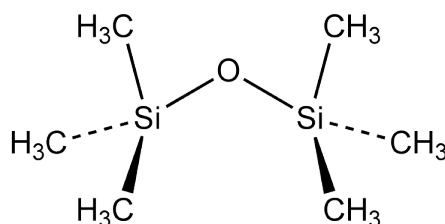
A utilização de agentes antimicrobianos tem mais efetividade entre os micro-organismos que se encontram livres do que nas que estão formando o biofilme, pois estas ao secretarem uma matriz extracelular de polissacarídeos tornam-se mais resistentes aos efeitos deste agentes e dos agentes de defesa do hospedeiro (DAROUICHE, 2004). Portanto, a utilização de biofilmes que tenham a capacidade de impedir fixação inicial dos primeiros micro-organismos formadores de colônias seria a abordagem ideal.

Nesta categoria diversos compostos polimerizados a plasma são descritos na literatura, tais como o hexametildisiloxano (HMDSO), o polietileno (PE), polipropileno (PP), polietileno tereftalato (PET), polimetilmetacrilato (PMMA) e o poliestireno (PS) (KIM et al., 2008).

2.3.5 O Polímero de Hexametildisiloxano (HMDSO)

O HMDSO é um composto sílico-orgânico com fórmula química $C_6H_{18}OSi_2$, (figura 14), que se apresenta à temperatura ambiente, como um líquido incolor e volátil, sendo usado comumente como solvente e reagente em sínteses orgânicas (PFEIFER, 2004). Além disso sua deposição a plasma é bastante empregada por produzir filmes atóxicos, ser facilmente disponível comercialmente e ter alta pressão de vapor à temperatura ambiente (CHAIWONG et al., 2013).

Figura 14 - Estrutura química do HMDSO.



Fonte: PFEIFER (2004).

O filme de HMDSO depositado a plasma sobre a potência de 30W apresenta grande quantidade de componentes orgânicos e grande hidrofobicidade (FÖRCH et al., 2007). Estas características tem especial importância na inibição da adesão dos *S. mutans* conforme observado por Lassen et al., (1994).

O HMDSO também pode ser utilizado como transportador de agentes antimicrobianos. SU et al., (2010) realizaram estudo com pré-tratamento das superfícies metálicas de aço com oxigênio e plasma de HMDSO associando estruturas de amônio quaternário (EAQ) por meio de ligações covalentes. As superfícies de aço modificadas exibiram diminuição da adesão de 99,9% e 98% para contagens de *S. aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, respectivamente, enquanto que as superfícies de papel de filtro porosos com grupos imobilizados de EAQ inativaram 98,7% e 96,8% dos *S. aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, respectivamente.

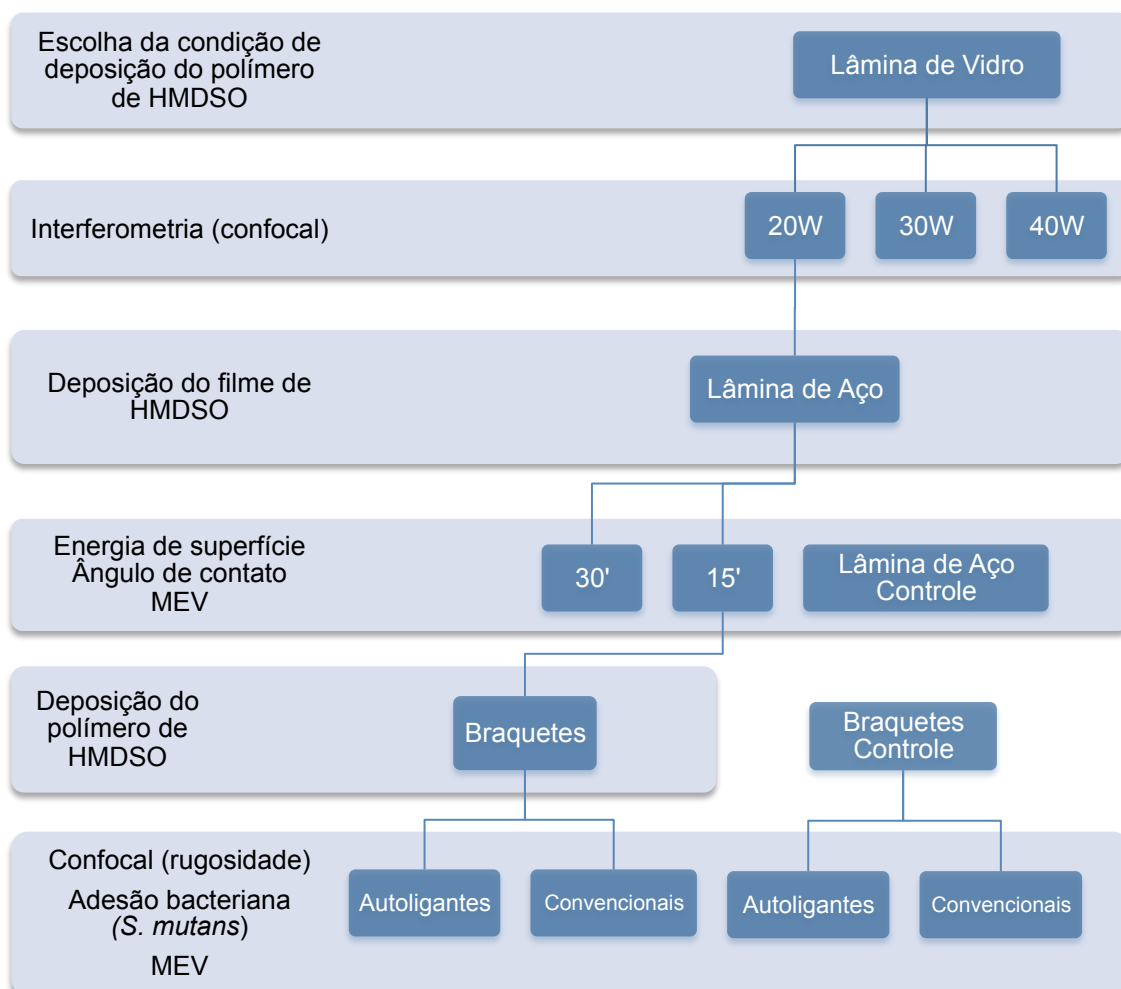
Para que o HMDSO possa ser utilizado como meio de facilitação proliferação celular, suas características hidrofóbicas devem ser alteradas, conforme utilizado por Krasteva et al. (2010) e Wei et al. (2006), o tratamento a plasma com oxigênio após a deposição do filme de HMDSO alterou suas características de superfície, tornando-o hidrofílico.

Por sua ampla gama de utilizações e possibilidade de modulação das características de molhabilidade, o HMDSO tem mostrado grande potencial no desenvolvimento de novas coberturas bio-reativas nos biomateriais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O fluxograma da metodologia empregada no trabalho é dado na figura 15:

Figura 15 - Fluxograma de metodologia empregada no trabalho.



Os itens iniciais do fluxograma demonstram o modo como os experimentos foram realizados para que a melhor condição de deposição do polímero fosse determinada. As últimas duas linhas demonstram as análises realizadas diretamente nos braquetes.

3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

3.1.1 Limpeza dos substratos

Três tipos de substratos foram utilizados para realização deste trabalho: lâminas de vidro, fitas de aço inoxidável e posteriormente, braquetes ortodônticos autoligantes e convencionais de aço inoxidável 304.

As lâminas de vidro foram utilizadas para determinação da melhor condição de deposição, a partir da análise da espessura do polímero a ser depositado.

As tiras de aço inoxidável austenítico tipo 304, norma ABNT NBR 5601, fornecidas pela empresa Morelli (Sorocaba, SP – Brasil), foram utilizadas para a avaliação da rugosidade superficial, ângulo de contato e energia de superfície, do aço empregado.

Para análise da rugosidade superficial, deposição do polímero de HMDSO e posteriores ensaios microbiológicos, foram utilizados braquetes prescrição Roth para incisivos centrais superiores direitos, da marca Morelli, dos tipos SLI (autoligantes) e Roth Max (convencionais), ambos confeccionados por metalurgia do pó (injetados).

A composição química do aço inox e braquetes empregados são dados na tabela 1.

Tabela 1 - Composição química dos materiais empregados (dados fornecidos pelo fabricante).

Materiais Utilizados	Composição
Tira de Aço Inox (304)	C= máx. 0,08% / Mn= máx.2,0% / Si= máx. 1,0% / P= máx. 0,045% / S=máx.0,030% / Cr=17,5 - 20,0% / Ni- 8,0 -10,5%.
Braquetes Metálicos	C= máx. 0,20% / Cr = 16,5 - 17,5 / Mo = 3,0 - 3,5% Si = máx. 1,0% e N = máx. 0,90%.

Para limpeza, as lâminas de vidro, bem com as fitas de aço, foram mergulhadas em solução detergente, deixadas por 15 minutos em uma cuba ultrassônica e depois lavadas em água corrente. Em seguida, foram imersas em água destilada, retornando ao ultrassom por mais 15 minutos, sendo depois enxaguadas individualmente também em água destilada. Posteriormente, foram mergulhadas em álcool isopropílico, novamente levadas ao ultrassom e após 15 minutos de agitação foram secas em estufa a 200°C por 15 minutos.

Os braquetes foram limpos de acordo com a seguinte sequência:

- Colocação em cuba ultrassônica modelo Thomson T14, dentro do becker, com sabão neutro, por 20 minutos, lavagem em água corrente e água destilada;
- Imersão em água destilada e manutenção em cuba ultrassônica por 20 minutos;
- Lavagem e imersão em álcool isopropílico e manutenção no ultrassom por 20 minutos;
- Lavagem e imersão em acetona, manutenção no ultrassom por 20 minutos;

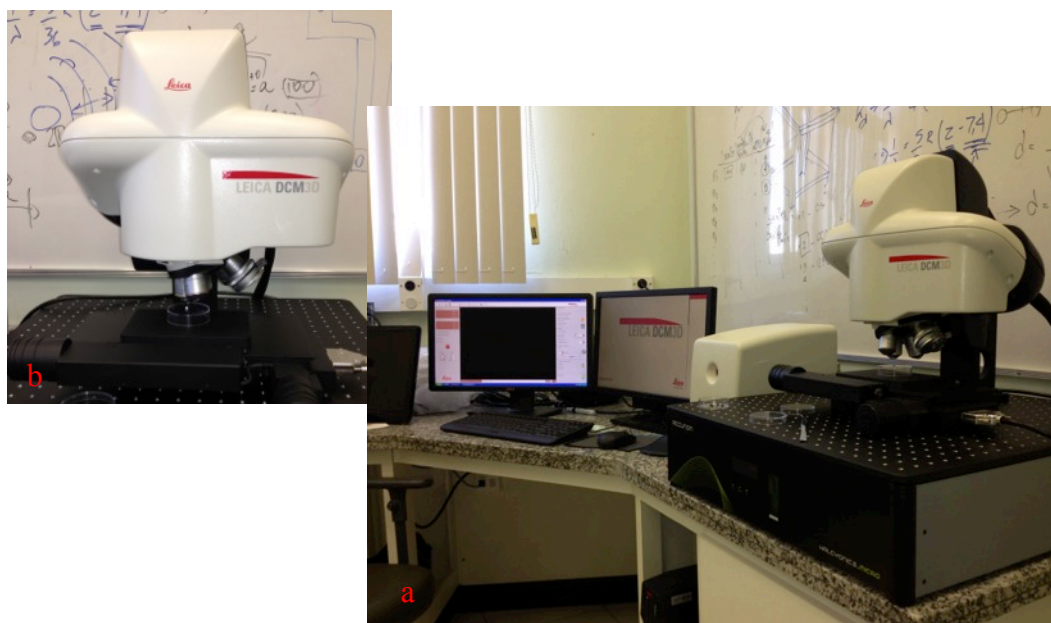
- Secagem em estufa a 150°C por 30 minutos.

Para esse grupo, anteriormente aos teste bacteriológicos, os braquetes foram esterilizados por calor úmido em autoclave, a 121°C , com pressão de 1 atmosfera por 15 minutos.

3.1.2 Avaliação da rugosidade superficial

Para verificação da compatibilidade, entre a rugosidade da fita de aço inoxidável com a da superfície dos braquetes (autoligantes e convencionais), para que as fitas de aço pudessem substituir os braquetes na realização de avaliações impraticáveis nos braquetes por sua topografia, as análises com microscopia óptica confocal foram realizados em ambos substratos, com o microscópio Leica modelo DCM3D (Figura 16).

