

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Caroline Ribeiro Serrão

MICROINFILTRAÇÃO E CORROSÃO POR *Streptococcus mutans* NA INTERFACE PILAR PROTÉTICO/IMPLANTE DENTÁRIO DE TITÂNIO

Taubaté - SP
2007

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Caroline Ribeiro Serrão

**MICROINFILTRAÇÃO E CORROSÃO POR *Streptococcus*
mutans NA INTERFACE PILAR PROTÉTICO/IMPLANTE
DENTÁRIO DE TITÂNIO**

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
Graduação em Odontologia do Departamento
de Odontologia da Universidade de Taubaté.
Área de Concentração: Prótese Dentária
Orientadora: Profa. Dra. Silvana Soléo Ferreira
dos Santos
Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Rosifini
Alves

Taubaté - SP
2007

CAROLINE RIBEIRO SERRÃO

**MICROINFILTRAÇÃO E CORROSÃO POR *Streptococcus mutans* NA
INTERFACE PILAR PROTÉTICO/IMPLANTE DENTÁRIO DE TITÂNIO**

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
Graduação em Odontologia do Departamento
de Odontologia da Universidade de Taubaté.
Área de Concentração: Prótese Dentária

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Dedico este trabalho

A *Deus*, presença constante nos desafios e metas traçados para minha vida.
“*Ele é meu refúgio e fortaleza e Nele confiarei*”.

Ao meu esposo *Marcelo*, pelo companheirismo ao longo desses quatro anos ininterruptos de estudo, me apoiando e dando força nos momentos difíceis, compreendendo e suprimindo as minhas ausências. Seu papel é essencial para a minha contínua jornada em busca de crescimento pessoal e profissional.

Ao *Pedro*, por preencher minha vida de amor, alegria e energia; e a *Isabelli*, presença constante nas longas horas de estudo para conclusão deste trabalho.

Aos meus pais, *Eraldo* e *Marielza*, pelo amor, dedicação e cuidado dispensados a mim em todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão, *Serrão*, companheiro de jornada. Que consigamos aprender e crescer juntos.

Às minhas avós, *Elza* e *Maiza*, sempre zelosas e desprendidas.

Aos meus tios, em especial, *Eliana*, *Lucianna* e *Monika*, sempre marcantes presenças desde minha infância, incentivando minhas vitórias profissionais.

À minha amiga *Ana*, sempre zelando por nosso bem estar com desvelo, amor e carinho, e organizando nosso lar em minha ausência.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Silvana Soléo Ferreira dos Santos, exemplo de dedicação à pesquisa e principalmente ao aluno, por toda dedicação, desprendimento e estímulo para realização deste trabalho.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Ana Paula Rosifini Alves, excelente profissional e pesquisadora, pela orientação imprescindível para conclusão deste trabalho.

À Profa. Dra. Ana Christina Claro Neves, coordenadora do programa de Pós-graduação, pela amizade, carinho e ensinamentos transmitidos.

Aos Prof. Dr. Sigmar de Mello Rode e Prof. Dr. Maximiliano Piero Neisser pelo auxílio na prática da docência e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos Prof. Dr. Paulo Sérgio Perri de Carvalho, Prof. Dr. Djalma Nunes e Prof. Dr. Fernando Luppino, responsáveis por instigar meu interesse acadêmico na área da Implantodontia.

Ao Prof. Dr. Hélcio José Izario Filho, responsável pelo Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Química da Faculdade de Engenharia Química de Lorena - Universidade de São Paulo, pela realização da análise química das soluções.

Ao aluno de iniciação científica, Raul Acedo Pinto Alves da Cruz, da Faculdade de Engenharia Química de Lorena - Universidade de São Paulo, pela colaboração na análise química das soluções.

À bióloga Jane Rose Dias Dionísio Rodrigues, do Laboratório de Microbiologia da UNITAU, cujo conhecimento e auxílio foram indispensáveis para realização deste trabalho.

A José Arauto Ribeiro, funcionário do Departamento da Engenharia Mecânica da UNITAU, pela amizade e auxílio para realização deste trabalho.

A todos os funcionários do Laboratório de Microbiologia da UNITAU.

Às secretárias da Pós-Graduação da Odontologia da UNITAU, Adriana e Alessandra, pela atenção e auxílio ao longo desta jornada.

Ao Técnico em Prótese Dentária César do Laboratório Pinheiro, pelas fundições e aplicação da cerâmica nos corpos-de-prova.

À empresa NEODENT, pela doação dos implantes e pilares protéticos, em especial a Consultora Científica Ivete Sartori, pelo estímulo e incentivo à realização desta pesquisa.

A todos os alunos da XI Turma do Programa de Pós-Graduação da UNITAU, em especial aos seis colegas da Prótese, pela amizade desenvolvida e pelo prazer do convívio diário.

À Flávia e Débora, grandes companheiras neste mestrado, pela amizade, pelos memoráveis momentos que passamos juntas durante o curso e por me ajudarem a suavizar a saudade de casa.

À minha cunhada e colega de profissão, Márcia, pela amizade e apoio nos momentos em que estive ausente em casa e no consultório.

A Soraya pelo incentivo e apoio dedicados a mim para realização deste trabalho, e por toda sua eficiência em cuidar do consultório e de nossos pacientes.

A todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Para realizar um sonho é preciso ter quatro “D”: determinação, dedicação, disciplina e desprendimento.
Determinação é aquela força interior capaz de fazer alguém afirmar com convicção: “este é meu sonho”.
Dedicação é a capacidade de se entregar a realização de um objetivo
Disciplina é a capacidade de seguir um método.
Desprendimento é a capacidade de abandonar o que não está funcionando para aprender o novo.

Roberto Shinyashiki

RESUMO

No âmbito da implantodontia é reconhecido que a microinfiltração na interface implante/pilar protético pode causar reações inflamatórias no tecido perimplantar. Apesar de estabelecido que microrganismos causem corrosão de metais em meio aquoso, a ação das bactérias na corrosão de materiais odontológicos tem sido pouco estudada. A corrosão pode gerar problemas biológicos, funcionais e estéticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a microinfiltração e corrosão por *Streptococcus mutans* na interface implante/pilar protético. Foram avaliados pilares protéticos tipo UCLA calcinável fundidos em liga de Co-Cr e tilite, UCLA com cinta metálica pré-fabricada em duas diferentes ligas (Ag-Pd e tilite) e dois tipos de pilar reto personalizável (titânio grau 5 e tilite). O interior dos implantes foi inoculado com *S. mutans*, os pilares protéticos aparafusados sobre os implantes, recebendo torque de 32 N.cm e imersos em caldo tioglicolato, onde permaneceram incubados por até 28 dias. A microinfiltração foi avaliada a cada 24 horas por 14 dias e depois, os grupos que não apresentaram turvação, foram inoculados e incubados por mais 14 dias. Depois de sete, 14 e 28 dias de incubação, o meio de cultura foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica. Com exceção do componente protético de Ag-Pd, todos os componentes testados tiveram um aumento na corrosão quando imersos em meio contendo *Streptococcus mutans*, de forma significativa ou não e os pilares UCLA com cinta pré-fabricada em Ag-Pd apresentaram maior porcentagem de microinfiltração (40%) embora sem diferença estatística significativa para os demais grupos testados.

Palavras-chave: Implantes dentários. Pilares protéticos. Corrosão. Microinfiltração. *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

In the field of implantology, it is recognized that microleakage at abutment/implant interface may cause inflammatory reactions in the peri-implant tissue. Although it's established that microorganisms cause corrosion on metals in water environments, the role of bacteria at corrosion of dental alloys is unknown. The corrosion may result in biological, functional and aesthetic effects. The aim of this *in vitro* experiment is to evaluate the microleakage and corrosion by *Streptococcus mutans* at implant/abutment interface. The evaluated abutments are the following: premachined UCLA of Ag-Pd, premachined UCLA of tilite, calcinable UCLA of Co-Cr, calcinable UCLA of tilite, tilite preparable trunion and titanium preparable trunion. The inner of implants were contaminated with *Streptococcus mutans* culture. The abutments were screwed on implants, receiving closing torques of 32 N.cm and immerse in thioglycolate, keeping incubated for 28 days. The microleakage was evaluated in each 24 hours, for 14 days. After that, the culture environments that weren't bleary were contaminated. The culture environments were analyzed in the 7th, 14th and 28th days, with atomic absorption spectrophotometry, for corrosion analyze. With exception of the prosthetic component of Ag-Pd, all the tested components had an increase in the corrosion when immersed in way contend *Streptococcus mutans*, of significant form or not, and the premachined UCLA of Ag-Pd presented higher percentage of microleakage (40%), but without difference significant statistics for the others tested groups.

Key words: Dental implants. Abutment. Corrosion. Microleakage. *Streptococcus mutans*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 MICROINFILTRAÇÃO E ADAPTAÇÃO NA INTERFACE IMPLANTE/PILAR PROTÉTICO	14
2.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE CORROSÃO	20
2.3 PRINCIPAIS MECANISMOS CORROSIVOS QUE ACOMETEM A INTERFACE IMPLANTE/PILAR PROTÉTICO	21
2.3.1 Corrosão galvânica	21
2.3.2 Corrosão sob fadiga	22
2.3.3 Corrosão por pite	22
2.3.4 Corrosão microbiológica	23
2.3.5 Corrosão por fresta	23
2.3.6 Corrosão geral ou uniforme	24
2.3.7 Corrosão-erosão	24
2.4 ESTUDOS SOBRE CORROSÃO DE LIGAS ODONTOLÓGICAS UTILIZADAS EM PRÓTESES SUPORTADAS POR IMPLANTES	25
2.5 ESTUDOS SOBRE CORROSÃO MICROBIOLÓGICA	29
2.6 <i>Streptococcus mutans</i>	31
2.6.1 Produção de ácidos	32
2.6.2 Produção de polissacarídeos extracelulares	33
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MATERIAL E MÉTODO	36
4.1 CORPOS-DE-PROVA	36
4.2 PREPARO DOS CORPOS-DE-PROVA	37

4.2.1 Preparo dos pilares UCLA com cinta metálica pré-fabricada	37
4.2.2 Preparo dos pilares UCLA calcináveis	39
4.2.3 Preparo dos pilares retos personalizáveis	40
4.2.4 Aplicação de cerâmica	42
4.2.5 Cimentação da supra-estrutura metálica ao pilar reto personalizável	46
4.3 ESTERILIZAÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA	46
4.4 PREPARO DO INÓCULO	47
4.5 CONTAMINAÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA	47
4.6 GRUPO CONTROLE	51
4.7 AVALIAÇÃO DA MICROINFILTRAÇÃO E AMOSTRAGEM PARA TESTE DE CORROSÃO	51
4.8 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA	53
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5 RESULTADOS	56
5.1 MICROINFILTRAÇÃO	56
5.2 CORROSÃO	58
6 DISCUSSÃO	66
7 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

Os implantes osseointegrados e o conceito de osseointegração foram apresentados à comunidade científica, na década de 80. A partir de então, a odontologia restauradora ganhou uma nova dimensão. A osseointegração foi definida como conexão direta, estrutural e funcional do osso estruturado, vivo e ordenado com a superfície de um implante submetido à carga funcional (ELIAS, 2001; TAKESHITA et al., 1989).

Vários estudos clínicos longitudinais, reproduzidos em centros de diferentes continentes, demonstraram que as próteses suportadas por implantes alcançavam altos índices de sucesso (aproximadamente 91% - 98%), após acompanhamento de até 15 anos. Assim, o uso de implantes para reabilitação de pacientes, total ou parcialmente edêntulos, cresceu vultuosamente em todo mundo (ADELL, 1983; ADELL et al., 1981; ALBREKTSSON, 1988).

A maioria dos sistemas de implantes dentais é composta por dois componentes: o implante (parte endóssea), colocado em uma primeira fase cirúrgica, e um pilar protético (componente transmucoso ou *abutment*), habitualmente, conectado ao implante, após a osseointegração, funcionando como suporte da prótese (STEINEBRUNNER et al., 2005).

Existe um espaço microscópico entre o implante e os componentes protéticos retidos por parafusos e, dependendo do tamanho desse espaço, pode ocorrer a passagem de fluidos, bactérias e macromoléculas originárias do fluido gengival ou saliva. A penetração de microrganismos bucais por esse espaço pode não só aumentar o risco de inflamação no tecido mole em torno do implante, como também a perda óssea perimplantar (GROSS; ABRAMOVICH; WEISS, 1999; STEINEBRUNNER et al., 2005).

