

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARCELLY ANNY GONÇALVES DE OLIVEIRA

IMPACTO DA OXIDAÇÃO ANÓDICA NA ADESÃO DE MICRORGANISMOS E
CÉLULAS SANGUÍNEAS: UMA ANÁLISE COMPARATIVA DE TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS

PONTA GROSSA
2024

MARCELLY ANNY GONÇALVES DE OLIVEIRA

IMPACTO DA OXIDAÇÃO ANÓDICA NA ADESÃO DE MICRORGANISMOS E
CÉLULAS SANGUÍNEAS: UMA ANÁLISE COMPARATIVA DE TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em investigação laboratorial, pré-clínica e clínica de doenças.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Shelon Cristina Souza Bandeca.

Co-orientador: Prof. Dr^o. Luis Antonio Pinheiro.

PONTA GROSSA
2024

O48

Oliveira, Marcelly Anny Gonçalves de

Impacto da oxidação anódica na adesão de microrganismos e células sanguíneas: uma análise comparativa de tratamentos de superfície de implantes dentários / Marcelly Anny Gonçalves de Oliveira. Ponta Grossa, 2024.

65 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Atenção Interdisciplinar em Saúde), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Shelon Cristina Souza Bandeca.

Coorientador: Prof. Dr. Luis Antonio Pinheiro.

1. Implante dental. 2. Propriedades - superfície. 3. Titânio. 4. Osseointegração. 5. Bactérias. I. Bandeca, Shelon Cristina Souza. II. Pinheiro, Luis Antonio. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atenção Interdisciplinar em Saúde. IV.T.

CDD: 617.6

MARCELLY ANNY GONÇALVES DE OLIVEIRA

IMPACTO DA OXIDAÇÃO ANÓDICA NA ADESÃO DE MICRORGANISMOS E
CÉLULAS SANGUÍNEAS: UMA ANÁLISE COMPARATIVA DE TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre na Universidade Estadual de Ponta
Grossa, do Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde, área de concentração em
investigação laboratorial, pré-clínica e clínica de
doenças.

Ponta Grossa, 30 de julho de 2024.

Documento assinado digitalmente



SHELON CRISTINA SOUZA BANDECA

Data: 30/07/2024 16:36:05-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Shelon Cristina Souza Bandeca – Orientadora

Doutora em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Documento assinado digitalmente



PAULO CESAR SOARES JUNIOR

Data: 30/07/2024 17:30:13-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Paulo César Soares Junior – Membro Titular da Banca

Pós-doutor em Física pela Universidade Federal do Paraná

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Documento assinado digitalmente



EDUARDO BAUML CAMPAGNOLI

Data: 30/07/2024 20:11:19-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Eduardo Bauml Campagnoli – Membro Titular da Banca

Doutor em Estomatopatologia pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas

Universidade Estadual de Ponta Grossa

“Não sei por que você se foi
Quantas saudades eu senti
E de tristezas vou viver
E aquele adeus não pude dar...”

- Tim Maia

Saudade, meu amigo, Florian Strasburger.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois Ele que me sustentou e me deu forças para chegar até aqui e realizar esse sonho. Cada dia que passa tenho mais certeza da sua ação em minha vida.

Aos meus queridos pais, Marcelo e Léia, que vieram preparando o meu caminho, desde que eu nasci, para que esse dia enfim chegasse; e ao Hermeson e a Márcia (*in memoriam*) que também fizeram esse papel em vários momentos da minha vida. Sem vocês, nada disso seria possível. Eu os amo muito!

À minha irmã, Thiellen, que desde muito jovem tomou para si a responsabilidade de cuidar de mim. Muito obrigada por sempre ser minha parceira.

Para meu cunhado e melhor amigo, Florian (*in memoriam*). Muito obrigada por ter estado comigo em todos os momentos importantes da minha vida e ter me incentivado chegar até aqui. Eu te amarei para sempre.

Ao meu marido, Lucas, por sempre acreditar em mim e por fazer meus dias mais felizes.

Agradeço a minha orientadora, Prof. Dra. Shelon Cristina Souza Bandeca, primeiramente pela oportunidade de ser sua orientada, por me motivar a pesquisar e por ser um exemplo de humildade e dedicação para mim.

Agradeço ao meu coorientador, Prof. Dr. Luis Antonio Pinheiro, por todo conhecimento científico transmitido durante esses dois anos.

Agradeço ao Prof. Dr. Gelson Biscaia, por me auxiliar realizando o tratamento de superfície e me apresentar de forma muito leve uma nova área, a Física.

Agradeço a Jana do laboratório, por me ajudar organizando todos os materiais e por me ensinar a utilizar alguns aparelhos. Sua ajuda foi essencial.

Por fim, a empresa S.I.N IMPLANT SYSTEM por ter disponibilizado todos os implantes conforme foram solicitados e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil, CAPES, por financiar essa pesquisa e torná-la realidade. Do fundo do coração, agradeço a todos, vocês foram essenciais nessa caminhada!

RESUMO

Na osseointegração dos implantes dentários, a adesão das células sanguíneas marca o início do processo de cicatrização, enquanto a adesão de microrganismos pode indicar o potencial desenvolvimento de doenças peri-implantares. O tipo de tratamento de superfície aplicado exerce um papel crucial nessas dinâmicas. Neste estudo, foi avaliado implantes de titânio usinados sem tratamento de superfície, submetidos a duplo ataque ácido, duplo ataque ácido com camada de hidroxiapatita (HANano), e oxidação anódica, comparando sua capacidade de aderência de microrganismos e células sanguíneas. A oxidação anódica foi conduzida em colaboração com o departamento de física da UEPG. Para avaliar a aderência de *Pseudomonas aeruginosa*, foram realizadas análises de formação de biofilme e espectrofotometria. Quanto à aderência de células sanguíneas, procedimentos com etapas de aderência e análise por microscopia eletrônica de varredura. A análise estatística utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis indicou ausência de diferença significativa entre os grupos em relação à adesão de microrganismos, porém, observou-se uma diferença significativa na adesão de células sanguíneas para o grupo submetido à oxidação anódica ($p=0,04$). Concluímos que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à adesão de microrganismos, mas há diferença significativa na adesão de células sanguíneas. Estudos futuros devem continuar a explorar e compreender essas complexas interações para promover o avanço no desenvolvimento de materiais mais seguros, eficazes e sustentáveis. O design de implantes com superfícies que promovam a osseointegração e inibam a adesão e crescimento bacteriano é de suma importância.

Palavras-chave: Implante dental, propriedades de superfície, titânio, osseointegração, bactérias.

ABSTRACT

In dental implant osseointegration, the adhesion of blood cells marks the beginning of the healing process, whereas the adhesion of microorganisms may indicate potential development of peri-implant diseases. The type of surface treatment applied plays a crucial role in these dynamics. In this study, we investigated titanium implants: machined untreated surfaces, surfaces subjected to double acid etching, double acid etching with hydroxyapatite layer (HANano), and anodic oxidation. We compared their ability to adhere microorganisms and blood cells. Anodic oxidation was conducted in collaboration with the physics department at UEPG. For *Pseudomonas aeruginosa* adhesion evaluation, biofilm formation analyses and spectrophotometry were performed. Regarding blood cell adhesion, procedures included adhesion steps and analysis by scanning electron microscopy. Statistical analysis using the Kruskal-Wallis non-parametric test indicated no significant difference among groups regarding microorganism adhesion. However, a significant difference was observed in blood cell adhesion for the anodic oxidation group ($p=0.04$). We conclude that there is no statistically significant difference among groups in microorganism adhesion, but there is a significant difference in blood cell adhesion. Future studies should further explore and understand these complex interactions to advance the development of safer, more effective, and sustainable materials. Designing implants with surfaces that promote osseointegration and inhibit bacterial adhesion and growth is of paramount importance.

Keywords: Dental implants, surface properties, titanium, osseointegration, bacteria.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Superfície usinada	22
FIGURA 2 - Superfície de plasma spray	23
FIGURA 3 - Tratamento por jateamento de partículas	23
FIGURA 4 - Superfície tratada por jateamento associada ao ataque ácido	24
FIGURA 5 - Superfície tratada com ataque ácido	25
FIGURA 6 - Superfície por oxidação anódica.....	25
FIGURA 7 - Implante antes do tratamento	32
FIGURA 8 - Sistema pronto para o processo	32
FIGURA 9 - Implante posicionado no sistema.....	32
FIGURA 10 - Implante após o tratamento de superfície finalizado.....	32
FIGURA 11 - Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície OA em aumento de 17x	33
FIGURA 12 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante com tratamento de superfície oxidação anódica (OA) em aumento de 60x	33
FIGURA 13 - Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície OA em aumento de 10000x	33
FIGURA 14 - Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície OA em aumento de 20000x	33
FIGURA 15 - Fluxograma dos grupos com os respectivos testes avaliados	34
FIGURA 16 - Controles negativos (CN) ANTES de serem colocados na estufa bacteriológica	36
FIGURA 17 - Implantes durante as lavagens	37
FIGURA 18 - Implantes na luz ultravioleta	37
FIGURA 19 - Implantes preparados.....	38
FIGURA 20- Implantes submersos no sangue.....	38
FIGURA 21 - Implantes imersos em tampão fosfatado (PBS).....	38
FIGURA 22 - Implantes dentro do dessecador à vácuo	38
FIGURA 23 - Índice de adesão de células sanguíneas	40
FIGURA 24 - Grupo usinado após 24 horas na estufa.....	41
FIGURA 25 - Grupo duplo ataque ácido após 24 horas na estufa	41
FIGURA 26 - Grupo HANano após 24 horas na estufa	42

FIGURA 27 - Grupo oxidação anódica após 24 horas na estufa.....	42
FIGURA 28 - Controles negativos (CN) após 24 horas na estufa bacteriológica	43
FIGURA 29 - Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície U em aumento de 500x e 2000x	45
FIGURA 30 - Fotomicrogradias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície de duplo ataque ácido (DAA) em aumento de 500x e 2000x.....	46
FIGURA 31 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante com tratamento de superfície HANano (HN) em aumento de 500x e 2000x	47
FIGURA 32 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante com tratamento de superfície oxidação anódica (OA) em aumento de 500x e 2000x	48

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Mediana dos valores encontrados para os quatro grupos avaliados.....	44
GRÁFICO 2 – Mediana dos valores encontrados para os quatro grupos avaliados.....	50

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Tipos de tratamento de superfície utilizados com sua plataforma protética, diâmetro/comprimento correspondente.....	30
QUADRO 2 – Sequência da lavagem e fixação das amostras.....	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Valores encontrados no espectrofotômetro para todas as amostras de cada

grupo.....45

TABELA 2 - Valor de "p" encontrado pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para os quatro grupos avaliados.....45

TABELA 3 - Valores determinados pelo examinador para cada grupo avaliado.....51

TABELA 4 - Valor de "p" encontrado pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para os quatro grupos avaliados51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ra	rugosidade de superfície
PDGF	fator de crescimento derivado das plaquetas
TGF- β	fator de crescimento transformador beta
PEO	plasma electrolytic oxidation)
MAO	micro-arc oxidation
Ti	titânio
HA	hidroxiapatita
CM	cone morse
U	usinado
DAA	duplo ataque ácido
HN	HANano
OA	oxidação anódica
MEV	microscopia electronica de varredura
N	amostra
UEPG	universidade estadual de Ponta Grossa
PBS	tampão fosfatado
CN	controle negativo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
h	hora
μm	micrômetro
≤	menor ou igual a
pH	potencial hidrogeniônico
kV	quilovolt
mL	mililitro
P	potência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	18
3	REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1	OSSEOINTEGRAÇÃO	19
3.2	TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE.....	21
3.3	ADESÃO DOS MICRORGANISMOS.....	26
3.4	ADESÃO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS.....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	IMPLANTES	30
4.2	TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE.....	30
4.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	34
4.4	FORMAÇÃO DO BIOFILME.....	35
4.5	ADESÃO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS.....	37
4.6	TESTE ESTATÍSTICO.....	40
5	RESULTADOS.....	41
5.1	ADESÃO DE MICRORGANISMOS	41
5.2	ADESÃO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS.....	44
6	DISCUSSÃO.....	51
7	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS	57
	APÊNDICE A – PARECER DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA.....	62
	APÊNDICE B – HEMOGRAMA COMPLETO DO VOLUNTÁRIO.....	63
	APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	64

1 INTRODUÇÃO

Os implantes osseointegráveis são uma alternativa segura e previsível para a reabilitação de pacientes edêntulos totais ou parciais, apresentando significativos índices de sucesso, permitindo a recuperação satisfatória da mastigação, fonação e estética (Chiapasco; Romeu, 2007; Ferreira; Lourenço; Melo et al., 2021). A osseointegração pode ser definida como uma cicatrização óssea que ocorre por meio da união do osso alveolar com a superfície de titânio do implante (Santos et al., 2021; Shiya; Figueiredo, 2021).

A osseointegração é dependente de características como a forma do implante (macroscópica e microscópica), qualidade do material de fabricação (apesar de haver a zircônia, o titânio é o padrão ouro, apresentando características superficiais que interferem no processo de osseointegração proporcionando biocompatibilidade e força) superfície e sua interação químico-biológica com o tecido ósseo e mínimo de rugosidade para que ocorra a adesão biomecânica, visto que o grau da rugosidade influencia diretamente na adesão. A análise desses fatores guiará escolhas clínicas adequadas, propiciando melhor qualidade e rapidez à osseointegração (Freitas et al., 2017; Palmquist et al., 2010; Neto; Bacelar, 2019; Abreu et al., 2021). O titânio é um metal usado para implantes dentários devido à sua resistência física e mecânica, resistência à corrosão, estabilidade química e alta biocompatibilidade (Aneksomboonpol et al., 2023).

O tratamento da superfície do implante dentário tem por objetivo melhorar a fixação do implante favorecendo a integração óssea, pois a rugosidade, topografia e composição química podem aumentar a área de contato entre implante e osso, o que melhora a osseointegração (Marino et al., 2021). O tratamento de superfície possui como objetivos: redução do tempo da reabilitação após a cirurgia, aceleração do crescimento e da maturação óssea para permitir a reabilitação imediata, aumento da estabilidade primária, garantia do sucesso dos implantes quando instalados em regiões que apresentam um osso com qualidade e quantidade menores, obtenção do crescimento ósseo diretamente na superfície do implante, maior área possível de osseointegração, aumento de ligações químicas iônicas e covalentes, maior contato osso-implante sem a interposição de camadas proteicas amorfas, atração de células e proteínas de ligação específicas para

células osteogênicas, obtenção de maior concentração possível de proteínas de ligação celular e potencialização da interação bioquímica entre o implante e o tecido vivo (Neto; Bacelar, 2019; Bispo et al., 2020).

Os processos de tratamento de superfície podem ser divididos em métodos de adição, quando acrescentam algo à superfície do implante ou de subtração, que ocorre a remoção de parte da camada superficial por meio de um processo controlado ou pela associação entre as técnicas (Silva et al., 2016).

No método de adição, é depositado uma camada que produz porosidades e rugosidades sobre a superfície. Temos como exemplo a anodização e o spray de plasma (Souza et al., 2016; Abreu et al., 2021). O método de subtração, baseia-se na remoção de material da superfície, criando-se pequenas erosões, como é o caso do ataque ácido e corrosão por jateamento de partículas abrasivas como o óxido de alumínio, silício ou titânio (Joly; Lima, 2003; Brandão et al., 2010; Souza et al., 2014).

Para que ocorra a osseointegração é necessário que as células sanguíneas entrem em contato com a superfície do implante, ocorrendo respostas celulares que estimularão a formação de osso na superfície do implante. Como há este contato com coágulo do sangue, proteínas presentes, plaquetas e fibrinogênio, formam uma rede de fibrina na superfície de óxido de titânio. As mudanças nos níveis de citocinas e quimiocinas criarão microambientes únicos e afetarão várias vias de sinalização (Andrade, 2017; Silva, 2016).

Dessa forma, haverá uma interação inicial caracterizada pela adesão de plaquetas e fibrinogênio na superfície do implante. Assim, a adesão de células osteogênicas ocorre em uma camada de óxido de titânio modificada pelas células sanguíneas. Após a aposição de células sobre a superfície do implante, a deposição e posterior mineralização de matriz óssea são iniciadas (Neto; Bacelar, 2019; Feng et al., 2021). Portanto, os tratamentos de superfície em implantes tornam a superfície mais rugosa, sendo este um dos fatores que auxiliam na osseointegração.

Embora os tratamentos de superfície sejam fundamentais para uma adequada fixação do implante, pouco se avalia em relação aos diferentes tratamentos e a presença de microrganismos, já que as roscas de implantes podem ser expostas por diversos fatores, como os hábitos de higiene bucal do indivíduo,

seu estado de saúde geral e local e as condições em que a cirurgia foi realizada (França, 2022).