Figura 16: Microscópio DCMD3 (a) e conjunto de lentes em detalhe (b)



3.2 SISTEMA DE DEPOSIÇÃO DOS FILMES DE POLÍMERO DE HMDSO

A deposição dos filmes de polímero de HMDSO foi realizada no Laboratório de Plasma da Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá (UNESP), Através do método de deposição química por plasma de rádio frequência (*Radio-Frequency Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition – RF PECVD*), tendo como fonte gasosa o polímero de

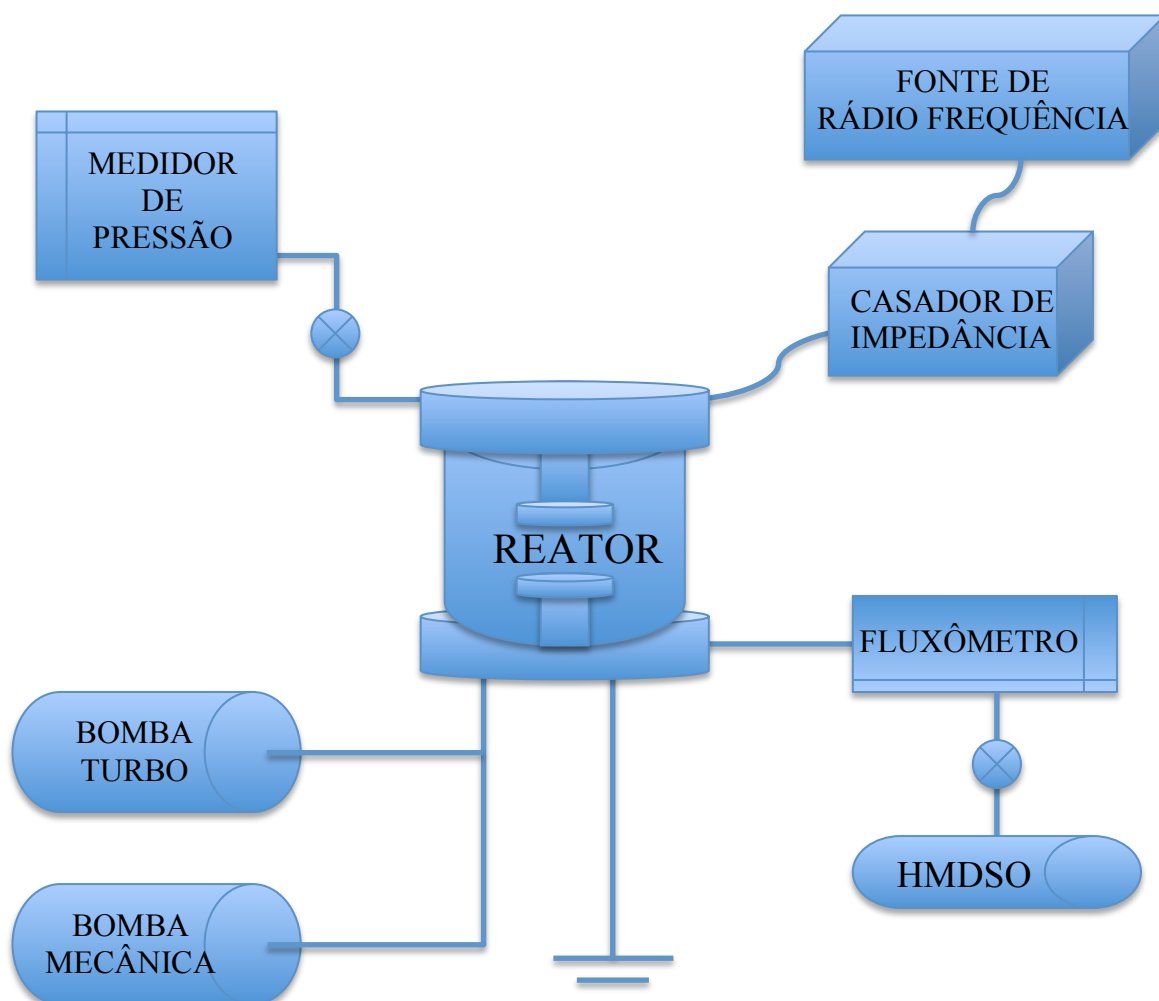
Hexametildisiloxano (HMDSO). Na figura 17, se observa o equipamento utilizado para a deposição dos filmes.

Figura 17 - Equipamento empregado para a deposição do filme de HMDSO.



O sistema de deposição é formado por um reator de aço inoxidável cilíndrico, com 220 mm de diâmetro por 240 mm de altura, com volume aproximado de 9 litros. O gás foi admitido ao sistema por meio de válvula tipo agulha (modelo Edwards). Uma bomba mecânica (Edwards M18) e uma bomba turbo (Edwards EXC 120) evacua o reator, a pressão base foi da ordem de $1,5 \times 10^{-2}$ Torr. Na sequência, o gás do polímero de HMDSO com 98% de pureza entra na câmara de vidro, via válvula de agulha, até que a pressão alcance valor de 95×10^{-2} Torr em regime contínuo. Em seguida, o plasma foi estabelecido entre dois eletrodos circulares, internos planos e paralelos, sendo um deles aterrado (inferior), medindo 100 mm de diâmetro com espaço de 3 cm entre si. A excitação é feita por um gerador de rádio-frequência de 13,56 MHz, modelo Tokyo HY-Power, potência de 0 a 300 W, operando em 20W. Esta potência é acoplada ao sistema através de um casador de impedância modelo Tokyo HY-Power MB300 de modo a eliminar a potência refletida. Um diagrama de blocos do sistema empregado pode ser visualizado na Figura 18.

Figura 18 - Diagrama de blocos do sistema utilizado para a deposição dos filmes poliméricos.



3.3 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO IDEAL DE DEPOSIÇÃO

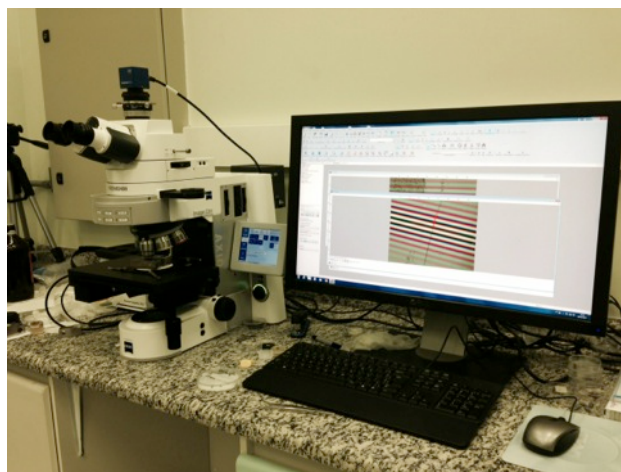
Para determinar a condição mais adequada de deposição do polímero sobre as amostras, foram inicialmente realizados testes piloto de deposição sobre lâmina de vidro e posteriormente, sobre lâmina de aço de composição e rugosidade semelhantes aos braquetes comercialmente avaliados.

3.3.1 Condição de deposição sobre lâmina de vidro

A deposição do filme do polímero de HMDSO sobre lâmina de vidro foi realizada em três condições de potências distintas, sendo estas 20W, 30W e 40W, mas com os demais parâmetros idênticos, 60×10^{-2} Torr de pressão de vácuo por 15 minutos.

Após a deposição, a qualidade e espessura da deposição foram observadas por meio do Microscópio Óptico e Interferômetro Zeiss modelo Axio Imager Z2m (laboratório de Modelagem e Simulação, Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá - UNESP).(Figura 19)

Figura 19 - Microscópio Óptico e Interferômetro.



3.3.2 Condição de deposição sobre tira de aço

Após determinação da condição mais adequada para deposição, por meio das avaliações realizados na lâmina de vidro, foi realizada a deposição sobre lâmina de aço com 20W, 60×10^{-2} Torr de pressão de vácuo por 15 e 30 minutos. Deste modo foi possível determinar a condição de deposição ideal a ser realizada nas amostras antes que estas fossem submetidas aos testes bacteriológicos.

A condição mais adequada foi confirmada pela avaliação da energia de superfície, ângulo de contato realizados no Goniômetro do Laboratório de Plasmas da Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá (UNESP) (Figura 20) e análise da superfície de deposição pelo Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Zeiss modelo EVO LS15 (Figura 21), do Laboratório de Microscopia e Micro Análise da Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá (UNESP).

Figura 20 – Equipamento empregado para medida do ângulo de contato e energia de superfície.

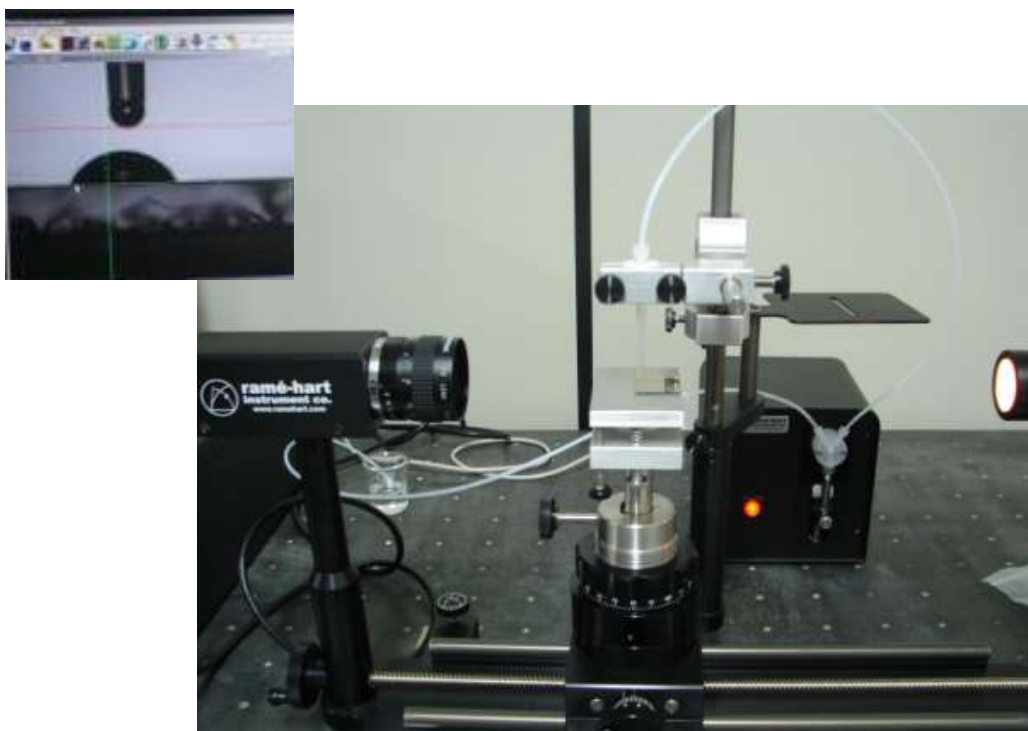
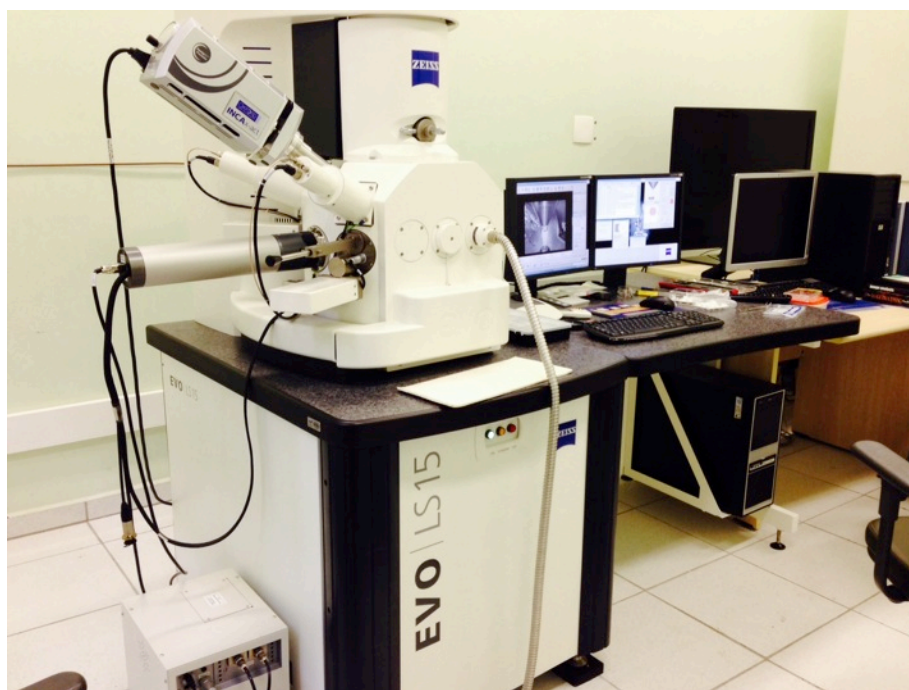


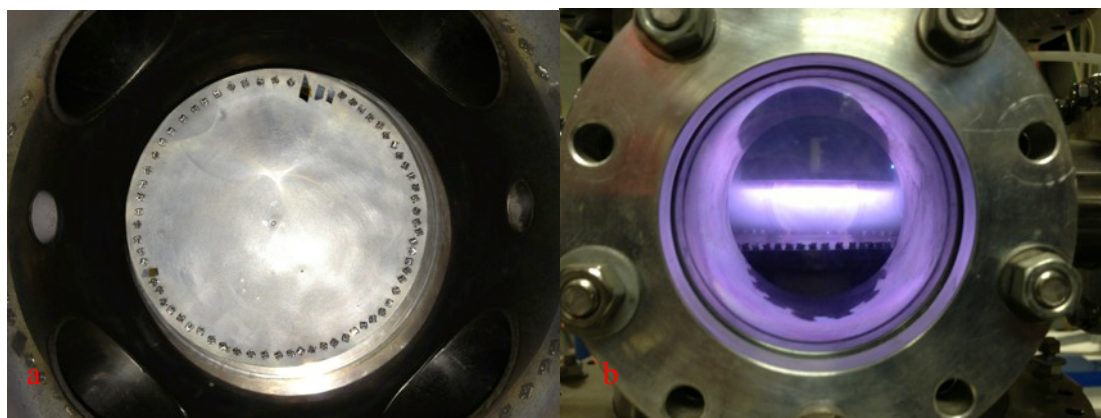
Figura 21 - Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).



3.3.3 Condição de deposição sobre os braquetes

As condições empregadas para a deposição do filme do polímero foram determinadas pelas avaliações anteriores. Previamente à deposição do polímero de HMDSO, um plasma de argônio com pressão de 2×10^{-1} Torr, potência de 30W e tempo de 5 minutos, foi realizado para limpeza tanto do reator como das amostras. Na figura 22 se observam os braquetes posicionados na placa de deposição juntamente com as lâminas de vidro para controle da condição de deposição (a) e limpeza do reator (b).

Figura 22: Amostras e lâminas de vidro posicionados sobre a placa de deposição (a) e plasma de limpeza de argônio com amostras posicionadas no interior do reator (b).



Os plasmas do gás do HMDSO foram excitados a partir de radiofrequência, utilizando uma fonte operando na frequência de 13,56 Hz. A faixa de pressão utilizada foi de 60×10^{-2} Torr, com potência de 20 W.

Mantendo-se estes parâmetros por um tempo de 15 minutos, foi realizada a deposição do filme sobre a superfície externa dos braquetes, enquanto que suas bases permaneceram voltadas para a superfície da placa de deposição localizada no eletrodo inferior do reator.

Tal configuração de deposição se estabeleceu pois filmes mais rígidos e aderentes são formados quando as amostras estão apoiadas na superfície inferior do reator. Após a deposição nas amostras, o vácuo foi eliminado e as amostras removidas para os posteriores testes.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

3.4.1 Medida do ângulo de contato e energia de superfície

Um Goniômetro automatizado (Ramé-Hard Instrument Co. – modelo-Advanced Goniometer model n° 300-F1, Serial n° 709262) pertencentes ao Laboratório de Plasma da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (FEG/UNESP) (Figura 20), foi utilizado para a avaliação do ângulo de contato (θ).

