



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2018 014871 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 46068425000133

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Órgão Público

Endereço: Cidade Universitária Zeferino Vaz

Cidade: Campinas

Estado: SP

CEP: 13084-971

País: Brasil

Telefone:

Fax:

Email: patentes@inova.unicamp.br

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO - UNESP

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 48031918000124

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Órgão Público

Endereço: Rua Quirino de Andrade, 215, Centro

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 01049-010

País: BRASIL

Telefone: (11) 562 70570

Fax:

Email: renan.padron@unesp.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE TITÂNIO, IMPLANTES E COMPONENTES PROTÉTICOS MODIFICADOS E USO DOS MESMOS

Resumo: A presente invenção refere-se a um processo de modificação de superfície de titânio através da deposição de um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) por meio de plasma de descarga luminescente (PDI) com incorporação de clorexidina (CHX), assim como o uso do referido processo para ser aplicado em superfícies de implantes e componentes protéticos para prevenção de peri-implantite por colonização bacteriana sobre superfícies de implantes e componentes protéticos. Adicionalmente, refere-se aos implantes e componentes protéticos compreendendo um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) com clorexidina (CHX) incorporada depositado conforme definido pelo processo de modificação de superfície de titânio da presente invenção.

Figura a publicar: 8

Dados do Procurador

Procurador:

Nome ou Razão Social: Ciro de la Cerda

Numero OAB:

Numero API:

CPF/CNPJ: 04584518866

Endereço: Rua Roxo Moreira 1831, Caixa Postal 6131 - INOVA UNICAMP

Cidade: Campinas

Estado: SP

CEP: 13083-970

Telefone:

Fax:

Email: patentes@inova.unicamp.br

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 7

Nome: ADAIAS OLIVEIRA MATOS

CPF: 71729275249

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: Rua Barão de Piracicamirim, 341, Bairro São Dimas

Cidade: Piracicaba

Estado: SP

CEP: 13416-005

País: BRASIL

Telefone: (19) 984 333415

Fax:

Email: adaiasmatos@hotmail.com

Inventor 2 de 7

Nome: ELIDIANE CIPRIANO RANGEL

CPF: 13833857854

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Av. Três de Março, 511, Alto da Boa Vista

Cidade: Sorocaba

Estado: SP

CEP: 18087-180

País: BRASIL

Telefone: (15) 323 83455

Fax:

Email: elidiane@sorocaba.unesp.br

Inventor 3 de 7

Nome: FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JUNIOR

CPF: 13421318867

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Av. Limeira, 901, Bairro do Areião

Cidade: Piracicaba

Estado: SP

CEP: 13414-903

País: BRASIL

Telefone: (19) 210 65298

Fax:

Email: nociti@unicamp.br

Inventor 4 de 7

Nome: THAMARA BELINE

CPF: 41382146825

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: Rua Juquinha Fleury, 10, Distrito de Maristela

Cidade: Laranjal Paulista

Estado: SP

CEP: 18510-000

País: BRASIL

Telefone: (19) 998 744957

Fax:

Email: thamara.beline@gmail.com

Inventor 5 de 7

Nome: NILSON CRISTIANO DA CRUZ

CPF: 61938092953

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Três de Março, 511, Alto da Boa Vista

Cidade: Sorocaba

Estado: SP

CEP: 18087-180

País: BRASIL

Telefone: (15) 323 83406

Fax:

Email: nilson@sorocaba.unesp.br

Inventor 6 de 7

Nome: ANTÔNIO PEDRO RICOMINI FILHO

CPF: 32459312806

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Rua Campos Salles, 2070, Vila Independência

Cidade: Piracicaba

Estado: SP

CEP: 13418-310

País: BRASIL

Telefone: (19) 981 280207

Fax:

Email: pedroricomini@gmail.com

Inventor 7 de 7

Nome: VALENTIM ADELINO RICARDO BARÃO

CPF: 32219507807

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua do Rosário, 525/526, Centro

Cidade: Piracicaba

Estado: SP

CEP: 13400-180

País: BRASIL

Telefone: (19) 210 65719

Fax:

Email: vbarao@unicamp.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Relatório Descritivo	RELATORIO_DESCRITIVO_200718.pdf
Reivindicação	REIVINDICACOES_200718.pdf
Desenho	FIGURAS_200718.pdf
Resumo	RESUMO_200718.pdf
Comprovante de pagamento de GRU 200	GRU_200718.pdf
Procuração	PROCURACAO_UNESP_200718.pdf
Procuração	PROCURACAO_UNICAMP_200718.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- ☒ Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- ☒ Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

**PROCESSO DE MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE TITÂNIO,
IMPLANTES E COMPONENTES PROTÉTICOS MODIFICADOS E USO DOS
MESMOS**

Campo da invenção:

[001] A presente invenção se insere no campo de aplicação da odontologia, mais especificamente na área de implantes dentários, uma vez que se refere a um processo de modificação de superfície de titânio através da deposição de um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) por meio de plasma de descarga luminescente com incorporação de clorexidina (CHX) visando à prevenção de peri-implantite ocasionado por colonização bacteriana sobre superfícies de implantes e componentes protéticos.

Fundamentos da invenção:

[002] Atualmente, implantes dentários e componentes protéticos à base de titânio comercialmente puro (Ticp) têm sido fabricados. Esses implantes proporcionam boa biocompatibilidade, resistência à corrosão e resistência mecânica adequada. No entanto, as atenções têm aumentado a possíveis problemas que, por ventura, podem surgir após as instalações dos implantes na cavidade oral, suportado por uma relação de causa e efeito entre a colonização microbiana e patogênese das falhas dos implantes dentários.

[003] Nesse sentido, a cavidade oral por ser colonizada por diferentes espécies de micro-organismos e os materiais utilizados em reabilitação oral também estão passíveis de colonização microbiana. A inflamação do tecido peri-implantar é atualmente considerada um dos principais fatores que contribuem para a perda do implante, sendo presente em 17% dos implantes após 5 anos e 29% após 10 anos

de acompanhamento. A adesão inicial e a colonização microbiana sobre a superfície do implante e dos componentes protéticos são consideradas as responsáveis por desempenhar um papel-chave na patogênese de infecções relacionadas aos biomateriais. Isso se deve ao fato de que o acúmulo de biofilme microbiano na superfície implantar pode levar a reações inflamatórias no tecido ao redor do implante, algumas vezes responsáveis pela perda do mesmo. Assim, a adesão de microrganismos à superfície do biomaterial é um passo crucial para a patogênese da infecção.

[004] Componentes protéticos, como os *abutments* que fazem a conexão da prótese sobre os implantes osseointegrados, apresentam um papel importante na adesão microbiana, e as propriedades do material podem influenciar no aumento ou na redução da colonização bacteriana. A rugosidade, molhabilidade e energia de superfície são propriedades de superfícies que estão mais relacionadas à colonização bacteriana. Estas características físico-químicas têm sido estudadas com o intuito de alterar as superfícies dos implantes e de componentes protéticos objetivando a redução na aderência de micro-organismos patogênicos.

[005] Estas características também estão relacionadas à adesão dos tecidos moles (ex. tecido gengival) à superfície do material, sendo então um pré-requisito para o sucesso em longo prazo dos implantes dentários. Atualmente, o manejo mecânico para remover o biofilme na área peri-implantar se torna difícil devido às propriedades de superfície do implante e componentes protéticos, que modulam

a proliferação celular e fixação dos osteoblastos, as quais não devem ser alteradas.

[006] Nesse sentido, tem sido relatado na literatura modificações de superfície com propriedades de liberação controlada de drogas como a clorexidina (CHX), cloroxilenol, metronidazol e gentamicina, que possam afetar o crescimento bacteriano sem interferir na proliferação celular dos epitélios orais. Dentre as drogas relatadas, a CHX tem sido incorporada em superfícies de biomateriais com sílica através do método de impregnação incipiente, materiais de compósitos dentários em metacrilato pelo método de polimerização por espectros de infravermelho, e em titânio pelo método de impregnação incipiente seguido por evaporação do solvente, apresentando efetividade no controle do biofilme e na proliferação de células epiteliais orais.

[007] O artigo científico intitulado "*Plasma-assisted surface modification of organic biopolymers to prevent bacterial attachment*", publicado em 29/12/2010, mostra a modificação de superfícies assistidas por plasma para prevenção da proliferação bacteriana. Os tratamentos descritos neste artigo utilizam plasma apenas com argônio, nitrogênio ou fluorcarbono que quando usados separadamente não são viáveis para o uso em componentes protéticos para prevenir a peri-implantite, sendo necessário outro componente para promover um efeito conjunto de proliferação celular (fibroblastos) e efeito antibacteriano.

[008] O artigo científico intitulado "*Production of a biofunctional titanium surface using plasma electrolytic oxidation and glow-discharge plasma for biomedical applications*", publicado em 16/03/2016, refere-se à produção

de superfície de titânio biofuncional usando plasma de descarga luminescente e oxidação eletrolítica de plasma a fim de aumentar as propriedades de superfície e estabilidade eletroquímica do titânio. Porém, este artigo não utiliza clorexidina na superfície do implante e não visa à prevenção da infecção bacteriana.

[009] O artigo científico intitulado "*Interaction of chlorhexidine with smooth and rough types of titanium surfaces*", publicado em 01/07/2006, refere-se à interação da clorexidina com diferentes tipos de superfícies de titânio a fim de avaliar seu potencial antiplaca em ambientes peri-implantes. Porém esse documento não descreve um tratamento de superfície e sim uma adsorção com soluções comercializadas de digluconato de CHX na superfície. Esta adsorção torna este invento inviável para aplicações em implantes e componentes protéticos, pois a camada adsorvida pode se soltar da superfície com maior facilidade quando em meio aquoso.

[010] O artigo científico intitulado "*Multispecies biofilm onto plasma-treated titanium surface for dental applications*", publicado em 2016, trata da modificação de superfícies de titânio por plasma de descarga luminescente e oxidação de micro-arco para o desenvolvimento de biofilmes periodontopatogênicos sem a incorporação de clorexidina. Além disso, diferentemente da presente invenção, o foco deste artigo não é a prevenção da infecção bacteriana.