A adesão de microrganismos, principalmente bactérias, à superfície dos implantes dentários pode desencadear a formação de biofilmes, que são comunidades microbianas organizadas. Esses biofilmes têm o potencial de causar infecções peri-implantares, que se caracterizam por inflamação, perda óssea e podem comprometer a longevidade dos implantes (Bispo, 2019; Souza et al., 2021; Cervino et al., 2021).

Essas infecções podem ser de difícil tratamento, pois em casos graves, podem levar à necessidade de remoção do implante e representam uma das principais complicações que podem afetar adversamente o processo de osseointegração (Renvert et al., 2021).

É importante observar que, embora a rugosidade da superfície seja desejável para promover a osseointegração, essa mesma rugosidade não deve ser atrativa para microrganismos oportunistas. Idealmente, essas superfícies devem ser projetadas para otimizar a resposta biológica, minimizando o risco da adesão bacteriana indesejada (Renvert et al., 2021; Busscher et al., 2012).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a aderência de microrganismos e células sanguíneas em implantes de titânio submetidos ao tratamento de superfície de oxidação anódica em comparação as superfícies de duplo ataque ácido, HANano e usinado.

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar o grau de retenção de microrganismos em implantes de titânio submetidos ao tratamento de superfície de oxidação anódica em comparação as superfícies de duplo ataque ácido, HANano e usinado.
- Analisar a adesão de células sanguíneas em implantes de titânio submetidos ao tratamento de superfície de oxidação anódica em comparação as superfícies de duplo ataque ácido, HANano e usinado.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Os implantes dentários têm se consolidado com uma abordagem confiável para substituição de dentes ausentes ou perdidos, melhorando significativamente a qualidade de vida dos pacientes. Um aspecto crucial no sucesso a longo prazo desses implantes é a otimização da sua superfície, a fim de promover uma interação biológica eficaz entre o implante e o tecido ósseo circundante (Ferreira; Neto; Souto, 2019).

Atualmente, existem cerca de 1300 sistemas de implantes diferentes, variando em forma, dimensão, material de volume e superfície, design de rosca, conexão implante-componente, topografia, química, umidade e modificação de superfície. As formas comuns do implante são cilíndricas ou cônicas (Silva et al., 2016). Características da superfície como topografia, molhabilidade e revestimentos contribuem para os processos biológicos durante a osseointegração determinando a interação direta com os osteoblastos do hospedeiro na formação óssea (Smeets et al., 2016).

3.1 OSSEOINTEGRAÇÃO

É um processo biológico estabelecido na Odontologia que se refere à integração estrutural e funcional entre a superfície do implante dentário e o osso adjacente do hospedeiro (Lucas et al., 2013). O processo de osseointegração é crucial para o sucesso dos implantes dentários, pois determina a estabilidade do implante no osso e sua capacidade de suportar cargas funcionais, como a mastigação. Basicamente, a osseointegração causa uma união sólida e estável entre o implante e o osso, oferecendo estabilidade e durabilidade às reabilitações bucais (Martins et al., 2011).

O processo de osseointegração começa após a cirurgia de instalação do implante no osso alveolar. Durante a fase inicial de cicatrização, ocorre a formação de um coágulo sanguíneo, seguido pelo recrutamento de células inflamatórias e células osteogênicas (Pyo et al., 2021). Essas células ósseas, como os osteoblastos, começam a colonizar a superfície do implante. Com o tempo, ocorre a proliferação e diferenciação dessas células ósseas, levando à formação de tecido

ósseo novo diretamente na superfície do implante. Esse novo osso é depositado de maneira organizada, criando uma interface sólida e permanente entre o osso e o implante (Branemark, 1977).

Existem vários fatores que influenciam na qualidade e no sucesso da osseointegração: (Martins et al., 2011; Lucas et al., 2013; Buser et al., 2004; Sul et al., 2005)

- Rugosidade da superfície: A rugosidade da superfície do implante tem um papel importante na osseointegração. Superfícies mais rugosas, causam uma melhor adesão e proliferação de células ósseas;
- Design do implante: O design do implante, incluindo sua forma e diâmetro, pode influenciar na distribuição de forças e, assim, afetar a osseointegração;
- Estado de saúde do paciente: A condição óssea do paciente na região da instalação do implante é muito importante. Pacientes com boa densidade óssea tendem a ter uma osseointegração mais eficaz;
- Técnicas cirúrgicas: A técnica cirúrgica utilizada, incluindo a preservação do osso circundante, é essencial para o sucesso da osseointegração.
- Fatores microbiológicos: Uma correta esterilização dos materiais cirúrgicos e adequação bucal prévia ao procedimento cirúrgico, previne possíveis infecções e contaminações que podem prejudicar a osseointegração no sítio de escolha.

A osseointegração bem-sucedida é essencial para garantir que os implantes dentários sejam estáveis, duráveis e capazes de suportar as cargas mastigatórias, permitindo uma reabilitação funcional e estética dos dentes ausentes.

Em geral, as taxas de sobrevivência a longo prazo dos implantes dentários são excelentes. No entanto, falhas de implante ainda ocorrem em uma pequena quantidade de pacientes. A falha primária do implante devido à osseointegração insuficiente ocorre em 1-2% dos pacientes nos primeiros meses (Silva; Carvalho; Júnior, 2023).

3.2 TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE

Os implantes precursores de Branemark, considerados como padrão-ouro, exibiam uma superfície lisa com uma rugosidade mínima entre 0,5 e 1,0 micrômetros (μm). Com os anos, novas pesquisas surgiram expondo que implantes com uma rugosidade aproximada de 1,5 micrômetros demonstravam uma resposta mais favorável do tecido ósseo em comparação com aqueles de superfície lisa (Silva, 2016; Branemark et al., 1981; Ilbrektsson et al., 1981; Buser et al., 2004). essas rugosidades aumentam a aderência celular e melhoram a proliferação e diferenciação de células ósseas (Jung et al., 2012).

O tratamento de superfície em implantes dentários é uma área importante na Odontologia, uma vez que influencia diretamente a osseointegração e, consequentemente, o sucesso dos implantes. O tratamento de superfície em implantes dentários envolve modificações físicas e químicas na superfície do implante a fim de promover uma interação mais eficaz entre o implante e o tecido ósseo circundante. A pesquisa de biomateriais sobre implantes dentários tem três objetivos terapêuticos: (1) aumentar a estabilização do implante, otimizando a osseointegração natural, (2) melhorar a integração dos tecidos moles peri-implantares e (3) reduzir a peri-implantite inibindo a adesão das bactérias à superfície do implante. Um critério importante é que o revestimento da superfície não deve se desintegrar durante a instalação do implante (Aneksomboonpol, 2023; Alves-Rezende et al., 2019).

Com o desenvolvimento na tecnologia de superfície do implante, o tempo de cicatrização foi encurtado de 12-24 semanas para 6-8 semanas. Além da estrutura do implante e da rugosidade da superfície, a molhabilidade da superfície do implante é uma característica essencial da osseointegração (Aneksomboonpol, 2023).

Geralmente, as modificações na superfície do implante alteram a topografia do material por macro, micro ou nanotexturização com ou sem a incorporação de compostos antimicrobianos (Souza et al., 2021).

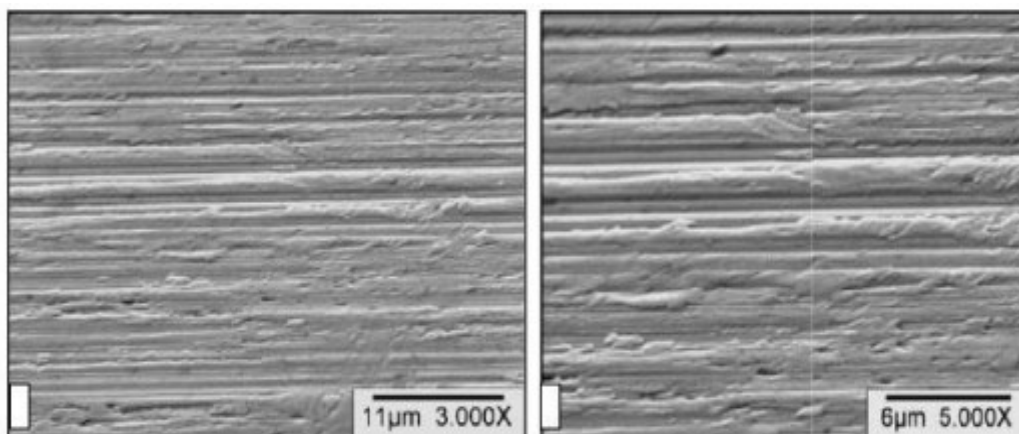
Diversos métodos têm sido desenvolvidos para a criação de superfícies em implantes dentários (Li et al., 2004). Além disso, estudos recentes têm focado na personalização das características de superfície para atender às necessidades

clínicas específicas. Isso inclui o desenvolvimento de superfícies antimicrobianas para prevenir infecções peri-implantares (Busscher et al., 2013).

A seguir, será listado alguns tratamentos de superfície e suas respectivas características:

- Superfícies usinadas – Esses implantes exibem pequenas ranhuras decorrentes do processo de sua fabricação, que facilitam o processo de mineralização óssea em sua superfície. No entanto, eles não apresentam uma superfície indutora e não são submetidos a tratamento químico ou mecânico, como visualizado na fig. 1. Desenvolve-se, assim, uma superfície anisotrópica, a qual desempenha o papel de estimular a adesão celular e a produção da matriz proteica. Os implantes usinados possuem uma média de rugosidade de superfície (R_a) situada entre 0,53 e 0,96 μm (Carvalho et al., 2008; Silva et al., 2016).

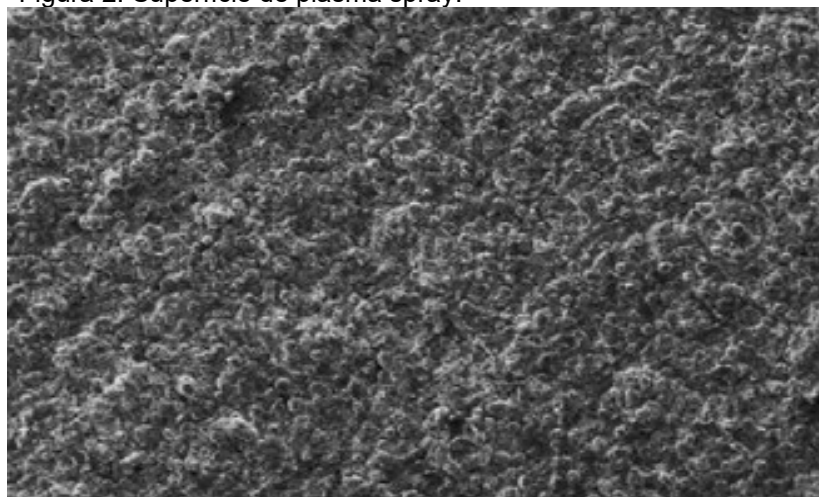
Figura 1. Superfície usinada.



Fonte: Elias et al., 2002.

- Plasma spray – Envolve o uso de uma chama ionizada gerada por um gás aquecido a temperaturas entre 10.000 °C e 30.000 °C. Partículas são expulsas em alta velocidade em direção à superfície do implante, como visto na fig. 2. Após o contato, essas partículas se resfriam e solidificam. O spray de plasma é empregado para depositar e incorporar titânio (Ti) e hidroxiapatita (HA) na superfície do implante. A espessura pode variar entre 10 a 70 μm (Carvalho et al., 2008; Silva et al., 2016).

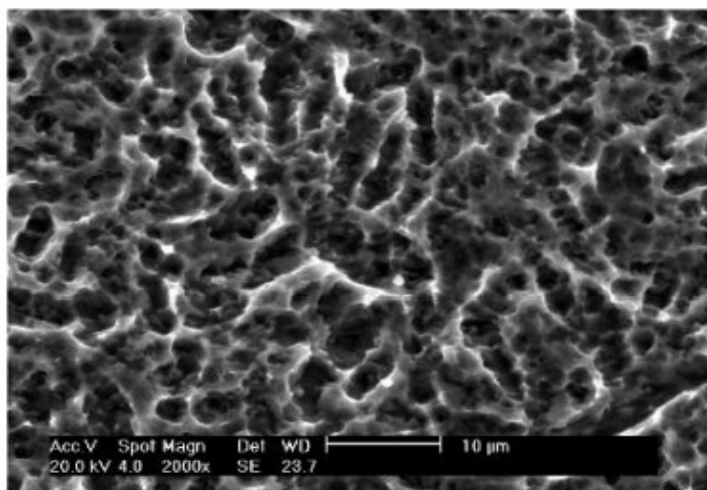
Figura 2. Superfície de plasma spray.



Fonte: Le Guéhennec et al., 2007.

- Jateamento de partículas – Nesse tratamento, a superfície é alterada através do bombardeamento com partículas de óxido de alumínio ou titânio, resultando na formação de depressões irregulares. Nesse processo, é essencial evitar a aderência das partículas ao implante, pois seu propósito é apenas criar irregularidades, como observado na fig. 3. A rugosidade é influenciada pelo tamanho das partículas, pela duração do procedimento e pela pressão aplicada no disparo (Silva et al., 2016).

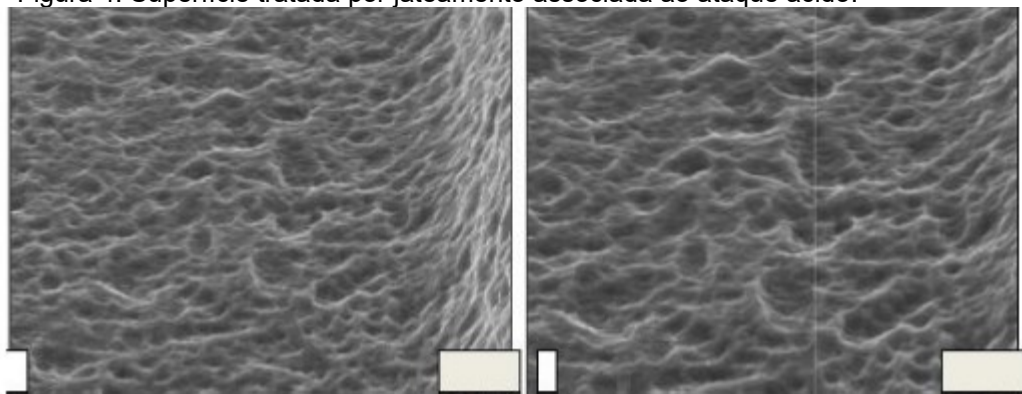
Figura 3. Tratamento por jateamento de partículas.



Fonte: Material institucional Neodent.

- Jateamento seguido de ataque ácido – A superfície é submetida a jatos de granulação mais espessa (250-500 μm), resultando na formação de macro rugosidades no implante, como visto na figura 4, seguido por um processo de ataque ácido, responsável pelo micro rugosidade. Os implantes são tratados com jateamento de areia seguido de ataque ácido e processados em uma atmosfera de nitrogênio (Silva et al., 2016).

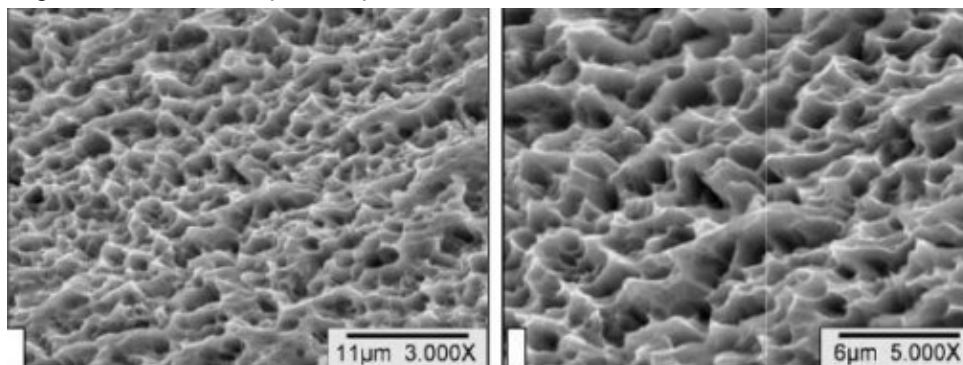
Figura 4. Superfície tratada por jateamento associada ao ataque ácido.



Fonte: Elias et al., 2002.

- Ataque ácido – Essa técnica envolve a imersão do implante em uma substância ácida, desencadeando erosões na sua estrutura. A microestrutura da superfície é fortemente influenciada pela concentração ácida, tempo de exposição e temperatura. Os ácidos mais utilizados o ácido sulfúrico e ácido hidrocloreídrico. Conforme indicado por Ciotti et al. em 2007, os implantes submetidos a esse tratamento apresentam alterações micromorfológicas em suas superfícies, resultando em maior área de contato com o osso mineralizado. Isso promove uma superfície rugosa, ampliando a resistência ao torque de remoção e favorecendo a deposição óssea (Silva et al., 2016).