O equipamento possui uma câmera, que captura a imagem da gota sendo depositada sobre a superfície a ser analisada, através de um dispositivo semelhante a um conta-gotas. Um programa do computador determina o perfil da gota depositada sobre a superfície analisada e então calcula-se o ângulo de contato.

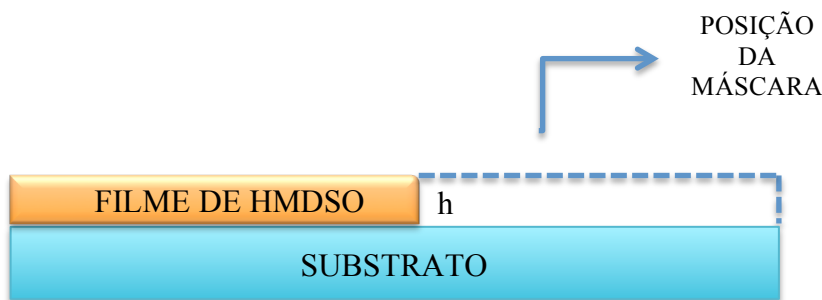
Nesta análise, se utilizou a fita de aço inoxidável como substrato, com e sem a deposição do filme do polímero de HMDSO, água deionizada como líquido polar, e o diiodometano como líquido apolar, para possibilitar diferentes referências superficiais para mensuração da energia de superfície. Para uma avaliação estatística, cinco gotas de cada líquido foram dispensadas em locais diferentes dos substratos, sendo as análises realizadas 4 horas após as deposições.

3.4.2 Espessura dos filmes – interferometria

A espessura do filme de HMDSO foi medida em Microscópio Óptico e Interferômetro modelo Leica DCM3D, no Laboratório de Modelagem e simulação da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá (FEG/UNESP).

Os filmes foram depositados sobre substratos de vidro, preparados de modo a apresentar um degrau entre a superfície do filme e a do substrato, conforme a figura 23. Para tanto, parte da superfície do substrato foi coberta por uma máscara de vidro previamente a deposição do filme. Obtém-se assim, após a remoção da máscara, um degrau entre a parte do substrato coberta pela máscara e a exposta e revestida pelo filme depositado, onde a altura “h” corresponde à espessura do filme.

Figura 23 – Degrau para medida de espessura.



3.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

Para avaliação da superfície das fitas de aço, bem como da superfície externa dos dois tipos diferentes de braquetes, como recebidos e após deposição do filme de polímero de HMDSO, foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Zeiss modelo EVO LS15, do Laboratório de Microscopia e Micro Análise da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, UNESP.

Com essa análise foi possível observar qual a melhor condição de deposição entre as três realizadas pelo estudo piloto, 20W, 30W ou 40W, se optou pela deposição mais uniforme e sem a formação de pó sobre o filme.

Também os braquetes foram analisados para avaliar possíveis alterações superficiais após a deposição do filme, bem como para demonstrar a agregação do biofilme sobre sua superfície. As amostras, tanto das fitas de aço, quanto dos dois tipos de braquetes foram escolhidos aleatoriamente para análise.

3.5 ESTUDO DA FORMAÇÃO DO BIOFILME

A formação do biofilme foi baseada na metodologia proposta por PEREIRA et al. (2011). Foram utilizadas cepas de *Streptococcus mutans*, cepas ATCC nº 35688. Inicialmente, as cepas foram semeadas em ágar mitis salivaris para verificar sua pureza, e incubadas 37°C por 24 horas. Foram então preparadas suspensões padronizadas, com densidade óptica relativa a 10⁶ cels/mL. Para isto, as cepas foram semeadas em ágar infusão cérebro-coração, BHI agar (Brain heart infusion agar - Difco, Detroit, USA) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após a incubação, o crescimento foi suspenso em solução fisiológica estéril [0.9% de cloreto de sódio (NaCl)] e o número de células em cada suspensão contado em espectrofotômetro (B582, Micronal, São Paulo, Brasil - Figura 24).

Figura 24 - Espectrofotômetro utilizado para controle da suspensão bacteriana.



Os parâmetros de densidade óptica e comprimento de onda utilizados foram 0.374 e 490 nm, respectivamente. Para a formação dos biofilmes foram utilizados quatro grupos de amostras (n=12), conforme a tabela 2 abaixo:

Tabela 2 – Distribuição dos grupos analisados.

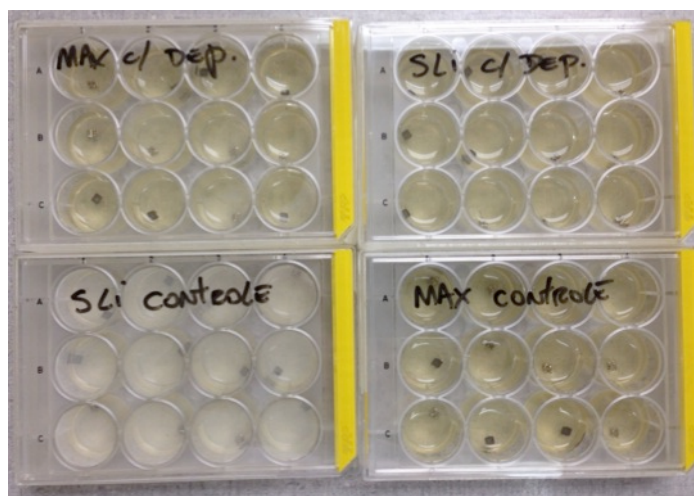
Grupo	Tipo da Amostra
AS	Braquetes autoligantes sem deposição do polímero de HMDSO
AC	Braquetes autoligantes com deposição do polímero de HMDSO
CS	Braquetes convencionais sem deposição de polímero de HMDSO
CC	Braquetes convencionais com deposição de polímero de HMDSO

A escolha por 12 amostras em cada grupo foi baseada na literatura, onde geralmente grupos de 6 (PAPAIOANNOU et al., 2007) a 12 amostras (FOURNIER et al., 1998) foram utilizadas ao analisar a adesão de *S. mutans* à braquetes.

Foi escolhida a adesão bacteriana diretamente ao braquete sem a utilização de saliva artificial, pois conforme demonstrado por Papaioannou et al., (2007), a adesão dos *S. mutans* é maior aos braquetes sem a presença de saliva.

Os braquetes foram colocados nas placas de 12 poços (Costar Corning, New York, EUA) com 1,5 mL de caldo BHI acrescido de 5% de sacarose, e inoculado com 0,1 mL da suspensão bacteriana. As peças foram incubadas a 37°C por 24 horas para a formação dos biofilmes (Figura 25).

Figura 25 - Amostras acondicionadas nos poços para formação do biofilme.



Após este período, os braquetes com os biofilmes formados foram lavados com solução tampão fosfato-salina (PBS) e submetidos a um agitador orbital por 5 minutos (Solab, Piracicaba, Brasil), para a remoção das células não aderidas (Figura 26).

Figura 26 - Amostras sendo agitadas em PBS para remoção das bactérias não aderidas.



Os braquetes com os biofilmes foram então colocados em tubos Falcon contendo 3 mL de solução fisiológica estéril e sonificados (Sonoplus HD 2200, 50 W, Bandelin Eletronic) por 30 s para dispersão dos biofilmes (Figura 27).

Figura 27 - Sonicador utilizado (a) e amostra sendo sonicada no interior do tubo Falcon (b).



Foram realizadas 4 diluições decimais (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} e 10^{-8}), da suspensão do biofilme de cada braquete, das quais alíquotas de 100 μ L foram semeadas em placas de Petri com ágar BHI. As placas foram incubadas em estufa à 37°C por 72 horas. Após 72 horas de incubação, as unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) foram quantificadas nas placas que apresentaram de 30 a 300 colônias e os números obtidos foram convertidos para seu logaritmo correspondente ($\log_{10}$ UFC/mL). Através da análise de Kolmogorov-Smirnov pode-se observar que a distribuição das amostras ocorreu de modo diferente da normalidade, portanto foram utilizados testes estatísticos não paramétricos. A possível diferença entre os grupos foi verificada pelo teste de Kruskal-Wallis, complementado pelo teste SNK considerando-se diferença estatística quando $p \leq 0.05$, com auxílio do software Minitab (Inc. PA, EUA) e Sigma Stat 3.5 (Systat Software Inc. CA, EUA)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para avaliar os biofilmes formados sobre a superfície das diferentes condições de braquetes utilizados. Para dois braquetes de cada grupo, antes da análise, as amostras foram fixadas por 1 h em glutaraldeído a 2,5% e desidratado em diversas concentrações de álcool (10%, 25%, 50%, 75% e 90% por 20 min e 100% por 1 h). Para secagem completa das amostras, estas foram incubadas em estufa bacteriológica por 48 h a 37°C. Após a secagem os braquetes foram transferidos para *stubs* metálicos, examinados e fotografados em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Zeiss modelo EVO LS15 (Figura 21), do Laboratório de Microscopia e Microanálise da Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá (UNESP), operando em 2 e 20 kV nos aumentos de 500, 1000 e 5000 vezes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SUBSTRATOS

4.1.1 Avaliação da rugosidade superficial

Na tabela 3 é possível observar os valores de rugosidade obtidos após a observação das superfícies externas dos braquetes, aletas, fundo da ranhura horizontal (slot) e clipe de NiTi, assim como da superfície externa da fita de aço, em microscópio confocal:

Tabela 3 - Valores de rugosidade das regiões observadas.

	AS aleta	AS fundo	AS Clip	CS aleta	CS fundo	Fita de Aço
Sq	6,14µm	8,70µm	1,39µm	4,03µm	13,07µm	1,57µm
Sa	3,10µm	4,81µm	1,10µm	3,08µm	11,00µm	1,24µm

Sq: Raiz quadrada média da altura da superfície.

Sa: Média aritmética da altura da superfície

Os valores obtidos demonstram que as regiões localizadas mais internamente e, conseqüentemente, mais inacessíveis aos procedimentos de polimento executados industrialmente, exibiram maiores rugosidades. Estes valores são condizentes com os verificados na literatura por Lee et al. (2010) e Liu et al. (2013), que observaram braquetes semelhantes aos utilizados no presente trabalho. Seus estudos compararam a rugosidade superficial entre braquetes metálicos e cerâmicos antes e após seu uso, observando que a rugosidade inicial dos braquetes metálicos era menor que a dos cerâmicos, mas após suas utilizações durante o tratamento ortodôntico, o inverso ocorria. Ao contrário do que foi observado no presente estudo, Lee et al. (2010) observou rugosidades semelhantes entre os braquetes metálicos autoligantes e convencionais na região de fundo da ranhura horizontal, mas quando estes foram comparados pós o tratamento, os braquetes autoligantes se mostraram mais rugosos.

A rugosidade superficial observada na fita de aço foi considerada compatível com as rugosidades das diferentes superfícies dos braquetes, o que possibilitou sua utilização no lugar dos braquetes, onde as análises seriam impraticáveis.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO FILME DE HMDSO

4.2.1 Molhabilidade do filme de HMDSO

A molhabilidade e a energia de superfície do filme de HMDSO foram avaliadas sobre a superfície da fita de aço, antes e após a deposição do filme de HMDSO em condição de deposição de 20W de potência com pressão vácuo de 60×10^{-2} Torr de pressão de vácuo por 15 e 30 minutos.

Tanto para o tempo de deposição de 15 minutos quanto para o tempo de 30 minutos, o filme de HMDSO apresentou características hidrofóbicas ($\theta > 90^\circ$), já o grupo controle apresentava-se com características hidrofílicas ($\theta < 90^\circ$) tanto para água deionizada quanto para o diiodometano, como demonstrado na tabela 4.

Tabela 4 – Medidas dos ângulos obtidos pelo Goniômetro e energia de superfície.

Grupos	Água Deionizada	Diiodometano	Energia de Superfície
Fita com dep. 15'	$105,78^\circ \pm 1,08$	$81,67^\circ \pm 1,51$	$23,24 \pm 0,60$
Fita com dep. 30'	$107,38^\circ \pm 0,27$	$71,29^\circ \pm 0,72$	$26,18 \pm 0,28$
Fita Controle	$79,22^\circ \pm 4,43$	$48,45^\circ \pm 0,45$	$45,65 \pm 1,91$

As características hidrofóbicas obtidas na análise do filme de HMDSO pelo goniômetro, são típicas deste polímero sílico-orgânico, sendo estas muitas vezes modificadas para uma melhor biocompatibilidade. Aplicações de plasma de oxigênio visando a reversão dessas características são empregadas para este fim (KRASTEVA et al. 2010).

A hidrofobicidade é uma característica bastante importante quando se almeja a redução da adesão bacteriana, conforme demonstraram Hossain e Gao (2008) e Förch et al. (2007) em seus estudos de alterações das características de superfície em metais.

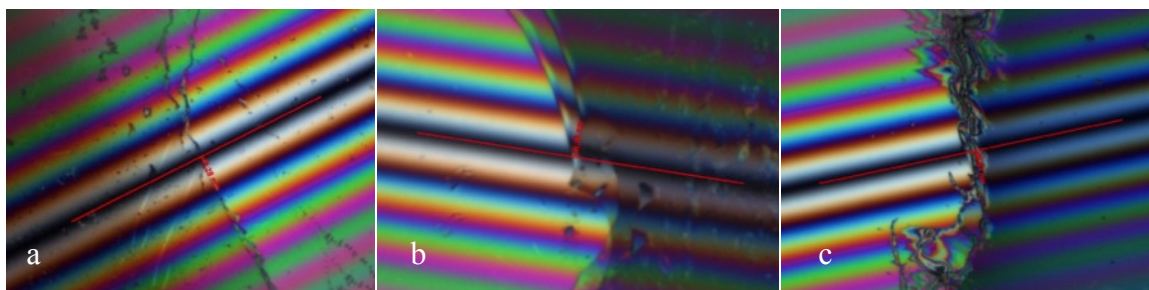
Como as características hidrofóbicas das amostras com deposição de 15 minutos e 30 minutos apresentaram variações bastante similares entre si, se optou pelo menor tempo de deposição para a polimerização a plasma nos braquetes.

4.2.2 Perfilometria

Foi realizado o ensaio de perfilometria por interferometria, para medida da espessura do filme, sobre lâmina de silício após a deposição a plasma do polímero de HMDSO em

condições de deposição de 60×10^{-2} Torr de pressão de vácuo por 15 minutos, diferindo apenas em sua potência, sendo estas de 20, 30 e 40W (figura 28).

Figura 28 - Filme sendo medido nas potências de 20(a), 30(b) e 40W(c).