[011] O artigo científico intitulado "*Bacterial adhesion on conventional and self-ligating metallic brackets after surface treatment with plasma-polymerized hexamethyldisiloxane*", de agosto de 2017, mostra um estudo

comparativo da adesão bacteriana em bráquetes ortodônticos após tratamento da superfície com hexametildisiloxano (HMDSO) polimerizado por plasma, mostrando uma redução na aspereza e adesão bacteriana em um dos tipos analisados. O objetivo deste documento é a produção de uma superfície com características hidrofóbicas. Este tipo de característica evita a proliferação tanto microbiológica como celular tornando sua utilização inviável em implantes e componentes protéticos.

[012] O artigo científico intitulado "*Antibacterial coatings on titanium implants*", publicado em 27/07/2009, faz uma revisão das abordagens propostas para diminuir a incidência de infecção bacteriana nos implantes e ligas de titânio, mencionando, dentre outros, o uso da clorexidina (CHX) na superfície do material. No entanto, não há deposição de filme de hexametildisiloxano na superfície do plasma de descarga luminescente.

[013] O artigo científico intitulado "*Tratamento de superfície de Tícp por meio de oxidação por microarcs e plasma de descarga luminescente: caracterização e formação de biofilme multiespécies*" aborda o tratamento de superfícies de titânio por meio de oxidação por micro-arcs e plasma de descarga luminescente, aumentando as propriedades de superfície ao mesmo tempo em que controla a proliferação de biofilme.

[014] Desse modo, vantajosamente, a presente invenção propõe um tratamento de superfície por plasma de descarga luminescente com incorporação de CHX. O plasma de descarga luminescente é um método eficaz e econômico, uma vez que possui o atrativo de promover tratamento com

profundidade limitada a poucos nanômetros da superfície, devido à deposição de um filme sob a superfície. Dessa maneira consegue-se modificar a superfície e ao mesmo tempo manter as propriedades de massa e função do metal, sem alterar a rugosidade de superfície. A deposição do filme por monômeros de organosilicone como o hexametildisiloxano (HMDSO) é de interesse devido a sua alta taxa de deposição e a habilidade de controlar a estrutura e propriedade de filme formado na superfície pela variação das condições de deposição. Além de não provocar toxicidade, apresenta maior estabilidade ao longo do tempo quando comparado a outros filmes de organosilicone derivados de outros compostos. A ativação e a funcionalização da superfície de biomateriais é outra fonte promissora do tratamento de plasma de descarga luminescente, podendo ser inalcançável com os métodos convencionais à base de solventes químicos. Desse modo, a modificação da superfície com tratamento de PDI pode melhorar a biocompatibilidade e biofuncionalidade do material permitindo a introdução de diversos grupos funcionais sobre a superfície tratada, podendo produzir efeitos antibacterianos ou mesmo permitir a proliferação de células epiteliais, como os fibroblastos sobre a superfície do material.

[015] Neste sentido, a presente invenção tem habilidade de realizar tratamento com PDI associado ao HMDSO produzindo um filme de natureza orgânica, o que pode criar sítios de ligações químicas com a CHX. Assim, a droga ficaria mais tempo biodisponível, proporcionando um efeito antimicrobiano por um maior período de tempo o que seria extremamente vantajoso do ponto de vista clínico.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[016] A presente invenção refere-se a um processo de modificação de superfície de titânio através da deposição de um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) por meio de plasma de descarga luminescente com incorporação de clorexidina (CHX) visando à prevenção de peri-implantite ocasionado por colonização bacteriana sobre superfícies de implantes e componentes protéticos. Mais detalhadamente, o referido método compreende as etapas de: a) preparar os discos de titânio por método de metalografia; b) adicionar 0,8 gramas (+/- 0,2g) de pó de sal hidratado de diacetato de clorexidina (CHX) em um reator de câmara de aço inoxidável; c) posicionar as ligas de titânio comercialmente puro no mesmo reator; d) ligar o reator a um sistema que permita atingir a pressão de fundo de $1,0 \times 10^{-2}$ (+/- $0,2 \times 10^{-2}$) Torr; e) introduzir $2,55 \times 10^{-2}$ (+/- $0,2 \times 10^{-2}$) Torr de gás argônio e após a estabilização da pressão em $3,55 \times 10^{-2}$ (+/- $0,2 \times 10^{-2}$) Torr, introduzir $0,45 \times 10^{-2}$ (+/- $0,2 \times 10^{-2}$) Torr de gás hexametildissiloxano (HMDSO); f) Dessa forma, manter pressão de trabalho à $4,0 \times 10^{-2}$ (+/- $0,2 \times 10^{-2}$) Torr; g) desligar o medidor de pressão e aplicar rádio frequência (RF) de 13,56 MHz (150 W) durante 900 (+/- 20) segundos; h) desligar a válvula de HMDSO, e aguardar o tempo de 300 (+/- 20) segundos para tratamento da superfície do titânio; e i) desligar a RF e inserir ar no reator.

[017] Adicionalmente, a presente invenção refere-se a implantes e componentes protéticos compreendendo um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) com clorexidina (CHX) incorporada depositado conforme definido pelo processo de modificação de superfície de titânio aqui

descrito, assim como o uso do referido processo para ser aplicado em superfícies de implantes e componentes protéticos para prevenção de peri-implantite.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[018] A Figura 1 são imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), em que a coluna A refere-se ao grupo controle nos tamanhos x60, x300, e x2000, respectivamente; a coluna B refere-se ao grupo HMDSO nos tamanhos x60, x300, e x2000, respectivamente; e a coluna C refere-se ao grupo CHX nos tamanhos x60, x300, e x2000, respectivamente.

[019] A Figura 2 apresenta graficamente a espectroscopia de energia dispersiva dos discos Ticp em função das superfícies.

[020] A Figura 3 apresenta graficamente a média dos valores de rugosidade nas amostras de controle, com HMDSO e CHX.

[021] A Figura 4 apresenta graficamente o ângulo de contato e a energia livre de superfície para as amostras de controle, com HMDSO e CHX.

[022] A Figura 5 é uma imagem representativa da espessura dos filmes depositados.

[023] A Figura 6 apresenta graficamente a unidade formadora de colônias (log CFU/ mL) de *S. Sanguinis* para as superfícies estudadas, em que letras diferentes mostram diferença estatística entre os grupos para um mesmo período de análise ($p < .05$; teste Tukey HSD).

[024] A Figura 7 apresenta graficamente a viabilidade celular por ensaio de MTT, em que a proliferação de células M3T3-E1 ocorreu após 1, 3 e 6 dias em todos os

grupos estudados; * refere-se a diferença significativa em comparação com outros grupos ($P < 0,05$, teste Tukey HSD); e as letras diferentes indicam diferenças significativas entre os dias para um mesmo grupo experimental ($p < 0,05$, teste Tukey HSD).

[025] A Figura 8 são imagens de MEV para os dias 1, 2, 3 e 4 da cultura celular F3T3, em que a coluna A refere-se ao grupo controle; a coluna B refere-se ao grupo HMDSO; e a coluna C refere-se ao grupo CHX.

[026] A Figura 9 apresenta graficamente a espectroscopia de energia dispersiva dos discos Ticp em função das superfícies.

[027] A Figura 10 apresenta graficamente a unidade formadora de colônias ($\log$ CFU/ mL) de *S. Sanguinis* para as superfícies estudadas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[028] A presente invenção refere-se a um processo de modificação de superfície de titânio através da deposição de um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) por meio de plasma de descarga luminescente (PDI) com incorporação de clorexidina (CHX) visando à prevenção de peri-implantite ocasionado por colonização bacteriana sobre superfícies de implantes e componentes protéticos.

[029] Mais detalhadamente, o referido método compreende as etapas de:

- a) Preparar as ligas de titânio comercialmente puro por método de metalografia;
- b) Adicionar 0,78 a 0,82 g, preferencialmente 0,8g de pó de sal hidratado de diacetato de clorexidina (CHX) em um reator de câmara de aço inoxidável;

- c) Posicionar as ligas de titânio preparados no mesmo reator;
- d) Ligar o reator à um sistema que permita atingir a pressão de fundo de $1,0 \times 10^{-2}$ ($\pm 0,2 \times 10^{-2}$) Torr;
- e) Introduzir $2,55 \times 10^{-2}$ ($\pm 0,2 \times 10^{-2}$) Torr de gás argônio e após a estabilização da pressão introduzir $0,45 \times 10^{-2}$ ($\pm 0,2 \times 10^{-2}$) Torr de gás hexametildisiloxano (HMDSO);
- f) Manter pressão de fundo à $1,0 \times 10^{-2}$ ($\pm 0,2 \times 10^{-2}$) Torr e pressão de trabalho à $4,0 \times 10^{-2}$ ($\pm 0,2 \times 10^{-2}$) Torr;
- g) Desligar o medidor de pressão e aplicar rádio frequência (RF) de 13,56 MHz (150 W) durante tempo de 900 (± 20) segundos;
- h) Desligar a válvula de HMDSO, e aguardar 300 (± 20) segundos para tratamento da superfície do titânio; e
- i) Desligar a RF e inserir ao no reator.

[030] Na etapa "a" as referidas ligas de titânio são preferencialmente titânio comercialmente puro (Ticp) selecionadas do grupo que varia de grau 1 a 4 definidos pela ASTM (*American Society for Testing and Materials*), preferencialmente grau 2. Além de ligas de Titânio (Ti-Al-V - grau 5) e outras ligas de titânio como Ti-15Zr (comercialmente disponível), uma vez que o filme é criado no Ticp grau 2, este terá o mesmo tipo de interação com os outros substratos. Ainda, estas ligas podem ser em qualquer formato, inclusive em formato de implantes. Aqui foram utilizados em formato plano (por exemplo, em formato de discos, por ser mais viável para os testes realizados até o presente momento).