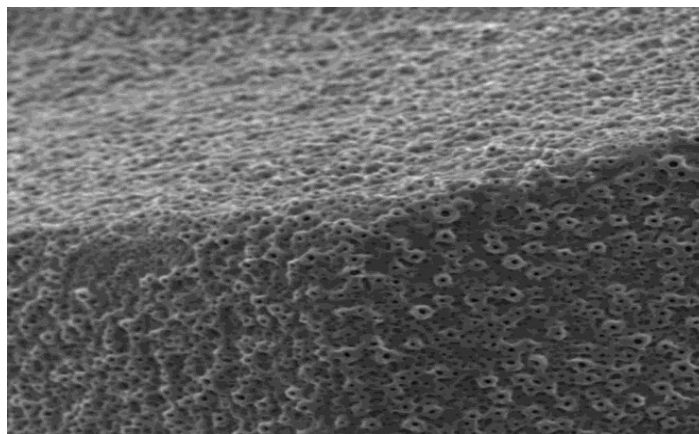
Figura 5. Tratamento por ataque ácido



Fonte: Elias et al., 2002.

- Anodização ou oxidação eletrolítica por plasma – Os implantes são submetidos a um processo em que uma camada adicional de óxido é formada, utilizando o próprio implante como ânodo. Ao aplicar um potencial elétrico ao implante, ocorrem reações de transferência de carga e íons. Com um controle adequado, o campo elétrico direciona o processo de oxidação no implante, resultando no aumento da espessura da camada de óxido de titânio. A ampliação dessa camada, juntamente com a introdução de outros elementos, como fosfato, intensifica a osseointegração. Essa superfície específica apresenta uma topografia única, sem características agudas, e possui uma excelente capacidade para reter líquidos e tecido ósseo. A camada de óxido adere fortemente ao metal subjacente, proporcionando ótima resistência ao desgaste e indicando um risco mínimo de liberação de partículas durante a inserção do implante. Sua espessura (que não é linear), forma uma camada de 2 a 3 micrometros (Silva et al., 2016).

Figura 5. Superfície por oxidação anódica



Fonte: autor (2023).

3.3 ADESÃO DE MICRORGANISMOS

Os implantes se tornaram a escolha para reabilitar os pacientes que sofrem com a ausência de elementos dentários. Mesmo tendo uma alta taxa de sucesso, as falhas ainda ocorrem e um dos motivos é o aumento das infecções causadas por biofilme (Kang et al., 2019). O uso de implantes dentários de titânio tem mudado a maneira de reabilitar pacientes na odontologia moderna e pode contar com altas taxas de sobrevivência e sucesso a longo prazo (Annunziata; Guida, 2015). No entanto, mesmo que o titânio seja um material biologicamente inerte, ele não possui propriedades antibacterianas (Inchingolo et al., 2023). Em geral, as taxas de sobrevida a longo prazo dos implantes dentários são excelentes. No entanto, falhas no implante ainda ocorrem em uma pequena quantidade de pacientes. Portanto, infecções relacionadas a implantes, principalmente peri-implantite, têm sido consideradas a principal razão para a falha no tratamento do implante dentário, afetando de 40% a 22% dos implantes por mucosite peri-implantar e peri-implantite, respectivamente (Barão et al., 2022).

A falha do implante secundário se desenvolve vários anos após a osseointegração bem-sucedida em cerca de 5% dos pacientes e é comumente causada por peri-implantite (Smeets et al., 2016).

A peri-implantite é um dano inflamatório progressivo aos tecidos moles e duros ao redor de um implante dentário, que é causado principalmente por biofilmes bacterianos. Portanto, a formação de biofilme deve ser inibida para reduzir a incidência de peri-implantite e outras doenças orais (Geng et al., 2023).

A formação de biofilmes bacterianos orais é um processo multiestágio, complexo e dinâmico que ocorre em várias etapas através de diferentes espécies bacterianas (Gerits et al., 2017).

A formação de biofilme tem sido extensivamente estudada nas últimas décadas com o objetivo de desenvolver métodos de modificação de superfície; o princípio básico é projetar uma superfície antibacteriana para prevenir ou reduzir a adesão, proliferação e formação de biofilme. Recentemente, os pesquisadores se concentraram em modificar as superfícies dos substratos do implante usando várias estratégias de modificação de superfície (Geng et al., 2023). A diminuição da rugosidade pode dificultar a adesão do biofilme no implante, porém em excesso

dificultará a estabilidade da aderência das células sanguíneas na superfície do implante. Por meio de pesquisas, concluiu-se que uma adequada rugosidade de superfície, pode diminuir a adesão do biofilme e aumentar das células sanguíneas, seja de aproximadamente 0,2 μm (Couto, 2019).

Depois que uma película adquirida se forma na superfície do implante, ocorre a adesão de bactérias colonizadoras precoces, seguida por colonizadores tardios, com o uso de implantes de titânio, descobriram que a colonização de bactérias ocorreu dentro de 30 minutos após a conclusão da instalação do implante cirúrgico (Salvi et al., 2008). A presença de colonizadores precoces foi relatada, incluindo espécies de *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Capnocytophaga* e *Veillonella*, bem como colonizadores médios e tardios, como *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* em biofilmes em superfícies de implantes dentários (Robitaille et al., 2016). Além disso, demonstraram que espécies Gram-negativas predominaram nos biofilmes periimplantantes, juntamente com níveis mais altos de *Actinomyces*, *Peptococcus*, *Campylobacter* e *Streptococcus mutans* nos locais de peri-implantite (Chiou et al., 2023).

3.4 ADESÃO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

A adesão de células sanguíneas nos implantes dentários é um aspecto importante do processo de cicatrização e osseointegração. As células sanguíneas, incluindo os leucócitos e as plaquetas, desempenham papéis fundamentais na resposta imunológica e na formação do coágulo sanguíneo após a cirurgia de implante dentário (Amarante; Lima, 2001; Joly; Lima, 2003). As interações sangue-implante são altamente dependentes das propriedades da superfície, incluindo umidade e rugosidade (Lackington et al., 2022).

O tratamento de superfície do implante dentário favorece a penetração da rede de fibrina nas micro retenções criadas, a adesão dos osteoblastos, sua diferenciação e produção de matriz extracelular, aumentando assim a velocidade e início da deposição óssea na superfície e interior deste. Por conta disso, o tratamento de superfície apresenta melhora na resposta cicatricial do tecido ósseo. Para que o implante seja colocado em função é necessário que o processo da

osseointegração esteja concluído. Como o tratamento de superfície acelera e potencializa a osseointegração, outra vantagem do tratamento é a diminuição do tempo para que o implante seja colocado em função (Buttendorf, 2005; Novaes et al., 2010; Pereira et al., 2016).

As plaquetas são células sanguíneas especializadas que desempenham um papel fundamental na formação de coágulos sanguíneos após a cirurgia de instalação dos implantes dentários. Quando ocorre uma lesão no tecido, as plaquetas são ativadas e aderem à superfície do implante e ao tecido circundante. Elas liberam fatores de crescimento que estimulam a proliferação e a migração de células, incluindo as células ósseas, para o local da lesão (Balbino; Pereira; Curi, 2005).

Após a cirurgia, ocorre uma resposta inflamatória temporária. Os leucócitos, como os neutrófilos e os macrófagos, desempenham um papel de importância na defesa do corpo contra infecções. Eles também participam da limpeza de detritos celulares e da regulação da resposta inflamatória no local do implante (Caiazzo et al., 2017).

A adesão das células sanguíneas no local da instalação do implante resulta na liberação de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento transformador beta (TGF- β). Esses fatores de crescimento desencadeiam processos de sinalização celular que promovem a proliferação, diferenciação e adesão de células ósseas, contribuindo para a osseointegração (O'Sullivan e Ríordáin, 2022).

A adesão inicial das células sanguíneas, a formação de um coágulo sanguíneo adequado e a resposta inflamatória controlada desempenham um papel crítico na preparação do ambiente para a osseointegração bem-sucedida do implante dentário. Uma resposta inflamatória equilibrada e a adesão adequada de células são essenciais para criar as condições ideais para a proliferação de células ósseas e a formação de tecido ósseo (Caiazzo et al., 2017).

A osseointegração compreende uma cascata de mecanismos fisiológicos complexos. A perfuração para instalação do implante possui fases distintas de cicatrização. Inicialmente, os mecanismos de hemostasia celular e plasmática levam à polimerização da fibrina e à formação de um coágulo sanguíneo, que serve como matriz para neoangiogênese, deposição de matriz extracelular e invasão de

células formadoras ósseas. Novo osso é gerado a partir das bordas da perfuração (osteogênese à distância) ou por células osteogênicas na superfície do implante (osteogênese de contato). Na osteogênese à distância, os osteoblastos migram para a superfície da cavidade do implante, diferenciam e levam à formação de novo osso. Assim, o osso cresce de maneira aposicional em direção ao implante. Na osteogênese de contato, as células osteogênicas migram diretamente para a superfície do implante e geram osso de novo (Smeets, 2016).

A espessura e a densidade da rede de coágulos são afetadas pelas diversas modificações físico-químicas da superfície (Fan et al., 2017; Bai et al., 2021). Até o momento, as superfícies de titânio nanoestruturadas realizam melhor osseointegração devido à adsorção contínua de proteínas e ao coágulo sanguíneo denso (Lukaszewska-kuska et al., 2018).

Uma vantagem significativa das superfícies tratadas e hibridizadas é o maior grau de hidrofiliabilidade e impermeabilidade em comparação com superfícies não tratadas, usinadas e lisas, que são consideradas hidrofóbicas. A única maneira de modificar algo na superfície é adicionar ou reduzir materiais em uma escala micro ou nanométrica (Inchingolo et al., 2023).

Em resumo, a adesão de células sanguíneas desempenha um papel crucial na resposta imunológica e na preparação do ambiente para a osseointegração nos implantes dentários.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 IMPLANTES

O presente estudo *in vitro* utilizou 51 implantes, divididos em quatro grupos, com três diferentes tratamentos de superfície da marca *S.I.N. Implant System*. O presente projeto de pesquisa foi aprovado pela comissão de ética em pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa sob o parecer nº 5.976.075.

Todos os implantes são da plataforma protética Cone Morse (CM), possuindo o mesmo diâmetro e comprimento, variando na presença e no tipo de tratamento de superfície, como citado no quadro 1. A indústria enviou-os corretamente embalados e com suas especificações.

Quadro 1. Tipos de tratamento de superfície utilizados com sua plataforma protética, diâmetro/comprimento correspondente.

IMPLANTES COM TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE	PLATAFORMA PROTÉTICA	DIÂMETRO/COMPRIMENTO
DUPLO ATAQUE ÁCIDO	Cone Morse (CM)	3,8x11,5mm
DUPLO ATAQUE ÁCIDO + HANANO	Cone Morse (CM)	3,8x11,5mm
OXIDAÇÃO ANÓDICA	Cone Morse (CM)	3,8x11,5mm
IMPLANTES SEM TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE	PLATAFORMA PROTÉTICA	DIÂMETRO/COMPRIMENTO
USINADO	Cone Morse (CM)	3,8x11,5mm

Fonte: autora (2024)

4.2 TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE

Os implantes avaliados possuem suas respectivas especificidades, sendo que os usinados (U) não possuem nenhum tratamento de superfície, apenas sofreram o processo de fabricação e em seguida foram lavados, embalados e esterilizados. Os seguintes citados, variam conforme seu tratamento de superfície, sendo que no duplo ataque ácido (DAA), os implantes sofreram a combinação de dois ácidos para remover e posteriormente estabilizar a camada de óxido.

Conforme informado pela empresa fabricante, os ácidos utilizados são o ácido sulfúrico e nítrico. Já na técnica que associa subtração com adição, DAA + HANano

(HN), além dos ácidos citados anteriormente, é aplicado nanocristais de hidroxiapatita, cujo tamanho e forma são semelhantes aos do osso humano sobre a superfície. E na técnica reproduzida pelo presente estudo, oxidação anódica (AO), os implantes foram disponibilizados igualmente aos usinados e em seguida sofreram o processo correspondente. Esse tratamento foi realizado pelo departamento de Física e será detalhado a seguir:

PEO (plasma electrolytic oxidation) ou MAO (micro-arc oxidation) - Oxidação anódica ou oxidação por micro-arco ou oxidação por plasma eletrolítico

Conforme protocolo estabelecido na literatura, os implantes utilizados para realizar o tratamento de superfície foram os usinados, que não possuem nenhum tratamento de superfície, como visualizado na fig. 7. Foi utilizado como eletrólitos as soluções de acetato de cálcio mono-hidratado e bifosfato de sódio di-hidratado e uma fonte de potência DC programável com tensão máxima de 600 volts (V) e corrente máxima de 8 ampere (A). Nesse sistema fechado, o polo positivo está conectado ao implante e o negativo ao cilindro de aço que o circunda, representados nas figuras 8 e 9. Realizou-se o processo no modo potencioestático com voltagem constante de 350 V no tempo de 60 segundos. Após esse período, o tratamento está finalizado, sendo possível observar a texturização do implante, segundo a figura 10. Em seguida, os implantes foram colocados em estufa por 24 horas (h), para remover o excesso de eletrólitos nos poros. Ao total foram tratados 12 implantes com essa superfície.

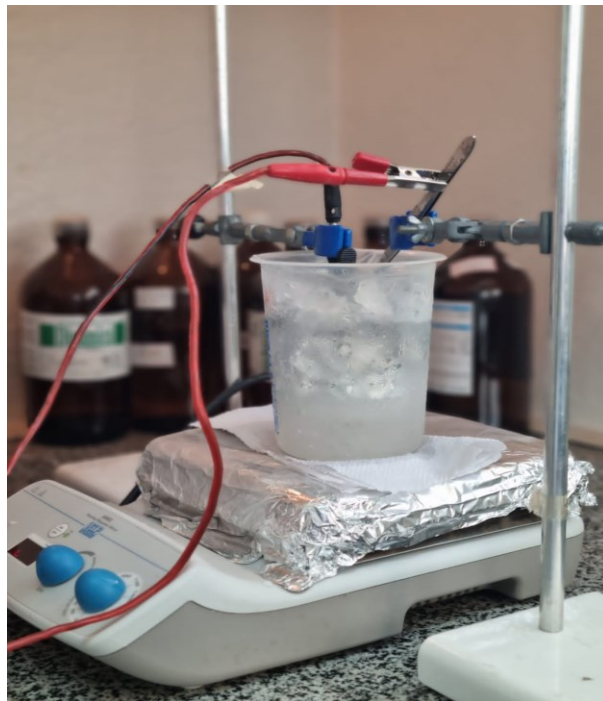
Após 24 h, os implantes foram retirados da estufa e levados à microscopia eletrônico de varredura (MEV) (marca Tescan, modelo Vega 3, São Paulo/SP) para a visualização minuciosa do tratamento de superfície realizado, observado nas figuras 11, 12, 13 e 14.

Figura 7. Implante antes do tratamento



Fonte: autora (2024).

Figura 8. Sistema pronto para o processo



Fonte: autora (2024).

Figura 9. Implante posicionado no sistema



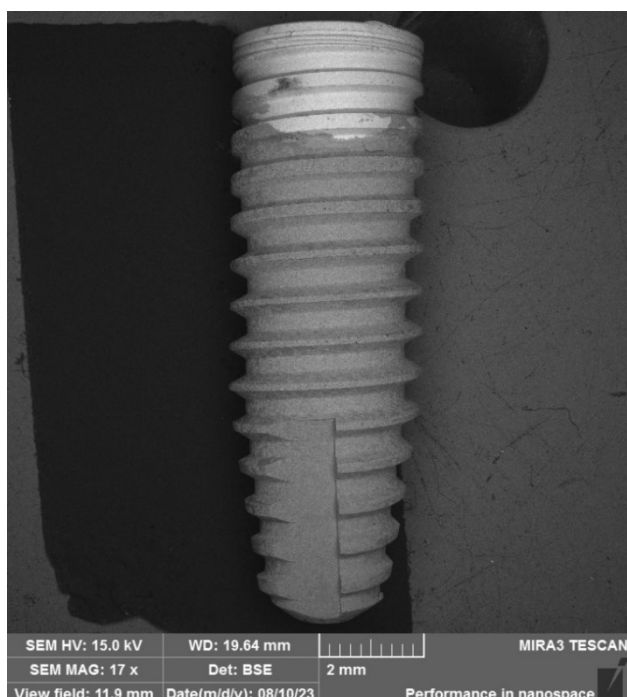
Fonte: autora (2024).

Figura 10. Implante após o tratamento de superfície finalizado



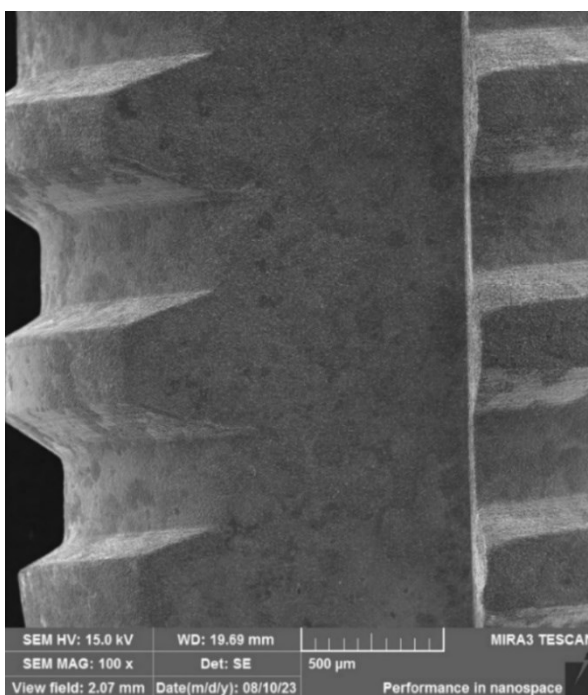
Fonte: autora (2024).