As medidas obtidas para cada uma das condições podem ser observadas na tabela 5:

Tabela 5 - Espessura de filmes obtidas a partir dos diferentes parâmetros de deposição.

Potência	Amostra				
	1	2	3	4	Média
20W	48,94nm	49,28nm	54,17nm	49,33nm	44,34nm
30W	51,63nm	55,10nm	58,48nm	56,26nm	50,29nm
40W	51,71nm	49,42nm	46,28nm	52,06nm	47,89nm

As espessuras observadas foram compatíveis com as obtidas por Chaiwong et al. (2013) e suficientes para suportar os testes microbiológicos efetuados na sequência. Assim como no trabalho do referido autor, as espessuras observadas não foram proporcionais a potência utilizada na deposição dos filmes, possivelmente pelo efeito de ablação (etching) resultante do choque dos elétrons excitados contra a camada de polímero já depositada na superfície das amostras.

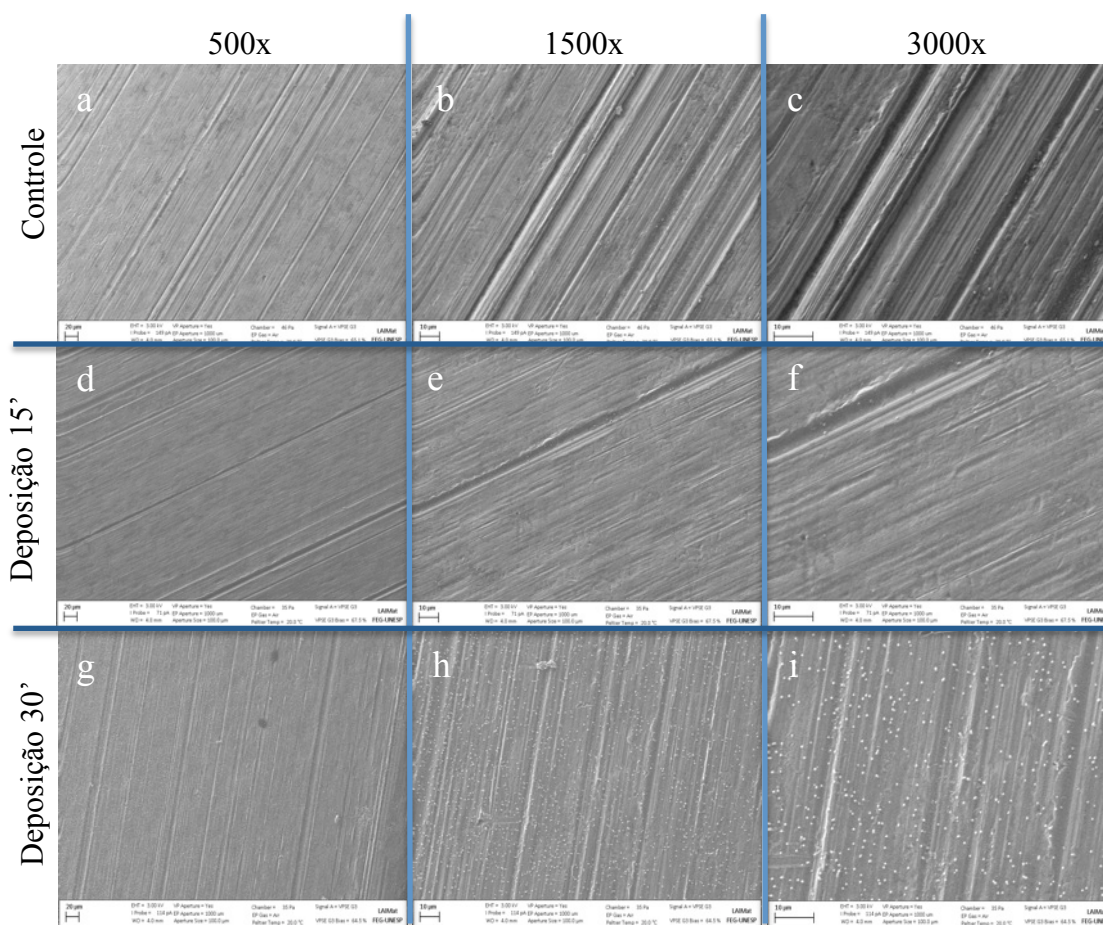
Assim sendo, visando uma polimerização mais uniforme e com espessura que possibilitasse os demais experimentos, optou-se pela deposição com potência de 20W para polimerização do filme sobre os braquetes.

4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura do filme

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para análise das fitas de aço na condição de deposição a plasma do polímero de HMDSO de 20W, 60 x 10⁻² Torr de pressão de vácuo por 15 e 30 minutos.

As amostras foram avaliadas em ampliação de 500, 1500 e 3000x, conforme figura 29.

Figura 29 - Amostras observadas nas diferentes ampliações.



O intuito desta avaliação foi observar a variação da rugosidade superficial das amostras e investigar a possível formação do pó de polímeros sobre o filme, resultantes da polimerização deste antes de tocarem a superfície da amostra.

A avaliação das microfotografias obtidas pela microscopia eletrônica de varredura demonstrou que houve uma redução da rugosidade superficial pela deposição do filme do polímero, também proporcionou a escolha do melhor tempo de deposição (15 minutos), uma vez que para tempos de 30 minutos houve a formação do pó do polímero (pontos brancos

observados na figura 29 em i), inviabilizando assim este parâmetro de deposição, pois se torna mais uma variável no processo, interferindo e na adesão bacteriana.

Denes et al. (2000) ao realizar estudo da alteração das características de superfície do aço inoxidável, quando revestido por filme de polímero de éter 12-coroa-4 e éter dimetil trietilenoglicol, também obtiveram redução da rugosidade superficial deste material. Estes autores indicam a deposição de filmes para o tratamento de superfícies de aços inoxidáveis na indústria alimentícia.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS BRAQUETES APÓS DEPOSIÇÃO DO FILME

4.3.1 Avaliação da rugosidade superficial

As superfícies externas dos braquetes, aletas, fundo da ranhura horizontal (slot) e clipe de NiTi, foram avaliadas após a deposição do polímero de HMDSO, por meio de microscópio confocal, as variações obtidas entre as rugosidades estão dispostas na Tabela 6 (as porcentagens indicam a variação da rugosidade após a deposição).

Tabela 6 - Valores de rugosidade nas regiões avaliadas e percentual de variação em relação as amostras sem deposição.

	AC aleta	AC fundo	AC Clip	CC aleta	CC fundo
Sq	1,35µm (-79%)	2,68,µm (-70%)	1,61µm (+17%)	1,52µm (-63%)	16,46µm (+12%)
Sa	1,08µm (-66%)	2,01µm (-59%)	1,16µm (+6%)	1,27µm (-59%)	13,44µm (+12%)

Sq: Raiz quadrada média da altura da superfície.

Sa: Média aritmética da altura da superfície

As maiores variações na redução da rugosidade foram observadas na região de aletas, (áreas com tons azulados correspondem a regiões menos rugosas) nos grupos CS e CC (figura 30) e nos grupos AS e AC (figura 31) e, na região de fundo de slot dos grupos AS e AC (figura 32). Estes valores demonstram a efetividade do filme de polímero de HMDSO na redução das rugosidades superficiais das amostras. Os dados são ainda condizentes com as

variações observadas em fita de aço, quando analisadas pelo MEV (Figura 29), onde se pode observar uma superfície menos rugosa das amostras após a deposição.

Figura 30 - Região da aleta do braquete dos grupos CS e CC.

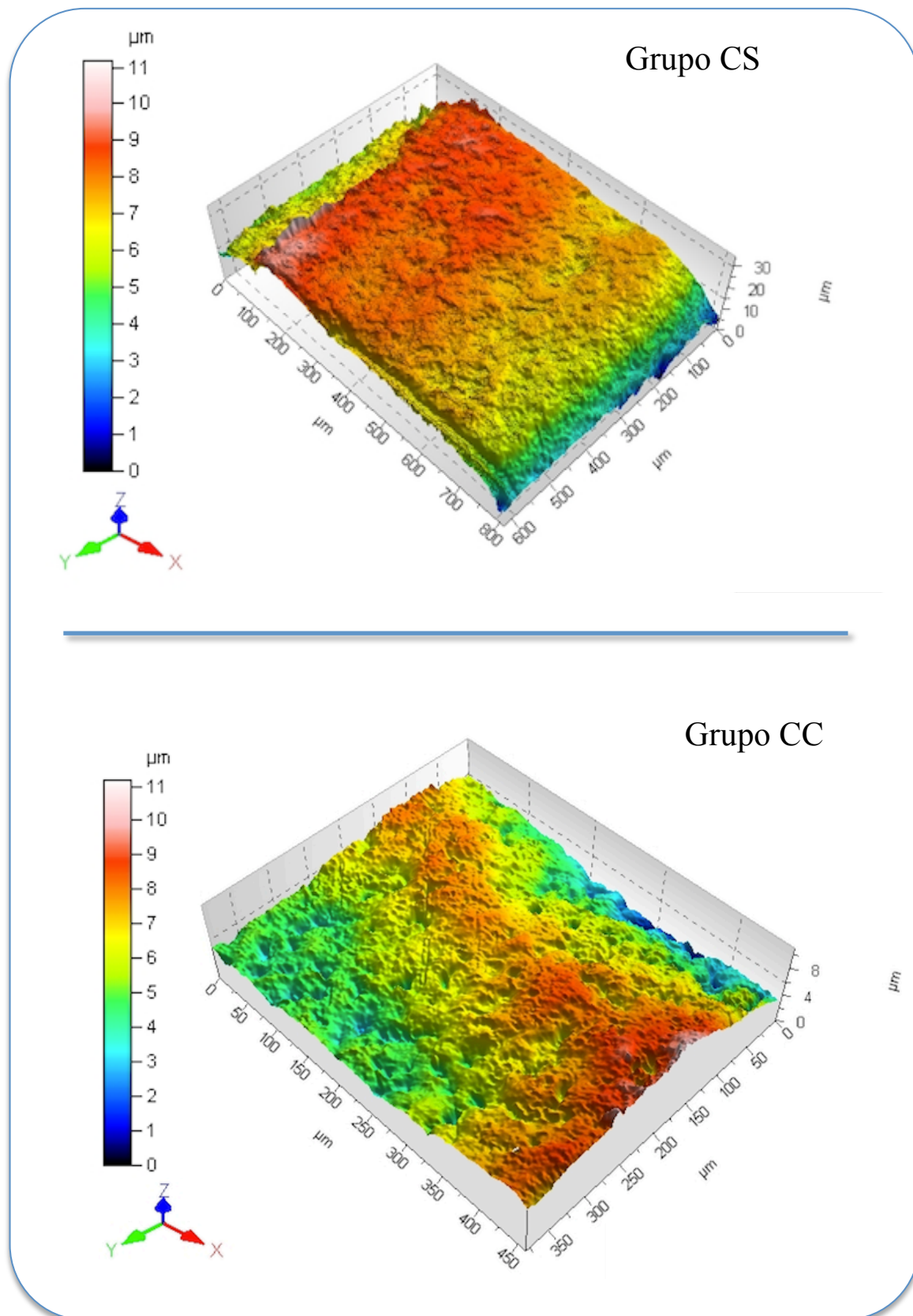


Figura 31 - Região da aleta do braquete dos grupos AS e AC.