[031] A saber, as referidas ligas Ticp apresentam composição química (em % peso) de 99,7 Ti; 0,16 O₂; 0,004 N₂; 0,006 C; 0,0019 H₂ e 0,12 Fe caracterizando o Ti grau 2.

[032] Ainda na etapa "a" os Ticp são preparados por método de metalografia, preferencialmente, por meio de lixas sequenciais selecionadas do grupo que consiste em #320, #400, #600, #800, respectivamente, até a rugosidade de superfície apresentar 0,18 a 0,22 µm, preferencialmente 0,20 µm, em que posteriormente são limpos em lavadora ultrassônica com uma solução aquosa de álcool que varia de 60% a 80% selecionados do grupo que consistem em propanol, etílico, isopropílico, preferencialmente propanol a 70% por um período de tempo que varia de 9 a 11 minutos, preferencialmente 10 minutos, e finalmente secos por meio de jatos de ar quente a temperatura que varia de 245 a 255 °C, preferencialmente 250 °C.

[033] A seguir, na etapa "b", o referido reator é aberto e introduz-se 0,78 a 0,82 g de pó de sal hidratado de diacetato de clorexidina, preferencialmente 0,8g no interior do mesmo, em que o pó de CHX é espalhado no eletrodo inferior do sistema, local onde também é aplicado o sinal elétrico (RF) para excitação do plasma.

[034] O referido reator de aço, opcionalmente pode ser substituído por qualquer outro reator de plasma de baixa pressão contendo eletrodos paralelamente dispostos um ao outro no interior do reator e conectados a uma fonte de sinal elétrico (13,56 MHz) de 150 W de potência. Neste, o eletrodo inferior será usado para acomodar o composto CHX e para aplicação do sinal elétrico de excitação do plasma. Já o eletrodo superior é utilizado para afixação das amostras a

serem tratadas (Ticp) para promover a deposição de filme mediante bombardeamento com íons positivos do plasma.

[035] Por conseguinte, na etapa "c", as ligas de titânio preparadas, preferencialmente os discos de Ticp, são posicionadas (fixadas) no eletrodo superior do sistema por meio de fixação adequada, tal como por fita adesiva, cola adequada, entre outros. Por ser o local onde as amostras são afixadas para realização dos tratamentos, este eletrodo também é chamado de porta-amostras.

[036] O reator é fechado, e em seguida, na etapa "d", um sistema que permita atingir a pressão de fundo de $9,8 \times 10^{-3}$ a $1,2 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $1,00 \times 10^{-2}$ Torr na concretização da presente invenção, sem, no entanto, restringir a esta modalidade de construção, o sistema que permite atingir a pressão de fundo é uma bomba de vácuo conectada ao reator que é ligada a fim de atingir pressão de fundo de $9,8 \times 10^{-3}$ a $1,2 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $1,00 \times 10^{-2}$ (pressão do reator é medida utilizando um medidor de pressão em Torr). Após atingir a pressão de fundo, na etapa "e" inicia-se a introdução dos gases pelo Argônio até a pressão se estabilizar, por conseguinte o HMDSO.

[037] Para tal, introduz-se de $0,43 \times 10^{-2}$ a $0,47 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $0,45 \times 10^{-2}$ de uma atmosfera de hexametildisiloxano e $2,53 \times 10^{-2}$ a $2,57 \times 10^{-2}$ de argônio, preferencialmente $2,55 \times 10^{-2}$ Torr.

[038] Assim, na etapa "f", a pressão de fundo é mantida em $1,2 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $1,00 \times 10^{-2}$ Torr, em que a pressão de argônio varia de $2,53 \times 10^{-2}$ a $2,57 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente a $2,55 \times 10^{-2}$ Torr e de HMDSO varia de $0,43 \times 10^{-2}$ a $0,47 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente a

$0,45 \times 10^{-2}$ Torr. Dessa forma, a pressão de trabalho é mantida em $3,8 \times 10^{-2}$ a $4,2 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $4,0 \times 10^{-2}$ Torr.

[039] Para iniciar a deposição do filme em atmosfera de HMDSO, pó de CHX e argônio, o referido medidor de pressão é desligado na etapa "g" e são posicionados um ou mais cabos de fio terra para ligar o equipamento de rádio frequência. Desse modo, é aplicada uma radiofrequência (RF) de 13,56 MHz (150 W) durante 880 a 920 segundos, preferencialmente 900 segundos para titular a liga de titânio.

[040] Por fim, após o final da deposição, na etapa "h", a válvula de alimentação do HMDSO é desligada, e assim é realizado o tratamento da superfície do titânio por um período de 280 a 320 segundos, preferencialmente 300 segundos.

[041] Por fim, na etapa "i", a RF é desligado e inserido ar no reator.

[042] Portanto, o presente processo permite modificar a superfície de titânio pela deposição de um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) por meio de plasma de descarga luminescente (PDI) com incorporação de clorexidina (CHX) visando, preferencialmente, à prevenção de peri-implantite ocasionado por colonização bacteriana sobre superfícies de implantes e componentes protéticos.

[043] Desse modo, adicionalmente, a presente invenção refere-se a implantes e componentes protéticos compreendendo um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) com clorexidina (CHX) incorporada depositado conforme definido pelo processo de modificação de superfície de titânio aqui descrito, assim como o uso do referido

processo para ser aplicado em superfícies de implantes e componentes protéticos para prevenção de peri-implantite.

[044] Para avaliar o potencial do processo de modificação de superfície de titânio da presente invenção, a seguir são apresentados os resultados dos testes realizados.

Testes Realizados:

[045] Para realização dos testes foi utilizado três discos de titânio puro (Ticp) nas dimensões de 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura e composição química do Ticp (em % em peso) de 99,7 de Ti; 0,16 de O₂; 0,004 de N₂; 0,006 de C; 0,0019 de H₂ e 0,12 de Fe caracterizando o Ti grau 2, conforme descritas a seguir:

- i) Disco de Ticp com superfície usinada (Controle);
- ii) Disco de Ticp tratado com filme de HDMSO;
- iii) Disco de Ticp tratado com filme de HDMSO + incorporação de sal hidratado de diacetato de clorexidina (CHX).

- Preparação dos discos:

[046] Todos os discos foram polidos e limpos pelos métodos padronizados de metalografia utilizando lixas sequenciais (#320, #400, #600, #800). A rugosidade da superfície foi determinada a fim de proporcionar uma padronização no acabamento dos discos de Ticp. Os discos foram limpos em cuba ultrassônica com água deionizada e propanol a 70% durante 10 minutos e finalmente secos por meio de jatos de ar quente a 250°C.

- i) Superfície usinada (Controle)*

[047] A superfície usinada dos discos de Ticp (controle) foi obtida por meio de polimento mecânico como previamente descrito acima.

[048] Para modificação de superfície por meio de plasma de descarga luminescente (PDI), os discos de titânio foram lavados em banhos ultrassônicos de água destilada e detergente por 15 minutos, posteriormente, lavados com acetona por 15 minutos e, em seguida, secos a ar. O tratamento com PDI foi realizado no interior de uma câmara de aço inoxidável com um reator sob medida.

ii) Deposição de filme a partir de HMDSO:

[049] Para deposição de filme a partir de HMDSO, os discos foram posicionados no eletrodo superior. A deposição foi realizada durante 900 segundos em uma atmosfera de hexametildisiloxano (HMDSO) e argônio, sendo aplicado sinal de radiofrequência (RF) de 13,56 MHz (150 W) para excitar o plasma. A pressão de fundo foi mantida a $1,00 \times 10^{-2}$ Torr, a de argônio a $2,55 \times 10^{-2}$ Torr e a de HMDSO a $0,45 \times 10^{-2}$ Torr. Dessa forma, a pressão de trabalho foi mantida em $4,0 \times 10^{-2}$ Torr. Pulsos de tensão negativa foram aplicados nas amostras sobre o suporte com intuito de acelerar os íons e provocar sua implantação (bombardeio iônico) na superfície e subsuperfície dos discos de Ticp, criando assim os filmes sobre a amostra.

iii) Deposição de filme a partir de HMDSO incorporado com CHX (presente invenção):

[050] Para deposição de filme a partir de HMDSO incorporado com CHX, o reator de aço foi aberto e 0,8 g de pó de sal hidratado de diacetato de clorexidina (sigma aldrich) (previamente pesado) foi introduzido no interior do

mesmo reator. O reator é composto por uma câmara de aço inoxidável, sendo o pó de CHX espalhado no eletrodo inferior e por conseguinte as amostras de discos de Ticp foram posicionadas no eletrodo superior utilizando fita adesiva dupla face. Depois disso, o reator foi fechado e a bomba de vácuo foi ligada em seguida até que a pressão de fundo atingisse o valor de $1,00 \times 10^{-2}$ Torr. Após atingir a pressão de fundo, iniciou-se a introdução dos gases pelo Argônio até a pressão se estabilizar, por conseguinte o HMDSO. Dessa forma, a deposição do filme foi realizada durante 900 segundos em uma atmosfera de HMDSO, pó de CHX e argônio. A pressão de fundo foi mantida a $1,00 \times 10^{-2}$ Torr, a de argônio a $2,55 \times 10^{-2}$ Torr e a de HMDSO a $0,45 \times 10^{-2}$ Torr. Dessa forma, a pressão de trabalho foi mantida em $4,0 \times 10^{-2}$ Torr. Para iniciar a deposição do filme, o medidor de pressão foi desligado e em seguida foram posicionados os cabos de fio terra, para que o equipamento de radiofrequência pudesse ser ligado, sendo aplicado uma RF de 13,56 MHz (150 W) durante 900 segundos para excitar o plasma. Após o período de 900 segundos, desligou-se a válvula de alimentação do HMDSO, e realizou-se o tratamento da superfície com argônio e pó de CHX por um período de 300 segundos. Por fim, o equipamento de RF foi desligado e inserido ar no reator e as amostras foram acondicionadas em embalagens estéreis para futura esterilização por radiação gama.