Apesar de reconhecido que a colonização bacteriana, no interior do implante, gera problemas perimplantares, podendo causar até perda do implante, a ação de bactérias na corrosão, também denominada corrosão microbiológica, é pouco conhecida pela classe odontológica. Embora comprovado, em diversos campos industriais, que a corrosão microbiológica pode causar extensivos danos à estrutura do metal, poucos autores têm estudado a influência de bactérias na corrosão de metais e ligas odontológicas (LAURENT et al., 2001; MABILLEAU et al., 2006; WILSON et al., 1995).

A corrosão na interface implante/pilar protético é mais evidente quando ligas alternativas são utilizadas para confecção desses pilares. Essas ligas, geralmente, possuem propriedades mecânicas e de manipulação semelhantes às ligas nobres, entretanto, apresentam maior suscetibilidade à corrosão devido à presença de metais básicos. Esse fato tem maior importância em próteses sobre implantes, pois o polimetalismo, ou o contato entre dois metais diferentes em meio aquoso, pode propiciar um fenômeno denominado corrosão galvânica (TAGGER GREEN, et al., 2002; RAVNHOLT; JENSEN, 1991; TAHER; AL JABAB, 2003).

A corrosão pode gerar alterações estéticas e tornar o material inadequado ao uso ao qual é destinado. Além disso, íons liberados na cavidade bucal podem interagir com os tecidos vivos, resultando na adesão bacteriana, efeitos tóxicos e subtóxicos, além de alergia (SCHMALZ; GARHAMMER, 2002). O níquel na forma iônica possui comportamento sabidamente tóxico, estando relacionado à perda óssea e à fratura de implantes (TAGGER GREEN et al., 2002).

O biofilme bucal pode causar a corrosão mediante a formação de áreas de corrente galvânica, por ação direta de substâncias produzidas por microrganismos (ácidos láctico e fórmico) e por ação de substâncias produzidas por células inflamatórias (peróxidos) (MABILLEAU et al., 2006).

A microbiota bucal é complexa e estima-se que compreenda mais de 500 espécies de microrganismos (SOCRANSKY; HAFAAJEE, 2002). Dentre esses, *Streptococcus mutans* é encontrado, habitualmente, em grande quantidade. Esse é o principal agente etiológico da cárie, possuindo grande capacidade de metabolizar carboidratos (um dos principais componentes da dieta humana) e produzir ácido, além de resistir em pH baixo (KURAMITSU, 1993; SONG, et al., 2006). Por essas razões, esse microrganismo pode estar envolvido na corrosão de metais odontológicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MICROINFILTRAÇÃO E ADAPTAÇÃO NA INTERFACE IMPLANTE/PILAR PROTÉTICO

Jansen, Conrads e Ritcher (1997) realizaram um estudo com objetivo de determinar a infiltração bacteriana na interface implante/componente protético. Foram utilizados trinta diferentes combinações de implantes e pilares, a partir de nove diferentes sistemas. O interior dos implantes foi inoculado com 0,5 µl de suspensão de *Escherichia coli* e os pilares foram cuidadosamente conectados aos implantes. As amostras foram então colocadas em tubos contendo solução nutriente e incubados a 37 °C, por 14 dias. A microinfiltração foi avaliada por meio da turvação da solução nutriente. Além disso, microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para medir o espaço entre a plataforma do implante e os componentes protéticos. Os pilares pré-fabricados apresentaram média de desajuste de 5 µm. O componente Bone fit Octa apresentou maior desadaptação, resultante do processo de fundição, com valores chegando até 12 µm. Os autores concluíram que os sistemas de implantes avaliados não podem impedir adequadamente a microinfiltração e que a boa adaptação marginal, encontrada em alguns sistemas, não foi capaz de impedir a passagem da bactéria para a solução nutriente.

Byrne et al. (1998) avaliaram a adaptação de pilares pré-fabricados, calcináveis e pré-fabricados modificados em laboratório conectados a implantes. Seis combinações de implantes/componentes protéticos foram analisadas: implantes 3i (Implant Innovation, EUA) conectados a quatro tipos de componentes protéticos (STR, UCLA calcinável, UCLA pré-fabricado submetido à aplicação de porcelana e UCLA pré-fabricado não submetido à aplicação de porcelana) e implantes Nobel Biocare (Nobel Biocare, Suécia) conectados a dois tipos de pilares (CeraOne e

UCLA calcinável). Os componentes foram preparados e conectados aos implantes, sendo que os pré-fabricados receberam torque de 32 N.cm e os calcináveis de 20 N.cm. As amostras foram analisadas por microscopia óptica, com cem vezes de aumento. Os resultados demonstraram que os pilares pré-fabricados (CeraOne, STR) e UCLA pré-fabricado (submetidos ou não à aplicação de porcelana) apresentaram melhor adaptação que os pilares calcináveis.

Besimo et al. (1999) avaliaram *in vitro* a microinfiltração por *Staphylococcus aureus* em implantes conectados a coroas retidas por parafuso, após o selamento da interface de conexão com verniz contendo clorexidina. Os corpos-de-prova foram, em primeiro momento, completamente imersos por oito semanas e, parcialmente, imersos (excluindo o túnel de acesso ao parafuso da coroa) por 11 semanas. *S. aureus* foi detectado apenas em uma das cinco amostras, totalmente imersas, e em nenhuma das superfícies internas dos corpos-de-prova parcialmente submersos. Com objetivo de testar a capacidade de infiltração bacteriana da porção interna do implante para o meio externo, o teste foi repetido, incluindo algumas modificações. Após a aplicação do verniz, 2 µl de cultura bacteriana foram pipetados na parte interna do implante, a coroa foi parafusada sobre o pilar e as amostras foram totalmente imersas em meio de cultura esterilizado e incubadas por uma semana. Durante o experimento, não foi observado crescimento bacteriano no meio de cultura e, conseqüentemente, não houve infiltração da porção interna do implante para o meio externo. Os autores concluíram que o verniz contendo clorexidina possui habilidade de selar a interface implante/pilar protético, além de possuir capacidade bactericida.

Gross, Abramovich e Weiss (1999) analisaram a microinfiltração na interface implante/pilar protético de cinco diferentes sistemas: Spline (Calcitek, EUA), ITI (Straumann, Suíça), Ceraone (Nobel Biocare, Suécia), Steri-Oss (Steri-oss, EUA) e

3i (Implant Innovation, EUA). Foram selecionados pilares protéticos parafusados para próteses retidas por cimento, totalizando ao menos três amostras de cada conjunto implante/pilar protético. O grau de microinfiltração foi determinado por meio de espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados indicaram que pequenas moléculas e fluidos são capazes de passar através da interface implante/pilar protético. A microinfiltração variou dependendo dos sistemas, das amostras e dos torques utilizados. Os testes estatísticos indicaram que a diferença entre os sistemas foi significativa apenas nos primeiros vinte minutos. O Sistema ITI apresentou maior microinfiltração que os outros sistemas. O aumento do torque (10 N.cm para 20 N.cm) diminuiu significativamente a microinfiltração em todos os sistemas.

Piattelli et al. (2001) compararam em estudo *in vitro* a infiltração de bactérias e fluidos na cavidade interna de implantes acoplados a pilares protéticos retidos por parafuso (PRP) e pilares protéticos retidos por cimento (PRC). Microscopia eletrônica foi utilizada com o objetivo de medir o espaço entre a plataforma do implante e o pilar protético. Nos implantes acoplados a PRP a média do espaço foi de 2 a 7µm. Já nos implantes acoplados com CRP, a média foi de 7 µm, entretanto, o espaço entre o pilar protético e o implante foi preenchido por cimento. Para a análise de penetração de fluido, um papel absorvente foi colocado no interior dos implantes conectados aos pilares protéticos e estes foram imersos em recipiente contendo azul de toluidina, por 30 h. Nos implantes acoplados a PRP, houve impregnação do papel absorvente pelo corante, o que não ocorreu nos implantes conectados a PRC. Na terceira fase do experimento, cultura de *Pseudomonas aeruginosa* foi selecionada para a avaliação da infiltração microbiológica. Meio de cultura esterilizado foi colocado no interior dos implantes e os conjuntos implante/pilar protético imersos na suspensão de *P. aeruginosa*. Em todas as amostras de implantes conectados a PRP foi observada a contaminação do meio,

enquanto nas amostras conectadas a PRC não se observou contaminação do meio. Os autores concluíram que pilares protéticos retidos por cimento apresentam melhores resultados em relação à infiltração de fluidos e bactérias, quando comparados a pilares protéticos retidos por parafuso.

De acordo com Cravinhos (2003), a microinfiltração pela interface implante/componente protético é um dos parâmetros para determinar a qualidade de adaptação dessa interface. Dessa forma, os autores avaliaram a infiltração bacteriana através interface de conexão protética de três sistemas de implantes (Colosso, Conect e Globtec). O interior dos implantes foi inoculado com 0,1 µl de cultura pura de *Streptococcus sanguis*, os conectores protéticos foram adaptados, recebendo torque de 30 N.cm. As amostras foram imersas em caldo BHI (Brain Heort Infusion) esterilizado e incubadas por 14 dias. A microinfiltração foi determinada por contaminação do meio de cultura. A porcentagem de amostras que apresentaram microinfiltração para os grupos Colosso, Conect e Globtec foram respectivamente: 87,3 %, 87,5% e 71,43%. Não foram verificadas diferenças estatísticas significantes entre os grupos.

Carvalho, Neisser e Bottino (2004) avaliaram a adaptação na interface implante/pilar protético. Para o experimento, foram utilizados dois sistemas de implantes compatíveis entre si (3i-Implant Innovation e Implamed-Sterngold) e dois tipos de UCLA (pré-fabricado em ouro e calcinável). Os pilares calcináveis foram fundidos em titânio comercialmente puro e liga tilite (Talladium-Brasil). Os componentes protéticos de cada grupo foram fixados aos implantes, recebendo torque de 20 N.cm e a interface de conexão foi avaliada por MEV (microscópio eletrônico de varredura), com aumento de mil vezes. Os valores médios de desajuste encontrados foram: 1,94 µm para pilar pré-fabricado da Implamed; 2,52 µm para o mesmo componente da 3i. Para os pilares calcináveis este valor variou de

4,6 µm a 5,8 µm para os componentes da Implamed e 7,5 µm a 8,8 µm para os da 3i. Os autores concluíram que os componentes pré-fabricados em ouro da Implamed apresentaram melhor adaptação que os da 3i, e que esses componentes apresentaram melhores resultados quando comparados com os calcináveis. Não foi verificado diferença entre os metais utilizados para fundição dos pilares calcináveis.

De acordo com De Mori (2005), a adaptação inadequada entre implante e componente protético pode gerar complicações mecânicas e biológicas. O autor avaliou por MEV o desajuste na interface pilar UCLA/implante dentário, antes e após ensaio de fadiga. Foram utilizados pilares UCLA (calcinável e pré-fabricado) fundidos em liga de cobalto-cromo. Os componentes protéticos foram preparados e posicionados sobre os implantes, recebendo torque de 32 N.cm. Os pilares calcináveis apresentaram média de desadaptação de 5,33 µm após o torque e de 6,64 µm após a ciclagem, enquanto os pilares pré-fabricados apresentaram respectivamente média de 7,26 µm e 8,16 µm. Não houve diferença estatística na adaptação entre pilares calcináveis e pré-fabricados após o torque e após a ciclagem.

Dibart et al. (2005) testaram, em estudo *in vitro*, a habilidade do sistema de implante Bicon (EUA) impedir a infiltração de bactérias por meio da interface implante/pilar protético. Dez implantes conectados aos pilares protéticos foram imersos em meio nutriente contendo uma mistura bacteriana por 24 h e depois os pilares separados dos implantes para verificar, por MEV, a presença de bactéria nas paredes internas do implante. Numa segunda fase, dez pilares protéticos foram inoculados com meio de cultura contendo mistura de bactérias, montados nos implantes e os conjuntos incubados em caldo nutriente esterilizado, em anaerobiose por 72 h. Na avaliação por MEV, não foram detectadas bactéria nas paredes internas dos implantes e, na segunda fase, não houve turvação do caldo nutriente.

Os autores concluíram que o selamento promovido pelo sistema de implante não permitiu a invasão bacteriana *in vitro*.

Steinebrunner et al. (2005) avaliaram a microinfiltração de cinco sistemas de implantes adaptados a diferentes pilares protéticos, submetidos a um ensaio que simulava a mastigação. Foram testados os sistemas Branemark (Nobel Biocare, Suécia), Frialit-2 (Dentsply Friadent, Alemanha), Camlog (Altatec, Alemanha), Replace Select (Nobel Biocare, Suécia), Screw-Vent (Zimmer dental, EUA). Pilares protéticos parafusados para próteses retidas por cimento foram selecionados. Os implantes foram embutidos em resina autopolimerizável. Os pilares protéticos de cada sistema foram restaurados com coroas individuais de molares. A região interna de cada implante foi inoculada com 5 µl de suspensão de *E. coli* e as coroas conectadas aos implantes. Os corpos-de-prova foram imersos em caldo nutriente até metade da coroa e submetidos ao teste de fadiga por 1.200.000 ciclos. Todos os corpos-de-prova mostraram microinfiltração bacteriana. Os números de ciclos mastigatórios necessários para que ocorresse a microinfiltração nos sistemas Branemark, Frialit-2, Camlog, Select Replace, Screw-Vent foram respectivamente 172.800, 43.200, 345.600, 64.800, 24.300. Os resultados estatísticos demonstraram que o sistema Camlog apresentou microinfiltração em números de ciclos significativamente mais altos que os sistemas Frialit-2 e Screw-Vent.

