

MARIA FLÁVIA ARAUJO PIRES

**Análise topográfica e da cinética de corrosão da
liga Ti-6Al-4V submetida a diferentes soluções
enxaguatórias**

**ARAÇATUBA - SP
2013**



MARIA FLÁVIA ARAUJO PIRES

Análise topográfica e da cinética de corrosão da liga Ti-6Al-4V submetida a diferentes soluções enxaguatórias

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Adj. Wirley Gonçalves Assunção

**ARAÇATUBA - SP
2013**

Dedicatória

Dedico este trabalho de conclusão de curso a todos que direta ou indiretamente, durante a minha vida, participaram e contribuíram para a realização deste sonho.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, que em sua perfeição, além de um lindo amanhecer a cada dia me concedeu a capacidade de ingressar e cursar esta Faculdade.

Agradeço pelo amor dos meus pais e irmãos, os quais foram minha base e exemplo durante toda minha caminhada para chegar até aqui.

Agradeço aos meus familiares que me deram apoio, incentivo e me passaram boas energias para a conclusão deste curso.

Agradeço à todo corpo docente desta faculdade os quais se dedicam à graduação, buscando ensinar da melhor maneira possível seus alunos, assim, contribuindo para a minha formação. Em especial agradeço à Prof.^a Adj. Maria Cristina Rosifini Alves Rezende com toda sua amabilidade e atenção me proporcionou conhecer além do curso de graduação, ao Prof. Adj. Wirley Gonçalves Assunção, pela oportunidade de realizar uma pesquisa junto a Faculdade. Agradeço ao Dr. Leonardo Faverani por toda a dedicação e disponibilidade para com a realização deste trabalho.

Agradeço aos funcionários e pacientes que estiveram dispostos para que nosso aprendizado em aula fosse concretizado na clínica, com toda dedicação.

Agradeço ao meu namorado pelo carinho, compreensão e paciência e aos amigos que de uma maneira ou outra sempre estiveram presentes, dividindo alegrias e dificuldades tornando mais leve e feliz minha caminhada.

“Que eu jamais me esqueça que Deus me ama infinitamente, que um pequeno grão de alegria e esperança dentro de cada um é capaz de mudar e transformar qualquer coisa, pois...
A vida é construída nos sonhos e concretizada no amor.”

(Chico Xavier)

PIRES, MFA. **Análise topográfica e da cinética de corrosão da liga Ti-6Al-4V submetida a diferentes soluções enxaguatórias.** Trabalho de Conclusão de Curso, Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.

Resumo

A utilização de enxaguatórios bucais no pós-operatório da instalação de implantes dentários é essencial, por reduzir a colonização de microorganismos na região periimplantar. Entretanto, o meio bucal está constantemente exposto aos agentes ácidos que podem colaborar com o processo corrosivo do titânio. Este estudo objetivou avaliar a topografia e cinética de corrosão da liga Ti-6Al-4V em 3 soluções enxaguatórias (digluconato de clorexidina 0,12%, cloreto de cetilpiridínio 0,053% e peróxido de hidrogênio 3%) comparadas com a saliva artificial (pH 7,4), em 3 momentos do experimento (inicial, 7 dias e após 14 dias de imersão). Foram utilizados 20 discos de liga Ti-6Al-4V (superfície polida), os quais foram divididos em 4 grupos (n=5). A caracterização de superfície dos espécimes foi realizada em dois momentos do experimento (inicial e 14 dias após a imersão nas soluções), por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), força atômica (MFA) e perfilometria (rugosidade média - R_a) expressa em nanômetros. Para o teste eletroquímico, foram aplicados testes padrões como potencial de circuito aberto e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) no período inicial, 7 dias e 14 dias após a imersão nas soluções testadas. Para isso, os discos foram mantidos individualmente em frascos, em estufa a 37,5° C durante todo o experimento. Estes foram imersos em 20 mL de cada solução testada e, para o teste eletroquímico, os discos e 10 mL das soluções eram retirados do frasco e adaptados na célula eletroquímica. Além disso, foi realizado o cálculo de perda de massa dos discos, por meio da subtração (massa final – inicial). Os dados foram analisados por meio da análise de variância ANOVA e para os resultados estatisticamente significantes, o teste Bonferroni foi aplicado, considerando para todos os testes o nível de significância a 5%. A análise em MEV e MFA demonstraram alterações superficiais expressivas nos discos imersos em peróxido de hidrogênio. Os valores

de R_a foram estatisticamente maiores que as demais soluções ($P < 0,0001$, ANOVA). O peróxido gerou os menores valores de R_p ($P < 0,05$). Para os valores de C_{dl} , houve similaridade entre as soluções no período inicial ($P = 0,098$, ANOVA). Para os períodos de 7 e 14 dias, o peróxido promoveu as maiores alterações de C_{dl} ($P < 0,0001$, Bonferroni). Foi possível concluir que soluções contendo cloreto de cetilpiridínio 0,053% e a clorexidina 0,12% podem ser os enxaguatórios de escolha no pós-operatório dos implantes dentários. No entanto, o peróxido de hidrogênio 3% está contra-indicado nestas situações.

Palavras-chave: Titânio, Corrosão, Peróxido de hidrogênio, Clorexidina.

Abstract

The use of mouthwashes in the postoperative time after the placement of dental implant is essential to reduce the colonization of microorganisms in the peri-implant region. However, the oral environment is constantly exposed to the acids that can collaborate with the corrosive process of titanium. This study aimed to evaluate the topography and kinetics of corrosion of Ti-6Al-4V in 3 mouthwashes solutions (chlorhexidine gluconate 0.12% cetylpyridinium chloride 0.053 % and hydrogen peroxide 3 %) compared with the artificial saliva (pH 7,4), in 3 different times of the experiment (initial, 7 days and after 14 days of immersion) . It was used 20 discs of Ti-6Al -4V (polished surface) which were divided into 4 groups (n = 5). The surface characterization of the specimens was performed in two stages of the experiment (initial and 14 days after immersion in solutions), by scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM) and profilometry (roughness - Ra) expressed in nanometers. For the electrochemical test, standard tests were applied such as open circuit potential and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in the initial period, 7 days and 14 days after immersion in the tested solutions. To do so, the discs were individually kept in vials, incubated at 37.5 ° C throughout the experiment. They were immersed into 20 mL of each tested solution and for electrochemical test; the disks and 10 ml of the solutions were removed from the flask and adjusted in the electrochemical cell. Besides, the mass loss of the discs was calculated by subtracting (final mass - initial). The data were analyzed by the variant analysis ANOVA and for the statistically significant results; the Bonferroni test was applied, considering for all tests the significance level of 5 %. The AFM and SEM analysis showed significant changes in the discs surface immersed in hydrogen peroxide. The Ra values were statistically higher than the other solutions (P <0.0001, ANOVA). The peroxide generated the lowest R_p values (P < .05). For the values of C_{dl} , there was similarity between the solutions in the initial period (P = 0.098, ANOVA). For periods of 7 and 14 days, the

peroxide produced the greatest changes C_{dl} ($P < 0.0001$, Bonferroni). It was concluded that solutions containing cetylpyridinium chloride 0.053 % and chlorhexidine 0.12% may be the mouthwashes chosen in the postoperative of dental implants. However, the hydrogen peroxide 3% is contraindicated in these situations.

Keywords: Titanium, Corrosion, Hydrogen Peroxide, Chlorhexidine.

Sumário

1. Introdução	10
2. Revisão de Literatura	12
3. Materiais e Métodos	17
3.1. Preparação dos Discos	17
3.2. Cinética de Corrosão	18
3.3. Avaliação microestrutural	19
3.4. Mensuração da perda de Massa dos discos de Ti	20
3.5. Análise Estatística	20
4. Resultados	21
5. Discussão	28
6. Conclusões	32

1. Introdução

Para o alcance do sucesso na reabilitação bucal por meio dos implantes dentários, além dos fatores relacionados ao procedimento cirúrgico e protético, as características do material são fundamentais para a osseointegração (1, 2). Neste contexto, os implantes osseointegráveis são constituídos principalmente de titânio (Ti) (2, 3). Este metal em contato com o ar ou o sangue, durante a inserção no osso, permite a formação de uma camada de óxido de titânio, também denominada de camada de passivação, que o mantém resistente frente a agentes ou fluidos presentes na cavidade bucal (2-5).