[051] Desse modo, nos resultados parciais, serão apresentados dados de três superfícies: usinada (controle); com filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO); e com filme a partir de HMDSO incorporado com pó de clorexidina (CHX).

- Caracterização das superfícies:

- Microscopia eletrônica de varredura (MEV):

[052] A proliferação e morfologia celular foram verificadas por MEV (em 1, 2, 3 e 4 dias). Linhagem de células de fibroblastos (F3T3) foi incubada em DMEM (*Dulbeco's Eagle Medium - Hyclone, GE Healthcare Life Sciences*) suplementado com 10% de soro fetal bovino (*Gibco, Life Technologies*), 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina) (*Gibco, Life Technologies*) a 37°C em atmosfera umidificada de 5% de CO₂/ar. O meio de cultura foi substituído a cada 3 dias. Após atingir a confluência (70-80%), as células foram destacadas utilizando tripsina-EDTA (*Gibco, Life Technologies*), centrifugadas e ressuspensas em meio de cultura para proliferação com densidade de $1,3 \times 10^5$ cels/mL, sendo utilizadas para o experimento. As amostras foram lavadas com PBS, fixadas com glutaraldeído 2% em tampão cacodilato de sódio (pH 7,4) e desidratadas com solução de etanol, em seguida foram avaliadas por MEV.

[053] A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para caracterizar possíveis irregularidades presentes nos discos de Ticp tanto usinado, quanto para as superfícies tratadas. Foram selecionadas imagens com aumento de 60, 300 e 2.000 vezes. As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram que as amostras não apresentavam rachaduras, exibiam uma boa aderência ao substrato, nenhuma descontinuidade no filme foi observada e a morfologia da superfície estava homogênea. Observa-se que as microscopias dos grupos controle e HMDSO não alteram a morfologia da superfície, enquanto do grupo CHX, nota-se a presença de nano partículas do pó de CHX, promovendo

alteração na morfologia da superfície o que pode ser observado nos diferentes aumentos da Figura 1.

- Espectroscopia de energia dispersiva (EDS):

[054] A espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foi empregada para avaliar a composição química das superfícies tratadas.

[055] A análise dos elementos químicos foi realizada em pequenos volumes, na ordem de $1\mu\text{m}^3$, pela técnica da espectroscopia de energia dispersiva com um espectrômetro. Os dados obtidos por EDS mostram os elementos químicos proporcionais a cada superfície (Figura 2). O grupo controle apresenta picos de Ti e O, o grupo HMDSO picos de Si e O e o Grupo CHX apresentou picos de Si, O, N e Cl, sendo o N e o Cl os elementos químicos presentes no sal hidratado de diacetato de clorexidina, e o Si elemento químico encontrado no hexametildisiloxano.

- Perfilometria (rugosidade de superfície):

[056] A rugosidade de superfície (R_a - média aritmética da rugosidade de superfície; R_t - distância vertical entre o pico mais alto e o vale mais profundo; R_z - altura entre os pontos máximo e mínimo do perfil, no comprimento de amostragem; R_q - rugosidade quadrática média) do Ticp foi avaliada utilizando um perfilômetro (*Dektak 150-d; Veeco*). Os valores de R_a , R_t , R_z e R_q foram obtidos utilizando o cut-off de 0,25 mm a uma velocidade de 0,05 mm/s durante 12 segundos. Três mensurações foram realizadas, uma no centro do espécime, outra na direita e esquerda ao centro, respectivamente.

[057] Os valores de R_a , R_q , R_z e R_t para as diferentes superfícies do Ticp são apresentados na Figura 3.

As superfícies do grupo controle e CHX apresentam picos de rugosidade ligeiramente maiores que o grupo HMDSO, evidenciando um aumento da rugosidade dessas superfícies.

- Molhabilidade e energia livre de superfície:

[058] A molhabilidade e a energia livre de superfície foram determinadas a partir de dados obtidos em um goniômetro (*Ramé-Hart 100-00; Ramé-Hart Instrument Co*) utilizando o método da gota sêssil. Doze leituras foram realizadas para cada espécime a fim de mensurar o ângulo de contato da água (componente polar), e outras dez mensurações foram realizadas a fim de determinar o ângulo de contato do diiodometano (componente apolar). O ângulo de contato foi calculado através da equação de Young (1):

$$Y_{sv} = Y_{sl} + Y_{lv} \cos \theta_c \quad (1)$$

Onde, θ_c é o ângulo de contato e Y a energia de superfície do sólido em equilíbrio com o vapor (sv), sólido em equilíbrio com o líquido (sl) e o líquido em equilíbrio com o vapor (lv).

[059] A relação entre o ângulo de contato e a energia livre de superfície foi avaliada através do método de *Owens-Wendt*, baseado no ângulo de contato formado pelos dois líquidos com diferentes polaridades.

[060] Os ângulos de contato para água e energia livre de superfície são apresentados na Figura 4. Um ângulo de contato menor que 90° caracteriza uma superfície hidrofílica. Na Figura 4, todas as superfícies foram consideradas hidrofílicas, tendo o grupo HMDSO uma maior hidrofilicidade. Como consequência, o grupo HMDSO apresentou a maior energia livre de superfície seguido pelo grupo CHX.

- Espessura do filme:

[061] Um perfilometro de contato (*Dektak 150-d*; Veeco) foi utilizado para avaliar a espessura do filme formado sobre o disco de Ticp. Para tal, metade de uma lâmina de vidro foi coberta por um adesivo (*Kapton, 3M*), após isso o plasma foi depositado em toda superfície da lâmina de vidro (parte coberta e descoberta). Posteriormente, o adesivo foi removido e o degrau entre a área tratada e não tratada foi medido pelo perfilômetro (*cut-off* de 650 µm em tempo constante de 13 segundos).

[062] Como resultado, a superfície com o filme de CHX apresentou-se ligeiramente mais espesso que a superfície do filme depositado somente com o HMDSO (Figura 5).

- Ensaio Microbiológico:

[063] Todos os espécimes foram envelopados e esterilizados por radiação gama (0,87 +/- 0,05 kGy) por empresa especializada.

- Obtenção da saliva e preparo do inóculo:

a) Coleta de saliva:

[064] A saliva total não estimulada foi coletada de 3 voluntários saudáveis, no período da manhã. Após alimentação e escovação dos dentes, esperou-se um tempo de 2 horas para iniciar a coleta da saliva. A produção de saliva não foi estimulada e a coleta foi realizada por um período de 30 a 45 minutos em três dias distintos.

[065] A saliva foi coletada em tubos de polipropileno de 50 mL que foram mantidos em um recipiente com gelo até a finalização da coleta. Ao final da coleta, os tubos contendo saliva foram congelados a -20°C. Após 3 dias de coleta, todos os volumes de saliva foram misturados e centrifugados a 10.000 g, por 10 min a 4°C. O pellet foi

descartado e o sobrenadante foi filtrado por membrana de 0,22 µm. O concentrado de saliva filtrada foi armazenado em tubos de polipropileno e mantido a -20°C. A esterilidade foi avaliada semeando alíquotas do concentrado de saliva em meio Columbia Blood ágar (CBA) acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado em condições de crescimento de aerobiose, microaerofilia e anaerobiose a 37°C durante 72 horas.

b) Espécie de micro-organismo e preparo do inóculo:

[066] Foi utilizada uma espécie de micro-organismo para formação de biofilme: *Streptococcus sanguinis* IAL 1832. Um total de 100 µL de inóculo foi acrescentado em 5 mL em caldo de *brain heart infusion* (BHI) (Difco Laboratories) suplementado com 1% de glicose. O micro-organismo foi crescido "overnight" em estufa de 10% de CO₂ a 37°C sem agitação.

[067] Um total de 1 mL do meio crescido foi coletado e transferido para 9 mL de um novo caldo de BHI suplementado com 1% de glicose e armazenado por um período de 6 horas (fase de crescimento exponencial) em estufa de 10% de CO₂ a 37° C sem agitação. Após crescimento do *S. sanguinis* até final da fase log, cada tubo contendo o micro-organismo foi centrifugado a 6000 g, por 5 min a 4° C, e as células foram lavadas 2 vezes em solução tampão fosfato (PBS) e centrifugadas pelo mesmo tempo e rotação. O concentrado de células em cada tubo foi diluído em novo caldo BHI e o inóculo foi ajustado por turbidimetria a uma densidade óptica de 1,0 (550 nm), o que equivale a uma concentração de 10⁷ células/mL.

[068] Portanto, a formação de biofilme em unidades formadoras de colônias de *S. Sanguinis* em 2h e 24h pode ser observada na Figura 6. O tipo de superfície influenciou na formação do biofilme ($p < 0.05$, ANOVA). As letras diferentes (a, b) mostram diferença estatística entre os grupos para um mesmo período de análise. A superfície com CHX exibiu as menores contagens deste micro-organismo em 2h (fase de adesão) e 24h (fase inicial do biofilme), se diferenciando dos grupos controle e HMDSO, destacando o potencial antibacteriano do grupo CHX ($p < 0.05$, Tukey HSD). É importante destacar, que o efeito antimicrobiano da superfície contendo CHX foi maior após 24 horas de formação do biofilme. Isso pode ser explicado pela liberação continuada da CHX no meio de cultura.

- Formação de película e biofilme:

[069] O biofilme foi formado sobre os discos de Ticp. Os discos foram inseridos em placa de cultura de poliestireno de 24 poços e cobertos com 1 mL de saliva. As placas foram incubadas sob agitação a 37°C por 2 horas para ocorrer a formação de película adquirida sobre os discos. O concentrado de saliva foi aspirado e os discos foram cobertos com 100 µL de suspensão de células de *S. sanguinis* e 900 µL de caldo BHI suplementado com 1% de glicose, totalizando 1 mL. Os discos foram incubados em estufa de CO₂ a 37° C, por 2 horas (fase de adesão) e 24 horas (fase biofilme inicial).