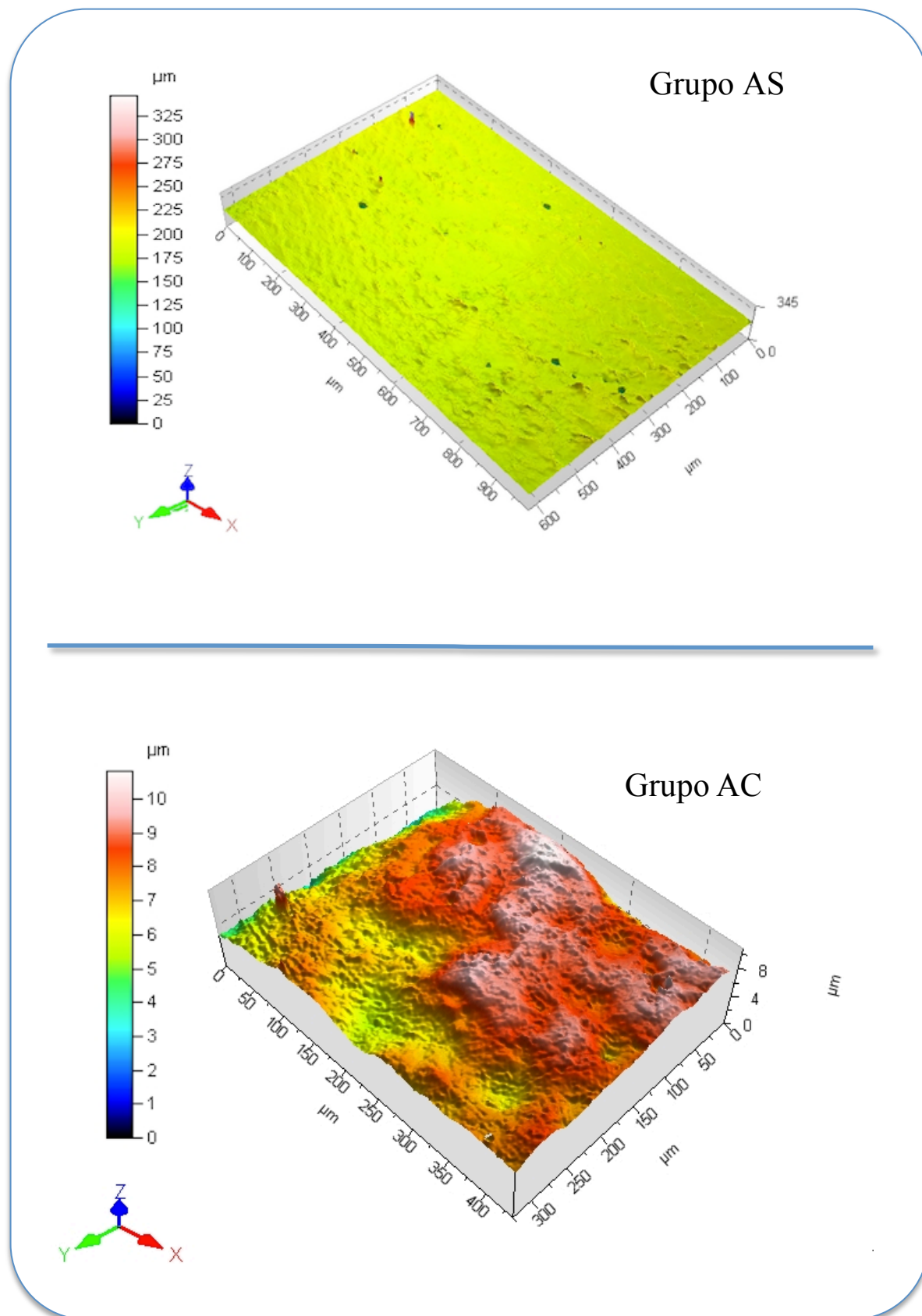
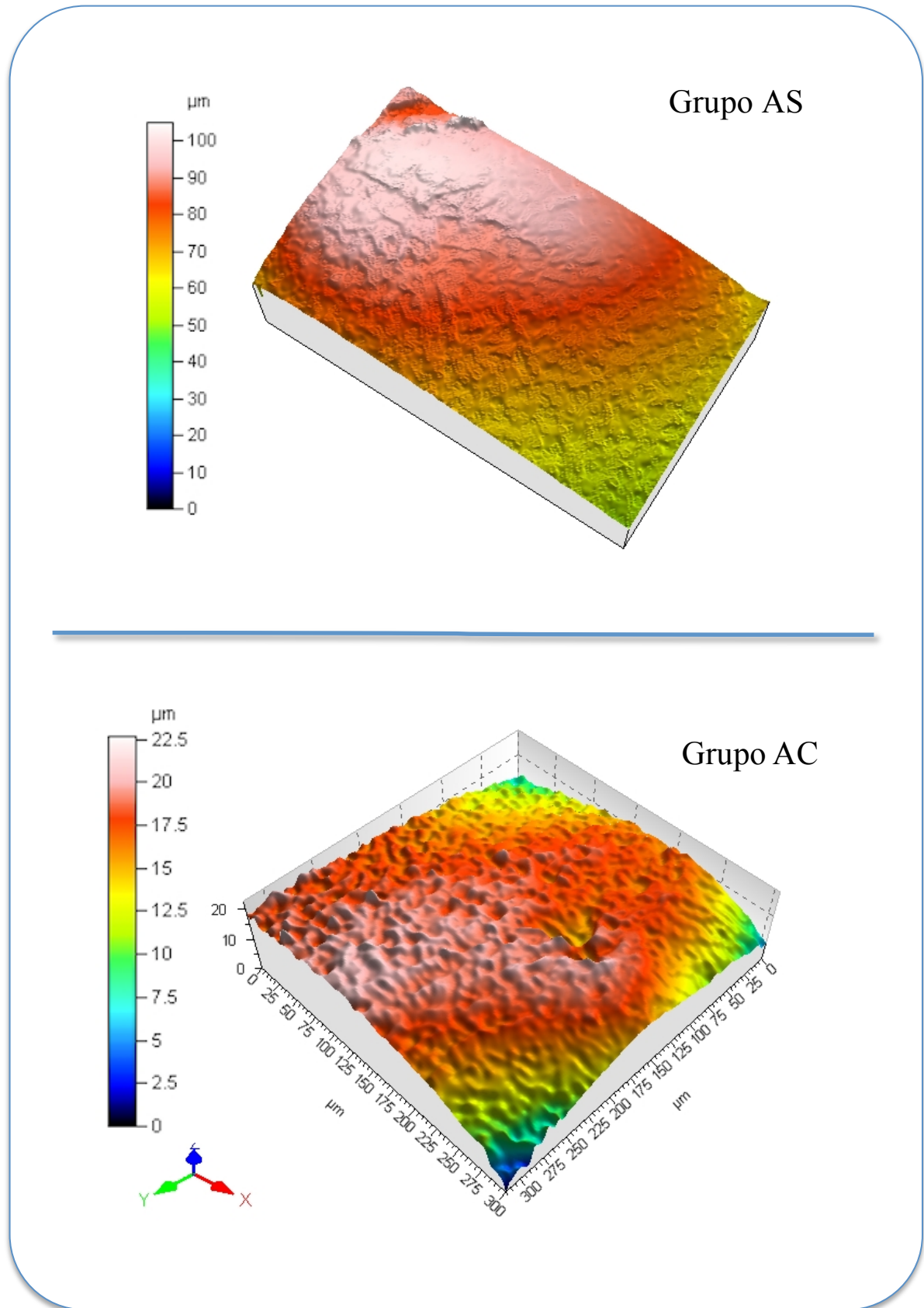


Figura 32 – Região do fundo do slot dos grupos AS e AC.

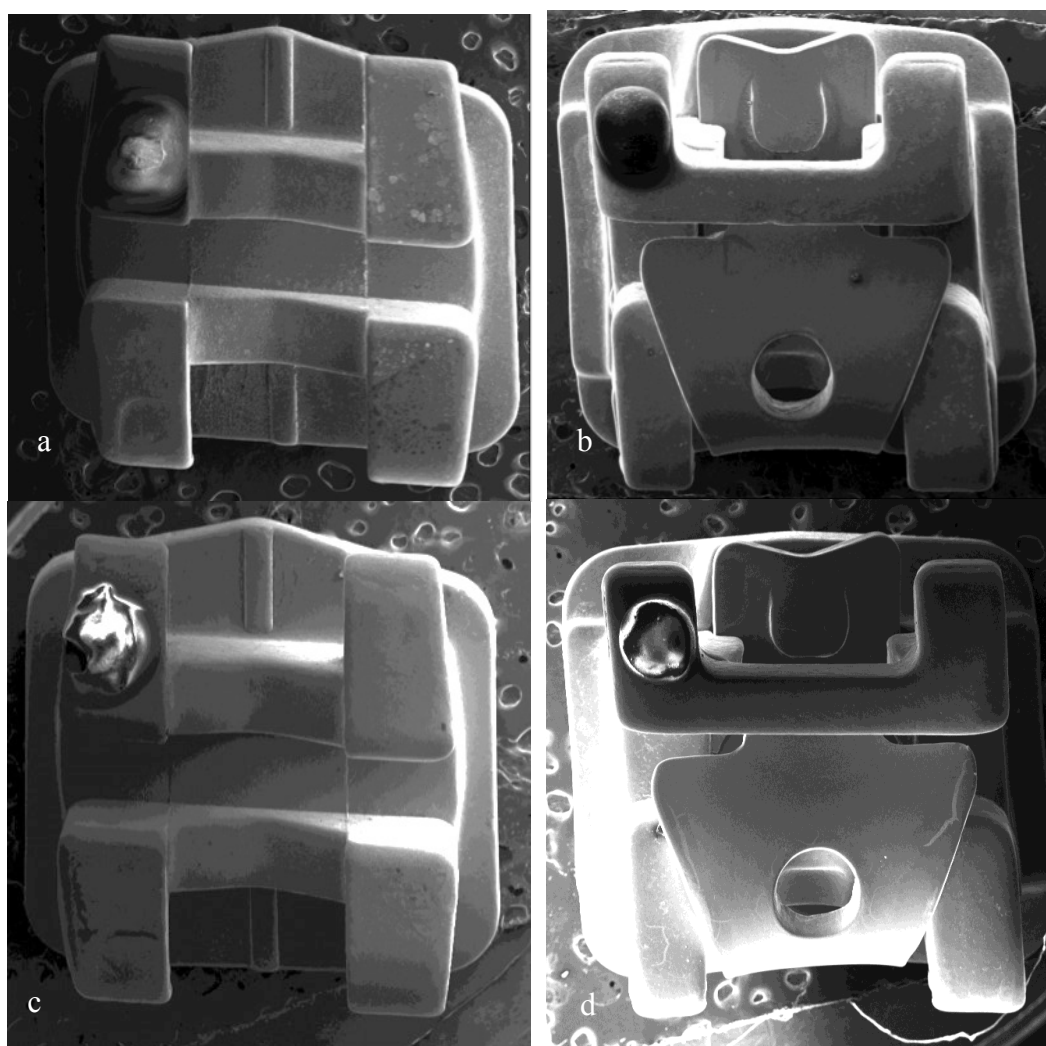


A partir da análise dos resultados pode se concluir que a deposição do polímero de HMDSO, levou a uma redução da rugosidade superficial para os dois modelos avaliados, fator importante no tratamento de superfície para redução de agregação bacteriana conforme demonstrado por Flint et al. (2000), que observaram uma maior agregação bacteriana em ligas de aço inoxidável 314 para valores de rugosidade superiores ao diâmetro da célula bacteriana ($0,9\mu\text{m}$). Além disso observaram também que os *streptococos* possuem grande afinidade com a camada de óxido formada na superfície das ligas de aço, a qual é atenuada pelo tratamento a plasma.

4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os dois grupos de braquetes, autoligantes e convencionais, foram analisados por meio da MEV antes (grupo controle) e após a deposição do polímero de HMDSO (figura 33).

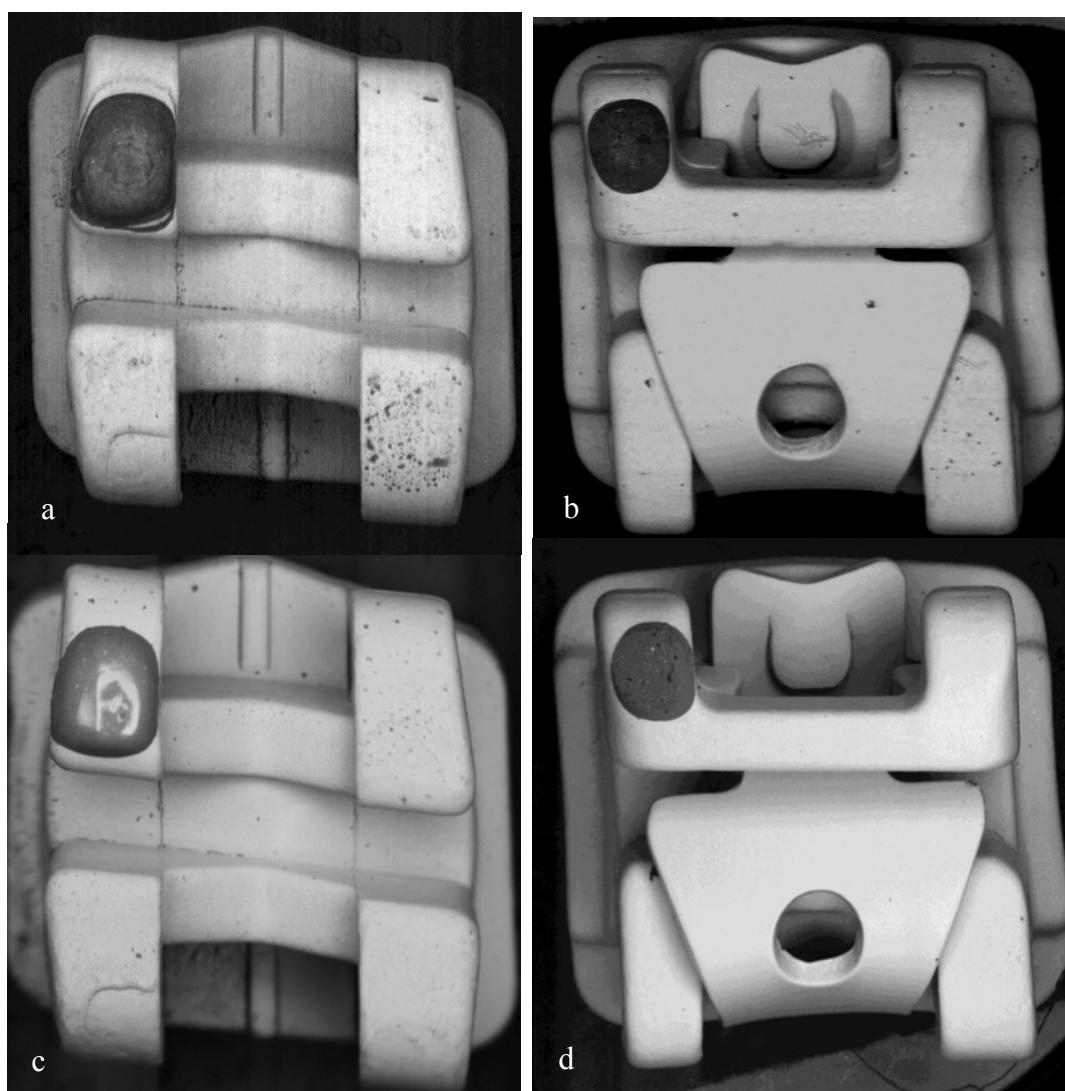
Figura 33 – Grupo CS (a), grupo AS (b), grupo CC (c) e grupo AC (d).



A partir da análise das micrografias obtidas se observou visualmente a menor rugosidade superficial das amostras após a deposição, fato também observado quando a deposição sobre a fita de aço foi analisada.

Na figura 34 se observam as microfotografias de todos os grupos de braquetes antes e após a deposição, em modo BSE, que capta variações no número atômico e cria contrastes entre estas variações para evidenciar possíveis imperfeições. Conforme demonstrado por Förch et al. (2007), o processo de deposição de polímeros de HMDSO permite o recobrimento das amostras em todas as dimensões do espaço, além de apresentar alta taxa de deposição.

Figura 34 – Grupo CS (a), grupo AS (b), grupo CC (c), grupo CS (d) em BSE.



Na figura 35 se observa em “b” e “d” a superfície bastante uniforme e sem descontinuidade, quando comparado com a condição “a” e “c”, demonstrando a deposição do polímero por toda superfície externa do braquete. Em “d”, se observa a melhora da qualidade de rugosidade superficial especialmente na região da superfície externa da aleta e da base e do braquete, esta última, crítica para o acúmulo de bactérias, conforme demonstrado por Mei et al. (2009) como sendo a região inicial da colonização bacteriana e início da desmineralização de esmalte dentário.

4.3.3 Avaliação da adesão bacteriana

A estatística descritiva dos dados analisados (contagem de colônias) pode ser observada na tabela 7.

Tabela 7 - Estatística descritiva (média, desvio-padrão (DP), mediana, primeiro quartil (Q1), terceiro quartil (Q3), valores mínimo e máximo) referentes ao valores de contagem de colônias (log).