Entretanto, alguns estudos *in vitro* (2, 6-9) demonstraram que substâncias ácidas comumente encontradas na cavidade bucal, tais como dietas, situações que alteram o pH salivar, microrganismos da região periimplantar, podem alterar a microestrutura superficial dos implantes de Ti, por meio de um ataque na camada de óxido de Ti, deixando a superfície livre para a interação do material com o ambiente eletrolítico (saliva e fluidos presentes na cavidade bucal). Sendo assim, um processo de corrosão do material pode ser observado (8, 10).

Dentre as substâncias comumente utilizadas, especialmente no pós-operatório da instalação dos implantes, os enxaguatórios bucais são muito importantes, pela ação antimicrobiana exercida pelos mesmos. O controle da placa bacteriana é essencial nos implantes, principalmente na técnica de carga imediata (11). Por esta razão, bochechos com digluconato de clorexidina são rotineiramente usados, principalmente por seu alto potencial antimicrobiano (12-17), porém estes apresentam significativa alteração na coloração dos dentes (18) e podem causar hipogeusia (19). Outros enxaguatórios são utilizados com eficiência no controle do biofilme bucal, tais como o cloreto de cetilpiridínio (12, 14, 16, 20), triclosan (12-14) e o peróxido de hidrogênio (16, 17, 21, 22).

Além destes enxaguatórios, o flúor amina/ estanhoso mostrou ter propriedades antibacterianas, mas ainda não foi testado nos implantes não submersos (15, 23). Em contrapartida, Strietzel et al. (1998) (24) observaram que há uma liberação de íons de titânio quando na presença de flúor, recomendando assim, que se evite o uso de flúor quando houver peças de titânio expostas ao ambiente oral.

O comportamento eletroquímico do Ti quando exposto aos enxaguatórios bucais disponíveis no mercado, foi investigado por estudos *in vitro*. Nestes estudos, discos de Ti grau 4 foram testados em função de saliva artificial, clorexidina 0,2% e flúor amina-estanhoso (15). Enquanto que Alves-Rezende et al. (2007) (25) avaliaram o digluconato de clorexidina 0,12% e associações de fluoreto de sódio a 0,05% e triclosan a 0,03% e, cloreto de cetilpiridínio 0,5 g/l e fluoreto de sódio a 0,05%, quanto à resistência corrosiva em discos de Ti comercialmente puro (Ticp) e liga Ti-10%Molibdênio (Ti-10Mo). Os resultados mostraram que o Ti é um material resistente à corrosão, o qual possui um filme de óxido de titânio protetor à superfície do metal. Entretanto, diante da diminuição das características protetoras deste filme de óxido na presença da associação de fluoreto de sódio e triclosan, Alves-Rezende et al. (2007) (25) recomendam que pacientes reabilitados com implantes de ligas de Ti, sejam advertidos para não utilizarem os enxaguatórios com flúor.

Tendo em vista a relevância do tema e a constante busca por enxaguatórios bucais mais eficientes no combate às afecções microbianas, porém que não causem alterações na superfície dos implantes, este estudo apresentou como proposta avaliar a cinética de corrosão da liga Ti-6Al-4V em 3 soluções para enxaguatórios bucais (digluconato de clorexidina 0,12%, peróxido de hidrogênio 3% e cloreto de cetilpiridínio 0,053%) e foram comparadas com a saliva artificial com pH = 7,4 (controle). A hipótese deste estudo foi que os enxaguatórios bucais diminuiriam a resistência corrosiva da liga Ti-6Al-4V em comparação ao grupo controle (saliva artificial).

2. Revisão de Literatura

Takemoto et al. (2005) (26) objetivaram em seu estudo verificar o papel da albumina na corrosão do titânio. Avaliaram a corrosão e a característica da película protetora do titânio imerso em soluções contendo fluoreto 2,0g/l e albumina 0,1 ou 1,0g/l, além da variação do pH e da concentração do titânio dissolvido nessas soluções. A albumina, no estudo, auxiliou na prevenção da corrosão do titânio, já o flúor na solução diminuiu a resistência à corrosão do titânio quando comparado com uma solução em que não estava presente. Na análise da estrutura de superfície do titânio foi confirmada a presença do flúor nos discos imersos em soluções contendo flúor e a presença de carbono, nitrogênio e oxigênio nos discos imersos em flúor e albumina. Na análise da solução foi confirmada a presença do titânio diluído nas soluções contendo flúor, porém, nas soluções de flúor e albumina era menor a dissolução do titânio e a quantidade de albumina presente teve pouca aplicação quanto à resistência à corrosão do titânio. Concluíram que a albumina não auxilia apenas na proteção do titânio ao ataque do fluoreto, mas também impede a dissolução do titânio através da formação de película de alumínio; deixando evidente a supressão da corrosão do titânio pelo fluoreto.

Mabilleau et al. (2006) (27) pesquisaram através da microscopia de força atômica os efeitos do flúor, peróxido de hidrogênio e ácido láctico sobre a superfície dos discos de titânio comercialmente puro (Ticp). Os discos de titânio foram avaliados com 3, 6 e 9 dias de imersão nas soluções de saliva artificial associadas aos compostos anteriormente citados. Como resultado obtiveram que: em saliva com pH mais básico não houve diferença significativa, já em saliva ácida (pH 4.5) houve um aumento da rugosidade e uma leve corrosão da superfície do titânio; em saliva associada à NaF 0,5% ocorreu um significativo ataque na superfície do titânio, desde a avaliação inicial e aumento da rugosidade média, em todo o período de avaliação e quando associada à NaF 2,5% houve aumento significativo da rugosidade até o sexto dia; na solução com H₂O₂ 0,1% foi observado um rápido aumento da

rugosidade média, mas não foi detectado nenhum sinal de corrosão da superfície e com H_2O_2 à 10% também aumentou rapidamente a rugosidade média e atingiu seu ápice no terceiro dia, porém foram detectados sinais de corrosão no titânio; na solução contendo NaF 0.5%, H_2O_2 0.1% com o pH 4.5, apresentou aumento da rugosidade média desde o início até 9 dias após, uma superfície muito áspera e corrosão bem evidente. Realizaram também um teste com as em cultura de células (macrófagos J774.2) no qual a superfície não foi detectada corrosão significativa na superfície do implante. No entanto, concluíram que pacientes que possuem implantes na cavidade oral devem, além de ter uma boa higiene oral, evitar creme dentais fluoretados.

Em 2007, Alves-Rezende et al. (25) avaliaram a resistência à corrosão da liga experimental Ti-10Mo quando em contato com três soluções antissépticas (Fluoreto de sódio 0,005% + triclosan 0,03%, cloreto de cetilpiridínio 0,5g/l + fluoreto de sódio 0,05% e digluconato de clorohexidina 0,12%). O titânio comercialmente puro foi utilizado para o grupo controle. Observaram que eletroquimicamente o titânio foi mais atingido pelas soluções em teste, do que as próprias ligas de Ti; no entanto, nos dois tipos de liga foram observadas formação de película protetora. A proteção da película protetora foi menor em fluoreto de sódio 0,05% + triclosan 0,03% do que nos outros dois enxaguatórios bucais em estudo; concluíram baseados nos resultados que os pacientes com implantes de liga de titânio na boca devem utilizar preferencialmente bochechos que não contém flúor em sua composição.

Mareci et al (2010) (9) objetivaram em seu estudo avaliar o potencial da liga de Titânio-20Molibidênio, para isto, saliva artificial foi a solução utilizada no teste (com pH 2,5 para acentuar a corrosão) e titânio comercialmente puro como grupo controle. Foram realizados testes como: potencial de circuito aberto, polarização potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica para análise do comportamento das ligas de titânio. Observaram a formação de uma camada passiva na superfície do Ti-20Mo durante os

testes de corrosão. Como método quantitativo foi associado à EIE o Circuito Equivalente e os resultados obtidos da liga demonstraram a presença de uma dupla camada de proteção, uma camada interna com alta impedância, que protege contra corrosão e uma externa mais porosa. Concluíram então que, de acordo com os parâmetros de corrosão, a liga de Titânio em estudo é passível para uso em cavidade bucal e parece ser mais resistente à corrosão do que o TiCp.