Figura 11. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante com tratamento de superfície oxidação anódica (OA) em aumento de 17x



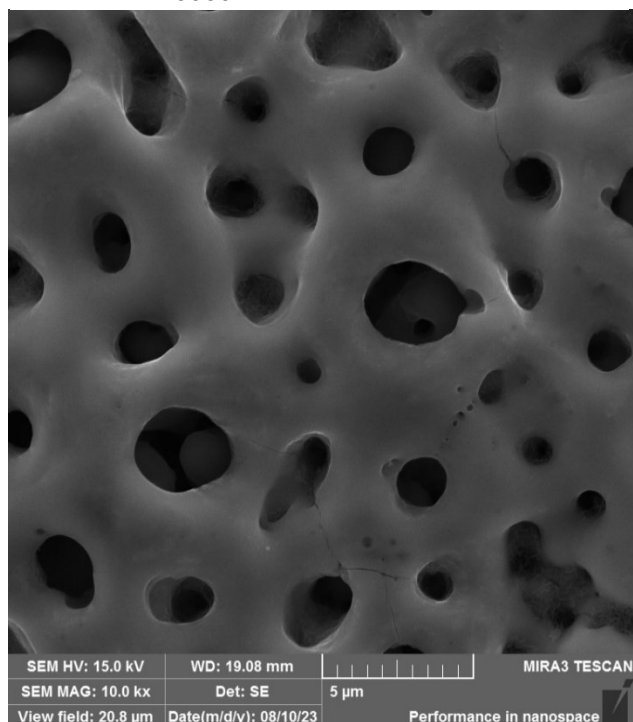
Fonte: autora (2024).

Figura 12. Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície OA em aumento de 60x/



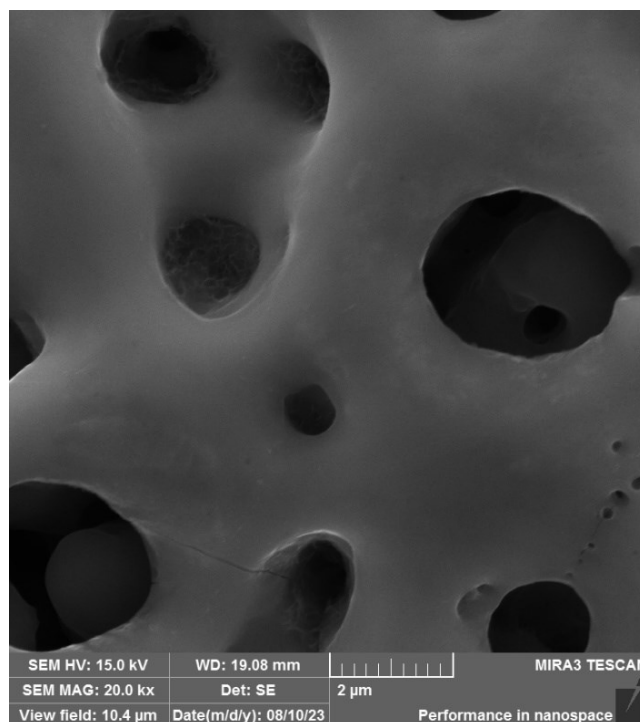
Fonte: autora (2024).

Figura 13. Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície OA em aumento de 10000x



Fonte: autora (2024).

Figura 14. Fotomicrografias obtidas por MEV do implante com tratamento de superfície OA em aumento de 20000x

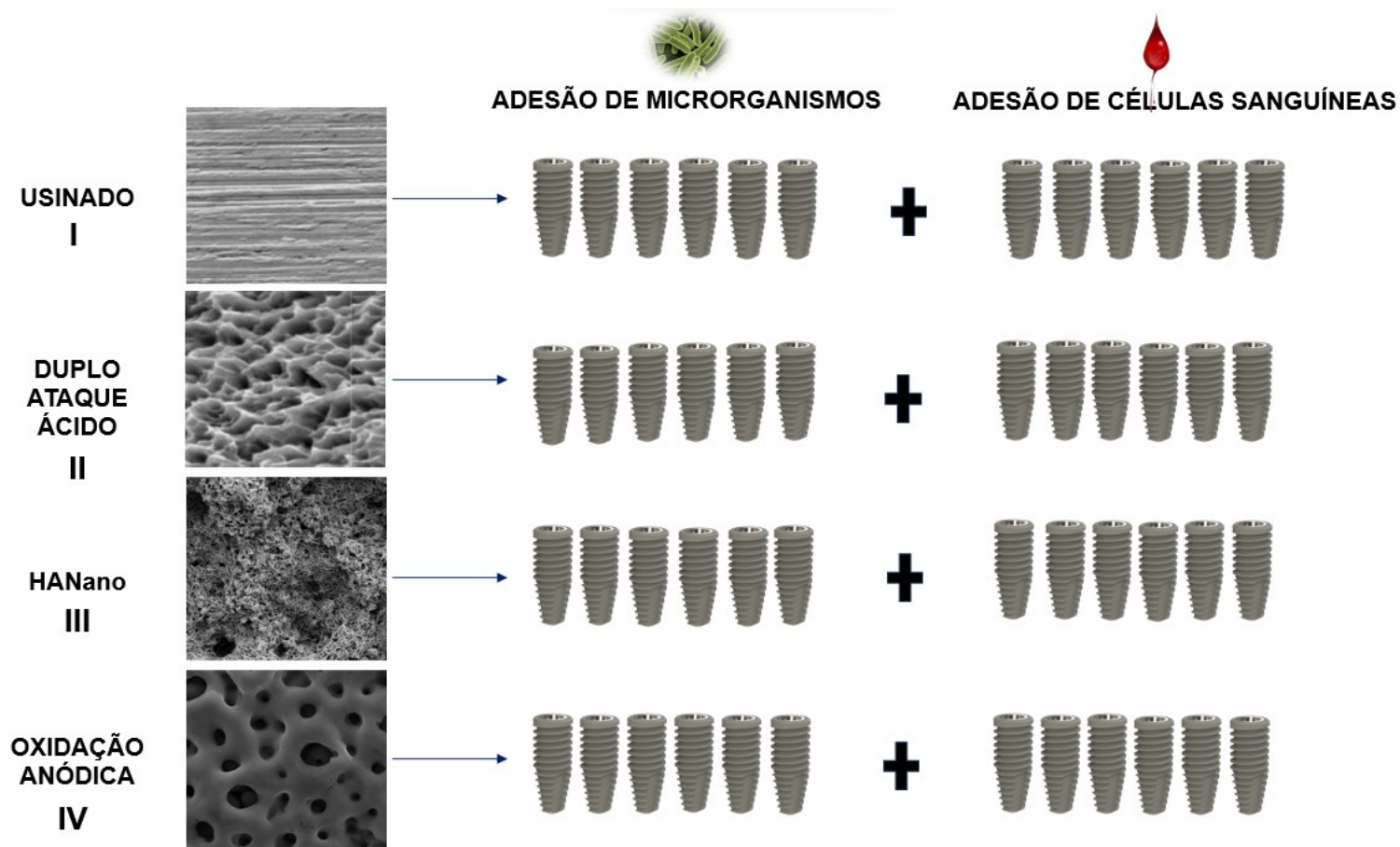


Fonte: autora (2024).

4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os implantes de titânio, foram divididos em grupos I, II, III e IV de acordo com as características da superfície. Os testes realizados foram de adesão de microrganismos, onde foi inserido cada implante numa suspensão da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e a adesão de células sanguíneas, sendo aplicado uma gota de sangue sobre a superfície de cada implante, como observado na figura 24. Esse microrganismo foi selecionado por fazer parte da microbiota bucal e de ser de fácil cultivo. A amostra foi de seis implantes em cada grupo, sendo vinte quatro implantes ao total para cada um dos testes realizados. No caso dos implantes usinados, duplo ataque ácido e HANano, foi realizado o controle negativo para avaliação da esterilização com raios gama executados pela indústria.

Figura 15. Fluxograma dos grupos com os respectivos testes avaliados



Fonte: autora (2024).

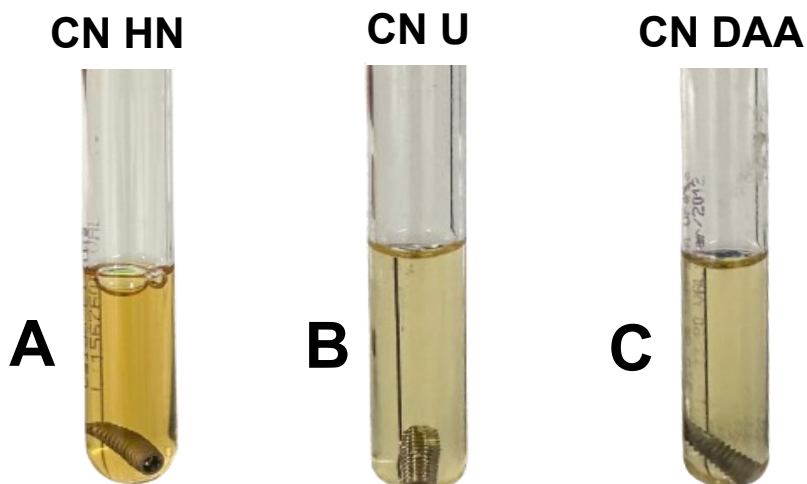
4.4 FORMAÇÃO DO BIOFILME

Os implantes foram colocados assepticamente em tubos de ensaio contendo 5 mL do caldo BHI (Brain Heart Infusion Agar, BHI, Difco) previamente esterilizados. Em seguida, esses tubos foram preenchidos com 1 mL da suspensão de *Pseudomonas aeruginosa* contendo 3×10^8 células/mL. Esse microrganismo foi selecionado por fazer parte da cavidade bucal e por ser de fácil cultivo. A numeração da cepa é PSDO 27853. Essa suspensão foi obtida a partir de colônias cultivados em placas de Petri contendo o meio de cultura Cetrimide. Esse meio de cultura é seletivo para essa espécie de bactéria gram-negativa, tornando-se azul ou azul-esverdeado na presença do microrganismo. Foi necessário diluir em solução salina estéril em tubo de vidro e agitar em vórtex até obter a turvação equivalente ao tubo número um da escala de Mac Farland e o resultado foi comprovado por meio de análise em espectrofotômetro. O comprimento de onda utilizado foi de 625 nm. Foi realizado também controles negativos para os grupos: usinado, duplo ataque ácido e HANano para verificar a esterilização advinda da empresa que nos disponibilizou os implantes. Os implantes foram depositados dentro do tubo de ensaio com caldo BHI sem inocular o microrganismo de escolha. Após, os tubos contendo os implantes imersos em *Pseudomonas aeruginosa* e os controles negativos foram levados à estufa bacteriológica a 37 °C/24 h, com a finalidade de se promover a aderência dos microrganismos aos implantes de titânio e checar o processo de esterilização, como observados na fig. 16.

Após 24 h na estufa bacteriológica, os tubos foram removidos e foi realizado a avaliação macroscópica. Dessa forma, foi observado a turbidez do meio em todos os tubos. Posteriormente, os implantes contaminados foram retirados com uma pinça e colocados dentro de uma placa de Petri estéril. Para a remoção das células bacterianas não aderidas os implantes foram lavados por imersão agitando a placa levemente por 10 segundos e aguardando por mais 1 minuto. Este passo foi repetido 3 vezes. Em seguida, os implantes foram colocados em tubos de vidro contendo 5 mL de solução salina estéril e agitados em vórtex para desprendimento das células aderidas. Com a finalidade de se verificar a aderência de *Pseudomonas* aos implantes, os tubos contendo o material desprendido dos materiais testados foram lidos em espectrofotômetro. O espectrofotômetro determina os valores de

transmitância (luz transmitida) e absorbância (luz transmitida) de uma solução em um ou mais comprimentos de onda.

Figura 16. Controles negativos (CN) ANTES de serem colocados na estufa bacteriológica



Legenda:

A – CN do grupo HANano

B – CN do grupo usinado

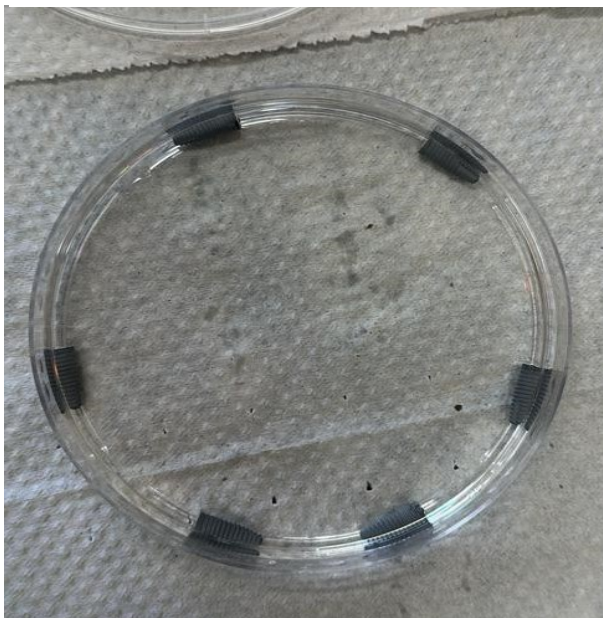
C – CN do grupo duplo ataque ácido

Fonte: autor (2024).

Todos os implantes vieram esterilizados de fábrica, porém ao realizarmos o tratamento de superfície oxidação anódica, foi perdido a esterilidade das amostras, pois foram manipuladas durante o processo, sendo necessário realizar a desinfecção antes da contaminação com os microrganismos. Esse processo de desinfecção foi realizado imergindo os implantes em álcool 70° por 10 minutos, logo após colocando hipoclorito a 1% por 3 minutos e novamente imergindo em álcool 70° por 10 minutos e lavados com solução fisiológica estéril por 1 minuto, como visto na figura 32, sempre em constante agitação manual e após secagem, os implantes foram esterilizados por meio de luz ultravioleta durante 45 min (cada lado), observado nas figuras 17 e 18.

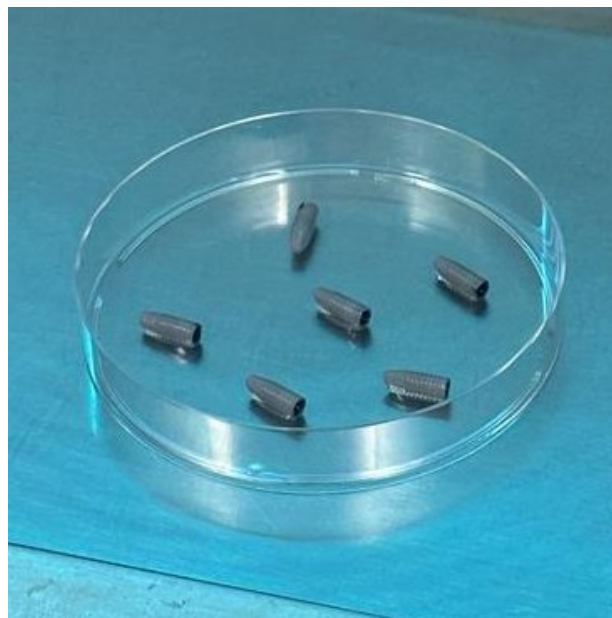
4.5 ADESÃO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

Figura 17. Implantes durante as lavagens



Fonte: autora (2024).

Figura 18. Implantes na luz ultravioleta



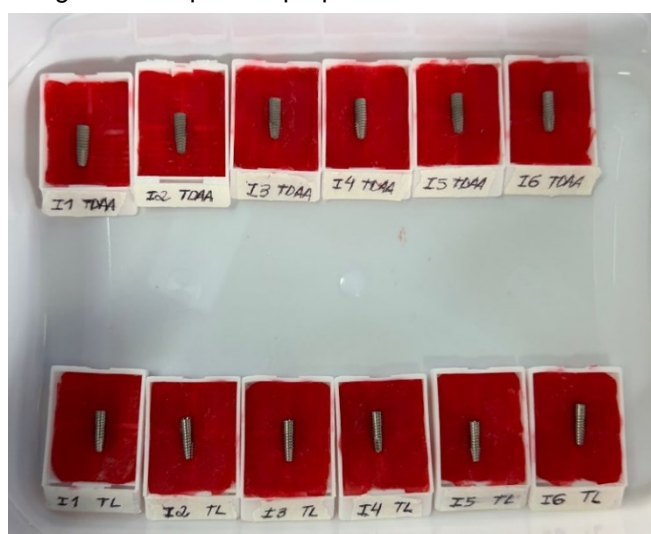
Fonte: autora (2024).