Grupo	Média (DP)	Mediana	Q₁	Q₃	Mínimo	Máximo
AS	9,13 (0,63)	9,06	8,60	9,47	8,45	10,28
AC	9,00 (0,31)	8,93	8,78	9,05	8,76	9,85
CS	7,99 (1,82)	8,50	8,01	8,77	3,00	9,48
CC	5,79 (2,78)	6,99	3,78	7,59	0,00	8,92

Os testes de Kolmogorov Smirnov para verificar se os dados dos 4 grupos analisados apresentam distribuição normal foram realizados considerando as seguintes hipóteses:

- Hipótese nula (H_0) = A distribuição dos dados analisados é similar a uma distribuição normal padrão.
- Hipótese alternativa (H_a) = A distribuição dos dados analisados não é similar a uma distribuição normal padrão.

Os resultados dos testes de Kolmogorov-Smirnov identificaram que os grupos AS e CC apresentaram distribuição normal ($p > 0,05$) e que os grupos AC e CS não apresentaram

distribuição normal ($p < 0,05$), considerando o nível de significância de 5%, portanto optou-se pela análise dos dados por meio de análises estatísticas não paramétricas. (Apêndice A)

O teste de Kruskal-Wallis para verificar possível diferença entre os grupos considerou as seguintes hipóteses:

- Hipótese nula (H_0) = Os dados analisados são similares entre os 4 grupos estudados.
- Hipótese alternativa (H_a) = Há no mínimo 1 grupo diferente dos demais grupos estudados.

O resultado do teste de Kruskal-Wallis (Tabela 8) indicou a presença de no mínimo 1 grupo diferente dos demais grupos ($H=18,56$ e $p < 0,001$).

Para identificar todas as possíveis diferenças foi aplicado o teste de comparação múltipla SNK, o qual indicou maior acúmulo de bactéria nos grupos AS e AC e menor acúmulo no grupo CC ($p < 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultados dos testes de Kruskal-Wallis e de SNK para comparação entre os grupos.

Grupos (n=10)	Mediana
AS	9,06 A
AC	8,93 A
CS	8,50 B
CC	6,99 C

$H= 18,56$ ($p < 0,001$) Letras maiúsculas diferem entre si na vertical ($p < 0,05$)

As análises demonstraram que não houve diferenças estatísticas significantes para a adesão de bactérias entre os grupos AS e AC. Portanto a presença do filme de polímero de HMDSO teve pouca influência na redução da adesão bacteriana para este tipo de braquete.

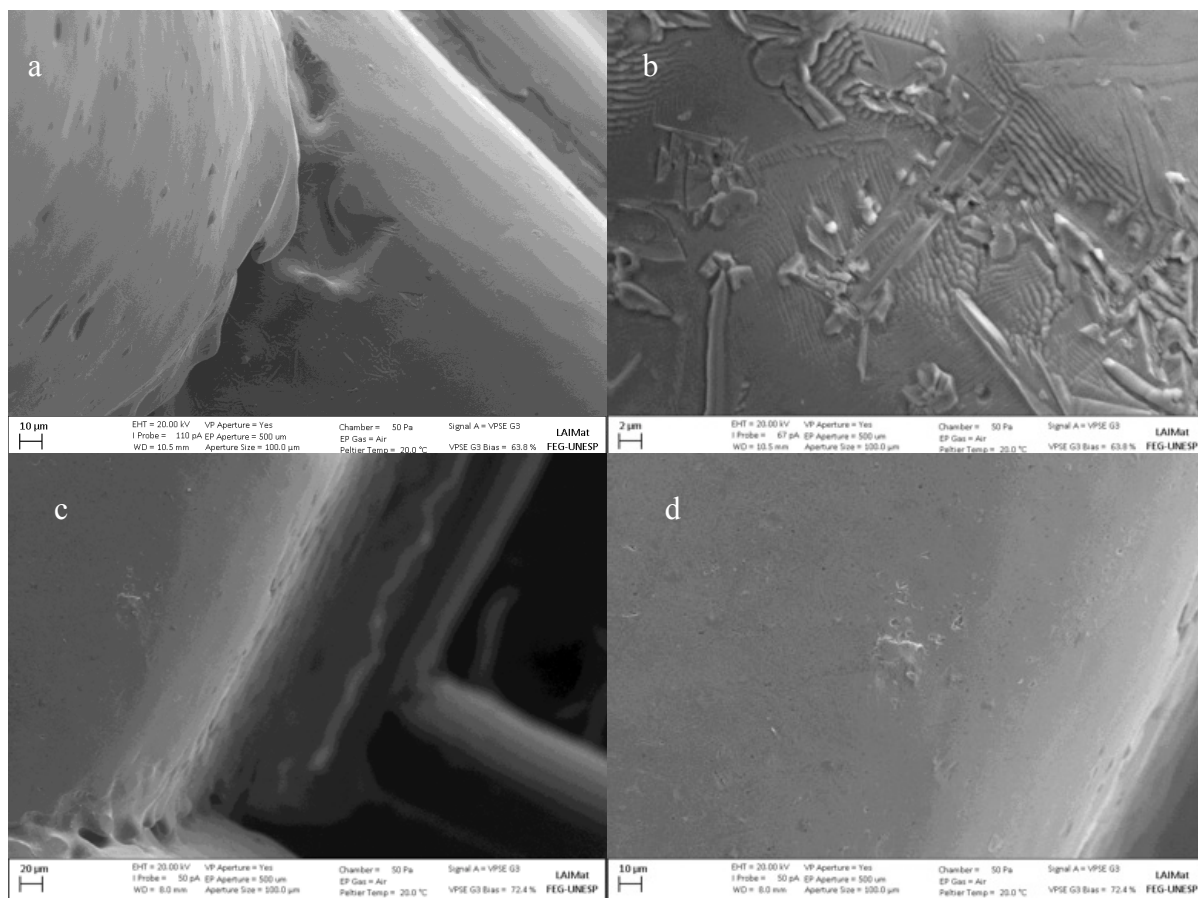
Já o grupo CS, mesmo sem a presença do polímero, apresentou menores índices de adesão bacteriana que os grupos AC e AS, demonstrando assim, que a geometria externa do braquete tem grande influência na adesão bacteriana.

O grupo CC apresentou os melhores resultados relativos a redução da adesão bacteriana em relação a todos os grupos analisados, demonstrando que o filme de polímero

depositado sobre este, teve importância fundamental na redução do índice de adesão bacteriana.

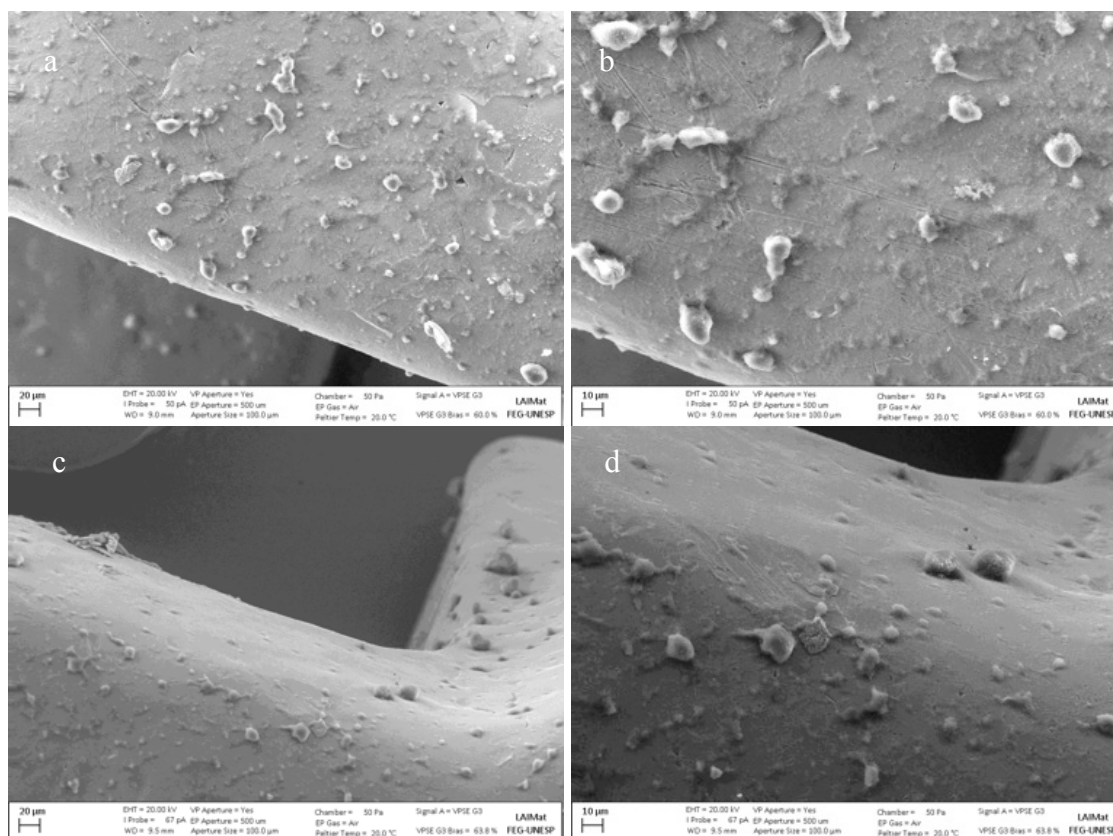
Os grupos também foram analisados em MEV após a contaminação bacteriana. As microfotografias foram realizadas observando a região das aletas (vista frontal) e das ranhuras horizontais (vista lateral), estas últimas as mais susceptíveis a adesão bacteriana. Nas figuras 35 e 36 se observam as imagens dos grupos AS e CS, respectivamente.

Figura 35 - Grupo AS , vista frontal em “a” e “b”, vista lateral em “c” e “d”.



As microfotografias do grupo AC podem ser observadas na figura 36.

Figura 36 - Grupo AC, vista frontal em “a” e “b”, vista lateral em “c” e “d”.



No grupo AC se observou um maior acúmulo de bactérias, tanto na região das aletas quanto da ranhura horizontal, mesmo com a presença do filme de HMDSO. Tal observação tem relação direta com o alto grau de reentrâncias e da geometria complexa deste tipo de braquete, tal como foi observado por Garcez et al. (2011). A presença do clipe de NiTi como elemento de ligação no braquete, implica na existência de um túnel longitudinal interno logo acima da base do braquete, com a função de acomodar o clipe. Tais características criam superfícies de contato muito mais amplas neste tipo de braquete do que nos convencionais.

A avaliação das microfotografias obtidas em MEV das amostras dos grupos CS e CC foi condizente com os achados estatísticos de adesão bacteriana, demonstrando ainda, maior acúmulo de bactérias na região do interior da ranhura horizontal para os dois grupos avaliados (Figura 37 c e d e figura 38 c e d). Mesmo assim, ainda em menor número que as amostras do grupo AC (Figura 36). Confirmando assim a grande influência da geometria do braquete como fator facilitador da adesão bacteriana.

Figura 37 - Grupo CS, vista frontal em “a” e “b”, vista lateral em “c” e “d”.

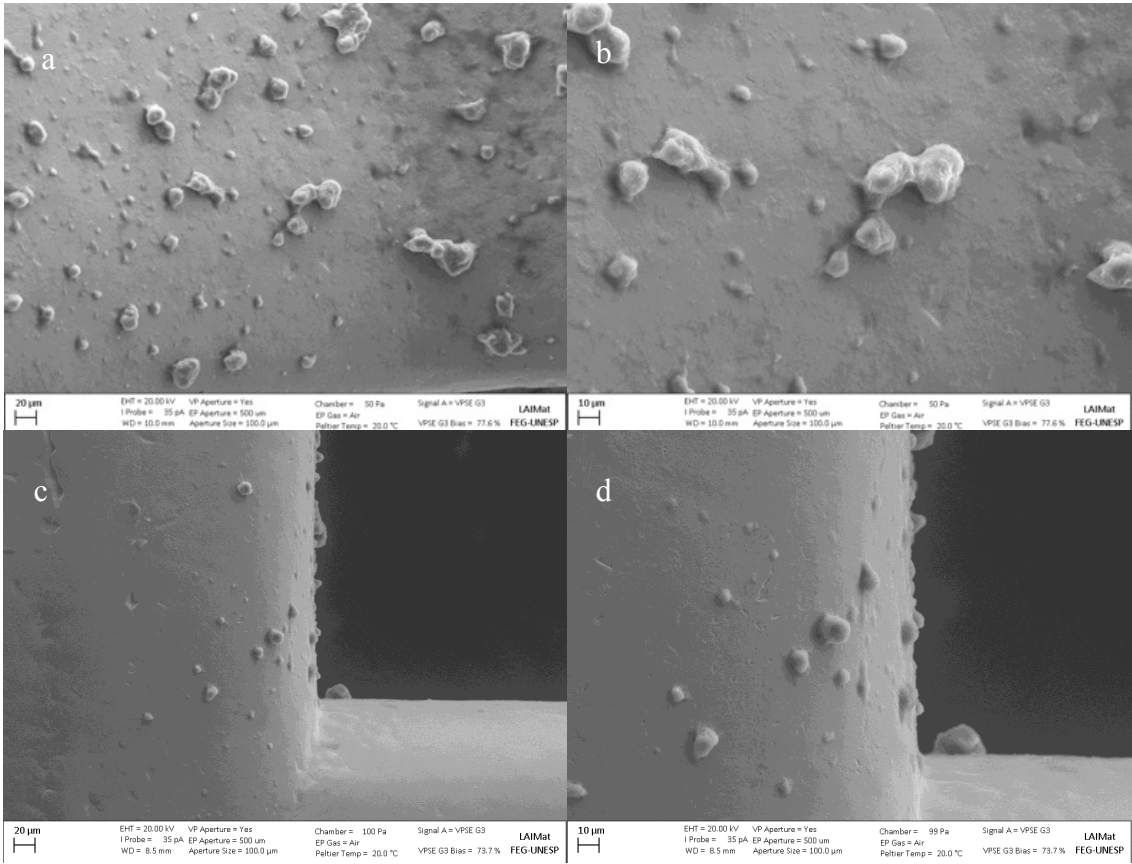
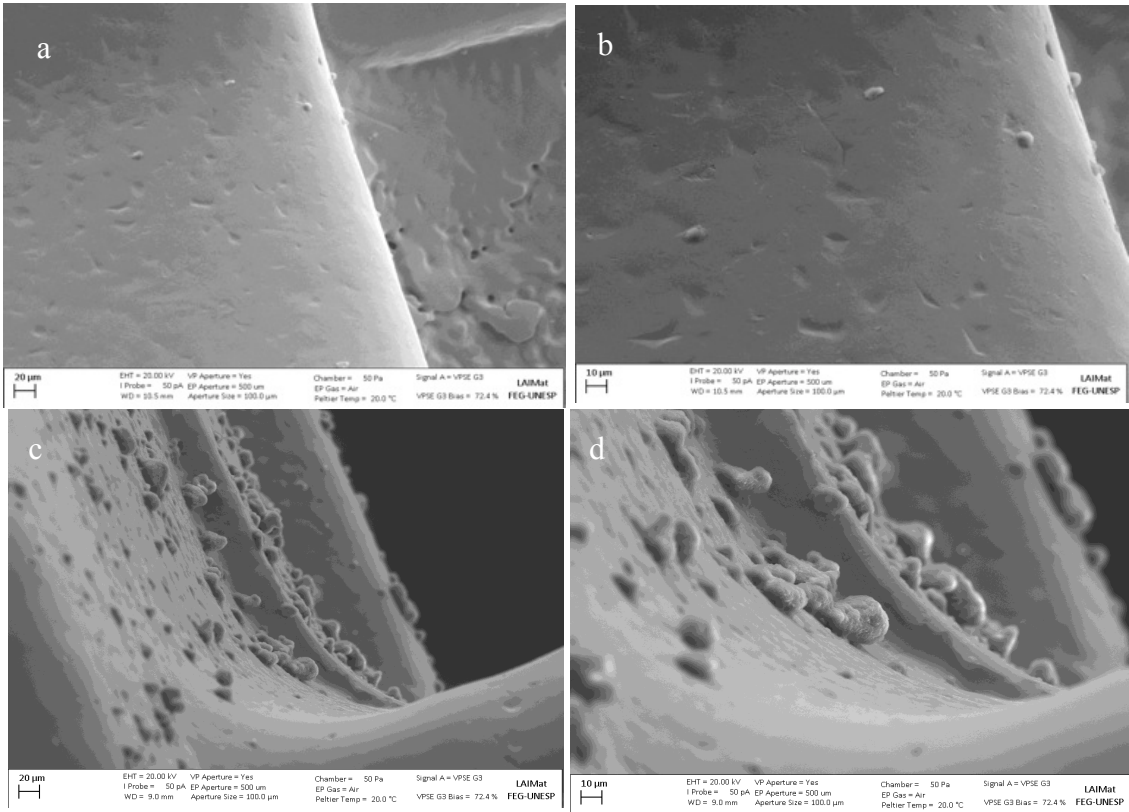