- Número de células viáveis do biofilme:

[070] Para este estudo, as análises foram realizadas após os períodos de 2 horas (fase de adesão) e 24 horas (fase de biofilme inicial) de desenvolvimento do biofilme. Após o período de formação do biofilme, os discos

foram lavados com solução tampão fosfato (PBS) para remoção de células não aderidas ao biofilme. Após a lavagem, os discos foram inseridos em um tubo criogênico contendo 3,0 mL de PBS e sonicados a uma potência de 7 W por 30 segundos, com a finalidade de remover o biofilme da superfície dos discos e também, desagregar as células unidas entre si possibilitando contagem mais fidedigna das células viáveis do biofilme. Essa suspensão de células foi serialmente diluída e 20 µL de cada diluição foram semeados em triplicata em Trypticase Soy Broth ágar (TSB) (Difco Laboratories), o qual foi utilizado para contagem das células viáveis. As placas de TSB foram incubadas em estufa contendo atmosfera de 10% CO₂ por 3 dias a 37°C. As contagens de unidades formadoras de colônia (UFC) foram realizadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Após a obtenção das contagens, os dados foram expressos em unidades formadoras de colônia (UFC), conforme apresentado na Figura 6.

- Cultura de células - Ensaio de citotoxicidade:

[071] A viabilidade celular foi avaliada por ensaio de MTT ((3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina)). O ensaio de MTT é utilizado como técnica padrão para avaliar a citotoxicidade de novos biomateriais. Esta técnica avalia a citotoxicidade dos materiais com base nas mudanças no número de células viáveis e metabolismo celular.

[072] Para este estudo, foram utilizadas células M3CT3-E1. As células foram cultivadas nas superfícies em placas de 24 poços por 1, 3 e 6 dias e o *CellTiter 96® Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Kit* (Promega, Promega Corporation) foi utilizado para análises. 150 µL da solução

corante foram inseridos em cada poço e incubados a 37°C por 4 horas e após a incubação, 1000 µL da solução solubilizante foram adicionadas a cada poço para dissolver os cristais de formazan. Após uma hora, a absorbância da solução foi medida com um comprimento de onda de 570 nm (comprimento de fundo de 690 nm) com um leitor espectrofotométrico de microplacas. O valor médio foi utilizado nos resultados.

[073] A Figura 7 mostra que o grupo CHX apresentou uma curva ascendente de viabilidade celular para os dias 1, 3 e 6. No dia 1 e 3 a viabilidade celular do grupo CHX foi menor que os outros grupos ($p < 0.05$). No entanto, no dia 6 a viabilidade celular do grupo CHX aumentou e equiparou-se aos demais grupos ($p = 0,319$, ANOVA). Quando esses dados são relacionados aos resultados microbiológicos, observa-se que a superfície possui ação antimicrobiana, pois reduziu o CFU se diferenciando dos grupos controles, e no ensaio de MTT o grupo CHX não reduziu a viabilidade celular e permaneceu como o controle maquinado. Esses fatos indicam que o filme de hexametildisiloxano com incorporação de clorexidina é um tratamento promissor que pode ser utilizado no desenvolvimento de superfícies de componentes protéticos e implantes dentários onde se deseja um efeito antimicrobiano sem efeito citotóxico.

[074] Adicionalmente, a Figura 8 são imagens de MEV de cultura celular sobre as superfícies estudadas, em que é mostrado que as células aderiram em todas as superfícies sendo que as superfícies com CHX exibiram um potencial de proliferação celular semelhante aos grupos controles por apresentar baixa citotoxicidade.

- Tempo de liberação da clorexidina (CHX):

[075] O teste de HPLC foi empregado por um período de 20 dias com o objetivo de determinar o tempo de liberação da clorexidina. No entanto, através deste teste, não foi possível detectar nenhuma quantidade de clorexidina liberada para o meio. Desse modo, conclui-se que a incorporação de clorexidina em filmes a partir de HMDSO apresenta maior durabilidade (manutenção na superfície com baixa liberação ou sem liberação).

[076] Estes resultados corroboram com os testes celulares apresentados anteriormente (Figura 8). Apesar da superfície controle (apenas titânio) apresentar uma maior proliferação celular quando comparada à superfície com clorexidina, esta exibiu comportamento constante o que se diz respeito à adesão celular pelos dias realizados. Assim, estima-se que a clorexidina não é liberada da superfície.

Exemplos da invenção:

[077] Inicialmente 1g de CHX foi dissolvida em 15 mL de HMDSO, porém a solução não solubilizou por completo. O passo seguinte foi dissolver a CHX em álcool, sendo 1 parte da CHX em 15 partes de álcool, conforme a instrução do fabricante. Dessa forma, 1g de CHX foi dissolvida em 15 mL de álcool, sendo esta solução utilizada para a deposição do filme de hexametildisiloxano.

[078] Adicionalmente, os discos foram limpos por pulverização durante 600 segundos em atmosfera estabelecida a 50% de argônio e 50% de H_2 a uma pressão total de 1×10^{-2} torr. A pulverização do plasma foi produzida pela aplicação de energia de radiofrequência (RF) a 13,56 MHz (150 W). A deposição foi realizada durante 1800 segundos em uma atmosfera de hexametildisiloxano (HMDSO), sal hidratado de

diacetato de clorexidina (Sigma Aldrich) diluído em álcool (1 g de CHX dissolvido em 15 mL de álcool), oxigênio e argônio, sendo aplicado a uma RF de 13,56 MHz (150 W) para titular o substrato. A pressão de fundo e de trabalho foi mantida a 2×10^{-2} e $1,8 \times 10^{-1}$ Torr, respectivamente. Pulsos de tensão negativa foram aplicados nas amostras sobre o suporte com intuito de acelerar os íons e provocar sua implantação (bombardeio iônico) na superfície e subsuperfície dos discos de Ticp, criando os filmes sobre a amostra.

[079] Para este parâmetro de deposição, não foi encontrada a incorporação dos componentes químicos da clorexidina junto ao filme a partir de HMDSO depositado. Dessa forma, foram realizados diferentes protocolos de deposição do filme utilizando a CHX diluída em álcool, variando parâmetros como pressão total de trabalho, aumentando ou reduzindo a potência e tempo de deposição, porém não foram encontrados resultados satisfatórios nos testes de caracterização, nem para o teste microbiológico.

[080] A Figura 9 representa a composição dos elementos químicos das superfícies testes que não resultaram no efeito esperado. A análise elementar foi realizada em pequenos volumes, na ordem de $1\mu\text{m}^3$, através da técnica da espectrometria de energia dispersiva (EDS) com um espectrômetro. Os dados obtidos por EDS mostram os elementos químicos proporcionais a cada superfície. Os grupos deveriam apresentar como elementos químicos C, Si, O, N e Cl, sendo o N e o Cl os elementos químicos presentes no sal hidratado de diacetato de clorexidina. No entanto, a figura exhibe os cinco diferentes parâmetros de deposição que tiveram CHX em

sua composição de deposição, no entanto, não foram encontrados picos dos elementos químicos N e Cl. Os grupos exibem apenas os picos C, O e o pico de Si que é o elemento químico encontrado no hexametildisiloxano (utilizado para a produção dos filmes). Por conseguinte, estes grupos não tiveram sucesso no teste de formação de biofilme como é mostrado na Figura 10.

[081] Na Figura 10, pode ser observada a formação de biofilme em unidades formadoras de colônias de *S. Sanguinis* em 2h. O tipo de superfície não influenciou na formação do biofilme, onde a superfície com deposição de CHX (mas não encontrado os picos de N e Cl na análise de EDS) exibiu as mesmas contagens deste microrganismo em 2h (fase de adesão), dessa forma, não se diferenciando dos grupos controle e HMDSO. Esta figura exibe os resultados dos diferentes parâmetros de deposição que não resultaram no efeito esperado. Para esta imagem são exibidos cinco parâmetros de deposição, não se compara um parâmetro de deposição com o outro e sim grupos diferentes no mesmo parâmetro de deposição.

[082] Portanto, a partir do exemplo apresentado, conclui-se que a presente invenção é nova e inventiva, uma vez que o processo de modificação de superfície aqui descrito apresenta definições de parâmetros essenciais que resultam nas características diferenciadas (efeito antimicrobiano sem efeito citotóxico) apresentadas nas superfícies tratadas pelo referido processo de componentes protéticos e implantes dentários.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de modificação de superfície de titânio **caracterizado** pelo fato de compreender as etapas de:

- a) Preparar ligas de titânio por método de metalografia;
- b) Adicionar pó de sal hidratado de diacetato de clorexidina (CHX) em um reator de câmara de aço inoxidável;
- c) Posicionar as ligas de titânio preparadas no mesmo reator;
- d) Ligar o reator a um sistema que permita atingir a pressão de fundo de $9,8 \times 10^{-3}$ a $1,2 \times 10^{-2}$ Torr;
- e) Introduzir $2,55 \times 10^{-2}$ Torr de gás argônio e após a estabilização da pressão introduzir $0,45 \times 10^{-2}$ Torr de gás hexametildisiloxano (HMDSO);
- f) Manter pressão de fundo de $9,8 \times 10^{-3}$ a $1,2 \times 10^{-2}$ Torr e pressão de trabalho de $3,8 \times 10^{-2}$ a $4,2 \times 10^{-2}$ Torr;
- g) Desligar o medidor de pressão e aplicar rádio frequência (RF) de 13,56 MHz (150 W) ao eletrodo inferior durante 880 a 920 segundos;
- h) Desligar a válvula de HMDSO, e aguardar de 280 a 320 segundos para tratamento da superfície do titânio; e
- i) Desligar a RF.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "a" as referidas ligas de titânio serem preferencialmente titânio comercialmente puro (Ticp) selecionadas do grupo que varia de grau 1 a 4, preferencialmente grau 2, em que as referidas ligas são de formatos variados, tais como em formato de implante ou em formato plano.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de, ainda na etapa "a", os Ticp serem

preparados por método de metalografia, preferencialmente, por meio de lixas sequenciais selecionadas do grupo que consiste em #320, #400, #600, #800, respectivamente, até a rugosidade de superfície apresentar 0,18 a 0,22 μm , preferencialmente 0,20 μm , em que posteriormente são limpos em lavadora ultrassônica com uma solução aquosa de álcool que varia de 60% a 80% selecionados do grupo que consistem em propanol, etílico, isopropílico, preferencialmente propanol a 70% por um período de tempo que varia de 9 a 11 minutos, preferencialmente 10 minutos, e finalmente secos por meio de jatos de ar quente a temperatura que varia de 245 a 255 °C, preferencialmente 250 °C.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "b", o referido reator ser aberto e introduzir de 0,78 a 0,82 g de pó de sal hidratado de diacetato de clorexidina, preferencialmente 0,8 g no interior do mesmo, em que o pó de CHX é espalhado no eletrodo inferior do sistema, onde o sinal elétrico de excitação do plasma (13,56 MHz, 150 W) também é aplicado no porta amostras inferior.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de, alternativamente, o referido reator de aço, opcionalmente ser substituído por qualquer reator de plasma de baixa pressão constituído por eletrodos internos paralelamente dispostos um ao outro sendo o inferior ligado a uma fonte de radiofrequência, em que o eletrodo inferior é utilizado para acomodar o pós do composto (CHX) enquanto o superior também é usado para afixar os corpos de prova (Ticp) que serão submetidos ao tratamento.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "c" as ligas de titânio preparadas serem posicionadas (fixadas) no eletrodo superior do sistema por meio de fixação adequada.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "d", o sistema em que o reator é ligado compreende uma bomba de vácuo.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "d", a pressão de fundo é, preferencialmente, $1,00 \times 10^{-2}$.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "e" introduzir de $0,43 \times 10^{-2}$ a $0,47 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $0,45 \times 10^{-2}$ Torr de uma atmosfera de hexametildisiloxano e $2,53 \times 10^{-2}$ a $2,57 \times 10^{-2}$ Torr de argônio, preferencialmente $2,55 \times 10^{-2}$ Torr.

10. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "f", a pressão de fundo ser mantida a $9,8 \times 10^{-3}$ a $1,2 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $1,00 \times 10^{-2}$ Torr, em que a pressão de argônio varia de $2,53 \times 10^{-2}$ a $2,57 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente a $2,55 \times 10^{-2}$ Torr e de HMDSO varia de $0,43 \times 10^{-2}$ a $0,47 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente a $0,45 \times 10^{-2}$ Torr, e a pressão de trabalho é mantida em $3,8 \times 10^{-2}$ a $4,2 \times 10^{-2}$ Torr, preferencialmente $4,0 \times 10^{-2}$ Torr.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa "g" serem posicionados um ou mais cabos de fio terra para ligar o equipamento de rádio frequência, em que é aplicado uma radiofrequência (RF) de 13,56 MHz (150 W) durante 880 a 920 segundos,

preferencialmente 900 segundos para excitar o plasma e tratar as ligas de titânio.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de, preferencialmente o tratamento da superfície do titânio ser realizado por um período de 300 segundos.

13. Implantes e componentes protéticos modificados **caracterizados** pelo fato de compreenderem um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) com clorexidina (CHX) incorporada depositado conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11.

14. Implantes e componentes protéticos modificados, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizados** pelo fato de apresentarem efeito antimicrobiano sem efeito citotóxico.

15. Uso, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pelo fato de ser aplicado na prevenção de peri-implantite.

16. Uso, de acordo com as reivindicações 12 e 13, **caracterizado** pelo fato de ser aplicado na prevenção de peri-implantite.