As células sanguíneas foram obtidas por meio de coleta de sangue de um voluntário. Esse voluntário era do sexo masculino e ao ser selecionado, precisou realizar um hemograma para verificar seus padrões hematológicos. O resultado foi satisfatório. Reiteramos que previamente a coleta dos 10 mL de tecido sanguíneo, por meio de punção com auxílio de seringa e agulha descartável, o voluntário, leu e assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e realizou um hemograma, para checagem de seus parâmetros sanguíneos. A retirada do sangue e realização dos exames de coagulação foi realizada pelo Laboratório Escola da Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, por pessoal capacitado.

Em todos os grupos experimentais, após o preparo dos implantes, como visto na figura 19, o sangue foi depositado com auxílio de seringa e agulha (1 gota) sobre os implantes e mantidos por 20 minutos em câmara umidificadora após aplicação do sangue, segundo a fig. 20. Em seguida foram lavados 3 vezes durante 5 minutos com solução de tampão fosfatado (PBS) pH 7,0 por meio de agitação, observado na fig. 21. A seguir, os implantes foram identificados e fixados em solução de formaldeído 1% em solução de tampão fosfatado por 15 minutos. Após 3 lavagens de 5 minutos com solução de tampão fosfatado, foram incubados por

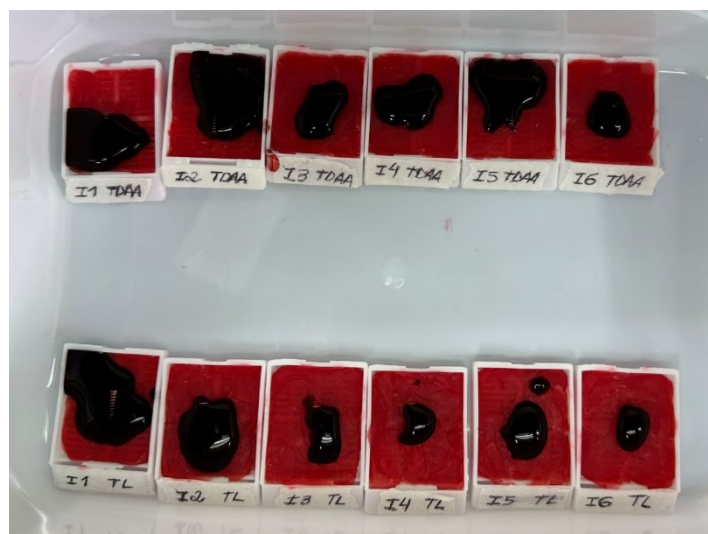
10 minutos em 0,02 mol de glicina em solução de tampão fosfatado e lavados novamente. A seguir foram fixados em 2,5% de glutaraldeído em solução de tampão fosfatado durante 30 minutos e lavados novamente. Na sequência, foram desidratados em série de etanol: 25%, 50%, 75%, 95% e 100% durante 10 minutos em cada solução. Toda a sequência de lavagens está detalhada no quadro 2. Em seguida, as amostras foram mantidas dentro do dessecador à vácuo e permaneceram por mais de 24 h, conforme a fig. 22.

Figura 19. Implantes preparados



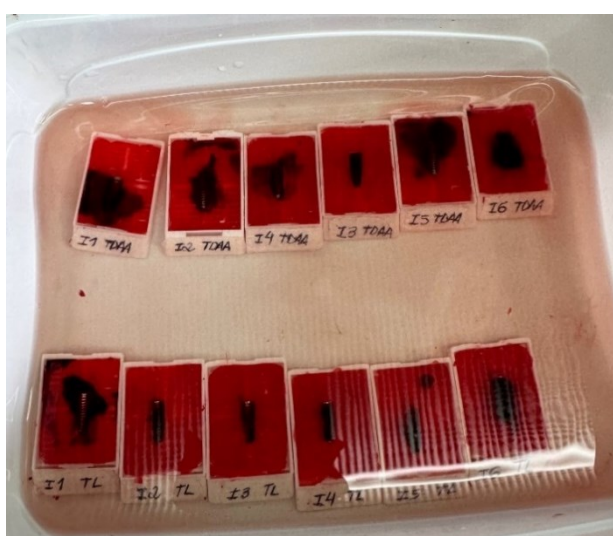
Fonte: autora (2024).

Figura 20. Implantes submersos no sangue



Fonte: autora (2024).

Figura 21. Implantes imersos em tampão fosfatado (PBS)



Fonte: autora (2024).

Figura 22. Implantes dentro do dessecador à vácuo



Fonte: autora (2024).

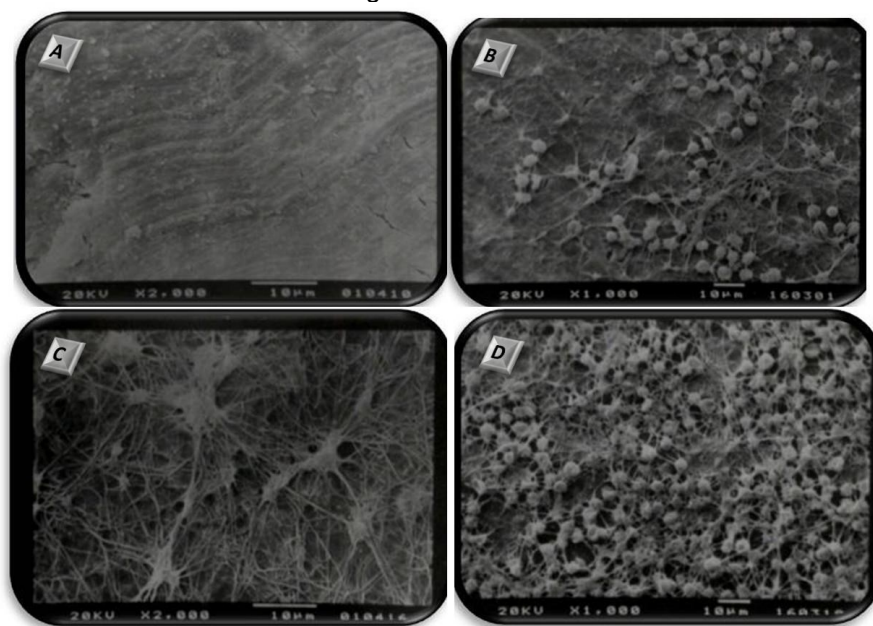
Quadro 2. Sequência da lavagem e fixação das amostras

LAVAGENS	TEMPO
Tampão fosfatado (PBS)	5 minutos
PBS	5 minutos
PBS	5 minutos
Formaldeído 1%	15 minutos
PBS	5 minutos
PBS	5 minutos
PBS	5 minutos
Glicina 0,02M	10 minutos
PBS	5 minutos
Glutaraldeído 2,5%	30 minutos
PBS	5 minutos
Etanol 25%	10 minutos
Etanol 50%	10 minutos
Etanol 75%	10 minutos
Etanol 95%	10 minutos
Etanol 100%	10 minutos

Fonte: autora (2024).

Após a remoção do dessecador, os implantes foram colados em *stubs* metálicos e foi realizada a metalização por "sputtering", em um aparelho Balt-Tec SCD-050, no tempo de 120 segundos. Os implantes foram então levados para análise em microscópio eletrônico de varredura (Jeol-JSM) com 20kV e foram obtidas fotomicrografias com aumentos de 500x, 1000x e 2000x. A seguir, as fotos foram analisadas por 1 examinador calibrado, experiente e "cego" quanto a identificação dos implantes, o qual realizou a descrição morfológica da superfície por meio do índice de adesão de elementos sanguíneos, como observado na figura 23.

Figura 23. Índice de adesão de células sanguíneas



- A- (0) ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas;
- B- (1) escassa rede de fibrina e/ou de células sanguíneas;
- C- (2) moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento;
- D- (3) densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas.

4.6 TESTE ESTATÍSTICO

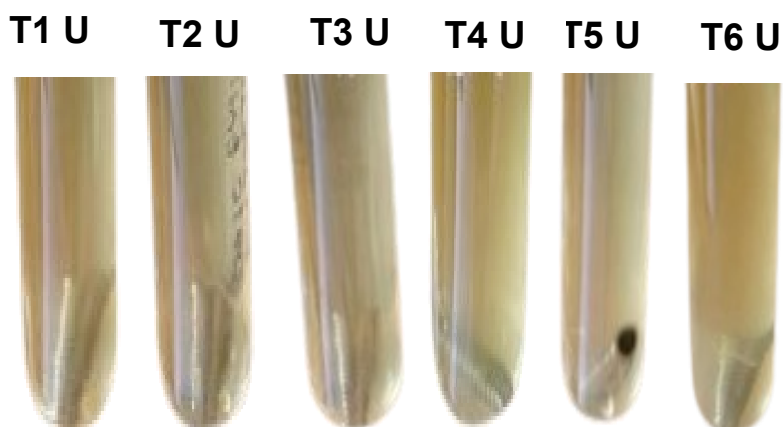
O teste estatístico utilizado para avaliação dos microrganismos e índice de adesão de elementos sanguíneos foi o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, sendo o valor significativo de $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 ADESÃO DE MICRORGANISMOS

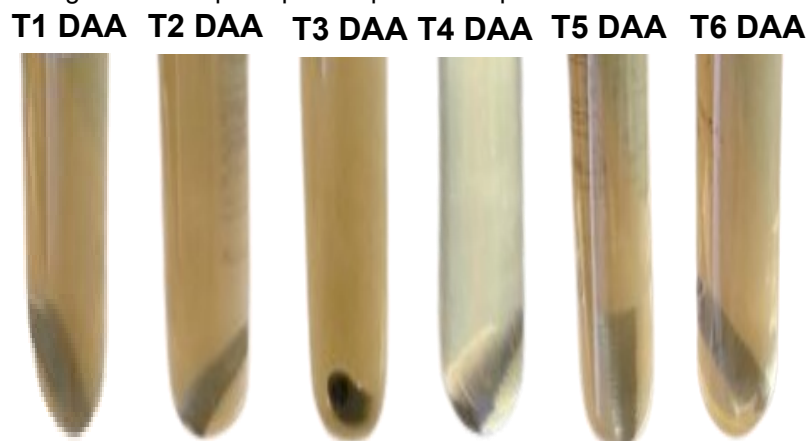
Após 24 h na estufa bacteriológica, os tubos foram removidos e foi realizado a avaliação macroscópica.

Figura 24. Grupo usinado após 24 horas na estufa



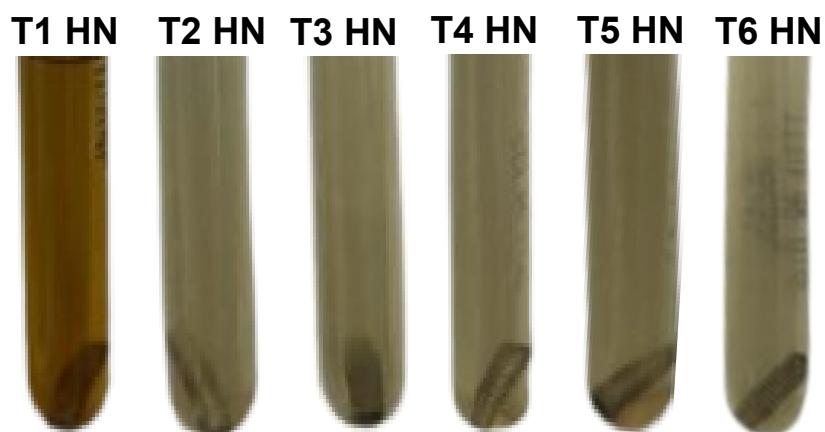
Fonte: autora (2024).

Figura 25. Grupo duplo ataque ácido após 24 horas na estufa



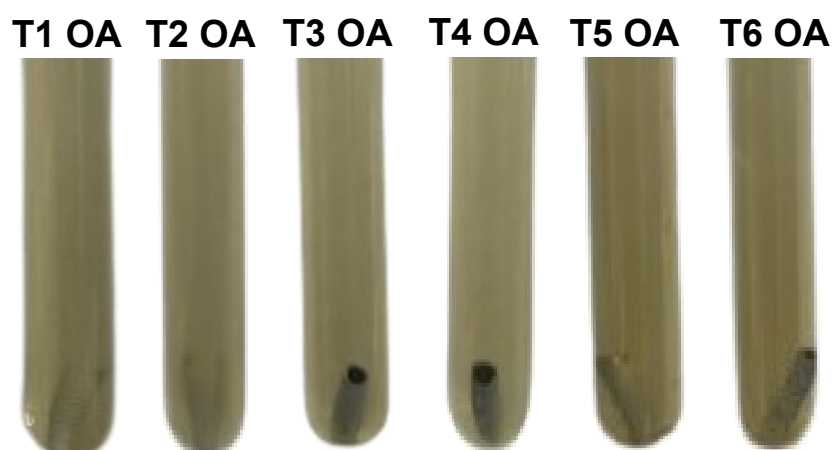
Fonte: autora (2024).

Figura 26. Grupo HANano após 24 horas na estufa



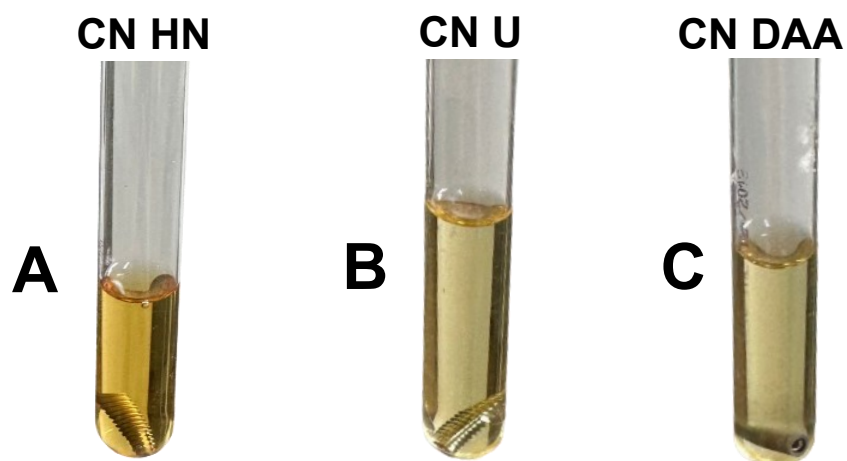
Fonte: autora (2024).

Figura 27. Grupo Oxidação anódica após 24 horas na estufa



Fonte: autora (2024).

Figura 28. Controles negativos (CN) após 24 horas na estufa bacteriológica



Legenda:

A – CN do grupo HANano

B – CN do grupo usinado

C – CN do grupo duplo ataque ácido

Fonte: autora (2024).

Tabela 1. Valores encontrados no espectrofotômetro para todas as amostras de cada grupo

SALINA: 0,032			
DUPLO ATAQUE ÁCIDO	USINADO	HANANO	OXIDAÇÃO ANÓDICA
0	0,003	0,004	0,013
0	0,009	0,026	0,02
0,008	0,046	0,009	0,043
0,01	0,015	0,007	0,02
0,001	0,096	0,014	0,029
0,031	0,098	0,002	0,007

Fonte: autora (2024).