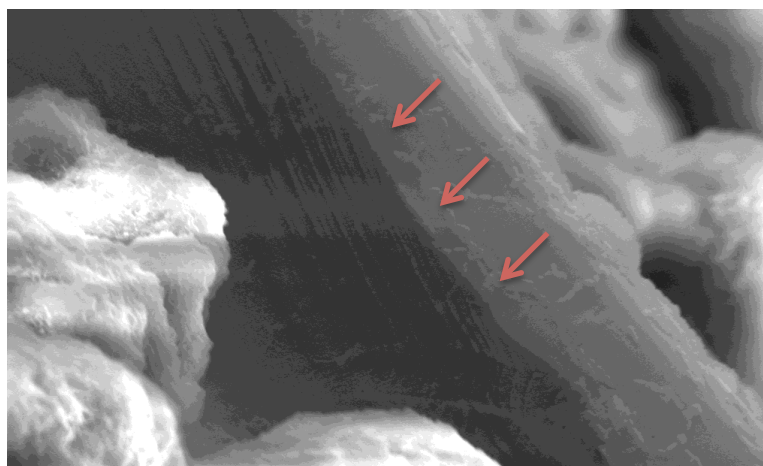
Figura 38 - Grupo CC, vista frontal em “a” e “b”, vista lateral em “c” e “d”.



Foi encontrada também uma ocorrência bastante importante, na figura 38 em “d”. Pode se observar mais ao fundo, na região de contorno mais acidentada da anatomia do braquete, a ausência de deposição do filme de polímero.

A imagem em aumento de 5000x (Figura 39), evidencia a presença da interface, indicada pelas setas, delimitando a região sem deposição do filme.

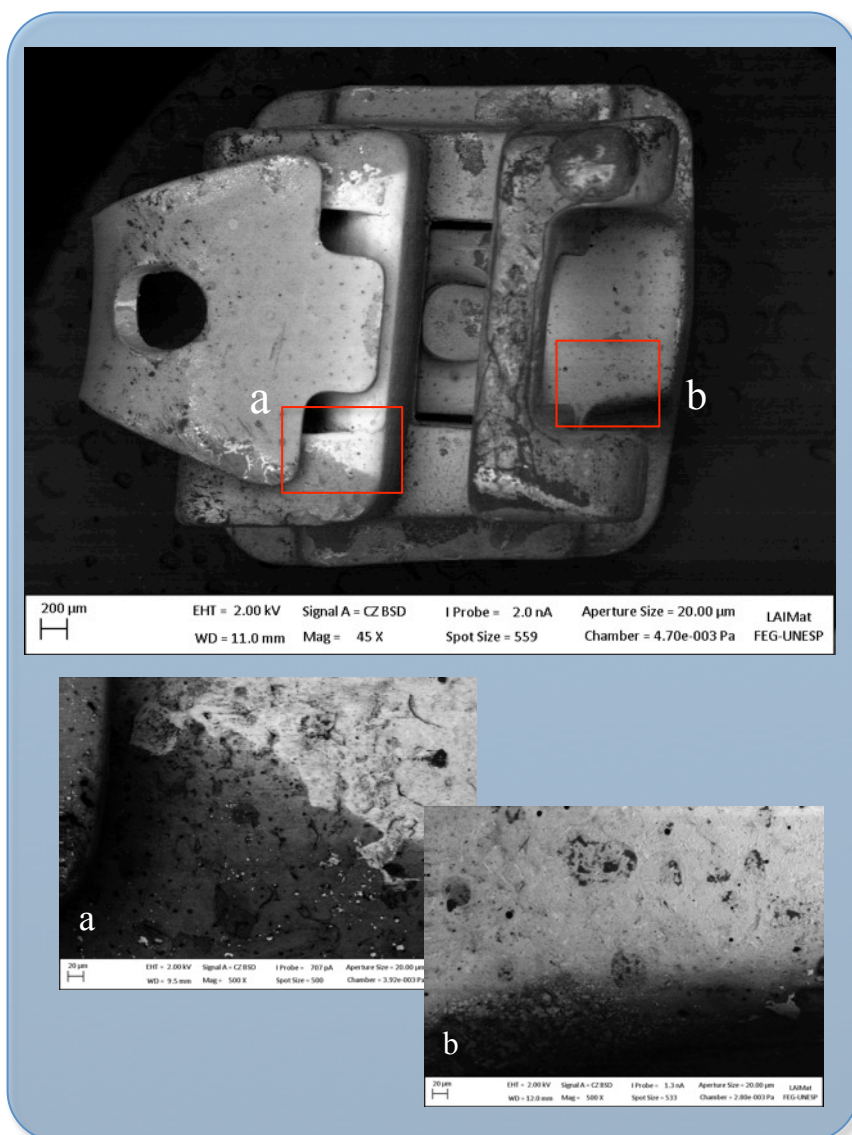
Figura 39 - Evidência da ausência de recobrimento de polímero no interior da canaleta horizontal.



Esta ocorrência também foi observada no grupo AC (figura 41). A deposição do polímero neste grupo, ocorreu com o braquete conforme recebido do fabricante, ou seja, com o clipe de NiTi fechado e em posição, recobrindo assim grande parte estrutura externa do braquete. Tal fato conferiu a este grupo uma área sem deposição mais extensa que a observada no grupo CC. Além disso, associado ao fato do grupo AC apresentar um relevo externo mais acidentado que o grupo CC, a adesão bacteriana observada foi bastante parecida com a do grupo AS, levando assim a conclusão que esta associação de fatores levou a uma incidência maior de bactérias aderidas a estas imperfeições, que não tiveram recobrimento pelo filme de polímero.

Na figura 40, as áreas “a” e “b” em aumento de 500x, demonstram a presença de uma área mais clara com ausência de deposição do polímero de HMDSO, esta área coincide com a área recoberta pelo clipe de NiTi, quando este está fechado, o que torna clara a interferência negativa do clipe no processo de deposição.

Figura 40 – Braquete do grupo AC evidenciando a falha na deposição do polímero.



A deposição do filme de HMDSO foi realizada com o clipe do braquete autoligante fechado, do mesmo modo como Garcerz et al. (2011), Baka et al. (2013), Gastel et al.(2009) e Papaioannou et al. (2007), realizaram seus experimentos de análise de adesão bacteriana. Outro fator que inviabilizaria a remoção do clipe para deposição do filme, seria a dificuldade técnica em reposiciona-lo novamente, processo esse realizado industrialmente, possibilitando ainda a incorporação de ranhuras e imperfeições aos braquetes, que poderiam também interferir na adesão bacteriana.

Outra alternativa seria realizar a deposição do filme com o clipe aberto, mas mesmo assim, uma grande área do braquete ainda estaria sendo recoberta pelo clipe, como o fundo do slot e sua base voltada para incisal, o que também comprometeria o processo de deposição e consequentemente teria impacto na adesão bacteriana.

Os grupos AS e AC apresentam a mesma geometria, em especial a presença do clipe de NiTi. Durante a deposição o clipe fechado resultou na formação de um túnel compreendido entre o referido clipe e as paredes da ranhura horizontal, além do túnel interno para adaptação do clipe. Dessa forma, regiões muito mais propícias a agregação bacteriana foram formados, o que explica a pequena diferença estatisticamente sem significância verificada entre estes grupos.

Possivelmente, a presença destas reentrâncias possa ter dificultado a deposição do polímero a plasma nos braquetes autoligantes (AC) e assim conferido uma menor área total externa recoberta por polímero, resultando proporcionalmente, em uma área total recoberta por filme, menor do que nos braquetes convencionais com deposição (CC), uma vez que estes apresentam muito menos reentrâncias.

Outro fato relevante foi que braquetes autoligantes com deposição (grupo AC) apresentaram maior agregação bacteriana que os braquetes convencionais sem deposição (grupo CS), pesando assim mais uma vez o fator anatômico externo do braquete.

Ao se comparar os diferentes tipos de braquetes sem deposição do polímero a plasma (grupos AS e CS), foi observado que, assim como Garcez et al. (2011), que compararam além dos diferentes tipos de braquete, os diferentes meios de ligação entre braquete e fios de nivelamento, os braquetes convencionais (CS) quando ligados por amarrios metálicos, apresentaram menor acúmulo de placa que os autoligantes (AS). Gastel et al. (2009) também obtiveram os mesmos resultados que o presente trabalho. Outros autores como e Baka et al. (2013) obtiveram resultados diferentes, observando que não houve diferença estatística significativa entre os grupos analisados, sendo eles autoligantes ou não. Gastel et al (2009) observaram ainda que braquetes autoligantes, assim como os braquetes cerâmicos, apresentaram pequena proporção entre bactérias anaeróbias e aeróbias nas unidades formadoras de colônias (UFC). Conferindo assim, maior patogenicidade a este biofilme. Este autor comparou braquetes que apresentavam anatomias externas e composições bastante diferentes, o que como foi observado no presente estudo, tem influência significativa na agregação bacteriana.

Os resultados bastante positivos obtidos nos braquetes do grupo CC , abrem uma nova perspectiva ao tratamento de superfícies com vistas a redução da adesão bacteriana em Ortodontia. Fronteira esta, ainda pouco explorada na especialidade e de suma importância para a saúde e bem estar dos pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico.

Tal benefício tem ainda poucos adeptos, mas autores como Demling et al. (2010), ao realizarem estudo in vivo, comparando a adesão bacteriana entre dois braquetes

convencionais, sendo um deles recoberto com filme de politetrafluoretileno polimerizado a plasma, observaram uma quantidade muito menor de bactérias aderidas a superfície do braquete com filme, $4.0 \pm 3.6\%$ da superfície contra $22.2 \pm 5.4\%$ do braquete sem filme. Tal constatação, que corrobora com os achados do presente estudo, apesar de ser apresentada apenas como um estudo de caso, pode servir de referência inicial para a indicação do tratamento das superfícies a plasma nos braquetes em Ortodontia.

5 CONCLUSÃO

Com a realização desta pesquisa foi possível concluir que a deposição do polímero de HMDSO sobre as amostras:

- Alterou suas características de superfície tornando-as hidrofóbicas;
- Reduziu suas rugosidades superficiais, especialmente na região de aletas e nos braquetes autoligantes, no fundo dos slots;
- Foi efetiva na redução da adesão do biofilme de *S. mutans*, somente nos braquetes convencionais, por estes apresentarem geometria externa menos acidentada e mais propícia e adequada deposição do filme de polímero e,
- Indicou que outro método de deposição seja empregado nos braquetes autoligantes, para que a deposição e consequentemente a redução na adesão bacteriana, possa ser mais efetiva.

REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, M. B. Selling orthodontic need: innocent business decision or guilty pleasure? **Journal of Medical Ethics**, v. 36 p. 275-278, 2010.
- ALMEIDA, G. A.; URSI, W. Ortodontia com braquetes autoligáveis. In___. **Ortodontia Clínica e Biomecânica**. Maringá: Dental Press, 2010. p. 561-573.
- ANHOURY et al, Microbial Profile on Metallic and Ceramic Bracket Materials. **Angle Orthodontist**, n. 72, p. 338-343, 2002.
- ANUSAVICE, K. J., **Phillips: Materiais Dentários**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- ASSAD-LOSS, T. F.; NEVES, R. M. L.; MUCHA, J. N. Composição química e aspecto superficial do slot de braquetes metálicos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, Maringá, v. 13, n. 3, p. 85-96, 2008.
- BAKA, Z. M.; BASCIFTCI, F. A.; ARSLANC, U. Effects of 2 bracket and ligation types on plaque retention: A quantitative microbiologic analysis with real-time polymerase chain reaction. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 144, p. 260-267, 2013.
- BIEDERMAN, H (Ed.). **Plasma polymer films**. Londres:Imperial College Press, 2004. 392 p.
- BODAS, D. S.; MANDALE A. B.; GANDAL, S. A. Deposition of PTFE thin films by RF plasma sputtering on (100) silicon substrates. **Applied Surface Science**, n. 245, p. 202–207, 2005.
- BOGAERTS et al. Gas discharge plasmas and their applications. **Spectrochimica Acta**, n. 57, p. 609–658, 2002.
- BRITO JR, V. S.; URSI, W. J. S. O aparelho pré-ajustado: sua evolução e suas prescrições. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, Maringá, v. 11, n. 3, p. 104-156, maio/jun. 2006.