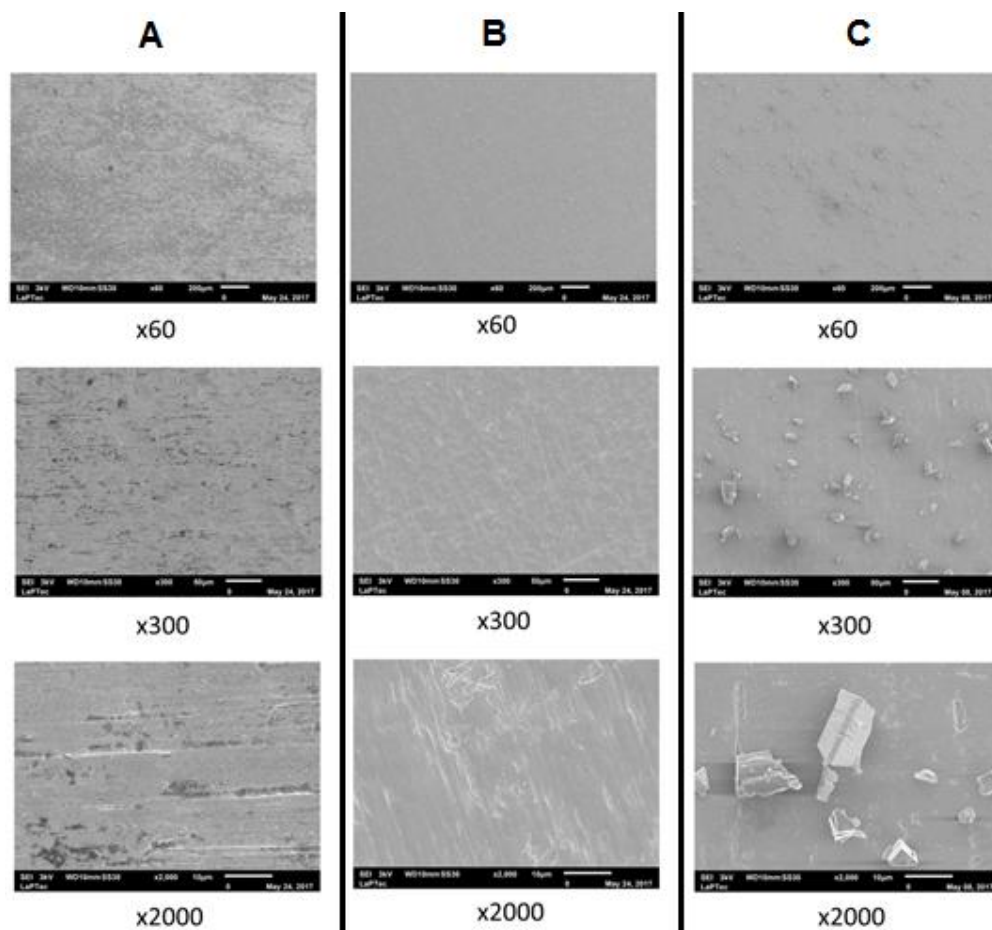


FIGURA 1

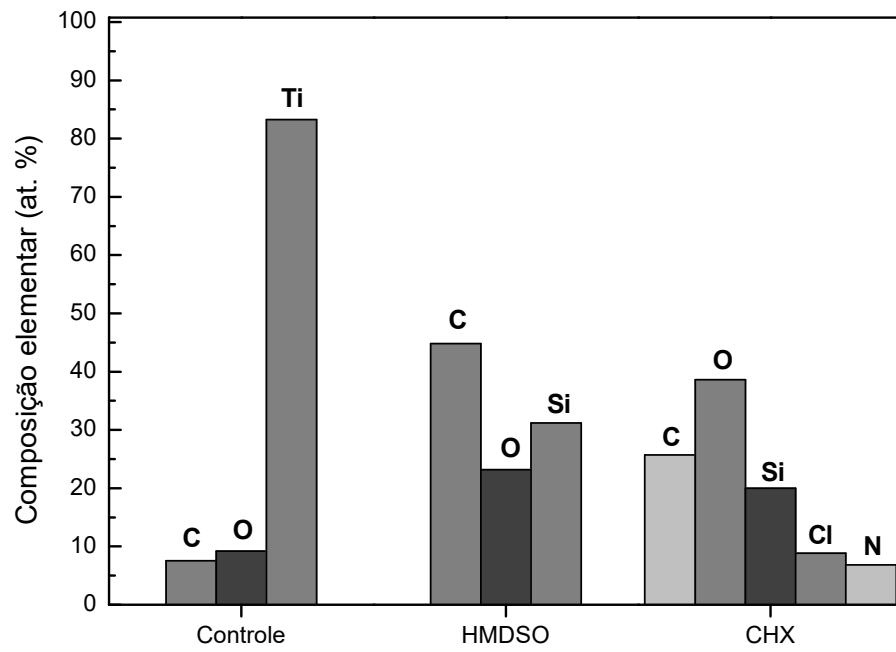


FIGURA 2

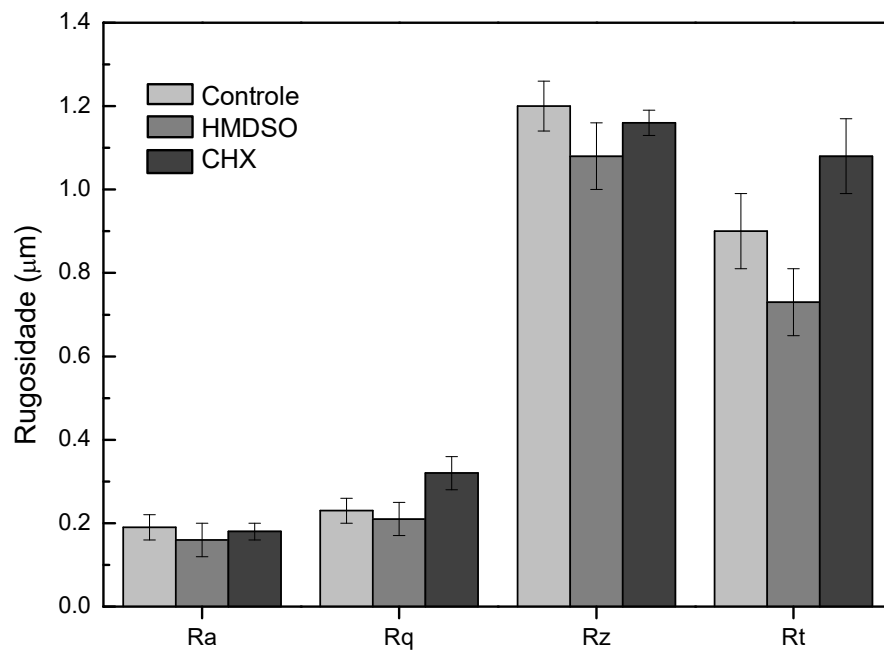
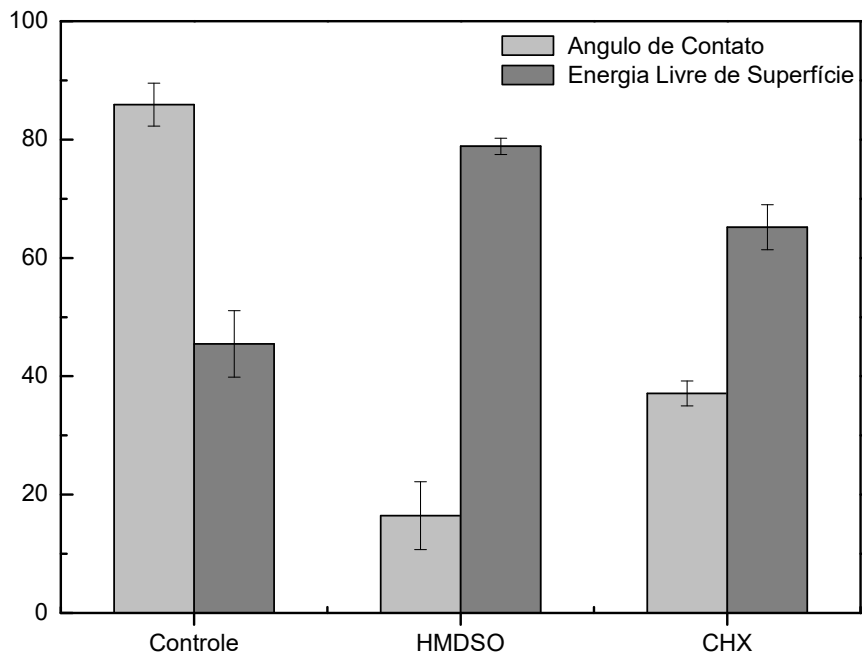
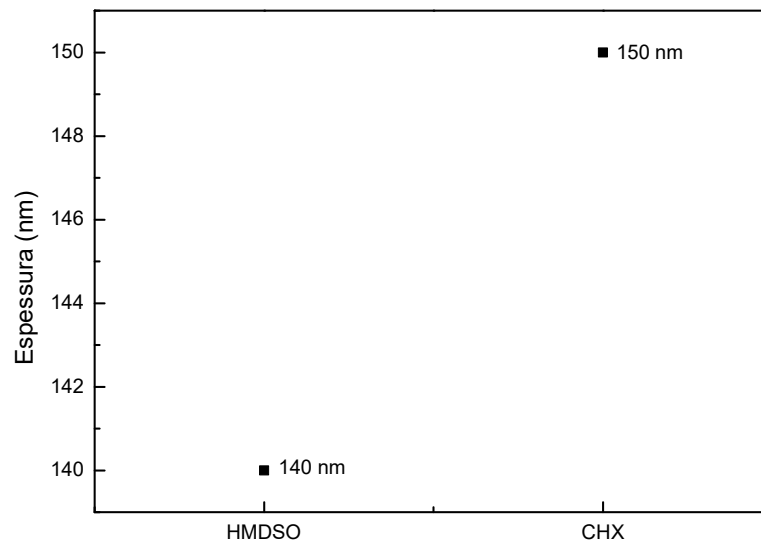