A partir dos valores encontrados na respectiva tabela, foi realizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com o objetivo de avaliar se há ou não diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados. O valor encontrado foi $p=0.089$, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

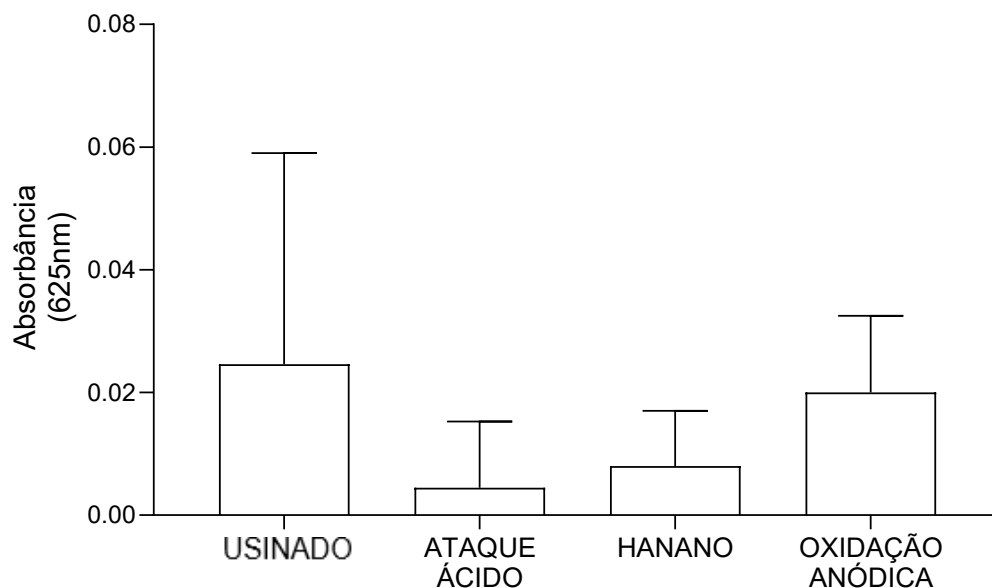
Tabela 2. Valor de “p” encontrado pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para os quatro grupos avaliados

Kruskal-Wallis Test

Kruskal-Wallis Test

Factor	Statistic	df	p
TRATAMENTOS	6.516	3	0.089

Gráfico 1. Mediana dos valores encontrados para os quatro grupos avaliados



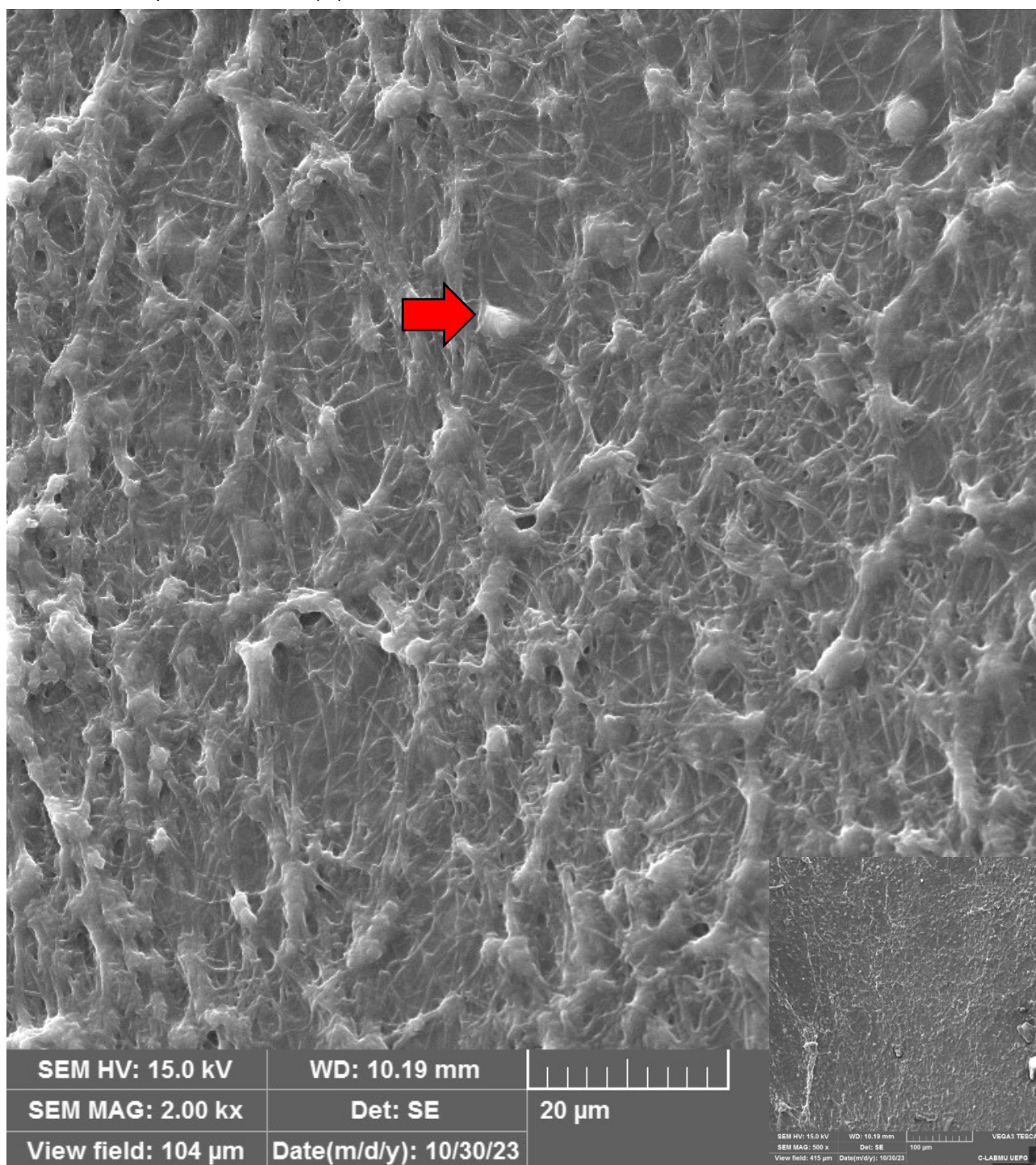
Mediana (Intervalo-interquartil) dos valores de absorbância do crescimento bacteriano obtidos no meio de cultura com os implantes de titânio com diferentes tratamentos de superfície. Diferença não significativa, $p=0,089$ (teste de Kruskal-Wallis).

5.2 ADESÃO DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

Após remoção das amostras do dessecador à vácuo, os implantes foram colados em *stubs* metálicos e foi realizada a metalização por "sputtering", em um aparelho Balt-Tec SCD-050, no tempo de 120 segundos. Os implantes foram então levados para análise em microscópio eletrônico de varredura (Tescan/Vega 3, São Paulo) com 20kV e foram obtidas fotomicrografias com aumentos de 500x, 1000x e 2000x, como observado nas figuras 29, 30, 31 e 32.

- **GRUPO USINADO**

Figura 29. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante I com tratamento de superfície usinado (U) em aumento de 500x e 2000x

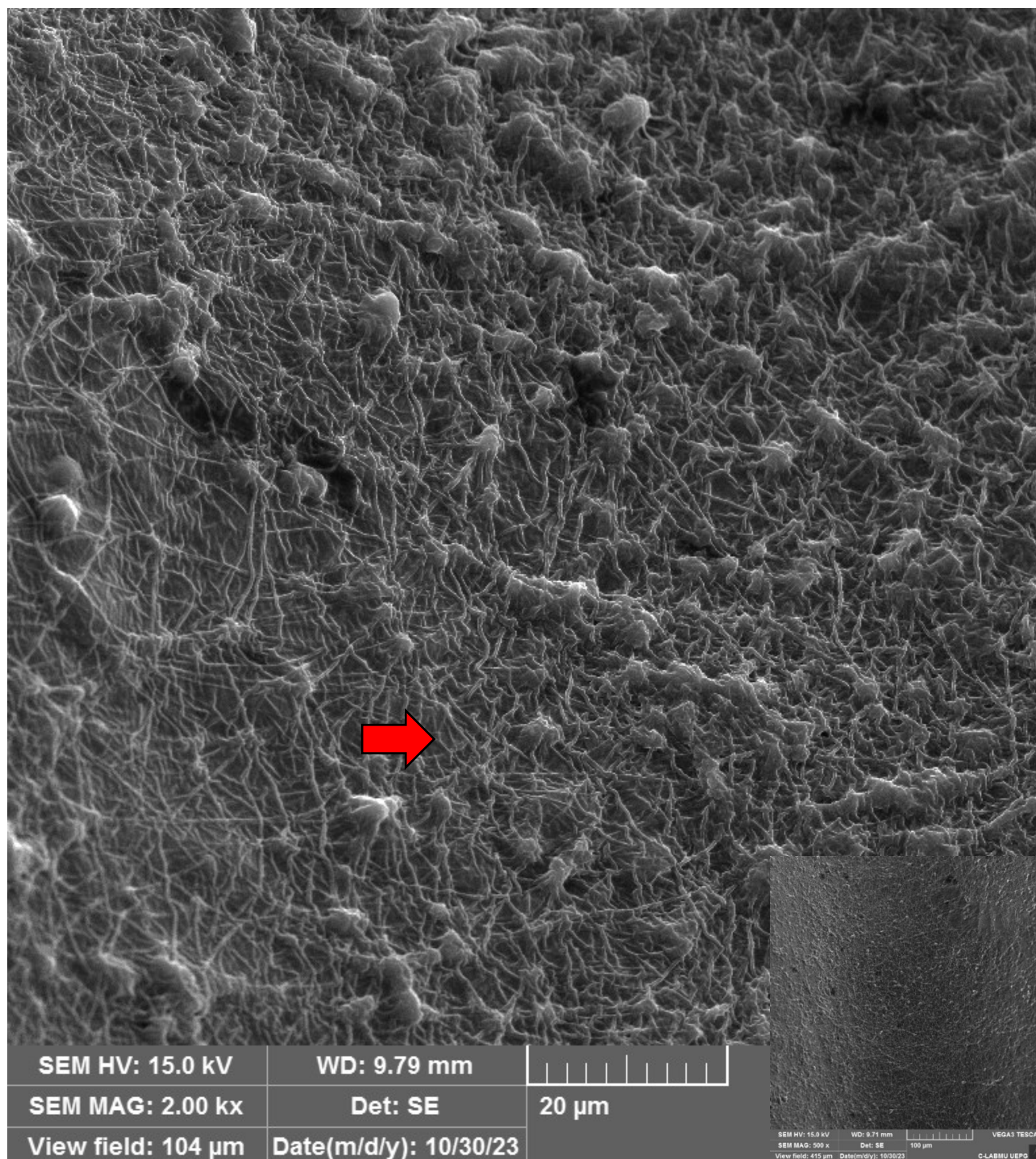


Legenda:

Hemácias envolvidas em fibrinas

- **GRUPO DUPLO ATAQUE ÁCIDO**

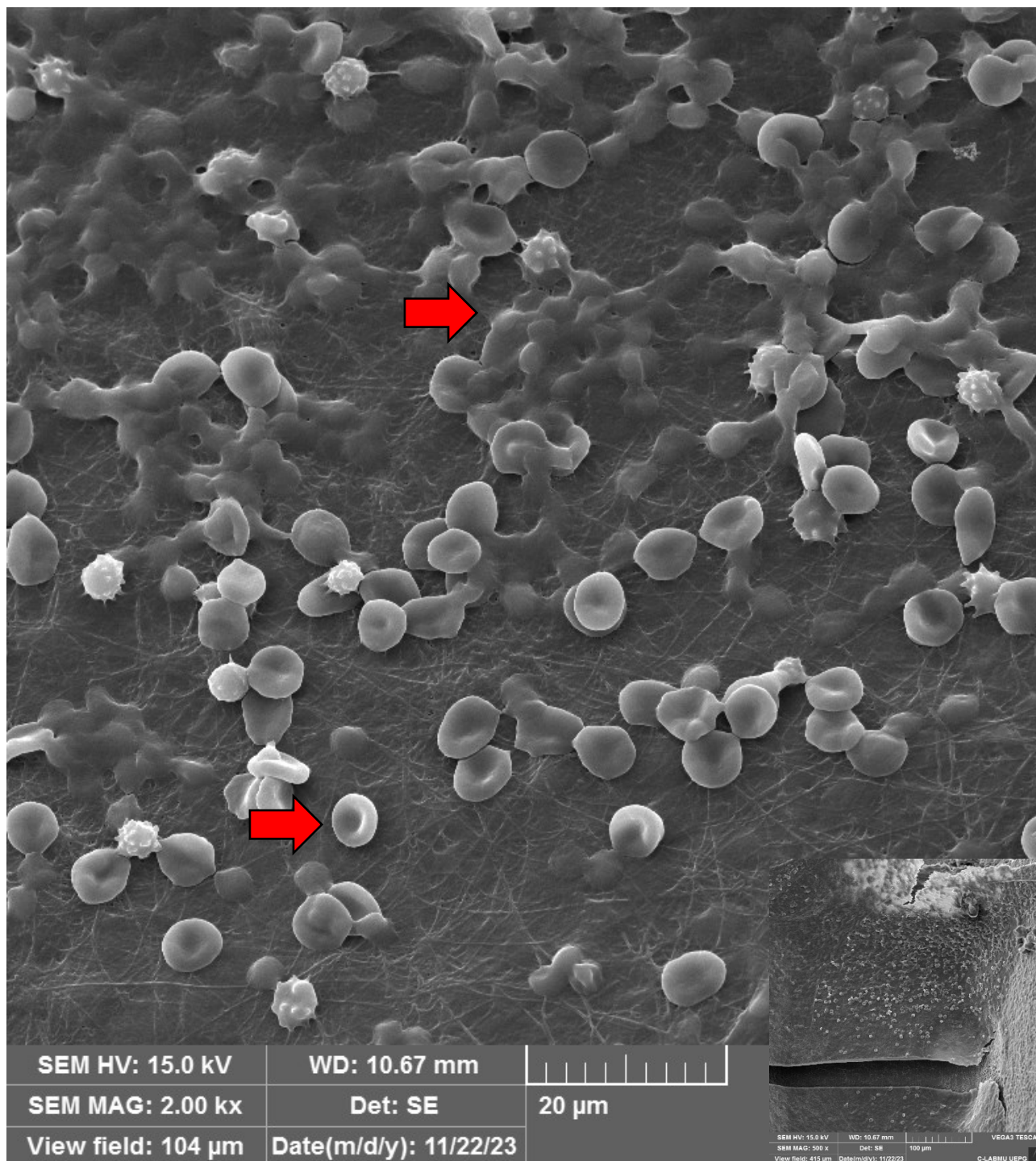
Figura 30. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante I com tratamento de superfície de duplo ataque ácido (DAA) em aumento de 500x e 2000x



Legenda:
Rede de fibrinas

- GRUPO HANANO

Figura 31. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante I com tratamento de superfície HANano (HN) em aumento de 500x e 2000x

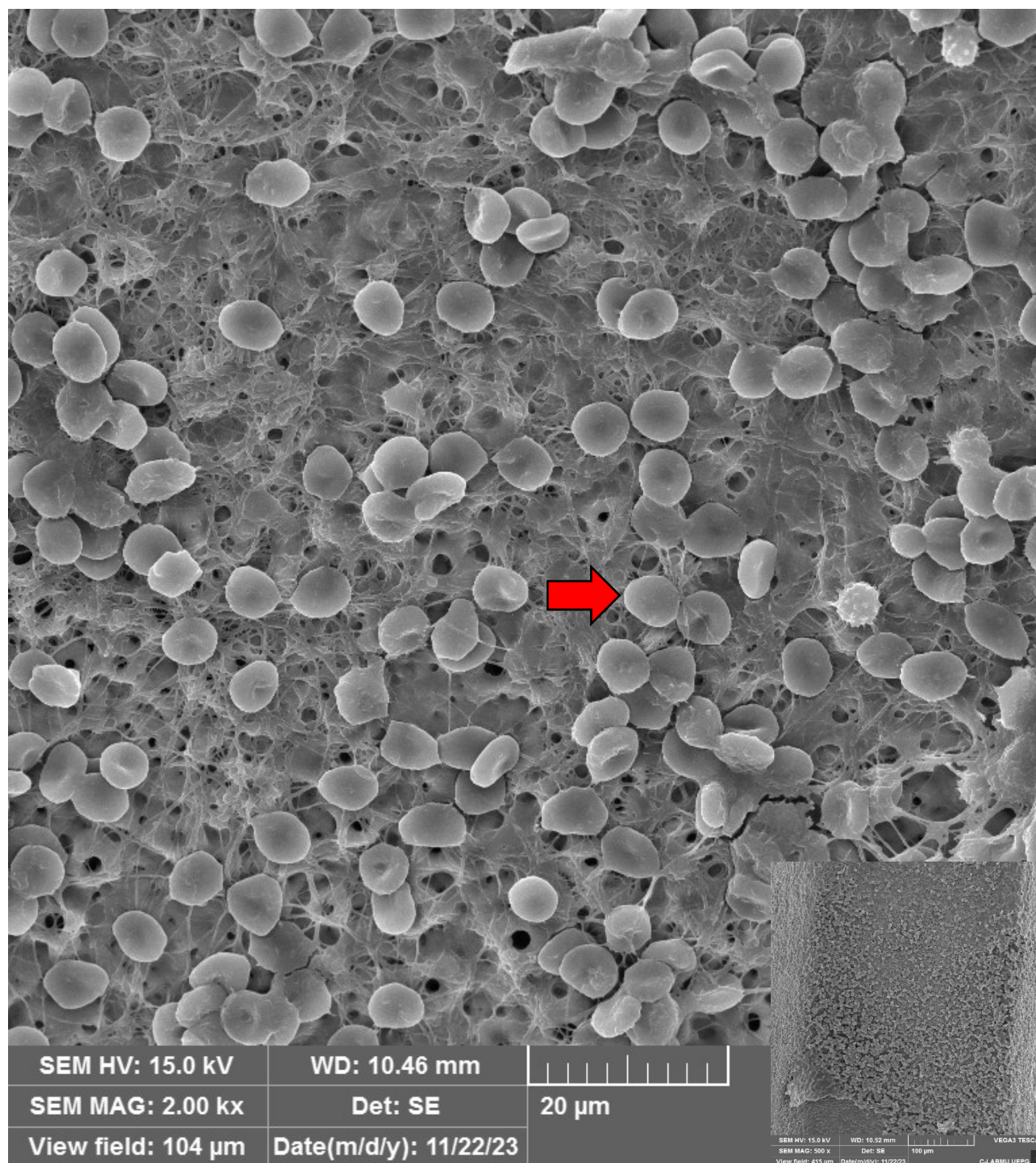


Legenda:

Rede de fibrinas e hemácias

• GRUPO OXIDAÇÃO ANÓDICA

Figura 32. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do implante I com tratamento de superfície oxidação anódica (OA) em aumento de 500x e 2000x



Legenda:

Rede de fibrinas e hemácias

Como observado nas fotomicrografias obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos implantes após a aplicação do sangue, houve formação de fibrinas e adesão de hemácias nas superfícies de todos os grupos. Em seguida, todos os grupos passaram por avaliação do examinador calibrado, experiente e “cego” quanto a identificação dos implantes, o qual realizará a descrição morfológica da superfície por meio do índice de adesão de elementos sanguíneos.