Quaranta et al. (2010) (15) avaliaram o comportamento eletroquímico do titânio quando exposto ao cloreto e fluoreto presente nos enxaguatórios bucais; como grupo controle foi utilizada a saliva artificial (Fusayama). Foram utilizadas 15 amostras de titânio divididas em 5 grupos: saliva artificial Fusayama (Fas), solução de fluoreto de amina e fluoreto de estanho (Am-SnF₂), solução de clorexidina 0,20% (CHX), solução de Fas com 20% de Am-SnF₂ e Fas com os 20% de CHX. A fim de conhecer o potencial do material foi realizado o potencial de circuito aberto e para análise da superfície utilizada Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva por raios-x (EDX). Os espécimes de titânio analisados nas soluções eletrolíticas apresentaram uma típica curva de polarização com a região passiva e a corrosão ocorrida pôde ser relacionada à formação da película protetora do titânio. Concluíram que, perante aos enxaguatórios bucais contendo fluoreto e clorexidina a 0,2 %, o titânio têm boa resistência à corrosão, sendo viável sua utilização em cavidade oral.

Barão et al. (2011) (6), realizaram um estudo testando a corrosão do titânio quando exposto ao lipopolissacarídeo na saliva com diferentes pHs. Sabe-se que esta endotoxina pode provocar a periimplantite, porém é desconhecido seu efeito no comportamento eletroquímico do titânio. Foi utilizado o lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* em diferentes concentrações (0,15, 15, e 150 ug / ml) e saliva em diferentes pHs (3; 6,5 e 9). Realizado o polimento nos discos de titânio até que sua superfície estivesse espelhada, iniciaram os testes. Foram realizados testes como: potencial de circuito aberto, potenciodinâmica e espectroscopia de impedância eletroquímica, que demonstraram alteração no comportamento do titânio quanto à

corrosão. Resultaram em uma aceleração da corrosão do titânio quando em um pH mais baixo e maior concentração de LPS. De acordo com o grupo controle, somente saliva, o aumento do pH reduziu a taxa de corrosão titânio e aumentou a capacidade de dupla camada; já nos grupos com LPS, aumentou a taxa de corrosão do titânio com a diminuição do pH. Concluíram então que, pacientes com implantes dentários (titânio) devem realizar uma boa higiene oral e evitar o consumo de substâncias ácidas.

Barão et al. (2012) (2) avaliaram a resistência à corrosão do titânio comercialmente puro e da liga Ti-6Al-4V quando em contato com saliva em diferentes pHs (3, 6,5 e 9). As superfícies dos discos de titânio foram polidas mecanicamente até que obtivessem uma superfície espelhada. Analisaram através da microscopia interferométrica de luz branca e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Observaram que a liga Ti-6Al-4V é mais resistente à corrosão quando em contato com as soluções de saliva (ácida, neutra e básica) do que o titânio comercialmente puro, além de não alterarem sua superfície. Concluíram que, devido da rugosidade formada na superfície do titânio, pode ocorrer a adesão e colonização de bactérias e o índice de sobrevivência do implante pode ser alterado pelas alterações do pH da saliva. No entanto, até o momento não é comprovada a perda de implantes por esse motivo específico.

Lelli et al. (2013) (28) avaliaram a alteração da rugosidade da superfície do titânio quando em contato com enxaguatórios bucais a base de fluoreto de amina e nanocristais de hidroxiapatita. Foi realizado um teste in vitro contendo 4 grupos de titânio: polido, jateado, usinado e com ataque ácido (6 amostras por grupo). Cada amostra foi imersa no enxaguatório bucal por 1 minuto durante 30 dias, simulando um bochecho feito para higiene bucal. A caracterização morfológica foi realizada sobre a superfície polida dos discos, os imersos na solução a base de fluoreto de amina obtiveram em sua superfície maior rugosidade, picos elevados e vales profundos; em contrapartida, nos discos imersos em soluções de nanocristais

de hidroxiapatita foi observada uma menor rugosidade, com picos e vales mais suaves. Assim, concluíram que, o enxaguatório a base de flúor induz uma maior rugosidade deixando o implante mais fraco mecanicamente e suscetível à contaminação bacteriana, o que não se observou nos discos imersos em enxaguatórios a base de hidroxiapatita, o qual apresentou uma superfície protegida contra oxidação, assim, diminuindo a colonização bacteriana.

Faverani et al. (2013) (7) avaliaram as possíveis alterações na superfície de dois tipos de titânio: titânio comercialmente puro e Ti-6Al-4V, quando entram em contato com as substâncias clareadoras: peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida e com refrigerante de cola. Para análise da superfície do titânio foram utilizados: microscópio eletrônico de varredura (MEV) e de força atômica (MFA); a rugosidade superficial (em nm) e de modificações químicas de superfície foram investigados. Como controle os discos foram imersos em saliva artificial. Os testes demonstraram que o refrigerante de cola não alterou a superfície de nenhum tipo de titânio. Logo os discos imersos nas soluções clareadoras (peróxido de hidrogênio 35% e peróxido de carbamida 16% e 35%) tiveram sua superfície muito alterada nos dois tipos de liga, no entanto, a liga de Ti-6Al-4V se apresentou mais resistente. Concluindo que os agentes clareadores podem afetar a longevidade do implante dentário.

3. Materiais e Métodos

Foram confeccionados 20 discos de liga Ti-6Al-4V nas dimensões de 15 mm de diâmetro e 2 mm de espessura.

3.1. Preparação dos Discos

Os espécimes foram divididos em 4 grupos (n=5) em função da solução a ser testada como discriminada a seguir:

Grupo 1 (controle): saliva artificial (pH=7,4) (n=5);

Grupo 2: digluconato de clorexidina 0,12% (n=5);

Grupo 3: peróxido de hidrogênio 3% (n=5);

Grupo 4: cloreto de cetilpiridínio (0,053%) (n=5).

Os discos foram polidos e limpos através de métodos padronizados de metalografia (5, 13). Para tanto, inicialmente os espécimes foram polidos com lixas sequenciais de gramatura 320, 400, 600 e 800 (Carbimet 2, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), em polidora automática (ECOMET 250PRO/ AUTOMET 250, Buehler).

Ainda na polidora, com pano de polimento (TextMet Polishing Cloth, Buehler), pasta diamantada (MetaDi 9-micron, Buehler) e lubrificante (MetaDi Fluid, Buehler), prosseguiu o polimento. No próximo passo foi realizado o polimento com pano (Chemomet I, Buehler) e sílica coloidal (MasterMed, Buehler), até que a superfície da liga Ti-6Al-4V se apresentasse espelhada. Finalmente, os discos foram lavados com água deionizada e propanol 70%. A fim de garantir que toda a sílica proveniente do polimento fosse removida, os espécimes foram mantidos por dez minutos em cuba ultrassônica (Lavadora ultrassônica THORTON, modelo USC 2850, Tecnal Equipamentos para Laboratório Ltda, Piracicaba, SP, Brasil) e finalmente, secos por meio de jatos de ar quente a 250°C.

A rugosidade de superfície de todos os espécimes foi determinada a fim de proporcionar uma padronização no acabamento dos discos de liga Ti-6Al-4V.

3.2. Cinética de Corrosão

A cinética de corrosão foi avaliada por meio da espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) em 3 períodos da pesquisa: Inicial, 7 dias após a imersão nas soluções testadas e 14 dias após a imersão.