Proff et al. (2006) avaliaram *in vitro* a capacidade de infiltração de *Porphyromonas gingivalis* através da interface implante/pilar protético de um sistema usado para ancoragem ortodôntica e de permanecer viável em seu interior. Além disso, foi avaliado o efeito de selamento da guta-percha aplicada na interface antes da conexão do pilar protético. Doze implantes de titânio foram montados com os respectivos pilares e submetidos a torque de 20 N.cm. Seis desses implantes foram selados com guta-percha antes da conexão do pilar. Os implantes foram então

colocados em caldo nutriente contendo a bactéria. Foram removidas amostras do interior dos implantes, após 24 h e 72 h para avaliar a presença e viabilidade bacteriana. Ocorreu penetração do patógeno para interior do implante tanto nas 24 h quanto nas 72 h. A bactéria também foi detectada no interior dos implantes selados com guta-percha. Os autores concluíram que a bactéria possui capacidade de infiltrar a interface implante/pilar protético, tanto na ausência quanto na presença de guta-percha. Além disso, a bactéria é capaz de se manter viável no interior do implante, portanto, esse local deve ser considerado um reservatório de microrganismos.

2.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE CORROSÃO

Corrosão é o ataque de uma superfície metálica envolvendo perda de material (TAYLOR, 1981). É um processo químico ou eletrolítico em que ocorre a deterioração do metal pela reação com o meio (ANUSAVICE; BRANTHEY, 2005).

No campo médico e odontológico, a corrosão, além de poder tornar o metal impróprio para a utilização (diminuindo sua resistência mecânica), gera liberação de íons nos tecidos, podendo provocar reações locais, como reações tóxicas e alergia (SCHMALZ; GARHAMMER, 2002).

O meio bucal é um local altamente corrosivo, devido à presença de vários agentes oxidantes como saliva, substâncias sulfurosas provenientes da decomposição de alimentos, substâncias ácidas, dentre outras. Essas substâncias tendem a receber elétrons e, quando reagem com metais presentes na cavidade bucal, podem gerar oxidação (TAGGER GREEN et al., 2002; GUINDY et al., 2004).

Vários fatores estão envolvidos na escolha do metal ou liga metálica para uso odontológico. Dentre esses, pode-se citar o comportamento corrosivo, as

propriedades mecânicas (resistência e facilidade de fabricação), o custo e valores estéticos. O comportamento corrosivo de materiais metálicos é a propriedade mais importante na escolha do metal para uso odontológico, devido à biocompatibilidade e citotoxicidade dos íons liberados na cavidade bucal (UPADHYAY et al., 2006).

2.3 PRINCIPAIS MECANISMOS CORROSIVOS QUE ACOMETEM A INTERFACE IMPLANTE/PILAR PROTÉTICO

2.3.1 Corrosão galvânica

De acordo com Karov e Hinberg (2001), o meio bucal é altamente corrosivo e reações eletroquímicas resultam em várias formas de corrosão. A combinação de materiais diferentes (como *brackets* ortodônticos e restaurações em diferentes ligas metálicas) pode resultar em corrosão galvânica.

Essa forma de corrosão ocorre quando dois materiais metálicos com diferentes potenciais elétricos são acoplados e imersos em um eletrólito, causando transferência de elétrons do anodo (geralmente metal mais básico) para o catodo (geralmente metal mais nobre). Esse processo se caracteriza por liberação de íons (cátions) do metal básico para o meio, o que resulta na corrosão localizada próxima a região de acoplamento, produzindo profundas perfurações no metal, denominadas “pite” ou “corrosão puntiforme” (GENTIL, 2003).

Um exemplo de corrosão galvânica é aquela que ocorre entre implantes dentais e metais utilizados nas próteses sobre implantes. Os implantes são, em sua grande maioria, fabricados em titânio comercialmente puro (Ti CP), entretanto, as supra-estruturas protéticas podem ser construídas em diferentes ligas metálicas. O Ti CP é altamente resistente à corrosão e usualmente catódico em relação a outras ligas menos nobres utilizadas nas supra-estruturas (como Ni-Cr e Co-Cr), por isso,

tendem a acelerar a corrosão e, conseqüentemente, a liberação de íons nos tecidos perimplantares (TAGGER GREEN et al., 2002).

2.3.2 Corrosão sob fadiga

Quando um material metálico está sujeito a esforços cíclicos em um meio capaz de atacar eletroquimicamente o material exposto, verificam-se condições para a implantação de corrosão sob fadiga. Quando o meio produz corrosão no metal, os produtos da corrosão são depositados sobre a superfície do metal formando uma camada passivadora que protege o metal de nova ação do meio. Quando o meio corrosivo e a fadiga atuam simultaneamente, a corrosão é muito mais acentuada, pois a ação da carga cíclica causa uma destruição localizada no filme de óxido superficial, permitindo que possam ser produzidos pites, que são cavidades profundas e puntiformes (DIETER, 1984).

2.3.3 Corrosão por pite

A corrosão por pite é um tipo de degradação localizada que ocorre em metais que possuem uma camada de óxido cobrindo e protegendo sua superfície, como titânio ou ligas de alumínio. Na presença de cloretos ou sob fadiga, ocorre dissolução local dessa camada de óxido e conseqüentemente, corrosão do metal subjacente, com liberação de íons metálicos para o meio e formação dos pites (ELIAS, 2001).

Os pites são cavidades profundas e puntiformes que funcionam como pontos de concentração de tensão, que, quando associados à sollicitação mecânica pode causar fratura do material (DIETER, 1984; GENTIL, 2003; UPADHYAY et al., 2006).

2.3.4 Corrosão microbiológica

De acordo com Pak et al. (2003), o termo corrosão microbiológica ou biocorrosão se refere à acelerada degradação do metal devido à presença de biofilme em sua superfície. A biocorrosão é resultado de interações entre a superfície do metal, produtos de corrosão abióticos, células bacterianas e os seus metabólitos (ácidos bacterianos e compostos voláteis como amônia).

Para Beech et al. (2006), os mecanismos envolvidos na biocorrosão ainda não estão totalmente elucidados, mas o biofilme depositado na superfície do metal pode modificar as propriedades químicas da camada passivadora de óxido e influenciar as reações de oxiredução, pela ação de enzimas extracelulares, pela atividade dentro da matriz do biofilme e por reações eletroquímicas na interface entre o biofilme e o metal.

Quando um metal ou substrato sólido é imerso em meio aquoso, inicia-se o processo de formação do biofilme. Em termos genéricos, os biofilmes são complexos microbiológicos formados por populações desenvolvidas a partir de uma única ou de múltiplas espécies, embebidas por uma matriz aglutinante e firmemente aderidos a uma superfície sólida e úmida. Podem ser encontrados em uma variedade de superfícies bióticas (como válvulas cardíacas, superfície dental e outras), e/ou abióticas (rochas existentes em mares e rios, tubulações, casco de barcos etc.) (MIRANDA et al., 2006).

2.3.5 Corrosão por fresta

De acordo com UPADHYAY (2006), é comum ocorrer um mecanismo denominado corrosão por fresta nos implantes. Esse tipo de corrosão ocorre nas

superfícies de metais onde há soluções estagnadas capazes de atacar o material. Os metais devem estar sobrepostos, formando um espaço entre eles, que permita a penetração e estagnação da solução eletrolítica. Nesses espaços estreitos as trocas de líquidos e de oxigênio são severamente limitadas, e as superfícies são submetidas à atividade de corrosão, gerando deterioração do material.

2.3.6 Corrosão geral ou uniforme

A corrosão uniforme consiste em uma reação química ou eletroquímica que ocorre, uniformemente, ao longo da superfície exposta do material ou sobre uma larga área, produzindo liberação de íons a partir do metal, os quais podem interagir com tecido (UPADHYAY et al., 2006). Esse tipo de corrosão é definido como um ataque generalizado de toda superfície do metal em contato com o meio corrosivo, gerando diminuição da espessura (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CORROSÃO, 2007).

2.3.7 Corrosão-erosão

Erosão é a aceleração no grau de desgaste mecânico do metal, devido ao movimento relativo entre fluido corrosivo e a superfície do material. Esse tipo de deterioração inclui a corrosão por atrito, que ocorre em áreas em que os metais estão em contato entre si e sujeitos a ação mecânica tipo vibração ou deslizamento (UPADHYAY et al., 2006).

A erosão provoca a remoção da camada superficial de óxido, deixando o material desprotegido, intensificando a corrosão. O resultado final será de um desgaste muito maior do que se apenas o processo corrosivo ou erosivo agisse

isoladamente (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CORROSÃO, 2007).

2.4 ESTUDOS SOBRE CORROSÃO DE LIGAS ODONTOLÓGICAS UTILIZADAS EM PRÓTESES SUPOSTADAS POR IMPLANTES

João e La Croix (1993) avaliaram a resistência à oxidação de três ligas (Ag-Pd, ouro e cobre-alumínio). Amostras das referidas ligas foram confeccionadas de forma padronizada e imersas em saliva artificial. Foi ativado um eletrodo de cada liga, na solução eletrolítica, em referência a um eletrodo padrão. Foi aplicado uma diferença de potencial eletroquímico e monitoramento do fluxo de elétrons no meio, através da densidade de corrente (velocidade de dissolução). Os resultados demonstraram que a liga de Ag-Pd e a liga de ouro, apresentaram boa resistência à corrosão. Já a liga de Cu-Al, apresentou alta tendência à oxidação, com liberação de elétrons na solução eletrolítica. Os autores concluíram que a liga de Ag-Pd é uma boa opção para uso odontológico, por apresentar alta resistência à corrosão.

Venugopalan e Lucas (1998) avaliaram, em estudo *in vitro*, o comportamento corrosivo de oito diferentes ligas metálicas acopladas ao titânio comercialmente puro grau II. Amostras padronizadas das ligas foram confeccionadas, acopladas ao titânio comercialmente puro e imersas em saliva artificial, simulando as condições intrabucais. Potencial de circuito aberto de cada material, potencial de corrosão acoplado e densidade de corrente de acoplamento, dentre outros parâmetros, foram monitorados ao longo do experimento. As ligas nobres ou semi-nobres (a base de ouro e de paládio) apresentaram maior resistência à corrosão galvânica quando acoplados ao titânio comercialmente puro. As ligas básicas como Ni-Cr, Co-Cr e ligas a base de ferro apresentaram moderada corrosão. A liga de níquel-cromo-berílio apresentou alta tendência à corrosão galvânica quando acoplada ao titânio.

Cortada et al. (2000) compararam o comportamento corrosivo do titânio comercialmente puro (Ti CP) acoplado a materiais utilizados em supra-estruturas de implantes (titânio fundido, titânio usinado, liga de ouro, liga de Ag-Pd e liga de Ni-Cr). Amostras padronizadas das referidas ligas foram confeccionadas e imersas em saliva artificial, com o Ti CP, a 37 °C, por 560h. Uma célula de corrosão foi montada com auxílio de um potenciostato e vários parâmetros eletroquímicos foram analisados (potencial de circuito aberto, potencial de corrosão, densidade de corrente, dentre outros). As amostras foram analisadas, antes e depois do ensaio, por microscopia óptica e eletrônica de varredura. Além disso, as soluções eletrolíticas foram analisadas para quantificação dos íons liberados ao longo do experimento. Os resultados dos testes eletroquímicos, microscopia e análise química da solução demonstraram que as amostras de Ti CP apresentaram maior resistência à corrosão e menor liberação de íons. Dentre as ligas nobres e semi-nobres (Au e Ag-Pd) a resistência à corrosão foi considerada boa, mas diminuiu à medida que foram introduzidos metais não nobres. A liga de Ni-Cr apresentou maior tendência à corrosão quando acoplada ao Ti CP.