Os grupos foram identificados com letras aleatórias, de forma que o examinador não tinha conhecimento de quais eram e definiu as amostras conforme o índice. Na tabela abaixo, é possível visualizar os valores determinados após a análise do examinador.

Tabela 3. Valores determinados pelo examinador para cada grupo avaliado.

Y = HANANO	Z = OXIDAÇÃO ANÓDICA	G = DUPLO ATAQUE ÁCIDO	M = USINADO
2	3	3	0
3	2	2	1
2	3	2	2
3	3	2	2
3	3	3	2
2	2	3	2

Fonte: autora (2024).

Em seguida, os valores foram submetidos ao teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, onde foi significativo a diferença entre os grupos.

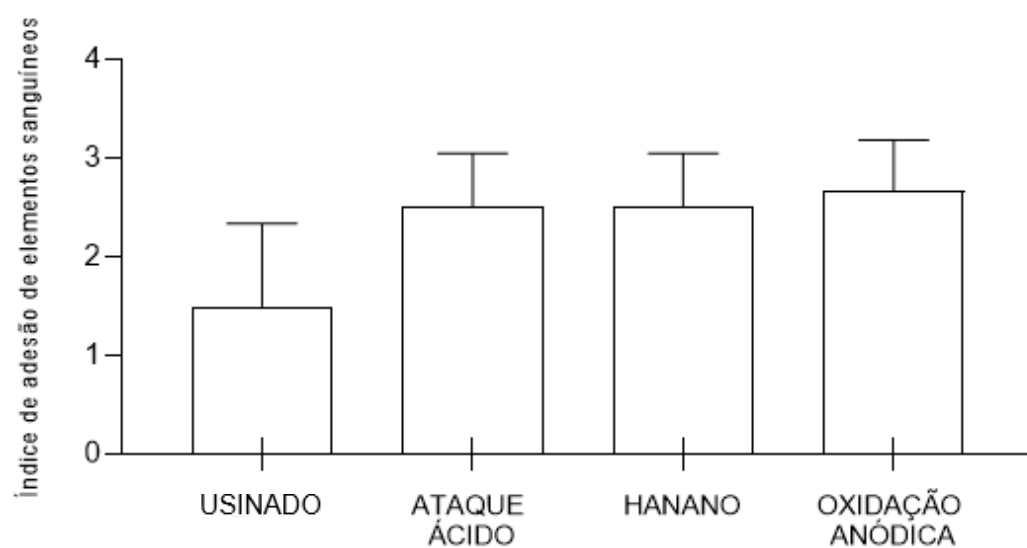
Tabela 4. Valor de “p” encontrado pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para os quatro grupos avaliados.

Kruskal-Wallis Test

Kruskal-Wallis Test

Factor	Statistic	df	p
Tratamento	8.318	3	0.040

Gráfico 2. Mediana dos valores encontrados para os quatro grupos avaliados



Média dos valores obtidos pelo Índice de adesão de elementos sanguíneos para cada implante de titânio com diferentes tratamentos de superfície após adesão das células sanguíneas. Diferença significativa, $p=0,040$ (Teste de Kruskal-Wallis)

6 DISCUSSÃO

Análises da adesão de microrganismos e células sanguíneas são elaborados com o objetivo de avaliar ou prever quais tratamentos de superfície possuem maior capacidade de evitar a contaminação do implante na cavidade bucal, prevenindo a periimplantite e acelerar sua cicatrização, facilitando a reabilitação bucal.

Os resultados da pesquisa revelaram diferenças não significativas na adesão de microrganismos e células sanguíneas em relação aos diferentes tratamentos de superfície avaliados. No que diz respeito à adesão de microrganismos, A superfície usinada foi o que mais favoreceu a adesão de microrganismos, seguido pelo tratamento de oxidação anódica. A superfície usinada não possui tratamento em sua superfície, portanto, este resultado pode ser atribuído à presença de microcavidades em sua superfície, que podem proporcionar locais de ancoragem favoráveis para os microrganismos.

Na superfície de oxidação anódica, a impedância oferecida pela camada de óxidos varia na medida em que aumenta sua espessura (que não é linear). Portanto, forma-se uma camada de 2-3 micrômetros, facilitando a adesão do microrganismo no interior de seus poros. Apesar de na presente pesquisa, a oxidação anódica apresentar a segunda maior adesão de microrganismos, foi demonstrado que o tratamento de anodização aumenta o diâmetro do nanotubo do titânio, reduzindo a atividade bacteriana (Rigotti, 2023).

Em contraste, os tratamentos de HANano e duplo ataque ácido apresentaram uma menor adesão de microrganismos. Isso pode estar relacionado às características específicas desses tratamentos, como mudanças na composição química da superfície ou a formação de estruturas de nanoescala que dificultam a adesão dos microrganismos.

A superfície HANano, embora possa ser indicada para reduzir o período inicial de osseointegração, o que é clinicamente relevante para a terapia de implantes com protocolos de carregamento imediato/precoces, essas superfícies têm um efeito anti-biofilme limitado devido à ausência de agentes antimicrobianos (Barão, 2022). A superfície do implante nanomodificada ganha a vantagem de uma

área de superfície aumentada para adesão celular, embora essa mesma superfície também desenvolva complexidades, como permitir a adesão e o crescimento de outras células, bem como patógenos microbianos (Schwarz et al., 2021).

Em relação ao tratamento de duplo ataque ácido, ao eliminar contaminantes e a camada de óxido que se forma no implante, a limpeza ácida ajuda a estabelecer uma superfície consistente e higiênica. Ácidos, incluindo ácido sulfúrico de hidrogênio (H_2SO_4), ácido nítrico (HNO_3), ácido fluorídrico (HF) e ácido clorídrico (HCl) são frequentemente utilizados (Takeuchi et al., 2003).

Este resultado sugere que a oxidação anódica pode promover uma maior interação entre as células sanguíneas e a superfície, possivelmente devido a alterações na topografia ou na composição química da superfície induzidas por esse tratamento.

A oxidação anódica, trata-se de um método relativamente simples e barato de formar revestimentos (geralmente filmes de óxido). Os revestimentos formados têm alta porosidade, o que contribui para a melhoria da osteogênese dos implantes. Permite obter uma superfície hidrofílica, o que contribui para a melhor osseointegração (Sotova, 2023).

Seu desempenho é resultado de ser responsável comprovadamente por aumentar a fixação das células osteoblásticas e as propriedades desejadas, acelerar a formação de hidroxiapatita e influenciar a atividade celular para melhorar a integração tecidual (Alamoudi, 2024) Superfícies de titânio geradas pela oxidação anódica mostraram propagar adesão, proliferação e deposição de matriz extracelular de fibroblastos gengivais humanos. Apesar do aumento da rugosidade da superfície anodizada, a superfície de óxido poroso não facilita a formação aprimorada de biofilme (Smeets, 2016).

A anodização surgiu como uma técnica útil para alterar a morfologia da superfície de titânio ou ligas de titânio para melhorar o desenvolvimento ósseo, porque é barata, simples de aplicar e fácil de controlar. A anodização pode fornecer uma morfologia de superfície com uma estrutura de poros em uma escala micronano, bem como aumentar o desgaste e a resistência à corrosão dos implantes de titânio puro (Inchingolo, 2023).

A oxidação anódica aumenta a espessura do TiO_2 camada do implante e lhe confere uma rugosidade moderada, melhorando a osteocondutividade e osseointegração (Oliveira et al., 2002; Oliveira et al., 2015). Portanto, implantes com superfícies anodizadas apresentam a melhor taxa de sobrevida (98,5%) com um período de seguimento de pelo menos dez anos (Oliveira et al., 2018).

Os tratamentos de ataque ácido e HANano apresentaram resultados semelhantes em termos de adesão de células sanguíneas, enquanto o tratamento usinado/liso demonstrou a menor adesão. Isso provavelmente ocorreu porque um coágulo se contrai em uma superfície lisa, produzindo uma micro-lacuna (Davies, 2003). Quando uma micro-lacuna está presente, um novo osso começa a se formar distante do implante, pois as células osteogênicas são incapazes de alcançar a superfície do implante. Portanto, a osseointegração ocorre mais rapidamente em superfícies texturizadas, visto que as superfícies texturizadas aumentam a adesão ao coágulo sanguíneo e o crescimento ósseo no implante (Aneksomboonpol, 2023).

A superfície HANANO, que obteve resultado similar ao duplo ataque ácido, é uma técnica que demonstrou que a condição celular melhorou muito em torno dos implantes revestidos com hidroxiapatita (HA). (Alamoudi, 2024). A hidroxiapatita (HA) é uma forma biológica muito estável de CaP e fortalece a matriz orgânica por mineralização. Essa técnica de superfície biomimética tenta promover a osseointegração pela integração do componente sozinho ou uma combinação desses elementos na superfície do implante (Smeets, 2016).

Nessa superfície, a hidroxiapatita é incorporada à superfície de titânio, alterando as propriedades da superfície do material e melhorando diretamente suas respostas biológicas. Em comparação com superfícies de controle (superfícies usinadas ou ataque ácido ou de jateamento), essa técnica revelou-se um bom comportamento mecânico, desempenho anticorrosivo superior, com capacidade estimulante de células ósseas e crescimento mais rápido de apatita in vitro. Também promovem maior deposição de matriz óssea na interface implante- tecido, como bem documentado em modelos animais (Barão, 2022).

A técnica duplo ataque ácido, modifica os produtos químicos de superfície, alterando a morfologia e incorporando componentes químicos que podem melhorar a bioatividade e a propriedade anticorrosão e fornecer purificação da superfície. A

capacidade osteogênica dos implantes dentários foi melhorada adicionando algumas dezenas de faixa de nanômetros ou alguns micrômetros de óxido de superfície (Alamoudi, 2024).

O tratamento químico produz corrosão, que expande a área de superfície e melhora o contato entre osso e o implante (Takeuchi et al., 2003). O condicionamento ácido desinfeta, aumenta a área de superfície e melhora o contato do osso com um implante. (Furtsev et al., 2023).

Comparativamente, a superfície ácida levou à geração mais rápida de uma rede de fibrina densa e uniformemente distribuída, enquanto na superfície usinada apenas uma rede de fibrina limitada e heterogeneamente distribuída poderia ser vista. A superfície mostrou formação de rede de fibrina intermediária (Lackington et al., 2022) A superfícies induzem uma ativação plaquetária mais forte e mais formação de antitrombina (Li et al., 2023).

O resultado pode indicar que a rugosidade superficial desempenha um papel importante na adesão de células sanguíneas, com superfícies mais ásperas favorecendo uma maior adesão.

Os resultados do presente estudo, sugerem, portanto, que superfícies tratadas aderem menos microrganismos e mais células sanguíneas, dificultando a adesão bacteriana e facilitando a osseointegração. Dessa forma, conclui-se que a rugosidade do implante dentário pode não ter influência no desenvolvimento de doenças causadas pela aderência de microrganismos, como a periimplantite. Entretanto, estudos clínicos são necessários para comprovação desses dados.

Além disso, os resultados destacam a importância da compreensão dos mecanismos subjacentes à adesão biológica em superfícies tratadas. Isso pode abrir caminho para o desenvolvimento de estratégias de design de superfície mais sofisticadas, visando controlar seletivamente a adesão de microrganismos ou células em diferentes contextos. Essas descobertas têm implicações significativas não apenas no campo biológico, mas também em áreas como tecnologia de revestimento, engenharia de materiais e fabricação de dispositivos na área da saúde.

Essas descobertas ressaltam a importância de considerar múltiplos fatores ao selecionar um tratamento de superfície para uma aplicação específica. A rugosidade superficial, composição química e propriedades físicas resultantes de

cada tratamento podem ter impactos significativos na adesão biológica, que por sua vez influencia a biocompatibilidade e a eficácia do material.

Em resumo, os resultados da pesquisa fornecem discussões sobre as interações complexas entre superfícies tratadas e organismos biológicos, e destacam a necessidade contínua de pesquisa nessa área em evolução. Ao entender melhor essas interações, podemos avançar no desenvolvimento de materiais e tecnologias que promovam a saúde e o bem-estar em uma variedade de aplicações.

Em conjunto, esses resultados destacam a complexidade das interações entre superfícies tratadas e microrganismos/células sanguíneas. Mais pesquisas são necessárias para elucidar os mecanismos subjacentes a essas interações e para desenvolver estratégias de tratamento de superfície mais eficazes em uma variedade de contextos biológicos e industriais.

7 CONCLUSÃO

A presente pesquisa investigou os efeitos de diferentes tratamentos de superfície em comparação a oxidação anódica na adesão de células sanguíneas e microrganismos. Os resultados revelaram padrões distintos, sendo estatisticamente relevante apenas os dados obtidos para adesão das células sanguíneas. A superfície que mais aderiu microrganismos foi a usinada e a que mais aderiu células sanguíneas, a oxidação anódica. A pesquisa apresenta limitações, como o estudo ser *in vitro* e tratar-se de uma microbiota monoespécie sem condições similares como a cavidade bucal com a presença da saliva. Na sequência da exploração e entendimento dessas interações complexas, pode-se avançar no desenvolvimento de materiais mais seguros, eficientes e sustentáveis. É fundamental projetar implantes com superfície que apoie a osseointegração e impeça a adesão e crescimento bacteriana.

REFERÊNCIAS

- ABREU, E. C. R. *et al.* Tratamentos de superfícies de implantes de titânio e zircônia: revisão de literatura. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 9, p. e37810918197, 2021.
- ALAMOUDI, A. Nanoengineering and surface modifications of dental implants. **Cureus**, v. 16, n. 1, 2024.
- ALBREKTSSON, T. *et al.* Implantes osseointegrados de titânio: requisitos para garantir uma ancoragem direta e duradoura do osso ao implante no homem. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 2, p. 155-170, 1981.
- ANEKSOMBOONPOL, P. *et al.* Características da estrutura superficial de implantes dentários e suas possíveis alterações após a instalação: uma revisão da literatura. **Jornal da Associação Coreana de Cirurgias Orais e Maxilofaciais**, v. 3, p. 114, 2023.
- AMARANTE, E. S.; LIMA, L. A. Otimização das superfícies dos implantes: plasma de titânio e jateamento com areia condicionada por ácido - estado atual. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, p. 166-173, 2001.
- ANNUNZIATA, M.; GUIDA, L. The effect of titanium surface modifications on dental implant osseointegration. **Front Oral Biol**, v. 17, p. 62-77, 2005.
- ARAUJO, M. K. T. Avaliação da adesão inicial de *Streptococcus oralis* em discos de titânio com micro e nanotopografia: estudo in vitro. 2019.
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, p. 27-51, 2005.
- BARÃO, V. A. R. *et al.* Modificações emergentes na superfície do titânio: a guerra contra infecções polimicrobianas em implantes dentários. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 33, p. 1-12, 2022.
- BISPO, L. B. A influência do tratamento de superfície das fixações na osseointegração. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 31, n. 3, p. 61-70, 2020.
- BRANDÃO, M. L. *et al.* Superfície dos implantes osseointegrados x resposta biológica. **Implantnews**, p. 95-101, 2010.
- BRANEMARK, P. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw: experience from a 10-year period. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v. 16, p. 1-132, 1977.
- BUSER, D. *et al.* Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. **Journal of Dental Research**, v. 83, n. 7, p. 529-533, 2004.

BUSSCHER, H. J. *et al.* Biomaterial-associated infection: locating the finish line in the race for the surface. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 153, 2012.

CAIAZZO, F. *et al.* Investigação de juntas de bordas de chapas de Inconel 625 processadas com soldagem a laser. **Óptica e Tecnologia Laser**, p. 180-186, 2017.

CERVINO, G. *et al.* Tratamento de superfície do implante dentário com ácido hialurônico: uma visão geral dos dados recentes. **Revista Internacional de Pesquisa Ambiental e Saúde Pública**, v. 18, n. 9, p. 4670, 2021.

CIOTTI, D. L. *et al.* Características morfológicas e composição química da superfície e da microfenda implante-abutment dos implantes de dois estágios. **ImplantNews**, p. 401-404, 2007.

CHIAPASCO, M.; ROMEO, E. **Reabilitação Oral com prótese implantossuportada para casos complexos**. 1. ed. Santos: Santos Livraria Editora, 2007.

CHIOU, L. L. *et al.* Comparison of in vitro biofilm formation on titanium and zirconia implants. **BioMed Research International**, v. 2023, 2023.

COUTO, A. C. S. **Tratamento da peri-implantite com implantoplastia: revisão sistemática**. 2019.