O protocolo do teste eletroquímico seguiu como descrito previamente na literatura (13, 14). Os testes foram realizados em uma célula eletroquímica feita de acrílico. Todas as mensurações foram realizadas em um método padronizado de três células de eletrodo de acordo com as instruções da Sociedade Americana para Testes de Materiais (American Society for Testing of Materials (ASTM) (G61 e G31-72). Um eletrodo saturado de cloreto de mercúrio (SCE) foi utilizado como eletrodo de referência, um bastão de grafite como contra-eletrodo (auxiliar) e a superfície exposta do disco de liga Ti-6Al-4V como eletrodo de trabalho. Um potenciostato (Interface 1000, Gamry Instruments, Warminster, PA, EUA) ligado ao computador foi utilizado para realizar as mensurações de corrosão. Um total de 10 ml de eletrólito (saliva artificial, clorexidina 0,12%, peróxido de hidrogênio 10% ou cloreto de cetilpiridínio 0,053%) foi utilizado para cada experimento de corrosão.

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) foi usada para investigar a formação eletroquímica da camada de óxido na superfície da liga Ti-6Al-4V e as propriedades desse filme (cinética de corrosão). Por meio da EIE, o processo eletroquímico pode ser representado por um circuito elétrico equivalente e as propriedades do filme de óxido (capacitância e resistência) foram quantificadas para determinar o processo de corrosão. As mensurações da EIE foram efetuadas na frequência de 100 KHz a 5 mHz, com a curva AC numa amplitude de 10 mV aplicada ao eletrodo no seu potencial de corrosão (13, 14). Esses

valores foram usados para determinar os componentes real (Z') e imaginário (Z'') da impedância no qual foram plotados no plote de Bode ou impedância total ($|Z|$) e ângulo de fase.

Os resultados da EIE foram usados para modelar o processo de corrosão (cinética de corrosão) e entender as propriedades do filme de óxido formado na superfície dos discos de liga Ti-6Al-4V, usando o circuito elétrico mais apropriado. Para simulação dos dados da EIE (capacitância da camada de óxido (dupla camada) - C_{dl} e resistência de polarização - R_p), o software Zview2 (Scribner Associates Inc., Southern Pines, NC, EUA) foi utilizado (16).

Deste modo, após a EIE inicial, os espécimes foram mantidos imersos em 20 mL de cada solução (digluconato de clorexidina 0,12 %, peróxido de hidrogênio 3%, cloreto de cetilpiridínio 0,053% e saliva artificial) até completar 14 dias, sendo realizada a EIE final. Também foi realizada a EIE aos 7 dias. Com uma pipeta automatizada, foi removido 10 mL de cada solução para o teste de EIE. Terminando o experimento, a solução foi novamente dispensada nos frascos que continham os discos de liga Ti-6Al-4V, completando 20 mL das soluções enxaguatórias.

3.3. Avaliação microestrutural

Os discos foram analisados em MEV (Jeol, modelo JSM-7401F, Oregon, EUA), para análise e caracterização das possíveis irregularidades presentes nas superfícies. Foram realizadas comparações das imagens obtidas entre as superfícies da liga Ti-6Al-4V, por meio da análise pré e pós-corrosão das substâncias testadas.

Para a análise tridimensional, foram obtidas imagens do microscópio de força atômica - MFA (AFM; Veeco Metrology Inc., Santa Barbara, CA, EUA). As imagens foram transportadas do microscópio para um computador e no programa Nanoscope Analysis (2004 Veeco Instruments Inc., Santa Barbara, CA, EUA), foram inicialmente submetidas aos filtros

(“flatten” e “plane fit”). Em seguida, as imagens em três dimensões (3D) foram obtidas para possibilitar uma análise comparativa visual entre os grupos.

Para entender as alterações na superfície da liga Ti-6Al-4V promovidas pelo processo de corrosão, um parâmetro de rugosidade de superfície (Ra - média aritmética da rugosidade de superfície) foi investigado antes (baseline) e após os 14 dias de imersão nas soluções, por meio de um perfilômetro (Dektak d-150; Veeco, Plainview, Nova York, EUA). Cada espécime foi individualmente posicionado no centro do equipamento e a ponta medidora do perfilômetro na superfície do espécime. Os valores de Ra foram mensurados usando cutoff de 500 μm , num tempo constante de 12 segundos. Três leituras foram feitas sobre cada superfície e a média foi calculada. Aleatoriamente foi realizada a leitura no centro do espécime, e duas leituras paralelas, à direita e à esquerda desse centro. Como o perfilômetro fornece os valores originais em Angström (\AA), os dados foram transformados para a escala nanométrica (nm).

3.4. Mensuração da perda de Massa dos discos de Ti

Para analisar a perda de massa dos espécimes, no período inicial (baseline) e após o último teste (14 dias), a massa dos discos de liga Ti-6Al-4V foi mensurada numa balança de precisão. (Ohaus, AdventurerTM, pH científica, Paraná, Brasil).

3.5. Análise Estatística

Para os parâmetros C_{dl} e R_p os efeitos do tipo de soluções enxaguatórias e tempo (inicial, 7 dias e 14 dias) foram testados separadamente por meio da análise de variância de 1 fator e as médias comparadas pelo teste Bonferroni.

Para o parâmetro rugosidade e perda de massa, ANOVA de 1 fator (solução) foi usado e as médias comparadas pelo teste Bonferroni. Todos os testes foram realizados no nível de significância de 5%.

4. Resultados

A espectroscopia de impedância eletroquímica está representada por meio do plote de Bode (Figura 1). No ângulo de fase, a comparação entre os grupos teste (cetilpiridínio, clorexidina e peróxido de hidrogênio) e o grupo controle (saliva artificial) nos 3 períodos analisados, para os enxaguatórios cetilpiridínio e clorexidina foi observado somente uma constante de fase, o que denota a formação do filme de óxido de Ti compacto, homogêneo e protetor à superfície do metal. Para todos os períodos, o ângulo de fase do grupo controle (saliva) tendeu a ser maior (aproximadamente -90°) que os grupos testes. Interessante notar que para o peróxido de hidrogênio no período inicial, o ângulo de fase reduziu para valores próximos de 20° , e duas constantes de tempo foram notadas. Isso denota a alta agressividade do peróxido de hidrogênio para a superfície da liga Ti-6Al-4V. Após 7 e 14 dias de imersão nessa substância, o ângulo de fase aumentou para próximo de 80° . Os grupos cetilpiridínio e clorexidina apresentaram valores de impedância similares aos do grupo controle para todos os períodos de análise. Por outro lado, no grupo peróxido de hidrogênio os valores de impedância reduziram drasticamente em baixas frequências, especialmente para o período inicial.

A cinética de corrosão por meio dos valores de R_p e C_{dl} na comparação dos grupos testados com a saliva artificial mostrou no período inicial uma diminuição da R_p para o peróxido de hidrogênio (Figura 2). Ao longo do tempo, notou-se aumento dos valores de R_p para todas as substâncias. Entretanto, na comparação com a saliva artificial aos 7 e 14 dias após a imersão, o peróxido de hidrogênio apresentou sempre menor valor de R_p . Para os valores de C_{dl} , ficou evidenciado o aumento dos seus valores para o peróxido de hidrogênio, aos 7 e 14 dias de imersão. Para os demais grupos e períodos, os valores foram bastante similares (Figura 2). Desta forma, para os valores de R_p , em todos os tempos analisados houve diferença estatisticamente significante entre as soluções (tempo inicial $P < 0,0001$; tempo 7

$P < 0,0001$; tempo 14 $P < 0,003$, ANOVA). No geral, o peróxido gerou os menores valores de R_p , independente do tempo de análise.

Em todos os períodos a clorexidina apresentou valores de R_p similares aos da saliva, com exceção do período inicial ($P = 0,002$). O cetilpiridínio promoveu valores de R_p similar aos da saliva somente no período inicial ($P = 1$), porém foram menores nos períodos 7 dias ($p = 0,018$) e 14 dias ($P = 0,046$). Os valores de R_p foram similares entre clorexidina e cetilpiridínio nos períodos 7 dias ($P = 0,013$, ANOVA) e saliva ($P = 0,005$, ANOVA). Para o cetilpiridínio e o peróxido, os valores de P foram 0,357 e 0,086, respectivamente (ANOVA). Os valores de resistência do Liga Ti-6Al-4V em clorexidina e saliva aumentaram após 7 e 14 dias de imersão.