Kuphasuk et al. (2001) compararam o comportamento corrosivo de seis materiais à base de titânio, entre eles, o titânio comercialmente puro e a liga Ti6Al4V. Três amostras padronizadas de cada liga metálica foram confeccionadas e imersas em solução fisiológica com pH 7 a 37 °C. Uma célula de corrosão foi montada com auxílio de um potenciostato e o grau de corrosão foi medido para cada tipo de liga metálica. Após os testes eletroquímicos, as soluções em que as amostras ficaram imersas foram analisadas por espectrofotometria de absorção atômica, para quantificar e qualificar os íons liberados. Os resultados dessa análise revelaram que as concentrações dos íons (Ti, Al e V) foram desprezíveis. Entretanto, os resultados dos testes eletroquímicos demonstraram que o titânio comercialmente

puro foi o material mais resistente à corrosão, enquanto a liga de Ti6Al4V apresentou menor passivação e maior tendência à degradação.

Sedarat et al. (2001), em experimento *in vitro*, avaliaram a corrosão de uma liga de titânio (Ti6Al4V), em solução contendo partes iguais de NaCl 0,9% e plasma humano. Implantes confeccionados na liga de Ti6Al4V foram imersos em tubos contendo 1,8 mL da referida solução, permanecendo por 96 dias a 37 °C e pH 7.2. A espectrofotometria de absorção atômica foi utilizada para quantificar os íons liberados na solução de imersão ao longo deste período. As médias de dissolução diária dos íons Ti, Al e V foram respectivamente: 16 ± 5 ng/cm²/dia, 9 ± 5 ng/cm²/dia e $0,15 \pm 0,18$ ng/cm²/dia. Após o período experimental (96 dias), a média de liberação total de titânio foi de 1565 ng/cm², de alumínio foi de 945 ng/cm² e de vanádio foi de 42 ng/cm². De acordo com os autores, os íons liberados podem causar efeitos adversos no organismo humano. Entretanto, afirmam que reações adversas ao titânio não têm sido relatadas na literatura. Por outro lado, os íons de Al e V, mesmo em menor quantidade, podem ser capazes de causar reações locais ou sistêmicas ou afetar o metabolismo celular.

Segundo Tagger-Green et al. (2002), o uso de metais não nobres em próteses sobre implantes pode contribuir com o mecanismo de fratura de implantes dentários. Os autores descrevem o caso de um implante de titânio que fraturou, após quatro anos de carga, cujas radiografias mostraram perda óssea na região perimplantar. A análise metalográfica do implante revelou que a fratura foi causada por fadiga do metal e que o material da coroa, uma liga de Ni-Cr-Mo, exibia corrosão. De acordo com os autores, o contato da base do metal da coroa com o titânio em presença de fluidos bucais promove corrosão galvânica e remoção de íons níquel, que aceleram a reabsorção. A perda de suporte ósseo permite movimentos laterais, que aumentam a tensão no metal podendo levar à fadiga e à

fratura. Os autores concluíram que fratura de implantes dentários é um fenômeno raro, mas que o uso de metais não preciosos para supra-estruturas de coroas podem contribuir para fratura e falência tardia do implante.

De acordo com Guindy et al. (2004), a corrosão da estrutura metálica de próteses sobre implantes é freqüentemente relacionada com a perda tardia de implantes. Considerando essa hipótese, os autores analisaram seis implantes que sofreram perda tardia, assim como o *abutment* protético, por meio de MEV. Os compostos das ligas metálicas das coroas (todas de ligas áureas) foram analisados por espectroscopia de energia dispersiva. A espectrometria de energia dispersiva (EDS) foi realizada para análise do conteúdo de íons metálico do tecido ósseo ao redor dos implantes. Os resultados demonstraram que os implantes e todas as superfícies internas das coroas apresentaram corrosão e extensas áreas de oxidação, a despeito do alto conteúdo de ouro. O tecido ósseo coletado de cinco dos seis implantes revelou presença de íons metálicos incompatíveis com os níveis fisiológicos. Segundo os autores, uma vez iniciada, a corrosão rapidamente progride na interface entre o implante e a supra-estrutura protética, resultando em liberação de íons tóxicos no tecido perimplantar e, conseqüentemente, perda óssea que ocasiona a perda tardia do implante.

Amoedo (2005) avaliou, em estudo *in vitro*, a corrosão sob fadiga de implantes de titânio conectados a pilares protéticos do tipo UCLA pré-usinados em duas diferentes ligas metálicas: níquel-cromo (Ni-Cr) e cobalto-cromo (Co-Cr). Os componentes protéticos foram preparados e fixados sobre os implantes recebendo torque 20 N.cm. Então, os corpos-de-prova foram imersos em meio fluoretado e submetidos a uma máquina de ensaio de fadiga simulando a mastigação. A espectrofotometria de absorção atômica foi utilizada para análise da liberação de íons para a solução eletrolítica, revelando que ocorreu liberação de Ni (21,7 µg/l) e

Cr (2,3 µg/l) para a liga de Ni-Cr; e Co (8,3 µg/l) e Cr (2,4 µg/l), para a liga de Co-Cr. A concentração do Ti liberado nas soluções, a partir do implante, foi desprezível para ambos os grupos. As superfícies foram analisadas em microscópio ótico e eletrônico e foram observadas alterações superficiais na plataforma de todos os implantes.

2.5 ESTUDOS SOBRE CORROSÃO MICROBIOLÓGICA

De acordo com Wilson et al. (1995), vários experimentos *in vitro* avaliam a corrosão de metais utilizados para próteses bucais. Entretanto, poucos atentam para a possível contribuição das bactérias nesse processo de oxidação. Por isso, os autores avaliaram a corrosão de imãs ($Nd_2Fe_{14}B$) na presença e ausência de *Streptococcus sanguis* NCTC 10904, um dos microrganismos predominantes na cavidade bucal. Os autores imergiram os imãs em saliva artificial esterilizada e saliva artificial contendo *S. sanguis*. As amostras de magnetos foram pesadas antes do experimento. Após 21 dias de experimento, verificaram que as amostras inseridas em saliva artificial demonstraram, significativamente, menor perda de massa (1,4%), que os imãs imersos em solução contendo microrganismos (3,2%). Os autores concluíram que essa bactéria tem importante capacidade de promover a corrosão de imãs intrabucais.

Wilson et al. (1997) verificaram a capacidade corrosiva do biofilme bucal sobre imãs intra-bucais, na ausência e presença de sacarose. Para isso, imergiram amostras de imãs ($Nd_2Fe_{14}B$) em saliva artificial contendo várias espécies bacterianas do biofilme bucal por 15 dias. Após esse período, sacarose a 10% foi acrescentada (em três porções por dia) por mais 15 dias. Periodicamente, as amostras foram avaliadas quanto ao número e espécie de bactérias, pH do meio e

peso dos imãs. O acréscimo de sacarose resultou em queda do pH, aumento do número de *Streptococcus* e redução do número de *Veionella*. Durante o experimento, houve perda significativa de massa dos imãs e isso foi marcante na presença de sacarose. A perda de massa também foi proporcional ao tempo que as amostras ficaram imersas no meio.

Xu, Chan e Fang (2001) utilizaram microscopia de força atômica para estudar a corrosão influenciada por microrganismos. De acordo com os autores, a formação do biofilme na superfície do metal não é uniforme, gerando corrosão localizada ou em forma de pites. Discos de aço inoxidável foram expostos à cultura de dois tipos de bactérias redutoras de sulfato, por 20 dias. Os resultados mostraram que os padrões de pite e o grau de corrosão, observados nas amostras, estão relacionados às bactérias estudadas. Além disso, a microscopia de força atômica mostrou-se como uma poderosa ferramenta no estudo da corrosão microbiológica de metais.

Laurent et al. (2001) compararam, em estudo *in vitro*, o comportamento eletroquímico de ligas odontológicas de Ni-Cr (níquel-cromo) e Au (ouro) em saliva artificial na presença e ausência de bactérias. As ligas foram inseridas em saliva artificial esterilizada (SA), SA enriquecida por extrato de soja e SA enriquecida por extrato de soja modificado pela introdução de *Actinomyces viscosus*. Os parâmetros eletroquímicos medidos foram: potencial de circuito aberto, curva potência-dinâmica e resistência à polarização. Os resultados demonstraram uma inquestionável influência dessas bactérias na corrosão das ligas estudadas.

Chang et al. (2003) avaliaram o comportamento corrosivo de ligas e metais odontológicos na presença de *Streptococcus mutans* e seus bioprodutos. As ligas avaliadas (titânio CP, ligas de Ni-Cr e Ti6Al4V, entre outras ligas) foram expostas às seguintes soluções: *S. mutans* misturado à solução fisiológica e solução fisiológica

esterilizada (controle), bioprodutos do *S. mutans* misturados com meio extrato de soja e meio extrato de soja esterilizado (controle). Parâmetros de corrosão como o potencial comum, corrente galvânica e a corrente de integração foram medidos em todas as amostras com um potenciostato. Os autores concluíram que *S. mutans* e seus bioprodutos aumentam a corrosão de ligas e metais odontológicos, sendo que as ligas com maior teor de metais nobres apresentam menor corrosão.

Mabilleau et al. (2006) analisaram a resistência à corrosão de titânio comercialmente puro (Ti CP), mediante a ação de substâncias presentes na boca, como o fluoreto de sódio (NaF_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido láctico. De acordo com os autores, o ácido láctico e o peróxido podem ser produzidos por bactérias e macrófagos em respostas inflamatórias. Por isso, também expuseram o titânio à ação dessas células. Discos de Ti CP foram imersos em solução de saliva artificial contendo: NaF_2 (0,5% e 5%) H_2O_2 (0,1% e 10%) e ácido láctico. A rugosidade superficial dos discos foi analisada antes do experimento, e no terceiro, sexto e nono dias, por microscopia de força atômica e MEV. Discos de Ti CP também foram imersos em meios de cultura contendo macrófagos, macrófagos estimulados por LPS e *Streptococcus mitis*. Após 21 dias os discos foram analisados pelos mesmos métodos. Os resultados estatísticos demonstraram que essas substâncias químicas, tanto livres como produzidas pelas células estudadas, são capazes de aumentar a rugosidade superficial do titânio, por corrosão da superfície. Além disso, os autores concluíram que a corrosão aumentou proporcionalmente ao tempo em que as amostras ficaram imersas nos meios.

2.6 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans são bactérias Gram-positivas que se apresentam em

forma esférica ou ligeiramente oval, possuindo de 0,5 a 0,75 μm . São imóveis e geralmente dispostos aos pares ou em cadeias, já que se dividem em apenas um plano. São microaerófilos, e seu crescimento é estimulado na presença de CO_2 . São fermentadores de glicose com formação de ácido láctico e ausência de gás (UENO; JORGE, 2006).

Essas bactérias possuem como principais fatores de virulência a acidogênese intensa, a acidofilia e produção de polissacarídeos extracelulares (LOESCHE, 1986; KURAMITSU, 1993). Na presença de bactérias produtoras de ácido, os metais perdem sua passividade, tornando-se mais susceptíveis à corrosão (ANGELL, 1999).

2.6.1 Produção de ácidos

S. mutans são descritos como acidogênicos, por produzirem grande quantidade de ácido láctico a partir de certos carboidratos fermentáveis, constituintes da dieta do hospedeiro. Dentre esses carboidratos, os oligossacarídeos, em especial a sacarose, têm importante papel no processo de desmineralização. Quando existe disponibilidade de sacarose, *S. mutans* metaboliza essa molécula formando como produto final o ácido láctico. Esse potente ácido orgânico abaixa o pH da cavidade bucal, causando desmineralização da superfície dentária e desequilíbrio no ecossistema bucal (LOESCHE, 1986).

De acordo com Margolis et al. (1999), o grau de perda de minerais de tecido dental é diretamente proporcional à saturação de ácido no biofilme e inversamente proporcional ao pH do meio, ou seja, quanto maior a produção de ácido láctico, menor o pH e conseqüentemente maior a desmineralização.

A grande maioria das bactérias patogênicas só se desenvolve,

satisfatoriamente, quando o pH bucal situa-se muito próximo do neutro (em torno de 6,5 a 7,5) tornando-se inativas fora dessa faixa. *S. mutans* foge dessa regra, pois são espécies acidófilas (acidúricas), ou seja, capazes metabolizar mesmo quando o pH se torna ácido. Com a redução de pH, as bactérias não possuidoras dessa propriedade (acidofilia) vão se tornando metabolicamente inativas. No momento em que o pH torna-se inferior a cinco, apenas as espécies acidúricas mantêm-se ativas no biofilme e sem competidores biológicos, promovem a desmineralização (LORENZO; LORENZO, 2004).

2.6.2 Produção de polissacarídeos extracelulares

S. mutans produz a Invertase, enzima que fragmenta a molécula de sacarose em seus componentes glicose e frutose, e as Transferases (Glicosiltransferase e Frutossiltransferase), enzimas que sintetizam polissacarídeos extracelulares (glucanos e frutanos). A Glicosiltransferase (GTF) promove a união de várias moléculas de glicose, formando os mutano (insolúvel) e dextrano (solúvel). A Frutossiltransferase (FTF) une as moléculas de frutose formando frutanos (HAMADA; SLADE, 1980; HAMADA; KOGA; OOSHIMA, 1984).