CHAIWONG et al. Plasma polymerization of hexamethyldisiloxane: Investigation of the effect of carrier gas related to the film properties. **Surface & Coatings Technology**, n. 229, p. 12–17, 2013.

CHEN et al., Systematic review of self-ligating brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 137, p. 726.e1-726.e18, 2010.

CORTIZZO et al. Chlorhexidine delivery system from titanium/polybenzyl acrylate coating: Evaluation of cytotoxicity and early bacterial adhesion. **Journal of Dentistry**, n. 40, p. 329–337, 2012.

DAROUICHE, R. O. Treatment of infections associated with surgical implants. **The New England Journal of Medicine**, n. 350, p. 1422-1429, 2004.

DAVIDOVITCH, Z.; KRISHNAN, V. Role of basic biological sciences in clinical orthodontics: A case series **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 135, n. 2, p. 222-231, 2009.

DEMLING et al., Reduction of biofilm on orthodontic brackets with the use of a polytetrafluoroethylene coating. **European Journal of Orthodontics**, n. 32, p. 414–418, 2010.

DENES et al. 12-Crown-4–Ether and Tri(ethylene glycol) Dimethyl–Ether Plasma-Coated Stainless Steel Surfaces and Their Ability to Reduce Bacterial Biofilm Deposition. **Journal of Applied Polymer Science**, vol. 81, p. 3425–3438, 2001.

DERKS et al. Caries-inhibiting effect of preventive measures during orthodontic treatment with fixed appliances – a systematic review. **Caries Research**, n. 38, p. 413–420, 2004.

ELIADES, T. Orthodontic materials research and applications: Part 2. Current status and projected future developments in materials and biocompatibility. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 131, p. 253-262, 2007.

FLINT, S. H.; BROOKS, J. D.; BREMER, P. J. Properties of the stainless steel substrate, influencing the adhesion of thermo-resistant streptococci. **Journal of Food Engineering**, n. 43, p. 235-242, 2000.

FÖRCH et al. Recent and expected roles of plasma-polymerized films for biomedical applications. **Chemical Vapor Deposition**, n. 13, p. 280–294, 2007.

FOURNIER A.; PAYANT, L.; BOUCLIN, R. Adherence of Streptococcus mutans to orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 114, p. 414-417, 1998.

GARCEZ et al. Biofilm retention by 3 methods of ligation on orthodontic brackets: A microbiologic and optical coherence tomography analysis. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 140, p. e193–e198, 2011.

GARCÍA-GODOY, F.; HICKS, M. J. Maintaining the integrity of the enamel surface: The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. **Journal of the American Dental Association**, n. 139, p. 25S-34S, 2008.

GASTEL et al. Microbial Adhesion on Different Bracket Types in vitro. **Angle Orthodontist**, n. 79, p. 915–921, 2009.

GODYAK V. A.; PIEJAK R.B. Abnormally low electron energy and heating-mode transition in low-pressure argon rf discharge at 13,56 Mhz. **Physical Review Letters**. v. 65, n. 8, p. 996-999, 1990.

GRABER, T.; VANARSDALL, R. L. J. **Orthodontics current principles and techniques**. St. Louis: C. V. Mosby, 2000.

GRÖßNER-SCHREIBER, B., Plaque formation on surface modified dental implants. **Clinical Oral Implant Research**, n. 12, p. 543–551, 2001.

GUIMARÃES, A. C. M. **Estudo in vitro de braquetes ortodônticos : avaliação biomecânica e liberação de Ions**. 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia

Mecânica) - Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, 2008.

HARRADINE, N., The history and development of self-ligating brackets. **Seminars in Orthodontics**, v. 14, n. 1, p. 5-18, 2008.

HOSSAIN, M. M.; GAO, W. How is the surface treatments influence on the roughness of biocompatibility? **Trends in Biomaterials and Artificial Organs**, v. 22, n. 3, p. 144-157, 2008.

HUSER, M. C.; BAEHNI, P. C.; LANG, R. Effects of orthodontic bands on microbiologic and clinical parameters. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 97, p. 213-218, 1990.

JANSEN, B.; KOHNEN, W. Prevention of biofilm formation by polymer modification, **Journal of Industry Microbiology**, n. 15, p. 391-396, 1995.

KIM, Y. et al. Gradient polymer surfaces for biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, n. 33, p. 138-164, 2008.

KOK, Y. V et al. Comparing a quality of life measure and the Aesthetic Component of the Index of Orthodontic Treatment Need (IOTN) in assessing orthodontic treatment need and concern. **Journal of Orthodontics**, Bristol, v. 31, p. 312–318, 2004.

KRASTEVA et al., Initial biocompatibility of plasma polymerized hexamethyldisiloxane films with different wettability. **Journal of Physics**, n. 253, p 1-7, 2010.

LASSEN et al. Binding of salivary proteins and oral bacteria to hydrophobic and hydrophilic surfaces in vivo and in vitro. **Colloid & Polymer Science**, n. 272, p. 1143-1150, 1994.

LEE et al. A quantitative AFM analysis of nano-scale surface roughness in various orthodontic brackets. **Micron**, n. 41, p. 775–782. 2010.

LIU, X; LIN, J.; DING, P. Changes in the Surface Roughness and Friction Coefficient of Orthodontic Bracket Slots Before and After Treatment. **Scanning**, v. 35, p. 265–272, 2013.

LOESCHE, W. J. Role of streptococcus mutans in human dental decay. **Microbiological Reviews**, v.50, n. 4, p. 353-380, 1986.

LOMBARDO et al., The effect of temperature on the mechanical behavior of nickel-titanium orthodontic initial archwires. **Angle Orthodontist**, n. 83, p. 298–305, 2013.

MEDILANSKI et al. Influence of the surface topography of stainless steel on bacterial adhesion, **Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v. 18, n. 3, p. 193-203, 2002.

MEI, L. et al. Oral bacterial adhesion forces to biomaterial surfaces constituting the bracket-adhesive-enamel junction in orthodontic treatment. **European Journal of Oral Sciences**, n. 117, p. 419-426, 2009.

MONTEIRO et al., The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n. 34, p. 103–110, 2009.

Øgaard et al. Orthodontic appliances and enamel demineralization - Part 1. Lesion development. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 94, p. 68-73, 1988,

OLIVER, C. L.; DASKALOGIANNAKIS, J.; TOMPSON, B. D. Archwire depth is a significant parameter in the frictional resistance of active and interactive, but not passive, self-ligating brackets. **Angle Orthodontist**, n. 81, p. 1036–1044, 2011.

OLYMPIO, K. P. K. et al. Prevenção de cárie dentária e doença periodontal em Ortodontia: uma necessidade imprescindível. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, Maringá, v. 11, n. 2, p. 110-119, 2006.

PAPAIIOANNOU et al. Adhesion of Streptococcus mutans to Different Types of Brackets. **Angle Orthodontist**, v. 77, n. 6, p. 1090-1095, 2007.

PEREIRA, C. A. et al., Streptococcus mutans biofilm adhesion on composite resin surfaces after different finishing and polishing techniques. **Operative Dentistry**, v. 36, n. 3, p. 311-317, 2011.

PFEIFER, J. Hexamethyldisiloxane. In____. **Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis**. New York: L. Paquette, p. 234-247, 2004.

RETAMOSO et al., Cytotoxicity of esthetic, metallic, and nickel-free orthodontic brackets: Cellular behavior and viability. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 142, p. 70-74, 2012.

RINCHUSE, D. J.; MILES, P. G. Self-ligating brackets: Present and future. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 132, n. 2, p. 216-222, 2007.

ROSAN, B.; LAMONT, R. J. Dental plaque formation. **Microbes and Infection**, n. 2, p. 1599-1607, 2000.

SCHEUERMAN, T. R.; CAMPER, A. K.; HAMILTON, M. A. Effects of Substratum Topography on Bacterial Adhesion. **Journal of Colloid and Interface Science**, n. 208, p. 23–33, 1998.

SELWITZ, R. H.; ISMAIL, A. I.; PITTS, N. B. Dental caries. **Lancet**, n. 369, p. 51–59, 2007.

SFONDRINI et al., Nickel release from new conventional stainless steel, recycled, and nickel-free orthodontic brackets: An in vitro study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 137, p. 809-815, 2010.

SHIVAPUJA, P. K.; BERGER, J. A comparative study of conventional ligation and self-ligation bracket systems. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n.106, p. 472-480, 1994.

SIMOVIC, S; LOSIC, D; VASILEV, K. Controlled drug release from porous materials by plasma polymer deposition. **Chemestry Communication**. n. 46, p. 1317–1319, 2010.

SU, W. et al., Plasma pre-treatment and TiO₂ coating of PMMA for the improvement of antibacterial properties. **Surface & Coatings Technology**, n. 205, p. 465–469, 2010.

SUDJALIM et al., Prevention of demineralization around orthodontic brackets in vitro. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, n. 131, p. 705.e1-705.e9, 2007.

SUKONTAPATIPARK et al., Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. A scanning electron microscopy study. **European Journal of Orthodontics**, n. 23, p. 474-484. 2001.

TEUGHEL, W. et al., Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. **Clinical Oral Implant Research**, n. 17, p. 68–81, 2006.

TUFEKCI et al. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. **Angle Orthodontist**, . n. 8, p. 206–210, 2011.

VAN LOOSDRECHT, M. C. et al., Influence of interfaces on microbial activity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 54, n. 1, p. 75-87, 1990.

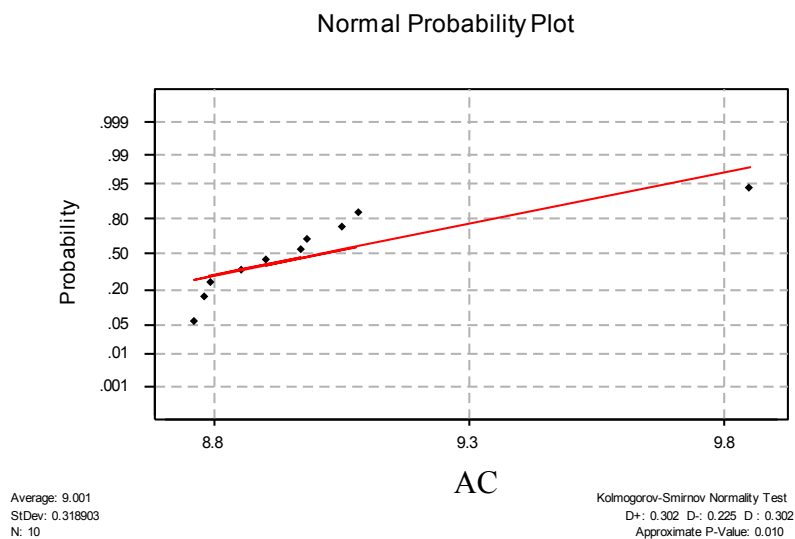
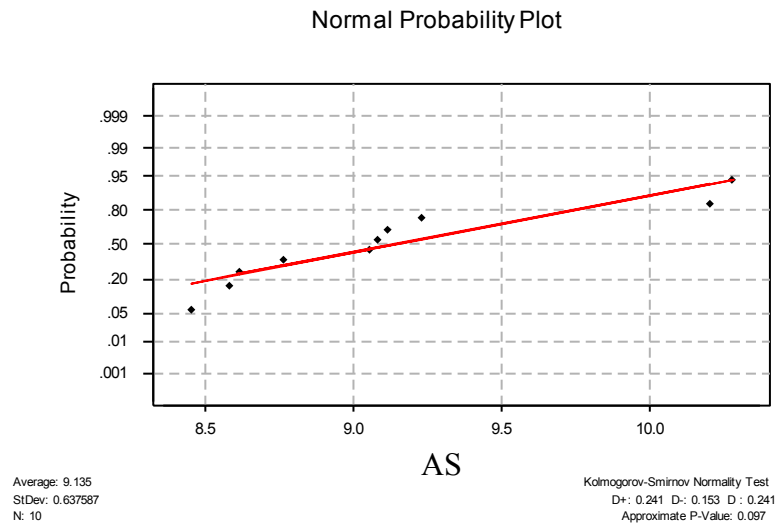
VAN WACHEM, P. B. et al., Interaction of cultured human endothelial cells with polymeric surfaces of different wettabilities. **Biomaterials**, n. 6, p. 403-408, 1985.

YOSHINARI et al., Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. **Biomaterials**, n. 22, p. 2043-2048, 2001.

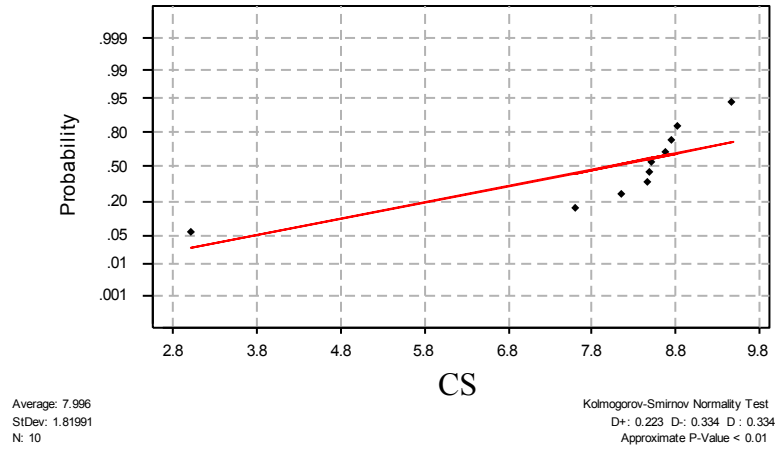
ZINELIS et al., Metallurgical characterization of orthodontic brackets produced by metal injection molding (mim). **Angle Orthodontist**, v. 75, n. 6, p. 1024-1031, 2005.

APÊNDICE A – VERIFICAÇÃO DA NORMALIDADE ENTRE OS GRUPOS ESTUDADOS

Resultado do teste de Kolmogorov Smirnov para verificação de normalidade de distribuição dos dados dos grupos.



Normal Probability Plot



Normal Probability Plot