Para os valores de C_{dl} , no período inicial, os resultados foram similares para todas as soluções ($P = 0,098$, ANOVA). Para o tempo 7 dias e 14 dias houve diferença estatisticamente significativa entre os enxaguatórios ($P < 0,0001$, ANOVA). Já para os períodos de 7 e 14 dias, o peróxido promoveu os maiores valores de C_{dl} ($P < 0,0001$, Bonferroni), enquanto que não houve diferença entre saliva, clorexidina e cetilpiridínio ($P = 1$). O fator tempo afetou os valores de C_{dl} para todas as soluções (cetilpiridínio $P = 0,040$; clorexidina $P = 0,001$; peróxido $P < 0,0001$; saliva $P = 0,008$, ANOVA). Para todas as soluções, os valores de C_{dl} foram estatisticamente maiores para o período de 7 e 14 dias, porém sem diferenças estatísticas entre eles.

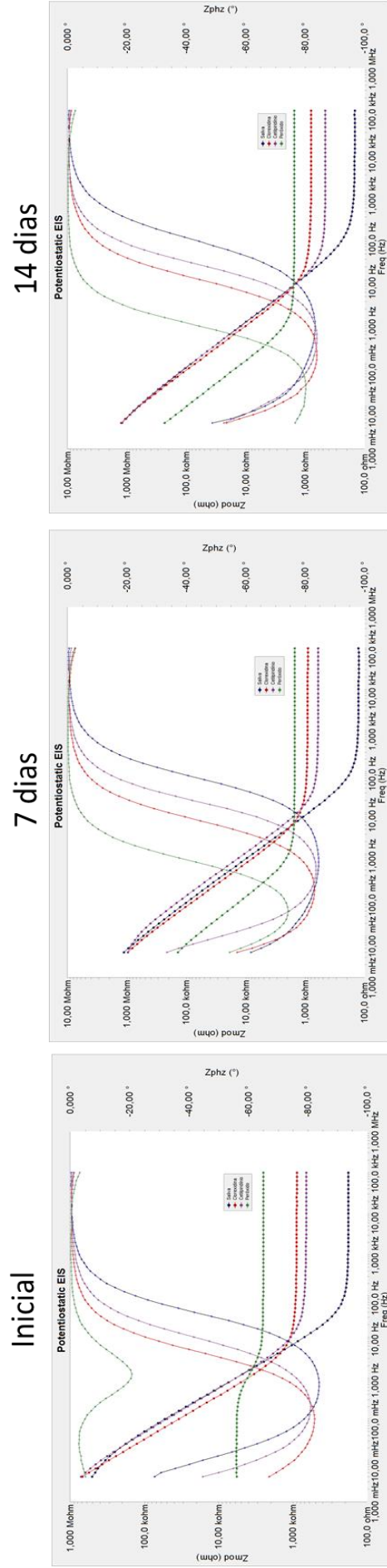


Figura 1 – Espectroscopia de impedância eletroquímica representativa (EIS) da liga Ti-6Al-4V em saliva artificial (Controle) e os enxaguatórios: cloreto de cetilpiridínio, clorexidina e peróxido de hidrogênio nos 3 períodos analisados: inicial, após 7 dias e 14 dias de imersão

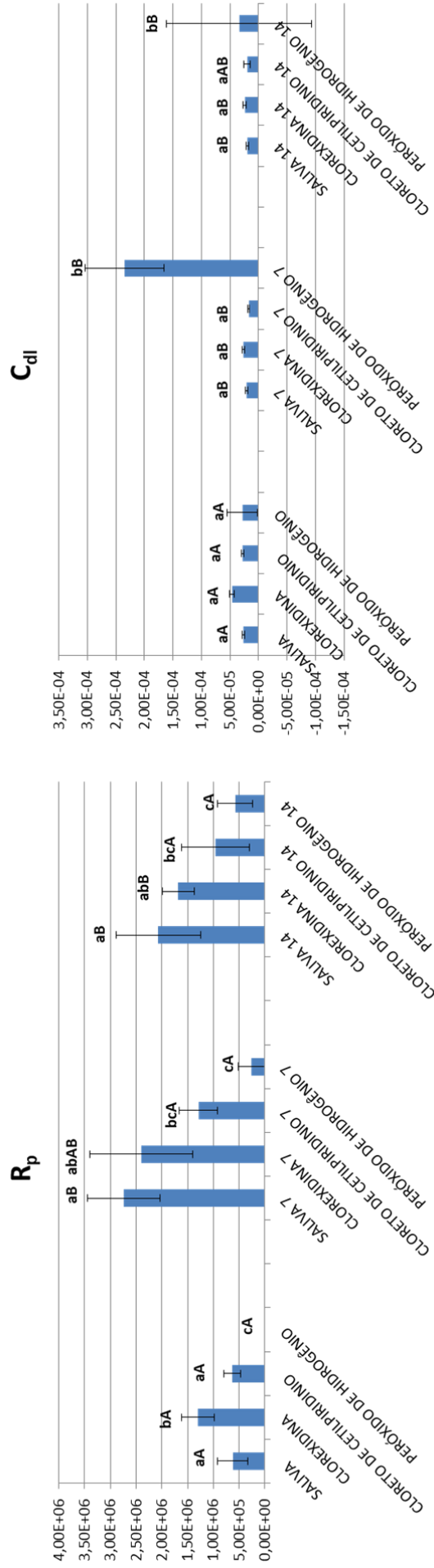


Figura 2 – Dados de corrosão da EIS: resistência de polarização (R_p) e capacitância (C_{dl}) da liga Ti-6Al-4V em saliva artificial (Controle) e os enxaguatórios: cloreto de cetilpiridínio, clorexidina e peróxido de hidrogênio nos 3 períodos analisados: inicial, após 7 dias e 14 dias de imersão.
 *letras minúsculas comparam soluções para um mesmo período de tempo (inicial, 7 e 14 dias).
 *letras maiúsculas comparam o tempo para cada solução

As médias dos valores de rugosidade superficial (Ra) em nanômetros podem ser observadas na figura 3. Após 14 dias de imersão nas soluções testadas, notou-se aumento dos valores de Ra para todas as soluções testadas, quando comparadas ao período *baseline* ($27,64 \pm 6,40$) e grupo controle ($34,46 \pm 3,61$). O aumento da Ra para o cetilpiridínio ($66,48 \pm 9,98$) e clorexidina ($72,02 \pm 10,03$) foi semelhante na comparação entre eles ($P > 0,05$, ANOVA) e, houve diferença estatística dos valores de Ra destes enxaguatórios para o período *baseline* e grupo controle (saliva) ($P > 0,05$, ANOVA). Para o peróxido de hidrogênio, o aumento da Ra ($621,17 \pm 43,41$) foi substancialmente maior que os demais grupos ($P = 0,0001$, ANOVA).

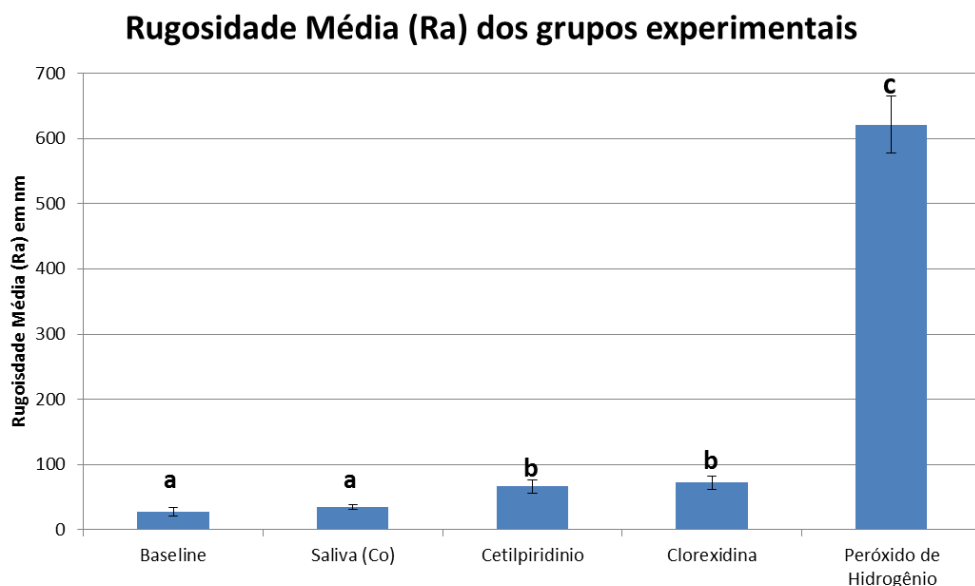


Figura 3 – Dados da topografia de superfície: média e desvio padrão da rugosidade de superfície (Ra) (em nm) da liga Ti-6Al-4V em saliva artificial (Controle) e os enxaguatórios: cloreto de cetilpiridínio, clorexidina e peróxido de hidrogênio, *baseline* e após 14 dias de imersão.