A habilidade dos *S. mutans* em produzir polissacarídeos extracelulares é essencial para promover a aderência e acúmulo de microrganismos nos dentes, estabelecendo uma matriz extracelular resistente às forças mecânicas de remoção no hospedeiro. Esses polímeros são essenciais para a formação do biofilme e para o processo de desmineralização, já que os ácidos produzidos a partir da dieta da sacarose ficam em contato direto com o dente ou a restauração (SANZ; NEWMAN, 1997).

Quando em pequena quantidade, a sacarose, é rapidamente transformada

em energia e utilizada para o metabolismo da bactéria. Quando existe uma concentração maior desse dissacarídeo no biofilme, *S. mutans* aproveita uma parte para produção de energia, enquanto o restante é armazenado em forma de polissacarídeos extracelulares. Esses polímeros possuem dois papéis básicos. O primeiro papel é funcionar como depósito de energia, mantendo o metabolismo da célula bacteriana entre o período das refeições do hospedeiro (principalmente à noite), situação em que a ingestão de carboidratos é praticamente nula. O segundo é unir as células de *S. mutans* entre si, favorecendo sua colonização na superfície do esmalte dentário, assim como em outras regiões duras da cavidade bucal, como próteses e restaurações (LORENZO; LORENZO, 2004).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a microinfiltração e corrosão por *Streptococcus mutans* entre pilares protéticos, com diferentes ligas metálicas, e implantes dentários de titânio.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 CORPOS-DE-PROVA

Para a realização deste estudo foram utilizados sessenta implantes de titânio comercialmente puro do sistema Titamax (Neodent, Curitiba, PR - Brasil) de hexágono externo, com 3,75 mm de diâmetro e 17 mm de altura e seis diferentes tipos de pilares protéticos parafusados (Neodent, Curitiba, PR – Brasil) sendo, dois pilares tipo UCLA com cinta metálica pré-fabricada, um em liga de tilite (Ni-Cr) e outro em liga de prata-paládio (Ag-Pd); UCLA calcinável que será fundido em duas diferentes ligas, cobalto-cromo (Co-Cr) e tilite (Ni-Cr); e dois pilares retos personalizáveis, um de titânio e um de tilite (Figura 1).

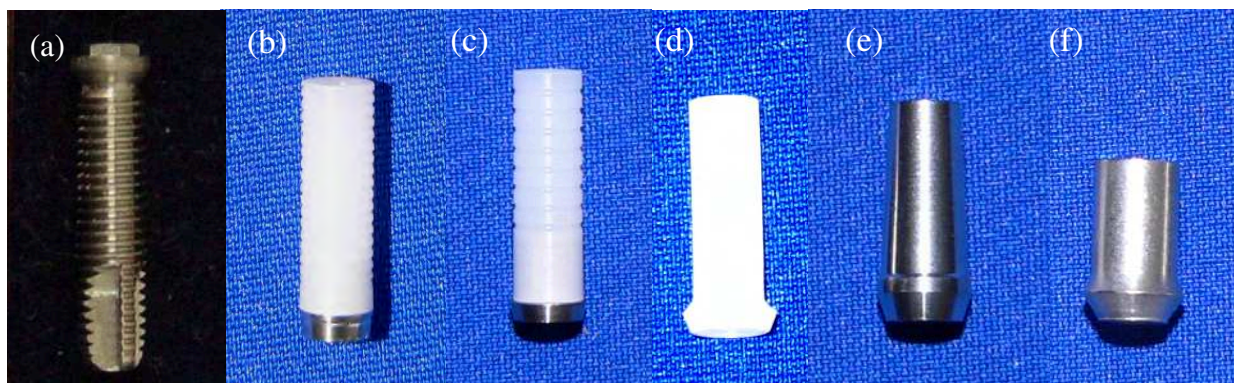


Figura 1 – (a) implante de titânio comercialmente puro (Neodent), (b) pilar tipo UCLA com cinta pré-fabricada em tilite, (c) pilar tipo UCLA com cinta pré-fabricada em Ag-Pd, (d) UCLA calcinável, (e) pilar reto personalizável em titânio e (f): pilar reto personalizável em tilite.

Foram utilizadas dez amostras de cada componente protético, sendo cinco para o grupo teste e cinco para o grupo controle. A Figura 2 apresenta os grupos teste e controle.

	COMPONENTES PROTÉTICOS	GRUPOS TESTE (T)	GRUPOS CONTROLE (C)
GRUPO 1	UCLA com cinta pré-fabricada em liga de Ag-Pd	05 AMOSTRAS	05 AMOSTRAS
GRUPO 2	Pilar reto personalizável de titânio	05 AMOSTRAS	05 AMOSTRAS
GRUPO 3	Pilar reto personalizável de tilite	05 AMOSTRAS	05 AMOSTRAS
GRUPO 4	UCLA com cinta pré-fabricada em liga de tilite	05 AMOSTRAS	05 AMOSTRAS
GRUPO 5	UCLA calcinável fundido em liga de tilite	05 AMOSTRAS	05 AMOSTRAS
GRUPO 6	UCLA calcinável fundido em liga de Co-Cr	05 AMOSTRAS	05 AMOSTRAS

Figura 2 – Componentes protéticos utilizados para os grupos teste e controle

4.2 PREPARO DOS CORPOS-DE-PROVA

4.2.1 Preparo dos pilares UCLA com cinta metálica pré-fabricada

Em cada pilar UCLA com cinta pré-fabricada, foi sobrefundida uma infraestrutura com liga da mesma natureza da cinta, na forma original do pilar (Figura 3) e aplicada cerâmica. Antes da fundição, todos os pilares protéticos estudados foram reduzidos em altura, de forma que todos ficassem com altura padronizada em 8 mm.



Figura 3 – Pilar UCLA com cinta pré-fabricada antes e depois da fundição

Cada pilar foi incluído à vácuo em revestimento aglutinado por fosfato (Bellavest, Bego, Alemanha) e submetido às fases laboratoriais de fundição em forno de indução (Manfredi, Itália). Todas as etapas laboratoriais foram realizadas por um único técnico, seguindo as recomendações do fabricante.

Para a sobrefundição foram utilizadas as ligas de tilite - Ni-Cr - (Talladium, Brasil) e Porson - Ag-Pd - (Degudent, Alemanha). Os pilares utilizados e a descrição das ligas presentes na cinta encontram-se na Figura 4 e as ligas utilizadas para sobrefundição na Figura 5.

Pilar protético	Fabricante do pilar protético	Liga	Fabricante da Liga	Composição % p
UCLA com cinta pré-fabricada em tilite	Neodent (Curitiba, PR, BR)	Tilite S	Talladium, BR	Ni - 63,5 Cr - 13,5 Mo - 6,0 Ti - 4,0
UCLA com cinta pré-fabricada em Ag-Pd	Neodent (Curitiba, PR, BR)	Ag-Pd	Não informado pelo fabricante	Au - 10 Pd - 47 Ag - 40 Ir - 1,5 Pt - 1,5

Figura 4 - Quadro detalhando a origem e composição dos pilares protéticos UCLA com cinta pré-fabricada

%p – Porcentagem em massa de cada elemento químico

Pilar protético	Ligas utilizadas na sobrefundição	Fabricante da Liga	Composição % p
UCLA com cinta pré-fabricada em Ni-Cr	Tilite S	Talladium, BR	Ni - 63,5 Cr - 13,5 Mo - 6,0 Ti - 4,0
UCLA com cinta pré-fabricada em Ag-Pd	Porson Ag-Pd	Degudent, Alemanha	Pd - 57,8 Ag - 30 Sn - 6,0 Ir - 4,0 Zn - 2,0 Ru - 0,2

Figura 5 - Quadro detalhando a origem e composição das ligas utilizadas para sobrefundição dos pilares UCLA com cinta pré-fabricada

%p – Porcentagem em massa de cada elemento químico

Para análise da adaptação dos pilares protéticos, um análogo de implante de hexágono externo com 3,75mm de diâmetro e 9,0 mm de altura (Neodent – Curitiba, PR- Brasil), foi parcialmente embutido em gesso tipo IV (Figura 6).

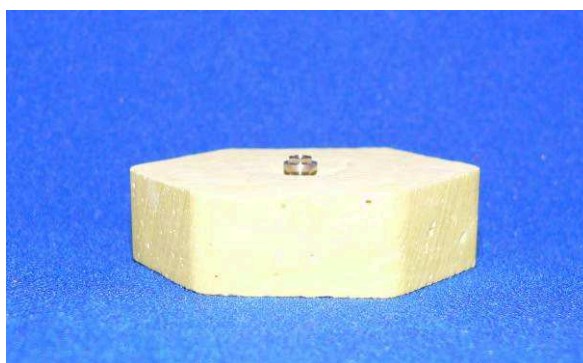


Figura 6 - Análogo de implante parcialmente embutido em gesso tipo IV

Os pilares protéticos fundidos foram analisados com lupa (Bioart - São Carlos, SP-Brasil) com quatro vezes de aumento, em busca de possíveis falhas durante as fases laboratoriais. Caso fossem observadas falhas (como bolhas, desajustes verticais ou horizontais), as amostras seriam desprezadas e novamente confeccionadas.

4.2.2 Preparo dos pilares UCLA calcináveis

Os pilares UCLA calcináveis foram fundidos na forma original do pilar conforme descrito para os pilares UCLA com cinta pré-fabricada, sendo obtidos dez pilares de tilite (Ni-Cr) e dez de cobalto-cromo (Co-Cr). Os pilares utilizados e a descrição das ligas estão na Figura 7. As etapas laboratoriais de fundição foram similares às utilizadas para os pilares do tipo UCLA com cinta pré-fabricada.

Pilar protético	Fabricante do pilar protético	Liga	Fabricante da Liga	Composição % p
UCLA calcinável fundido em Co-Cr	Neodent (Curitiba, PR, BR)	Kera 502	Eisenbacher Dentalwaren Woerth, Alemanha	Co – 61 Cr – 30,37 Mo – 5,77 Nb – 1,06 Fé – 0,08
UCLA calcinável fundido em tilite	Neodent (Curitiba, PR, BR)	Tilite S	Talladium, BR	Ni - 63,5 Cr – 13,5 Mo – 6,0 Ti – 4,0

Figura 7 – Quadro detalhando a origem e composição dos pilares protéticos calcináveis e das ligas utilizadas na fundição

%p – Porcentagem em massa de cada elemento químico

4.2.3 Preparo dos pilares retos personalizáveis

Os pilares retos personalizáveis são indicados para próteses cimentadas. Para verificar a microinfiltração e o comportamento corrosivo destes pilares, eles foram modificados para que pudessem ser usados de maneira similar a uma prótese parafusada. Os pilares e a descrição das ligas estão disponíveis na Figura 8.

Pilar protético	Fabricante do pilar protético	Liga	Fabricante da Liga	Composição % p
Pilar reto personalizável em Titânio	Neodent (Curitiba, PR, BR)	Ti6Al4V	-	Ti – 90 Al – 6,0 V – 4,0
Pilar reto personalizável em tilite	Neodent (Curitiba, PR, BR)	Tilite S	Talladium, BR	Ni - 63,5 Cr – 13,5 Mo – 6,0 Ti – 4,0

Figura 8 - Quadro detalhando a origem e composição dos pilares personalizáveis

%p – Porcentagem em massa de cada elemento químico

O pilar personalizável foi parafusado na réplica do implante previamente embutido em gesso tipo IV e usinado com fresa diamantada 3216 (KG Sonrense,

SP, Brasil) para redução de sua altura até 8 mm e obtenção de uma cinta na região cervical de 1,5 mm de altura (Figura 9).