FIGURA 3

**FIGURA 4****FIGURA 5**

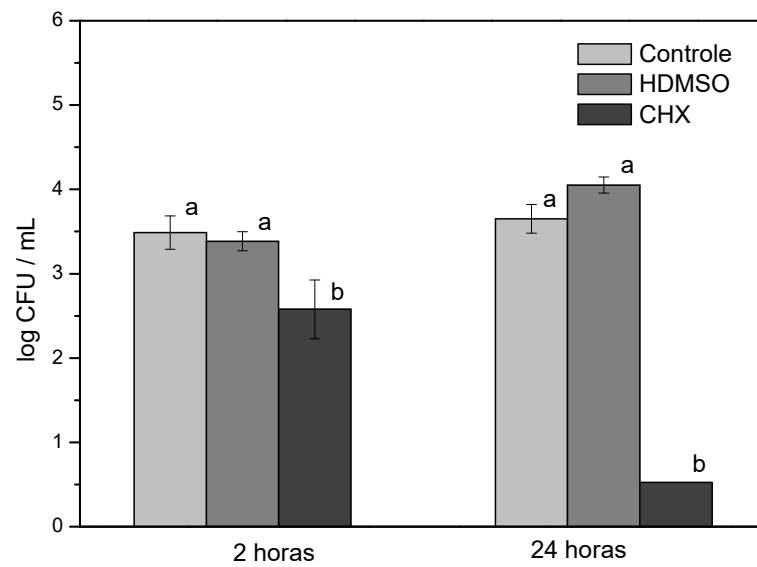


FIGURA 6

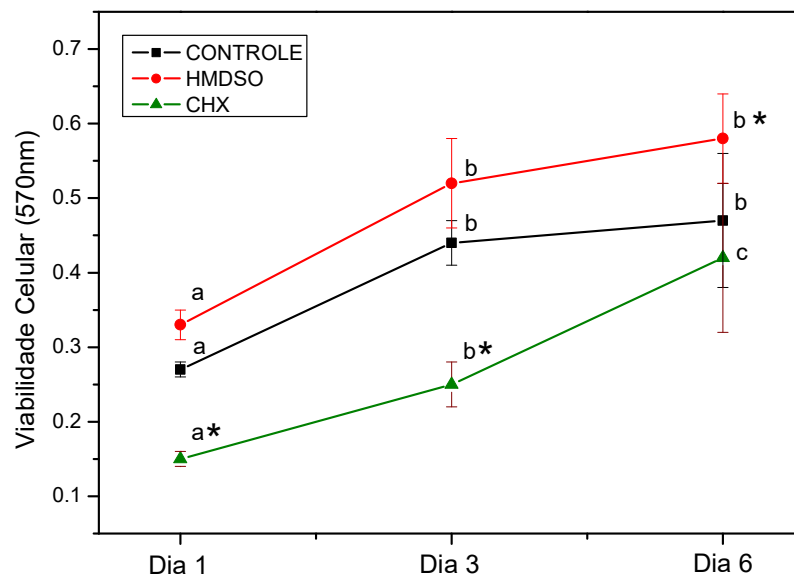


FIGURA 7

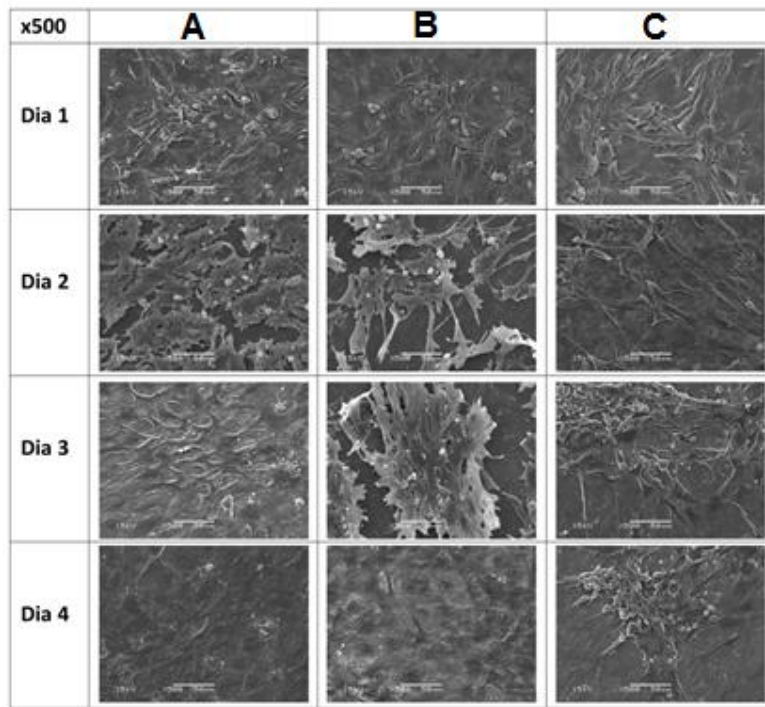


Figura 8

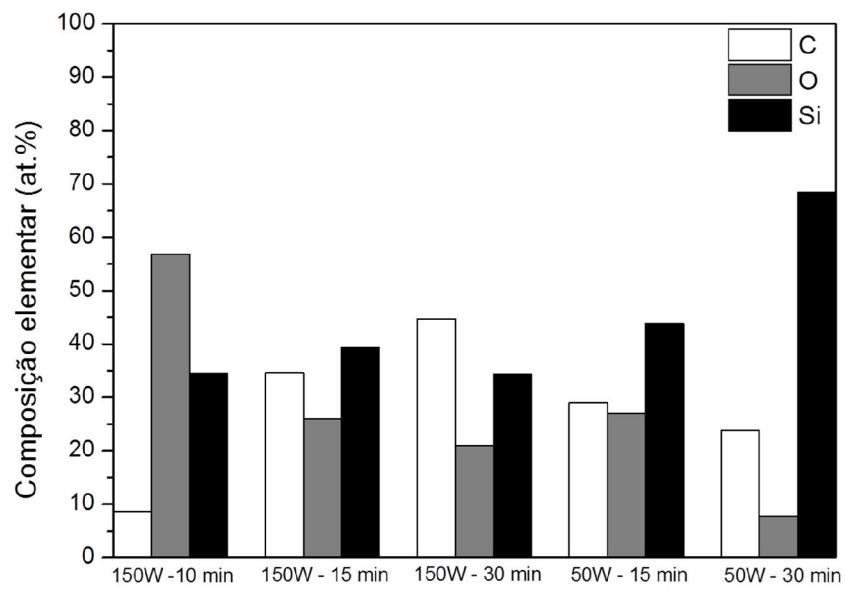
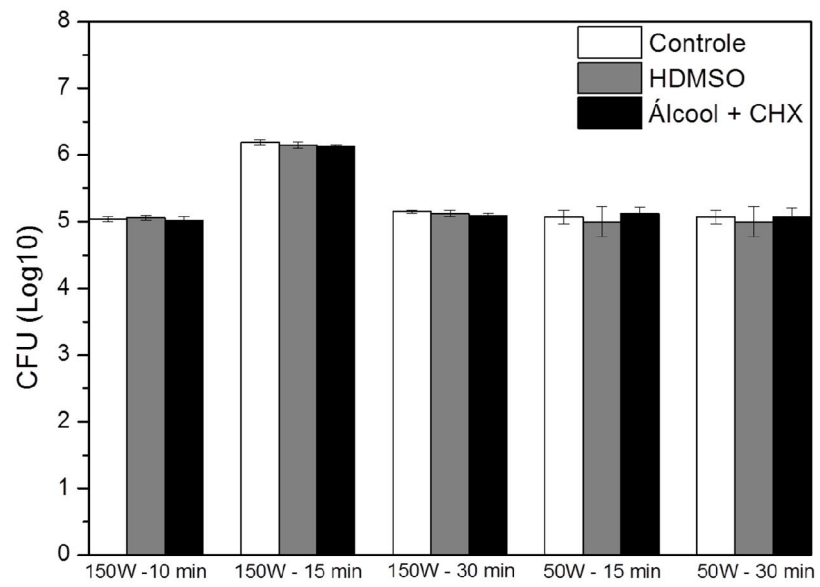


FIGURA 9

**FIGURA 10**

Resumo

**PROCESSO DE MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE TITÂNIO,
IMPLANTES E COMPONENTES PROTÉTICOS MODIFICADOS E USO DOS
MESMOS**

A presente invenção refere-se a um processo de modificação de superfície de titânio através da deposição de um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) por meio de plasma de descarga luminescente (PDI) com incorporação de clorexidina (CHX), assim como o uso do referido processo para ser aplicado em superfícies de implantes e componentes protéticos para prevenção de peri-implantite por colonização bacteriana sobre superfícies de implantes e componentes protéticos. Adicionalmente, refere-se aos implantes e componentes protéticos compreendendo um filme a partir de hexametildisiloxano (HMDSO) com clorexidina (CHX) incorporada depositado conforme definido pelo processo de modificação de superfície de titânio da presente invenção.

INSTRUÇÕES:

A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal. O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo. Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU no campo Número de Referência na emissão do pagamento. Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Clique aqui e pague este boleto através do Auto Atendimento Pessoa Física.
Clique aqui e pague este boleto através do Auto Atendimento Pessoa Jurídica.

BANCO DO BRASIL		001-9	00190.00009 02940.916170 11182.760170 1 73920000007000		Recibo do Pagador
Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS UNICAMP, CPF/CNPJ: 46068425000133 CIDADE UNIVERSITARIA ZEFERINO VAZ, CAMPINAS -SP CEP:13084971					
Sacador/Avalista					
Nosso-Número					
29409161711182760		Nr Documento	29409161711182760	Data de Vencimento	02/01/2018
Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ/Endereço		Valor do Documento		70,00	
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088.0001-37		(-) Valor Pago			
PRACA MAUA 7 - 14 ANDAR - SALA 1415 , RIO DE JANEIRO - RJ CEP: 20081240					
Agência/Código do Beneficiário					
2234-9 / 333028-1					
Autenticação Mecânica					

06/12/2017 - BANCO DO BRASIL - 15:47:23
420312237 0090

COMPROVANTE DE PAGAMENTO DE TITULOS

BANCO DO BRASIL S.A.
00190000090294091617011182760170173920000007000
NOSSO NUMERO 29409161711182760
CONVENIO 02940916
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIED
AG/COD. BENEFICIARIO 2234/00333028
DATA DE VENCIMENTO 02/01/2018
DATA DO PAGAMENTO 06/12/2017
VALOR DO DOCUMENTO 70,00
VALOR COBRADO 70,00
NR.AUTENTICACAO 6.84F.0AF.99E.6EA.1EC
LEIA NO VERSO COMO CONSERVAR ESTE DOCUMENTO,
ENTRE OUTRAS INFORMACOES.

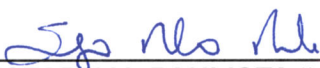
PROCURAÇÃO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO", com sede na Rua Quirino de Andrade, 215, Centro, São Paulo, Estado de São Paulo, CEP 01.049-010, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 48.031.918/0001-24e neste ato representada por seu Magnífico Reitor de acordo com o Art. 34, I de seu Estatuto, ou quem legalmente o substitua, doravante denominada **UNESP**, constitui e nomeia os procuradores OCTACÍLIO MACHADO RIBEIRO, FERNANDA LAVRAS COSTALLAT SILVADO, LUCIANA ALBOCCINO BARBOSA CATALANO, lotados na Procuradoria Geral da UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, brasileiros, inscritos na OAB/SP sob nºs 66.571, 210.899, 162.863, respectivamente, CIRO DE LA CERDA, argentino, solteiro, engenheiro de produção mecânica, portador do RG nº W255248-9, inscrito no CPF nº 045.845.188-66, matrícula 17.857-8 e PATRÍCIA FRANCO LEAL GESTIC, brasileira, casada, engenheira de alimentos, portadora do RG nº 32.372.385-8, inscrita no CPF nº 219.274.108-19, matrícula 30.418-9, lotados na Agência de Inovação da Unicamp, todos com endereço na Cidade Universitária "Zeferino Vaz", Distrito de Barão Geraldo, em Campinas – SP; outorgando-lhe poderes para, através de seus representantes legais ou a quem estes substabelecerem, representá-la perante o **Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI**, para o fim de requerer e processar direitos de propriedade intelectual, tais como patentes de invenção, de modelos de utilidade, desenhos industriais, registros de marcas de produto, de serviço; coletivas ou de certificação, de indicações geográficas, direitos do autor, de software e mantê-los em vigor com amplos e ilimitados poderes para assinar petições e documentos, pagar taxas, fazer prova de uso das invenções patenteadas ou das marcas registradas, apresentar oposições, recursos, réplicas, desistir, renunciar, anotar, elaborar notificações extrajudiciais, e praticar para os fins mencionados, todos os atos necessários perante as autoridades administrativas competentes no Brasil, em benefício do Outorgante, exclusivamente para o depósito e manutenção do pedido de patente intitulado "**Processo de Modificação de Superfície de Titânio, Implantes e Componentes Protéticos Modificados e o Uso dos mesmos**".

Fica vedado o substabelecimento dos poderes ora concedidos. Esta procuração terá vigência de 10 (dez) anos, a partir da data de sua assinatura.

Campinas, 13 de julho de 2018.

SERGIO ROBERTO NOBRE
VICE-REITOR NO EXERCÍCIO DA REITORIA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO" - UNESP

PROCURAÇÃO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, autarquia em regime especial, inscrita no CNPJ/MF nº 46.068.425/0001-33, com sede na Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, Distrito de Barão Geraldo, Campinas, Estado de São Paulo, CEP: 13.083-970, neste ato representada por seu **Magnífico Reitor Professor Doutor Marcelo Knobel**, constitui e nomeia **PATRÍCIA FRANCO LEAL GESTIC**, brasileira, casada, engenheira de alimentos, portadora do RG nº 32.372.385-8, inscrita no CPF nº 219.274.108-19, matrícula 30.418-9; **CIRO DE LA CERDA**, argentino, solteiro, engenheiro de produção mecânica, portador do RG nº W255248-9, inscrito no CPF nº 045.845.188-66, matrícula 17.857-8; e **LÍVIA ALDRED IASBIK FERRAZ**, brasileira, casada, bacharel em direito, matrícula 304975; todos lotados na Agência de Inovação da Unicamp, com endereço na Av. Roxo Moreira, 1831, Caixa Postal 6131, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, Distrito de Barão Geraldo, em Campinas – SP; a quem confere poderes para, nos termos dos atos normativos, das portaria e das resoluções baixadas pelo INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL, requerer pedidos de proteção de direitos de propriedade industrial desenvolvidos pela Unicamp, junto ao **INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL** através dos sistema e-INPI, com poderes para praticar todos os atos que se fizerem necessários aos pedidos e manutenção da proteção de direitos de propriedade intelectual em benefício da outorgante junto ao INPI, sendo vedado o substabelecimento dos poderes ora concedidos. Esta procuração terá vigência até o dia 31 de maio de 2021.

Campinas, 14 de março de 2018

RECEBIDO
14/03/2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Professor Doutor Marcelo Knobel

Reitor - UNICAMP

	CARTÓRIO DO DISTRITO DE BARÃO GERALDO	José Maria de Almeida César Oficial - Tabelião	Rua Nura Mussi de Camargo Penteado, Barão Geraldo - Campinas / SP Fone: (19) 3749-7333 cartorio@uol.com.br - www.cartorio.org.br
RECONHECO por semelhança 1 firma(s) de MARCELO KNOBEL Campinas, 22 De março De 2018. EM TEST. _____ DA VERDADE.			
MARCELO VINÍCIOS VIRGÍLIO DE BRITO - ESCRIVENTE Custas: R\$ 6,10. Carimbo: 2481771 Selo(s): 769775-AA. SEM VALOR ECONOMICO			
*VÁLIDO SOMENTE COM O SELO DE AUTENTICIDADE SEM EMENDAS E/OU F			



197887
FIRMA 1
0196A0769775