As imagens das amostras de liga Ti-6Al-4V obtidas pela MEV, tanto na magnificação de 300x quanto na magnificação de 1500x (Figura 4), ficou claro a alteração na microestrutura da liga Ti-6Al-4V na presença do peróxido de hidrogênio. As imagens 3D obtidas pela MFA (Figura 5) confirmaram as observações notadas pela MEV, as quais mostraram maior deformação da superfície do material na presença do peróxido de

hidrogênio. As elevações observadas nos grupos cetilpiridínio e clorexidina provavelmente são devido as impregnação dos enxaguatórios na superfície da liga Ti-6Al-4V.

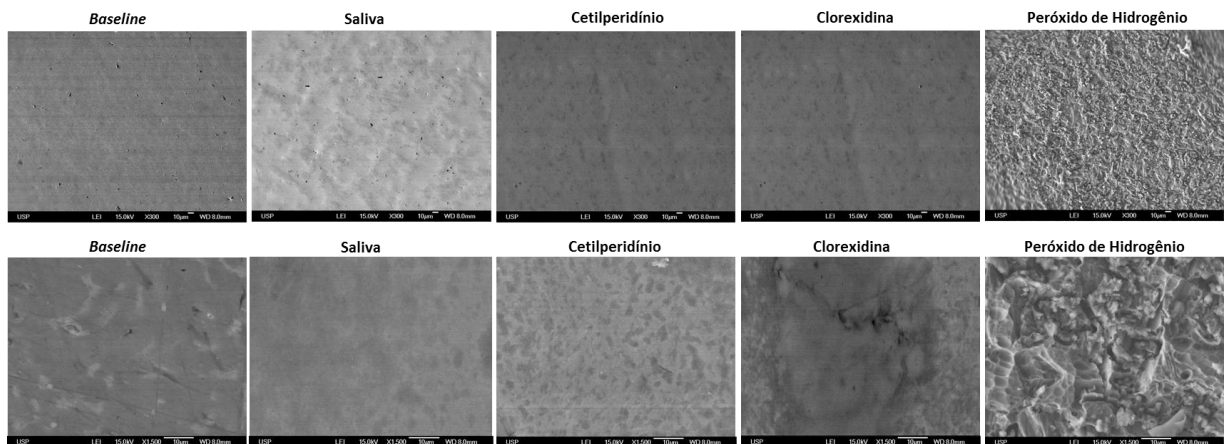


Figura 4 – Imagens do microscópio eletrônico de varredura (300x e 1500x) da liga Ti-6Al-4V antes e após a corrosão (14 dias) para todos os grupos testados.

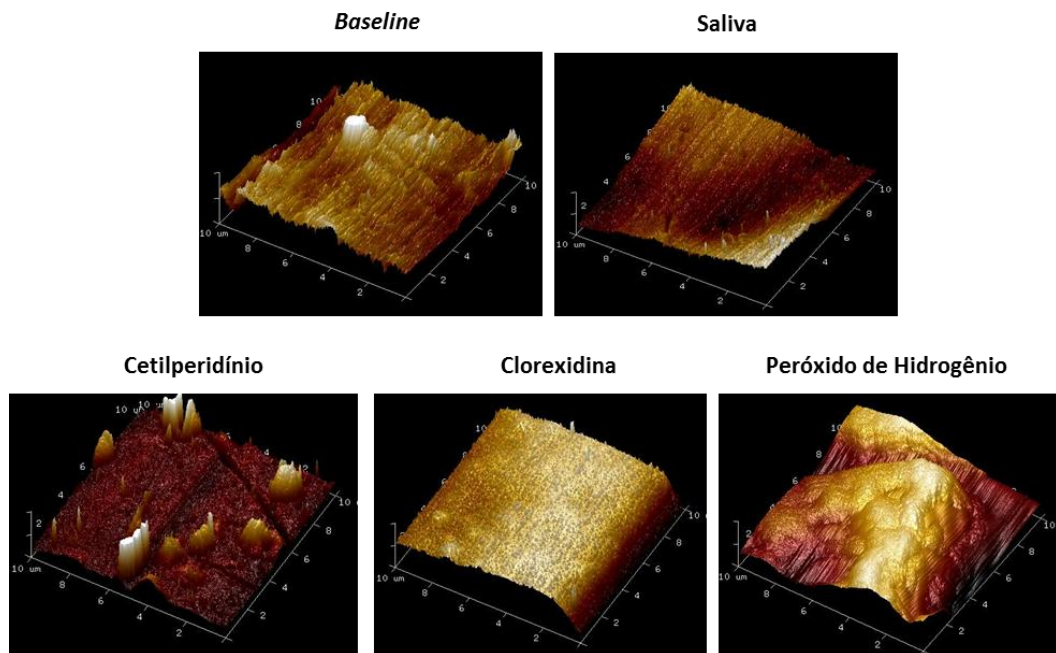


Figura 5 – Imagens 3D da microscopia de força atômica da liga Ti-6Al-4V antes e após a corrosão (14 dias) para todos os grupos testados.

Quanto à alteração de massa dos discos de liga Ti-6Al-4V no período inicial e após os 14 dias de imersão nas soluções, notou-se pequeno aumento da massa para a saliva artificial e clorexidina, porém sem diferenças estatísticas ($P > 1,000$, ANOVA). Uma discreta

perda de massa foi observada para o cetilpiridínio ($P>1,000$, ANOVA) e a maior perda de massa para o peróxido de hidrogênio, na comparação com todas as demais soluções (peróxido *versus* cetilpiridínio $P=0,020$; peróxido *versus* clorexidina $P=0,014$; peróxido *versus* saliva $P=0,015$) (Figura 6).

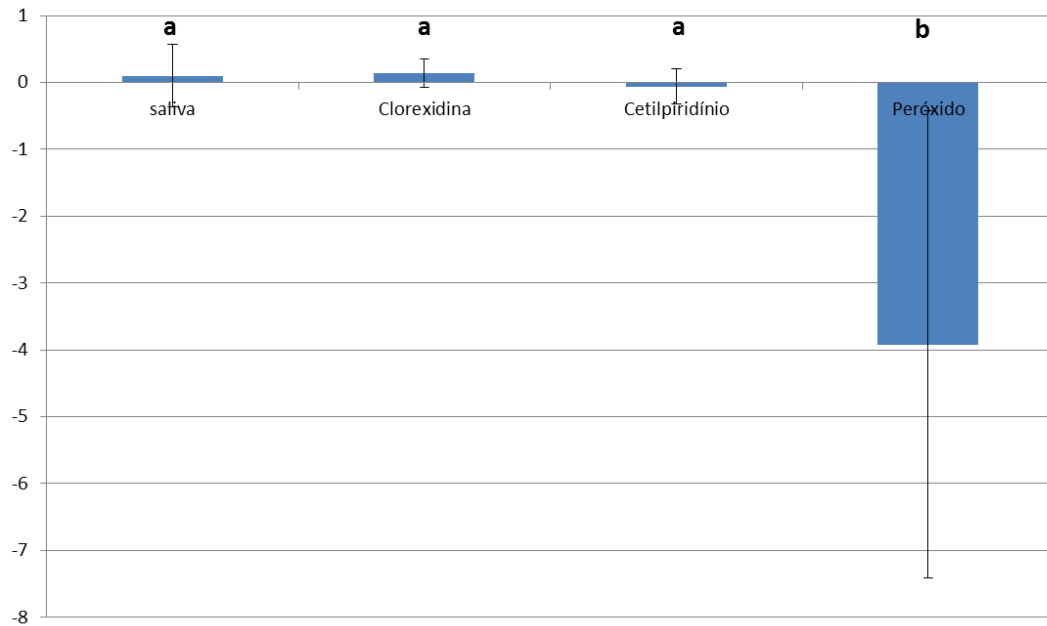


Figura 6 – Alteração da massa em gramas dos discos de liga Ti-6Al-4V nos dois momentos do experimento (inicial e após 14 dias de imersão) para todos os grupos testados.

*letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($P<0,05$).

5. Discussão

A hipótese apresentada pelo estudo que os enxaguatórios bucais iriam diminuir a resistência corrosiva da liga Ti-6Al-4V em comparação à saliva artificial foi parcialmente aceita. A diminuição da R_p e aumento da C_{dl} , principalmente na avaliação inicial para o peróxido de hidrogênio, mostra maior tendência à corrosão da liga Ti-6Al-4V. Enquanto que para os demais enxaguatórios, a cinética de corrosão foi similar comparada ao grupo controle representado pela saliva artificial.

A nobreza do Ti, bem como dos metais em geral, no tocante à corrosão, pode ser comprovada pela cinética de corrosão. Os valores de R_p e C_{dl} caracterizam as propriedades da camada de óxido formada na superfície do metal (2, 6). Espera-se que quando há aumento da R_p do material, ocorra uma diminuição da C_{dl} . Estes valores são inversamente proporcionais, tendo em vista que a R_p caracteriza a capacidade do metal em resistir à troca de íons com o ambiente eletrolítico e, a C_{dl} caracteriza a capacidade do metal em trocar íons com o ambiente eletrolítico (2). Deste modo, neste estudo foi observada diminuição da R_p e aumento da C_{dl} da liga Ti-6Al-4V na presença do peróxido de hidrogênio na concentração de 3%, no período inicial. Corroborado pelo plote de Bode, em que o peróxido de hidrogênio no período inicial reduziu o ângulo de fase para valores próximos de 20° , reafirmou a alta agressividade desta solução para a superfície da liga Ti-6Al-4V. Diante do nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho que investigou a cinética de corrosão da liga Ti-6Al-4V na presença do peróxido de hidrogênio em concentrações utilizadas como enxaguatório. Apesar da comprovada ação antimicrobiana deste enxaguatório no controle do biofilme bucal (16, 17, 21, 22), no que diz respeito à utilização no pós-operatório cirúrgico da instalação de implantes de Ti, está claramente contra-indicado, por seu potencial corrosivo.

Ainda no plote de Bode, foi observada duas constantes de tempo para o peróxido de hidrogênio. A formação de uma constante no ângulo de fase denota a formação de camada de óxido compacta, homogênea, portanto, protetora à superfície do Ti. Já as duas constantes de tempo no ângulo de fase, mostra a formação de uma camada de óxido porosa, susceptível à corrosão (29). Apesar de Mathew et al. (2012) (30) terem investigado o efeito da tribocorrosão do Ti na presença de lipopolissacarídeo (LPS), é possível estabelecer uma correlação com o nosso estudo, uma vez que o peróxido de hidrogênio promoveu alteração na camada de óxido numa avaliação estática da corrosão, provavelmente também influenciaria negativamente no comportamento tribocorrosivo do material. Sendo assim, novos estudos que investiguem o potencial tribocorrosivo do Ti na presença dos enxaguatórios bucais, devem ser realizados.

O efeito agressor do peróxido de hidrogênio na superfície do Ti foi explicado por Faverani et al. (2013) (7), os quais também observaram alterações microestruturais no Ti na presença do peróxido, porém em maiores concentrações (35%). Os autores inferiram que o mecanismo que justifica esta ação possivelmente está na capacidade de dissociação do peróxido numa reação unidirecional, na presença de luz e em temperatura elevada, próximo da temperatura da cavidade bucal. Sendo assim, o peróxido de hidrogênio torna-se mais ativo e ataca as superfícies de Ti, promovendo a deformação estrutural do material.

Com o passar do tempo, foi notado aumento do ângulo de fase para o peróxido de hidrogênio (80°), além do aumento dos valores de R_p . Esta observação nos faz afirmar que o ambiente eletrolítico adquire estabilidade, mesmo com o alto poder corrosivo do peróxido de hidrogênio. Com isso, a partir do momento que o metal torna-se mais estável, uma nova camada de óxido é formada, confirmando que o Ti é um bom metal para a confecção dos implantes dentários (2, 6, 30-33).

Para o cloreto de cetilpiridínio e digluconato de clorexidina, a cinética de corrosão representada pelo plote de Bode mostrou ângulo de fase próximo de 90° e com somente uma constante de tempo, semelhantemente ao grupo controle. Nestas condições, a liga Ti-6Al-4V manteve-se estável, com baixa susceptibilidade à corrosão. Em trabalhos anteriormente publicados (15, 25), os mesmos enxaguatórios também não apresentaram alterações na cinética de corrosão. Entretanto, Alves-Rezende et al. (2007) (15) observaram que o acréscimo de fluoreto de sódio reduziu as características protetoras do filme de óxido de Ti formada na superfície.

O aumento substancial da rugosidade média superficial da liga Ti-6Al-4V na presença do peróxido de hidrogênio foi corroborado pelas imagens de MEV (magnificações de 300x e 1500x), MFA, as quais mostraram destruição da microestrutura superficial do Ti, sugestivo de corrosão por pites ou frestas. Em contrapartida, as imagens tridimensionais e da MEV para o cetilpiridínio, clorexidina e saliva artificial foram similares quando comparados entre si e com as amostras que foram submetidas ao teste eletroquímico (*baseline*). O que está de acordo com o estudo de Alves-Rezende et al. (2007) (25). Por outro lado, Quaranta et al. (2010) (15) encontraram alterações no Ti sugestivos de corrosão por pites ou frestas quando na presença da clorexidina 0,2%. Esta inconsistência com o nosso trabalho, provavelmente ocorreu por causa na diferença das concentrações utilizadas, tendo em vista que utilizamos a clorexidina na concentração de 0,12%, comercialmente disponível.

Clinicamente, o aumento da rugosidade do material após o contato com soluções presentes no ambiente eletrolítico pode provocar maior afinidade com o biofilme bucal (34), aumentando a propensão às periimplantites (35) e, culminar na falha do tratamento reabilitador. O discreto aumento da Ra da liga Ti-6Al-4V para a clorexidina e cetilperidínio pode ser explicado pela incrustação dos componentes dos enxaguatórios ao longo do tempo.

Outro fator analisado nesta pesquisa é importante para a longevidade do tratamento com os implantes de Ti foi a perda de massa das amostras de liga Ti-6Al-4V. O valor negativo mostra perda de massa do material, o que foi claramente evidenciado para o peróxido de hidrogênio (Figura 6). A menor capacidade protetora da camada de óxido passiva da superfície da liga Ti-6Al-4V pode induzir maior liberação de íons de Ti e, conseqüentemente, diminuir a massa do metal (30, 36). Esse achado corrobora com as imagens do MEV.

A principal limitação deste estudo é a condição estática avaliada por meio da cinética de corrosão. Na cavidade bucal, os fluidos presentes estão constantemente em trânsito e submetidos a diferentes oscilações térmicas e mecânicas (37). Sendo assim, estudos futuros que avaliem o Ti em contato com os enxaguatórios bucais por meio da tribocorrosão, devem ser realizados. Além disso, o tratamento de superfície nos implantes dentários de Ti é uma realidade clínica. Dentre as características adicionais com o condicionamento superficial dos implantes, destaca-se a maior resistência mecânica e à corrosão (38, 39). Portanto, novos estudos que avaliem a cinética de corrosão e tribocorrosão do Ti com modificações na superfície na presença dos enxaguatórios bucais, devem ser realizados.