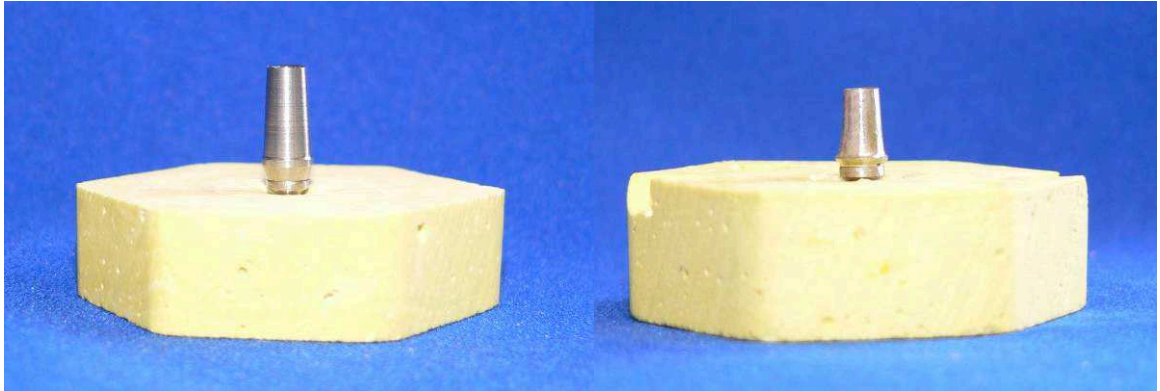


Figura 9 – Pilar reto personalizável parafusado sobre análogo antes e após a usinagem

Depois de usinado, foi confeccionada, uma supra-estrutura em resina acrílica quimicamente ativada (Duralay, Reliance-FMG, IL, EUA) para o pilar personalizado com 0,2 mm de espessura em todas as faces, exceto na oclusal onde foi mantido um orifício para acesso ao parafuso do pilar (Figura 10).

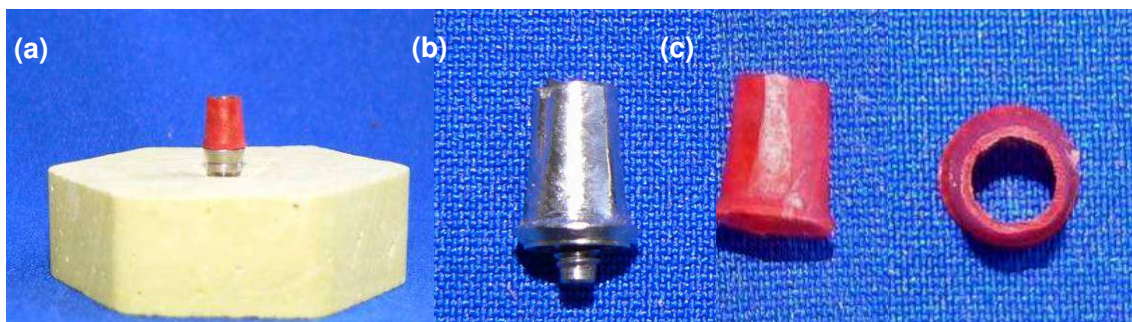


Figura 10 – (a) Enceramento da supra-estrutura para o pilar personalizável reto; (b) pilar personalizável reto; (c) vistas frontal e oclusal do padrão de resina acrílica da supra-estrutura metálica

Em seguida o padrão em resina acrílica foi submetido às fases laboratoriais de fundição de maneira similar aos outros procedimentos laboratoriais utilizados na pesquisa. Para a fundição foi utilizada liga de tilite (Talladium, Brasil) (Figura 11).



Figura 11 – Pilar personalizável usinado e supra-estrutura metálica fundida em tilite

4.2.4 Aplicação de cerâmica

Depois de fundidas as amostras sofreram acabamento e tratamento para aumentar a área superficial de contato. Para isso foram usinadas com pedra de óxido de alumínio (Ninja- Talladium, Brasil) e jateadas com óxido de alumínio (50 μm com pressão de 60 lb) (Knebel–Produtos dentários Ltda, Porto Alegre - Brasil), e então imersas em ultra-som (Vitasonic II - Vita, Alemanha) contendo álcool isopropílico por 15 minutos.

Para criação de uma camada de óxido adequada, as infra-estruturas foram submetidas em forno de cocção de porcelana EP500 (Ivoclar, Liechtenstein, Alemanha), para sofrerem processo de pré-oxidação, de acordo com especificações do fabricante da liga.

Com objetivo de padronizar a aplicação da porcelana (Vacumat 40 – Vita, Alemanha), um pilar protético tipo UCLA foi encerado nas dimensões finais requeridas da coroa e foi confeccionada uma matriz de silicone sobre o enceramento. Para isso, o pilar foi parafusado na réplica do implante previamente embutido em gesso tipo VI (Figura 12-a), aplicada uma camada de 1,5 mm de espessura de cera de enceramento em toda a extensão do pilar, sendo que na

região cervical foi mantida uma cinta de 1,5 mm de altura em metal (Figura 12-b). Em seguida, uma matriz de silicone (Zetalabor, Zhermark, Alemanha) foi confeccionada em torno do enceramento (Figura 12-c). Entalhes no gesso foram confeccionados para que a matriz fosse sempre posicionada da mesma maneira (Figura 12-d).

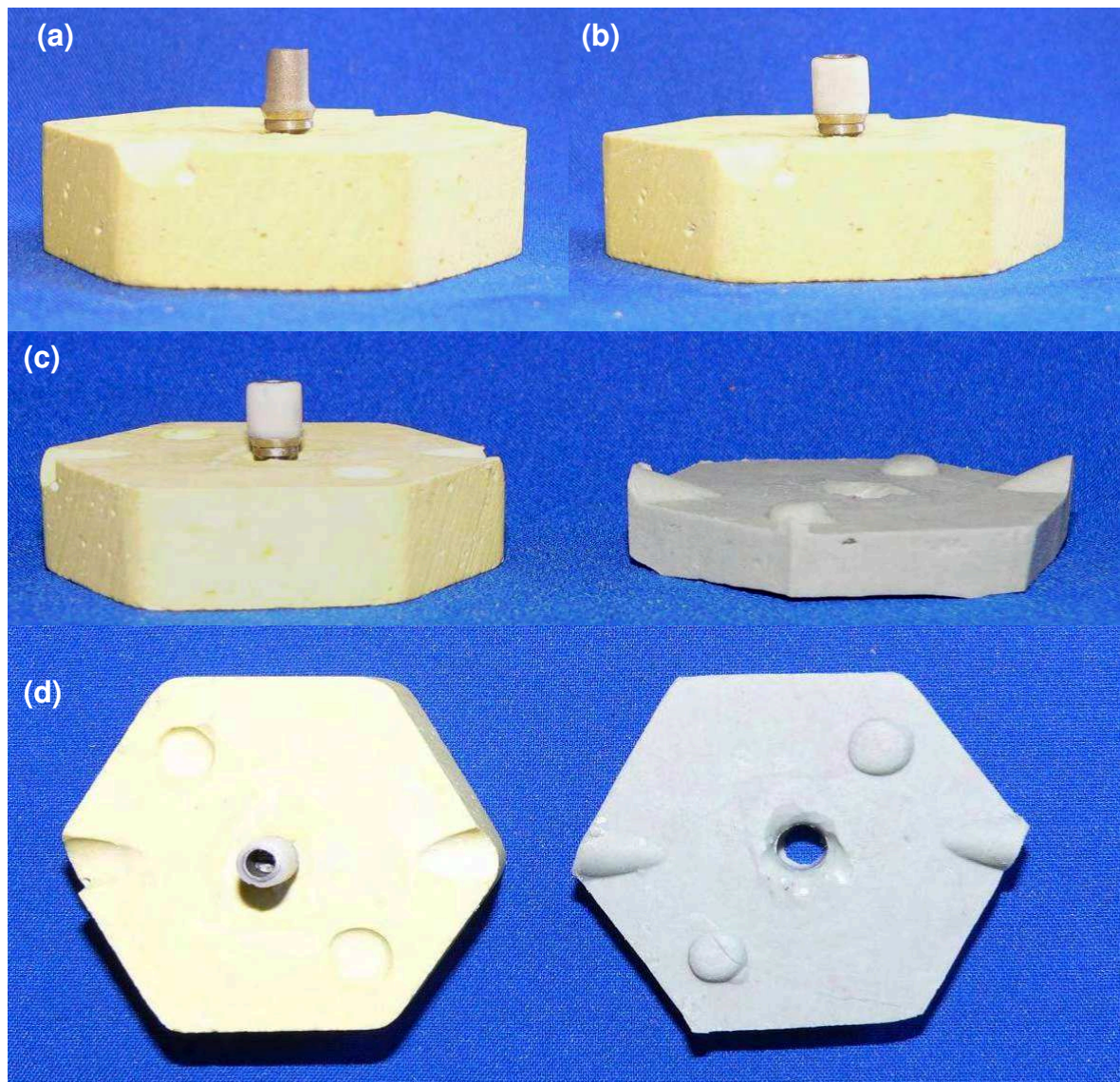


Figura 12 – (a) Pilar UCLA fundido parafusado na réplica do implante; (b) enceramento nas dimensões finais do corpo-de-prova; (c) confecção da matriz de silicone sobre enceramento; (d) entalhes no gesso para posicionamento da matriz de silicone

Para aplicação da porcelana os pilares fundidos foram parafusados na réplica do implante e a matriz posicionada. O espaço entre a face externa dos pilares e a face interna da matriz foi preenchido por porcelana (Figura 13).

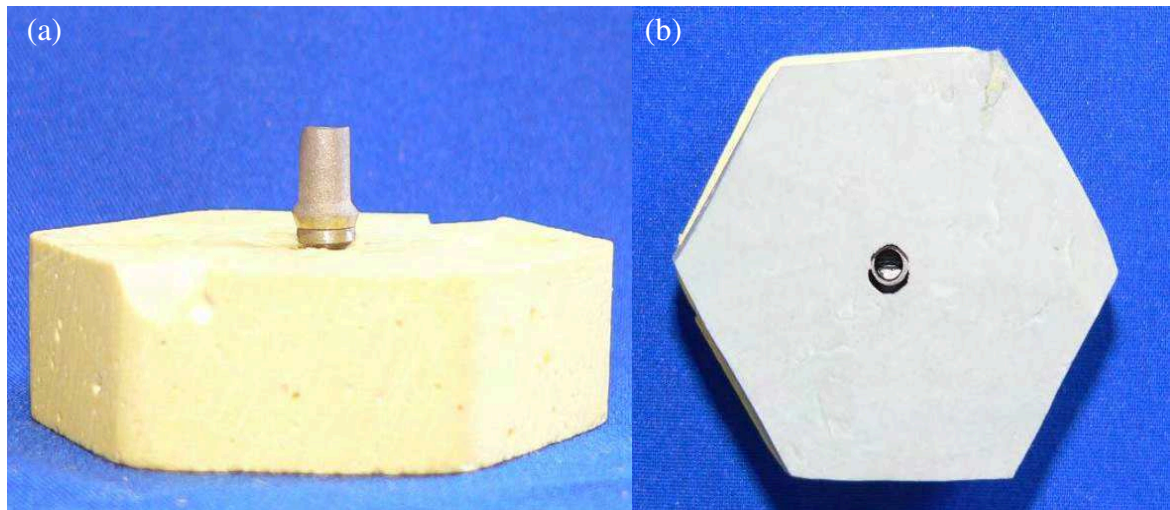


Figura 13 – (a) Pilar fundido parafusado na réplica do implante; (b) matriz posicionada e espaço entre componente e matriz para preenchimento com porcelana

Nos pilares tipo UCLA, a porcelana foi aplicada em toda a extensão do pilar fundido, exceto no perfil de emergência, onde foi mantida uma cinta de 1,5 mm de altura em metal (Figura 14-a). Nos pilares protéticos personalizáveis, a porcelana foi aplicada em toda a extensão da supra-estrutura metálica, de forma que o metal exposto às soluções fosse do pilar protético e não da supra-estrutura (Figura 14-b).

Após aplicação da porcelana os excessos foram removidos com fresas diamantados (KG Sonrense, SP, Brasil), respeitando as dimensões iniciais, para então ser realizada limpeza com jato a vapor. Enfim, foi aplicada sobre a cerâmica fina camada de glaze para remoção das porosidades (Figura 15).