DAVIES, J. E. Understanding peri-implant endosseous healing. **Journal of Dental Education**, v. 67, n. 8, p. 932-949, 2003.

FENG, S. W. *et al.* Pequenas células-tronco do sangue para melhorar a formação de osseointegração precoce em implantes dentários: um estudo de segurança de fase I em humanos. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2021.

FERREIRA, D. H. C.; LOURENÇO, E. L. S.; MELO, I. T. S. O insucesso na perda precoce de implantes dentários. **Revista Cathedral**, v. 3, n. 1, p. 48-56, 2021.

FREITAS, P. H. *et al.* Implantes de zircônia na Odontologia: revisão de literatura. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 26, n. 79, 2017.

CARVALHO, B. M. *et al.* Tratamentos de superfície nos implantes dentários. **Rev Cir Traumatol Buco Maxilofac**, v. 9, n. 1, p. 123-130, 2009.

ELIAS, C. N. *et al.* **Diferentes superfícies dos implantes dentários**. In: III Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Campinas, SP. 2004.

ELIAS, C. N.; LIMA, J. H. C.; SANTOS, M. V. Modificações na superfície dos implantes dentários: pesquisa básica e aplicação clínica. **Revista ImplantNews**, v. 8, n. 2, p. 467-474, 2008.

FREITAS, P. H. *et al.* Implantes de zircônia na Odontologia: revisão de literatura. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 26, n. 79, 2017.

FURTSEV, T. V. *et al.* A limpeza a laser melhora a adesão das células-tronco na superfície do implante dentário durante o tratamento da peri-implantite. **Revista Odontologia**, v. 11, n. 2, 2023.

GERITS, E.; VERSTRAETEN, N.; MICHIELS, J. New approaches to combat *Porphyromonas gingivalis* biofilms. **Journal of Oral Microbiology**, v. 9, n. 1, 2017.

HOSSEINPOUR, S. *et al.* Microbial decontamination and antibacterial activity of nanostructured titanium dental implants: a narrative review. **Nanomaterials**, v. 11, n. 9, p. 2336, 2021.

INCHINGOLO, A. M. *et al.* Surface coatings of dental implants: a review. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 5, p. 287, 2023.

JÄGER, M. *et al.* Antimicrobial and osseointegration properties of nanostructured titanium orthopedic implants. **Materials (Basel)**, 2017.

JOLY, J. C. *et al.* Clinical and radiographic evaluation of soft and hard tissue changes around implants: a pilot study. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 8, p. 1097-1103, 2003.

JUNG, R. *et al.* Systematic review of the survival rate and the incidence of biological, technical, and aesthetic complications of single crowns on implants reported in longitudinal studies with a mean follow-up of 5 years. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, p. 2-21, 2012.

LACKINGTON, W. A. *et al.* Adapting to regulatory changes: the use of innovative technologies in dental implant surface treatment. **Dental Materials Journal**, v. 100, 2022.

LUCAS, R. R. S. Fatores que afetam a osseointegração dos implantes: uma revisão. **Revista Fluminense de Odontologia**, 2013.

LI, J. *et al.* Titanium surface interacting with blood clot enhanced migration and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, p. 1136406, 2023.

LI, L. H. *et al.* Melhor desempenho biológico de implantes de Ti devido à modificação da superfície por oxidação por microarco. **Biomateriais**, v. 25, n. 14, p. 2867-2875, 2004.

MARINO, J. S. *et al.* Avaliação clínica de implantes dentários com tratamento de superfície com ataque ácido duplo: um estudo observacional de coorte com acompanhamento de até 10 anos. **Materials**, v. 14, n. 21, p. 6483, 2021.

MARTINS, V. *et al.* Osseointegração: análise de fatores clínicos de sucesso e insucesso. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 32, n. 1, p. 26-31, 2011.

NOVAES, J. R. *et al.* Influence of implant surfaces on osseointegration. **Brazilian Dental Journal**, v. 21, p. 471-481, 2010.

OLIVEIRA, J. A. *et al.* Observações qualitativas e quantitativas das reações do tecido ósseo a implantes anodizados. **Biomateriais**, v. 23, p. 1809–1817, 2002.

OLIVEIRA, A.; OLIVEIRA, J.; REES, J. Características da superfície do implante e seu efeito na osseointegração. **Irmão Dent.**, v. 218, p. E9, 2015.

OLIVEIRA, A.; OLIVEIRA, A.; CHRCANOVIC, B. Resultados clínicos a longo prazo de implantes com diferentes modificações de superfície. **Eur. J. Implantol Oral**, v. 11, supl. 1, p. S123–S136, 2018.

OLIVEIRA, M.; ALBREKTSSON, T. Desempenho clínico de implantes dentários com superfície moderadamente rugosa (TiUnite): uma meta-análise de estudos clínicos prospectivos. **Int. J. Bucomaxilofac. Implantes**, v. 32, p. 717–734, 2017.

O'SULLIVAN, L.; RÍORDÁIN, R. N. Concentrados autólogos de plaquetas em cirurgia oral: protocolos, propriedades e aplicações clínicas. **Cirurgia Oral, Medicina Oral, Patologia Oral e Radiologia Oral**, v. 2, p. 156-164, 2022.

PALMQUIST, A. *et al.* Titanium oral implants: surface characteristics, interface biology and clinical outcome. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 6, n. 7, p. S515-527, 2010.

PEREIRA, J. *et al.* Removal torque and biofilm accumulation at two dental implant-abutment joints after fatigue. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 31, n. 4, 2016.

PYO, S. W. *et al.* Verificação da confiabilidade da avaliação da capacidade de amortecimento por meio da análise in vitro do micromovimento do implante no modelo de perda óssea peri-implantar. **Revista Internacional de Implantes Orais e Maxilofaciais**, v. 1, 2021.

TAKEUCHI, M. *et al.* Acid pretreatment of titanium implants. **Biomaterials**, v. 24, n. 10, p. 1821-1827, 2003.

RENVERT, S. *et al.* Tratamento cirúrgico de peri-implantite com ou sem mineral ósseo bovino desproteínizado e membrana de colágeno de bicamada nativa: um ensaio clínico randomizado. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 48, p. 1312-1321, 2021.

RIGOTTI, R. L. O.; TARDELLI, J. D. C.; REIS, A. C. Influence of antibacterial surface treatment on dental implants on cell viability: a systematic review. **Heliyon**, 2023.

ROBITAILLE, N. *et al.* Doenças periodontais e periimplantares: infecções idênticas ou fraternas? **Microbiologia Oral Molecular**, v. 4, p. 285-301, 2016.

ROMEIRO, R. L. *et al.* Aderência de microrganismos em implantes dentários de superfície lisa ou tratada. **Innovations Implant Journal**, v. 5, n. 2, p. 25-29, 2010.

SALVI, G. E. *et al.* Padrões de colonização bacteriana de um ano de *Staphylococcus aureus* e outras bactérias em implantes e dentes adjacentes. **Pesquisa Clínica em Implantes Orais**, v. 19, n. 3, p. 242-248, 2008.

SANTOS, D. C. A.; RIBEIRO, A. C. **Resposta óssea frente aos quatro principais tipos de tratamento de superfície dos implantes osseointegráveis**. 2012.

SILVA, P. G.; CARVALHO, T. A.; JÚNIOR, H. M. Princípios de osseointegração em implantodontia: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 13, p. e41121344216, 2023.

SILVA, F. L. *et al.* Tratamento de superfície em implantes dentários: uma revisão de literatura. **RFO UPF**, v. 21, n. 1, p. 136-142, 2016.

SHIYA, M. T.; DE FIGUEIREDO, M. M. B. M. Implantes osseointegráveis em pacientes HIV positivos: uma revisão de literatura sobre histórico, cuidados e riscos. **Revista InterCiência-IMES Catanduva**, v. 1, n. 5, p. 17-17, 2021.

SUL, Y. T. *et al.* A resposta óssea de implantes de titânio bioativos e não bioativos oxidados. **Biomateriais**, v. 26, n. 33, p. 6720-6730, 2005.

SOTOVA, C. *et al.* Dental implants: modern materials and methods of their surface modification. **Materials**, v. 16, n. 23, p. 7383, 2023.

SOUZA, G. A. *et al.* Plataformas em implantes dentais: um paralelo entre implantes de hexágono interno, hexágono externo e cone-morse. **Ciência Atual – Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário São José**, v. 7, n. 1, 2016.

SOUZA, J. G. S. *et al.* Targeting implant-associated infections: titanium surface loaded with antimicrobial. **iScience**, v. 24, p. 10008, 2021.

SMEETS, R. *et al.* Impact of dental implant surface modifications on osseointegration. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

SCHWARZ, F. *et al.* Peri-implantitis: summary and consensus statements of group 3. The 6th EAO Consensus Conference. **Clinical Oral Implants Research**, v. 32, p. 245-251, 2021.

APÊNDICE A - PARECER DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE CÉLULAS SANGÜÍNEAS E MICRORGANISMOS EM IMPLANTES COM TRÊS DIFERENTES TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE

Pesquisador: Shelon Cristina Souza Pinto

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 68375723.7.0000.0105

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.976.075

Apresentação do Projeto:

Projeto de Pesquisa:

AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE CÉLULAS SANGÜÍNEAS E MICRORGANISMOS EM IMPLANTES COM TRÊS DIFERENTES TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE. A aderência de elementos sanguíneos representa o passo inicial para cicatrização e de microrganismos a possibilidade de desenvolvimento de uma doença peri-implantar. Portanto o objetivo deste trabalho é avaliar os implantes de titânio usinados lisos não submetidos a qualquer tipo de

tratamento de superfície, submetidos ao jateamento seguido de ataque ácido e submetidos a oxidação anódica em implantes de titânio comparando-os por meio da aderência de microrganismos, células sanguíneas e resistência. Materiais testados: implantes de titânio usinados, que não serão submetidos a qualquer tipo de tratamento de superfície (n=10). Implantes de titânio submetidos ao jateamento seguido por ataque ácido (n=10).

Implantes de titânio submetidos a oxidação anódica (n=10). A pesquisa de aderência de células sanguíneas seguirá as seguintes fases: aderência

de células sanguíneas e análise em microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo. No que se refere a aderência de *Streptococcus*

sanguinis as análises serão: formação de biofilme, microscopia eletrônica de varredura por

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, UEPG, Campus Uvaranas, Bloco da Reitoria, sala 22

Bairro: Uvaranas

CEP: 84.030-900

UF: PR

Município: PONTA GROSSA

Telefone: (41)3220-3282

E-mail: propespasecretaria@uepg.br

APÊNDICE B - HEMOGRAMA COMPLETO DO VOLUNTÁRIO


UEPG

 Universidade
Estadual de
Ponta Grossa

Laboratório Universitário de Análises Clínicas

Av. Gal. Carlos Cavalcanti, 4748 - Campus em Uvaranas - Fones: 42 3220-3751 e 42 3220-3753 - Ponta Grossa - Pr



Paciente

Médico A pedido

Convênio ACADÊMICOS DISC. AN. CLÍNICA Procedência: UNIDADE MATRIZ

Idade 30 Anos

Data Req. 06/10/2023

Data Emissão : 25/10/2023



00018300

Hemograma

Material: Sangue

Método: SYSMEX XN-350

Eritrograma

		V.R.: Masculino	V.R.: Feminino
Eritrócitos	5,39 milhões/mm ³	4,50 a 5,90 milhões/mm ³	4,03 a 5,63 milhões/mm ³
Hemoglobina	15,1 g/dL	13,4 a 16,2 g/dL	12,1 a 16,2 g/dL
Hematócrito	44,1 %	41,3 a 52,7 %	37,3 a 48,9 %
R.D.W.	13,3 %	10,0 a 15,0 %	10,0 a 15,0 %
V.C.M.	81,8 µ ³	80,9 a 99,9 µ ³	80,9 a 99,9 µ ³
H.C.M.	28,0 pg	26,6 a 34,4 pg	26,6 a 34,4 pg
C.H.C.M.	34,2 %	30,3 a 36,5 %	30,3 a 36,5 %

Leucograma

Valores de Referência

Leucócitos	6.180 /mm ³	4.000 a 10.000 /mm ³
Eosinófilos	1 %	0 a 883 /mm ³
Basófilos	0 %	0 a 100 /mm ³
Linfócitos	32 %	848 a 3.959 /mm ³
Linfócitos Atípicos	0 %	0 /mm ³
Monócitos	6 %	0 a 855 /mm ³
Blastos	0 %	0 /mm ³
Promielócitos	0 %	0 /mm ³
Mielócitos	0 %	0 /mm ³
Metamielócitos	0 %	0 /mm ³
Bastonetes	0 %	0 a 701 /mm ³
Segmentados	61 %	2.055 a 7.720 /mm ³
Neutrófilos	61 %	2.255 a 8.244 /mm ³

Plaquetas : 256.000/mm³ 150.000 a 450.000 /mm³

Exame liberado eletronicamente por: DRA MACKELLY SIMIONATTO

Data Coleta: 06/10/2023 07:56

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Estadual de Ponta Grossa

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS

Av.: Gen. Carlos Cavalcanti, 4748 CEP: 84030-900 Bloco M, Sala 100

Campus Uvairemas Ponta Grossa Fone: (42) 3220.3108 e-mail: seccoeop@uepg.br

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você **Willian Rafael Rodrigues do Prado**, está sendo convidado a participar da pesquisa "Avaliação da adesão de microrganismos e células sanguíneas em implantes com quatro diferentes tratamentos de superfície". Tendo como pesquisador responsável **Shelon Cristina Souza Bandeca** e como pesquisadora participante **Marcelly Anny Gonçalves de Oliveira** da Universidade Estadual de Ponta Grossa. O objetivo da pesquisa é: avaliar os tratamentos de superfície: usinados, submetidos a duplo ataque ácido, duplo ataque ácido com tecnologia HANano e oxidação anódica em implantes de titânio comparando-os por meio da aderência de microrganismos e células sanguíneas.

A sua participação no estudo será de fornecer sangue para o teste de aderência de células sanguíneas em implantes dentários. O trabalho a ser realizado tem caráter científico, tendo por finalidade a tentativa de se descobrir uma técnica nova para adesão de células do seu sangue sobre implantes dentários. Ao participar desse trabalho, você contribuirá para a tentativa de melhorar a recuperação do tecido gengival nos vários procedimentos realizados com implantes dentários. Você irá doar o que exceder desses 5mL de tecido sanguíneo a serem retirados, após a realização dos exames laboratoriais, sendo estes hemogramas e coagulograma, para aplicação sobre as amostras dentais. Os resultados desses exames citados no item 3, poderão ser divulgados quando da publicação deste trabalho, mas você tem garantida a preservação da sua identidade. Todo o procedimento poderá ser documentado por meio fotográfico, desde que não haja meios para identificá-lo. Sua preocupação como voluntário deverá se restringir apenas à utilização deste material. A coleta do sangue será realizada por pessoal capacitado, sob supervisão de uma enfermeira padrão para evitar e minimizar riscos e danos previamente esclarecidos. Os materiais utilizados para a coleta serão todos descartáveis. Não terá nenhuma despesa ao participar desse estudo. Seu nome será mantido em sigilo, assegurando assim sua privacidade e se desejar, será informado sobre os resultados dessa pesquisa. Qualquer pergunta ou novidade sobre os procedimentos a serem realizados ou em relação a pesquisa, que surgirem durante o período experimental, serão esclarecidos e respondidos a você, mesmo que isso implique em desistência. Além disso, você pode se retirar da pesquisa a qualquer momento, sem sofrer nenhum prejuízo ou causar dano a pesquisa em andamento, aos pesquisadores ou a qualquer tratamento a ser realizado posteriormente nesta faculdade.

Após as análises você será informado dos resultados desta pesquisa da qual participa. Sua participação é voluntária, portanto, não receberá recompensa ou gratificação nem pagará para participar. Será garantido o livre acesso a todas as informações e retirada de dúvidas sobre o estudo, enfim, tudo o que você queira saber antes, durante e depois da participação na pesquisa. Você poderá deixar de participar do estudo a qualquer momento, sem apresentar justificativas e,

também, sem prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido, tendo também todas as dúvidas esclarecidas sobre a sua participação neste trabalho. Em caso de dúvidas, você poderá entrar em contato com qualquer um dos membros da pesquisa ou com a Comissão de Ética em Pesquisa da UEPG:

Nome do pesquisador: Shelon Cristina Souza Bandeca

Rua: Ermelino de Leão, 1097, apto 33 – Ponta Grossa /PR Telefone: (042) 999244198

Nome do pesquisador: Marcelly Anny Gonçalves de Oliveira

Rua: Afonso Pena, 332, apto 22 – Ponta Grossa /PR Telefone: (042) 998098077

Comitê de Ética em Pesquisa

UEPG campus Uvaranas, Bloco M, sala 100 Telefone: (42) 3220-3108.



Assinatura do convidado para a pesquisa



Assinatura pesquisador responsável



Assinatura pesquisador participante

Ponta Grossa, 25 de outubro de 2023.