6. Conclusões

Dentro dos limites apresentados por este estudo *in vitro*, pode-se concluir que:

1. O peróxido de hidrogênio 3% diminuiu a resistência à corrosão da liga Ti-6Al-4V no período inicial;
2. O cloreto de cetilpiridínio 0,053% e a clorexidina 0,12% não alterou a cinética de corrosão da liga Ti-6Al-4V;
3. Portanto, o peróxido de hidrogênio a 3% está contra-indicado no pós-operatório de instalação de implantes de Ti enquanto que o cloreto de cetilpiridínio e a clorexidina 0,12% podem ser utilizados no pós-operatório dos implantes dentários.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento desta pesquisa, por meio de auxílio regular (processo número 2011/20021-7). E também agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)/PIBIC pela concessão da bolsa de iniciação científica a autora Maria Flávia Araújo Pires (processo número 120232/2013-8).

Referências

1. Ivanoff CJ, Hallgren C, Widmark G, Sennerby L, Wennerberg A. Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂ blasted and turned titanium microimplants in humans. *Clin Oral Implants Res.* 12. Denmark2001. p. 128-34.
2. Barao VA, Mathew MT, Assuncao WG, Yuan JC, Wimmer MA, Sukotjo C. Stability of cp-Ti and Ti-6Al-4V alloy for dental implants as a function of saliva pH - an electrochemical study. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(9):1055-62.
3. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1977;16:1-132.
4. Cortada M, Giner L, Costa S, Gil FJ, Rodriguez D, Planell JA. Galvanic corrosion behavior of titanium implants coupled to dental alloys. *J Mater Sci Mater Med.* 11. United States: 2000 Kluwer Academic Publishers; 2000. p. 287-93.
5. Schiff N, Grosogeat B, Lissac M, Dalard F. Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys. *Biomaterials.* 2002;23(9):1995-2002.
6. Barao VA, Mathew MT, Assuncao WG, Yuan JC, Wimmer MA, Sukotjo C. The role of lipopolysaccharide on the electrochemical behavior of titanium. *J Dent Res.* 90. United States2011. p. 613-8.
7. Faverani LP, Barao VA, Ramalho-Ferreira G, Ferreira MB, Garcia-Junior IR, Assuncao WG. Effect of bleaching agents and soft drink on titanium surface topography. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013.
8. Nikolopoulou F. Saliva and dental implants. *Implant Dent.* 15. United States2006. p. 372-6.
9. Mareci D, Chelariu R, Dan I, Gordin DM, Gloriant T. Corrosion behaviour of beta-Ti20Mo alloy in artificial saliva. *J Mater Sci Mater Med.* 2010;21(11):2907-13.

10. Correa CB, Pires JR, Fernandes-Filho RB, Sartori R, Vaz LG. Fatigue and fluoride corrosion on *Streptococcus mutans* adherence to titanium-based implant/component surfaces. *J Prosthodont*. 18. Denmark 2009. p. 382-7.
11. de Waal YC, Raghoobar GM, Huddleston Slater JJ, Meijer HJ, Winkel EG, van Winkelhoff AJ. Implant decontamination during surgical peri-implantitis treatment: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2013;40(2):186-95.
12. Gunsolley JC. Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. *J Dent*. 2010;38 Suppl 1:S6-10.
13. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc*. 2006;137(12):1649-57.
14. Pizzo G, Guiglia R, Imburgia M, Pizzo I, D'Angelo M, Giuliana G. The effects of antimicrobial sprays and mouthrinses on supragingival plaque regrowth: a comparative study. *J Periodontol*. 2006;77(2):248-56.
15. Quaranta A, Ronconi LF, Di Carlo F, Voza I, Quaranta M. Electrochemical behaviour of titanium in ammine and stannous fluoride and chlorhexidine 0.2 percent mouthwashes. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2010;23(1):335-43.
16. Hoenderdos NL, Rosema NA, Slot DE, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. The influence of a hydrogen peroxide and glycerol containing mouthrinse on plaque accumulation: a 3-day non-brushing model. *Int J Dent Hyg*. 2009;7(4):294-8.
17. Gosau M, Hahnel S, Schwarz F, Gerlach T, Reichert TE, Burgers R. Effect of six different peri-implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(8):866-72.
18. Wicht MJ, Haak R, Lummert D, Noack MJ. Treatment of root caries lesions with chlorhexidine-containing varnishes and dentin sealants. *Am J Dent*. 2003;16 Spec No:25a-30a.

19. Marinone MG, Savoldi E. Chlorhexidine and taste. Influence of mouthwashes concentration and of rinsing time. *Minerva Stomatol.* 2000;49(5):221-6.
20. Sreenivasan PK, Haraszthy VI, Zambon JJ. Antimicrobial efficacy of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthrinses. *Lett Appl Microbiol.* 2013;56(1):14-20.
21. Hossainian N, Slot DE, Afennich F, Van der Weijden GA. The effects of hydrogen peroxide mouthwashes on the prevention of plaque and gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* 2011;9(3):171-81.
22. Rosema NA, Timmerman MF, Versteeg PA, van Palenstein Helderma WH, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Comparison of the use of different modes of mechanical oral hygiene in prevention of plaque and gingivitis. *J Periodontol.* 2008;79(8):1386-94.
23. Horwitz J, Machtei EE, Zuabi O, Peled M. Amine fluoride/stannous fluoride and chlorhexidine mouthwashes as adjuncts to single-stage dental implants: a comparative study. *J Periodontol.* 2005;76(3):334-40.
24. Strietzel R, Hosch A, Kalbfleisch H, Buch D. In vitro corrosion of titanium. *Biomaterials.* 19. England1998. p. 1495-9.
25. Alves Rezende MC, Alves AP, Codaro EN, Dutra CA. Effect of commercial mouthwashes on the corrosion resistance of Ti-10Mo experimental alloy. *J Mater Sci Mater Med.* 2007;18(1):149-54.
26. Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Oda Y. Corrosion behavior and surface characterization of titanium in solution containing fluoride and albumin. *Biomaterials.* 2005;26(8):829-37.
27. Mabileau G, Bourdon S, Joly-Guillou ML, Filmon R, Basle MF, Chappard D. Influence of fluoride, hydrogen peroxide and lactic acid on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Acta Biomater.* 2006;2(1):121-9.

28. Lelli M, Marchisio O, Foltran I, Genovesi A, Montebugnoli G, Marcaccio M, et al. Different corrosive effects on hydroxyapatite nanocrystals and amine fluoride-based mouthwashes on dental titanium brackets: a comparative in vitro study. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:307-14.
29. Souza ME, Lima L, Lima CR, Zavaglia CA, Freire CM. Effects of pH on the electrochemical behaviour of titanium alloys for implant applications. *J Mater Sci Mater Med*. 2009;20(2):549-52.
30. Mathew MT, Barao VA, Yuan JC, Assuncao WG, Sukotjo C, Wimmer MA. What is the role of lipopolysaccharide on the tribocorrosive behavior of titanium? *J Mech Behav Biomed Mater*. 2012;8:71-85.
31. Messer RL, Tackas G, Mickalonis J, Brown Y, Lewis JB, Wataha JC. Corrosion of machined titanium dental implants under inflammatory conditions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;88(2):474-81.
32. Messer RL, Seta F, Mickalonis J, Brown Y, Lewis JB, Wataha JC. Corrosion of phosphate-enriched titanium oxide surface dental implants (TiUnite) under in vitro inflammatory and hyperglycemic conditions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;92(2):525-34.
33. Yang CH, Wang YT, Tsai WF, Ai CF, Lin MC, Huang HH. Effect of oxygen plasma immersion ion implantation treatment on corrosion resistance and cell adhesion of titanium surface. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(12):1426-32.
34. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in a constant depth film fermentor. *J Appl Microbiol*. 2001;91(1):47-53.

35. Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(3):201-11.
36. Fernandes AC VF, Ariza E, Rocha LA, Ribeiro ARL, Vieira AC et al. Tribocorrosion behavior of plasma nitrited and plasma nitrited plus oxidised Ti-6Al-4V alloy. *Surf Coat Technol*2006. p. 6218-24.
37. Nakagawa M, Matsuya S, Udoh K. Effects of fluoride and dissolved oxygen concentrations on the corrosion behavior of pure titanium and titanium alloys. *Dent Mater J.* 2002;21(2):83-92.
38. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 20 Suppl 4. Denmark2009. p. 172-84.
39. Gottfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. A study in the dog (II). *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(3):196-201.