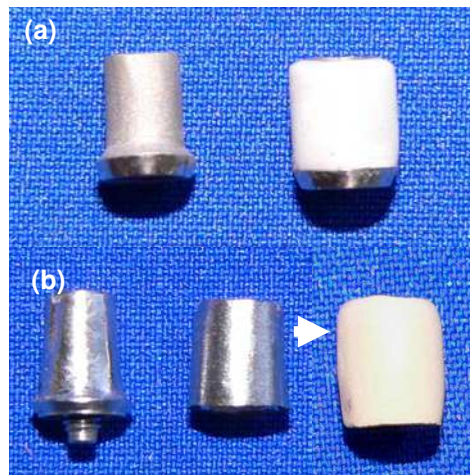


Figura 14 – (a) Pilar UCLA antes e após a aplicação de porcelana; (b) aplicação de porcelana na supra-estrutura metálica do pilar reto

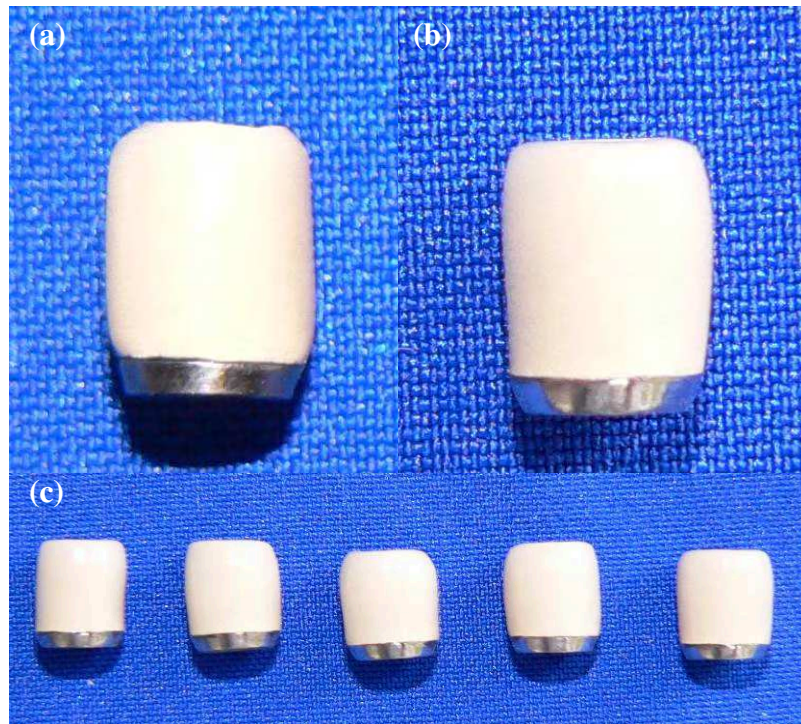


Figura 15 – (a) Coroa após aplicação de porcelana sobre o pilar reto personalizável; e (b) coroa após aplicação de porcelana sobre o pilar UCLA (c) padronização das coroas sobre os pilares protéticos.

4.2.5 Cimentação da supra-estrutura metálica ao pilar reto personalizável

Para cada pilar personalizável foi obtida uma coroa simplificada com estrutura metálica em liga de titânio, com um orifício na oclusal para permitir acesso ao parafuso do pilar protético. A coroa foi cimentada com cimento resinoso (Panavia 21 Ex, Kuraray, Osaka, Japão) sobre o pilar usinado, de acordo com as recomendações do fabricante. Em um segundo momento, todo o conjunto foi parafusado sobre o implante (STEINEBRUNNER et al., 2005) (Figura 16).

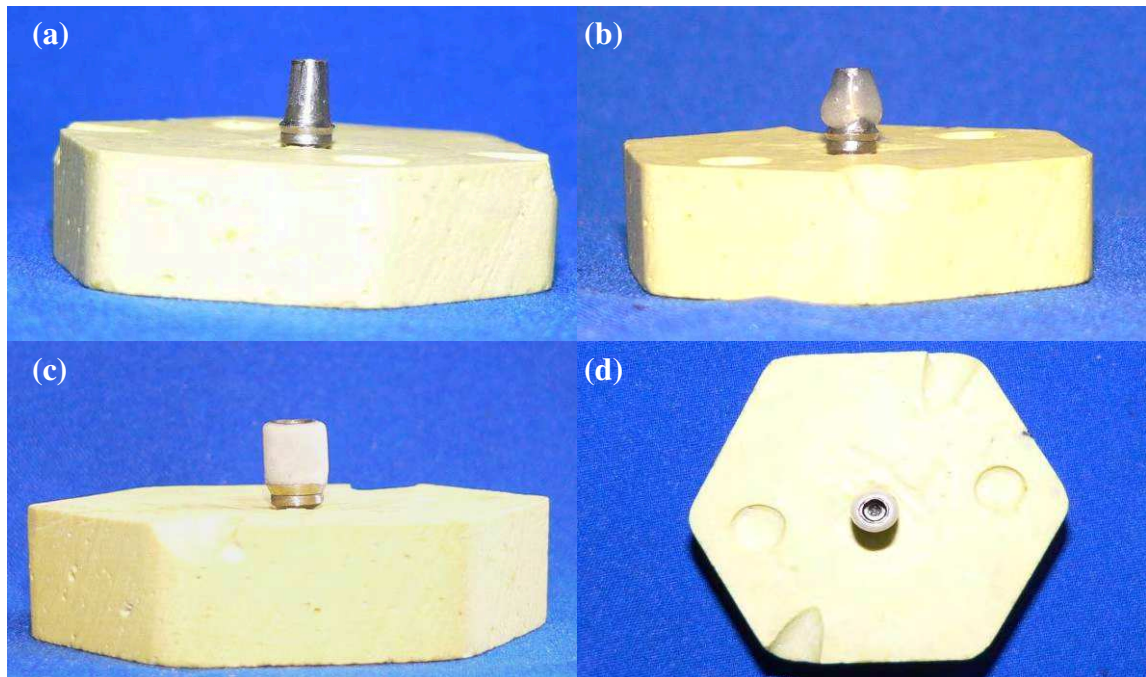


Figura 16 – (a) Pilar protético personalizável depois de usinado; (b) cimentação da supra-estrutura no pilar personalizável reto; (c) Pilar protético personalizável com supra-estrutura após aplicação de porcelana; (d) vista oclusal do corpo-de-prova

4.3 ESTERILIZAÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA

As coroas protéticas assim como os respectivos parafusos, foram embalados e esterilizados em autoclave (ODONTOBRAS, Presidente Prudente, SP, Brasil) a 121°C e 1 ATM, por trinta minutos.

4.4 PREPARO DO INÓCULO

Cepa padrão de *Streptococcus mutans* (ATCC 1910) foi reativada em caldo tioglicolato (DIFCO, Detroit, Michigan, EUA) e após 24 h de incubação a 37 °C, semeada em ágar Mitis Salivarius (DIFCO, Detroit, Michigan, EUA) bacitracina (0,2 UI/mL) sacarose (15%) - MSBS - e incubado a 37 °C, com 5% de CO₂.

A partir da cultura de 24 h em MSBS uma colônia foi transferida para 10 mL de caldo tioglicolato e incubado por 24 h a 37 °C. A cultura de 24 h em caldo tioglicolato foi utilizada para a contaminação dos corpos-de-prova e, para quantificação das unidades formadoras de colônia (UFC), a cultura foi diluída (10⁻² a 10⁻⁶) e alíquotas de 0,1 mL de cada diluição semeada em placa de Petri contendo ágar MSBS e incubados por 24 h a 37 °C com 5% de CO₂.

4.5 CONTAMINAÇÃO DOS CORPOS-DE-PROVA

Cada implante do grupo teste (n=30) foi desembalado e manipulado assepticamente em fluxo laminar (VECO, Campinas-SP, Brasil) por um único operador utilizando luva esterilizada. O corpo do implante foi fixado em pinça hemostática esterilizada (QUINELATO, São Paulo-SP, Brasil) e 1 µl de inóculo (1,6 x 10⁷ células de *S. mutans*) foi pipetado cuidadosamente no interior do implante (Figura 17). O inóculo foi inserido com micropipeta de volume variável entre 0,5 a 10 µl (DIGIPET, Alemanha), e ponta descartável esterilizada (Figura 18) por um segundo operador.

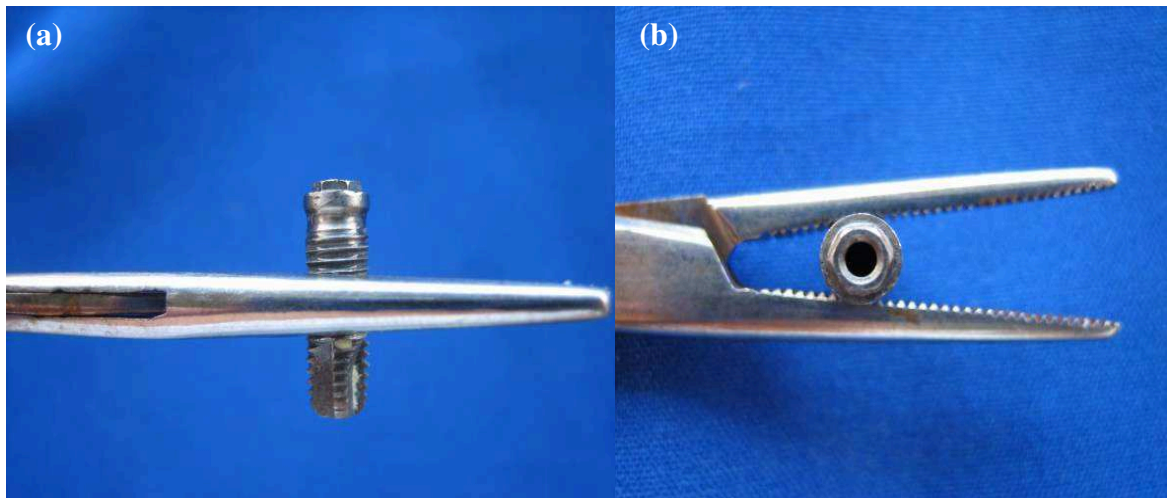


Figura 17 – (a) Implante fixado por pinça hemostática; (b) interior do implante, que foi inoculado com cultura de *S. mutans*



Figura 18 - Contaminação do interior do implante com micropipeta

A coroa protética, previamente esterilizada, foi desembalada assepticamente em fluxo laminar, aparafusada sobre o implante (Figura 19), recebendo torque de 32 N.cm, como recomendado pelo fabricante, com um torquímetro mecânico esterilizado (Neodent, Curitiba, PR - Brasil) (Figura 20).



Figura 19 – (a) Coroa protética parafusada sobre o implante, (b) vista frontal do corpo-de-prova



Figura 20 – Pilar protético recebendo torque de 32 N.cm

Para garantir que, durante a contaminação do interior do implante ou torque, a parte externa do corpo-de-prova não teria sido contaminada, um aplicador descartável esterilizado (Microbrush, FL, EUA) foi passado ao redor de toda a interface implante/componente protético e depois imerso em caldo tioglicolato por 24h a 37 °C (Figura 21).

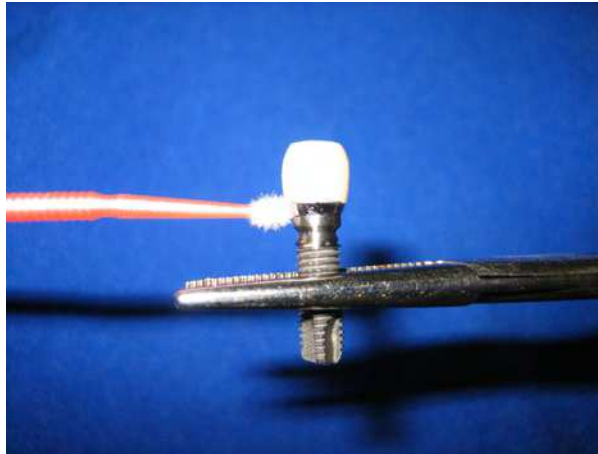


Figura 21 - Coleta de amostra ao redor da interface implante/componente protético com auxílio de aplicador descartável

A cavidade de acesso ao parafuso protético foi preenchida parcialmente por guta percha (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) e selada com resina composta (Z100, 3M, Minnesota, EUA), com auxílio de espátula de inserção esterilizada (Quinelato, São Paulo – Brasil) (Figura 22).

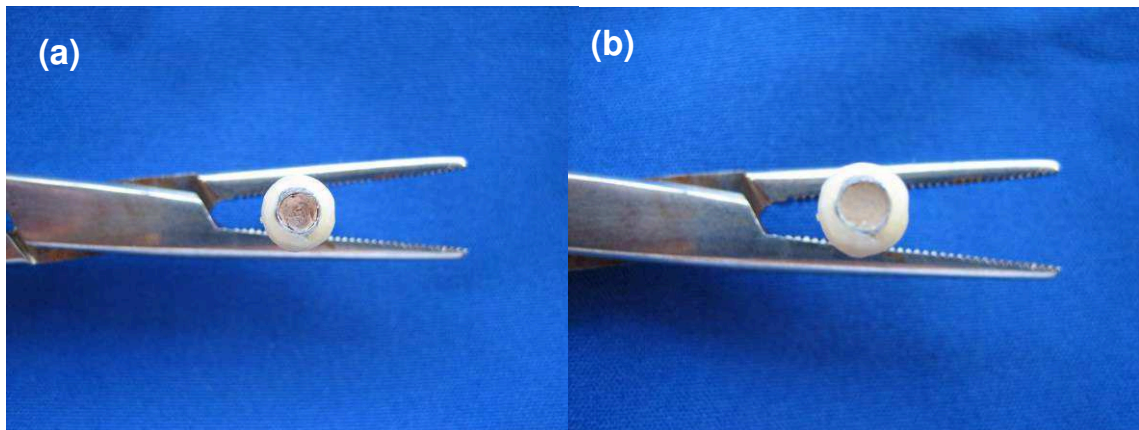


Figura 22 - (a) Cobertura do túnel de acesso ao parafuso com guta-percha; (b) selamento com resina composta

A resina foi inserida pela técnica de camadas e polimerizada com fotopolimerizador (ESPE - Seefeld, 3M, Alemanha). Este último passo visou vedar a cavidade de acesso ao parafuso protético para garantir que a saída de

microrganismos do interior do implante para o meio externo fosse a partir da interface implante/componente protético.

4.6 GRUPO CONTROLE

Para cada implante do grupo controle (n=30) foram realizados os mesmos passos utilizados para o grupo teste, entretanto, no interior do implante foi colocado 1 μ l de caldo tioglicolato esterilizado, ao contrário do grupo teste que recebeu 1 μ l do meio de cultura contaminado.

4.7 VERIFICAÇÃO DE MICROINFILTRAÇÃO E AMOSTRAGEM PARA TESTE DE CORROSÃO

Os corpos-de-prova (grupos teste e controle) foram imersos em tubo de ensaio com 5 mL de caldo tioglicolato esterilizado acrescido de 10% de sacarose (VETEC química fina, RJ, Brasil) e incubado a 37 °C por até 28 dias (Figura 23). Os tubos de ensaio contendo os corpos-de-prova foram mantidos em estufa Incubadora com 5% de CO₂ (FORMA SCIENTIFIC, Ohio, EUA).



Figura 23 - Corpo-de-prova imerso em tubo de ensaio, contendo 5 ml de caldo tioglicolato esterilizado

A cada 24 h, o meio de cultura foi inspecionado visualmente por um mesmo operador em busca de sinais de turvação. Quando a turvação foi observada, foram realizados esfregaços e corados pelo método de Gram, para confirmação das características morfológicas e tintoriais do microrganismo.

Após a turvação, os meios de cultura do grupo teste passaram por um processo de troca do meio contaminado (3 mL) por meio (caldo tioglicolato acrescido de 10% de sacarose) esterilizado (3 mL), a cada 48 h, para manutenção da viabilidade dos microrganismos. O meio de cultura retirado ao longo do experimento foi reservado para posterior análise química da solução. Este procedimento foi repetido para amostras do grupo controle, para que o volume final das soluções ficasse padronizado.

No sétimo dia do experimento, um corpo-de-prova de cada grupo teste e seu respectivo controle foram removidos e as soluções de imersão reservadas para posterior análise química. Este procedimento foi repetido no 14^o dia. Neste momento, as três amostras restantes de cada grupo teste, que não apresentaram sinais de turvação, foram contaminadas com 0,1 mL de cultura de 24 h de *S. mutans* para que ficassem sujeitos à ação do microrganismo por mais 14 dias. Nesse período, houve troca do meio contaminado (3 mL) por meio (caldo tioglicolato acrescido de 10% de sacarose) esterilizado (3 mL), a cada 48 h, para manutenção da viabilidade dos microrganismos. Esse procedimento foi repetido para amostras do grupo controle, para que o volume final das soluções ficasse padronizado.

No 28^o dia, as três amostras restantes de cada grupo (teste e controle) foram removidas e as soluções sujeitas à análise química por espectrofotometria de absorção atômica.

4.8 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Ao final de cada período experimental (sete, 14 e 28 dias), as soluções teste foram autoclavadas a 121°C, por trinta minutos e, juntamente com as soluções controle, analisadas quanto à concentração de íons presentes.

Todas as determinações analíticas dos elementos metálicos de interesse nas amostras foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica, marca PerkinElmer (EUA) e modelo Analyst 800 pertencente ao Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Química da Faculdade de Engenharia Química de Lorena - Universidade de São Paulo. Esse aparelho possui um sistema integrado incorporando os componentes para operação chama e forno de grafite em um único instrumento, permitindo a troca automática da técnica de atomização escolhida.

Apresenta um sistema óptico de duplo feixe (mono feixe para operação com forno de grafite), com componentes ópticos revestidos com material anticorrosivo e tampa protetora. Monocromador tipo *Littrow* motorizado para seleção automática do comprimento de onda, ajuste e alinhamento. Faixa de trabalho de 185 a 870 nm, com grade de difração de 1800 linhas/mm e detector de estado sólido. Correção de *background* para chama por lâmpada de deutério.

O forno de grafite possui aquecimento transversal, proporcionando um perfil uniforme de temperatura, com correção de *background* por efeito *Zeeman* longitudinal. Controle automático via software, que permite um programa analítico com até 12 *steps* de parâmetros programáveis, tais como temperatura (até 2600 °C com intervalos de 10 °C) e rampa de aquecimento (programável de 1 a 99 s).

A Figura 24 mostra os parâmetros analíticos utilizados para as determinações dos elementos de interesse em absorção atômica por forno de grafite e a Figura 25 os íons analisados para cada grupo, de acordo com o componente protético,

considerando-se sua justaposição ao implante de titânio.

Elemento	λ (nm)	Modificador Químico	Temperaturas (°C)	
			Pirólise	Atomização
Ag	328,1	Pd/Mg	800	1700
Co	242,5	Mg	1400	2400
Cr	357,9	Mg	1500	2300
Ni	232,0	-	1100	2300
Pd	247,6	-	900	2200
Al	309,3	Mg	1200	2300
Ti	364,3	-	1500	2400

Figura 24 - Parâmetros analíticos utilizados para as determinações dos elementos de interesse em absorção atômica por forno de grafite

	COMPONENTES PROTÉTICOS	ÍONS ANALISADOS
GRUPO 1	UCLA com cinta pré-fabricada em liga de Ag-Pd	Ag, Pd e Ti
GRUPO 2	Pilar reto personalizável de titânio	Ti e Al
GRUPO 3	Pilar reto personalizável de tilite	Ni, Cr, e Ti
GRUPO 4	UCLA com cinta pré-fabricada em liga de tilite	Ni, Cr, e Ti
GRUPO 5	UCLA calcinável fundido em liga de tilite	Ni, Cr, e Ti
GRUPO 6	UCLA calcinável fundido em liga de Co-Cr	Co, Cr, e Ti

Figura 25 – Ions analisados por espectrofotometria de absorção atômica em cada grupo, considerando que cada componente protético estava conectado a um implante de titânio

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todo tratamento estatístico foi realizado no SPSS para Windows, versão 11.0. Para todos os resultados dos testes estatísticos utilizados, consideramos diferença significativa quando observado p-valor inferior a 5%.

Os pilares protéticos foram comparados em relação à microinfiltração pela porcentagem das amostras que apresentaram turvação no meio. Para determinar se houve diferença estatística significante, quanto à proporção de microinfiltração, entre

os componentes protéticos avaliados foi utilizado o teste Exato de Fisher para duas proporções independentes.

Para análise da corrosão, a concentração de íons metálicos nos meios de imersão foi quantificada para cada amostra tanto nos grupos teste quanto controle. Na análise dos dados, foi realizada inicialmente uma análise descritiva, com a utilização de tabelas com estatísticas das amostras. Após esta análise, foram aplicadas técnicas de comparação de médias entre grupos independentes, para avaliar a seguinte hipótese: existe diferença entre os grupos Teste e Controle quanto à corrosão (quantidade de íons liberados). Para testar esta hipótese foi utilizado o teste de Wilcoxon.

5 RESULTADOS

5.1 MICROINFILTRAÇÃO

A Tabela 1 apresenta a porcentagem de corpos-de-prova que apresentaram microinfiltração nos grupos teste para cada tipo diferente de pilar protético. Dos cinco corpos-de-prova do grupo T1 (UCLA com cinta de Ag-Pd) dois (40%) apresentaram microinfiltração. No grupo T5 (UCLA calcinável fundido em tilite) um (20%) dos cinco corpos-de-prova apresentou microinfiltração. Os grupos T2 (Pilar personalizável de titânio), T3 (Pilar personalizável de tilite), T4 (UCLA com cinta de tilite), e T6 (UCLA calcinável fundido em Co-Cr) não apresentaram microinfiltração.

Tabela 1 – Número e percentual de corpos-de-prova que apresentaram microinfiltração no período de 14 dias

GRUPOS	CORPOS-DE-PROVA			TEMPO ¹
	Total	Com microinfiltração n	%	
T1 (UCLA com cinta de Ag-Pd)	5	2	40	3 / 5
T2 (Pilar personalizável de Titânio)	5	0	0	-
T3 (Pilar personalizável de tilite)	5	0	0	-
T4 (UCLA com cinta de tilite)	5	0	0	-
T5 (UCLA calcinável fundido em tilite)	5	1	20	5
T6 (UCLA calcinável fundido em Co-Cr)	5	0	0	-

1- Tempo (em dias) decorrido para a microinfiltração em cada corpo-de-prova

Para determinar a existência de diferenças estatísticas significativas entre os grupos de componentes protéticos quanto à microinfiltração foi utilizado o teste Exato de Fisher para duas proporções independentes. A Tabela 2 apresenta os p-

valores. Apesar da diferença percentual, não foi verificada diferença estatística significativa, quanto à microinfiltração entre os diferentes componentes protéticos avaliados na pesquisa.

Tabela 2 – Valores de p quando comparados os grupos avaliados para microinfiltração

GRUPOS	T1	T2	T3	T4	T5	T6
T1	-	0,4444	0,4444	0,4444	1,0000	0,4444
T2		-	NA	NA	1,0000	NA
T3			-	NA	1,0000	NA
T4				-	1,0000	NA
T5					-	1,0000
T6						-

Teste Exato de Fisher onde, $p < 0,050$ demonstra diferenças significativas entre as amostras e NA= Não se aplica

Os pilares protéticos foram agrupados quanto ao tipo de componente, independente do metal utilizado para sua confecção. Assim, foram agrupadas as amostras T1 e T4, compostas por pilares UCLA com cinta pré-fabricada; as amostras T2 e T3 compostas por pilares retos personalizáveis; e as amostras 5 e 6, compostas por pilares UCLA calcináveis. O grupo de pilares UCLA com cinta pré-fabricada, 20% (n=2) dos corpos-de-prova apresentaram microinfiltração e o grupo de pilares UCLA calcináveis 10% (n=1). Não foi observada microinfiltração em nenhum corpo-de-prova do grupo de pilares retos personalizáveis (Tabela 3). Apesar das diferenças percentuais observadas, quando utilizado o teste de Exato de Fisher, também não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos de componentes protéticos (Tabela 4).

Tabela 3 - Número e percentual de corpos-de-prova que apresentaram microinfiltração quando agrupados quanto ao tipo de componente, independente do metal utilizado para sua confecção

GRUPOS	CORPOS-DE-PROVA		
	Total	com microinfiltração n	%
T1 e T4 (UCLA com cinta pré-fabricada)	10	2	20
T2 e T3 (Pilares personalizáveis)	10	0	0
T5 e T6 (Pilares Calcináveis)	10	1	10

Tabela 4 – Valores de p quando comparados os grupos quanto ao tipo de componente, independente do metal utilizado para sua confecção

Amostra	T1 e T4	T2 e T3	T5 e T6
T1 e T4	-	0,4736	1,0000
T2 e T3		-	1,0000
T5 e T6			-

Teste Exato de Fisher onde, $p < 0,050$ demonstra diferenças significativas entre as amostras

5.2 CORROSÃO

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios (em μg) de cada íon metálico liberado nas soluções de imersão no final do experimento para os grupos teste e controle. Primeiramente, foi obtida a concentração ($\mu\text{g/mL}$) de cada elemento metálico nas soluções eletrolíticas. Então, este valor foi multiplicado pelo volume total da solução, para obtenção da massa total perdida (μg) de cada elemento metálico, dentro de cada grupo analisado. Além das médias, estão apresentados os desvios padrões e a quantidade de corpos-de-prova para cada grupo, também

denominada quantidade de observações.

Tabela 5 - Quantidade de observações, médias e desvios padrão da concentração (μg) de cada íon metálico para as amostras nos grupos teste e controle

Grupo	Metais	n	Controle		N	Teste	
			Média	Desvio		Média	Desvio
GRUPO 1	Ag	5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
	Pd	5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
GRUPO 2	Al	5	4,91	2,56	5	16,70	13,46
	Ti	5	0,00	0,00	5	0,00	0,00
GRUPO 3	Ni	5	7,02	5,58	5	10,09	7,19
	Cr	5	0,25	0,27	5	0,38	0,22
GRUPO 4	Ni	5	4,58	2,98	5	11,47	7,91
	Cr	5	0,43	0,22	5	0,34	0,29
GRUPO 5	Ni	5	5,04	4,00	5	9,80	5,66
	Cr	5	0,82	0,57	5	1,24	1,32
GRUPO 6	Co	5	2,50	1,00	5	4,43	2,98
	Cr	5	0,29	0,14	5	0,19	0,19

Grupo 1: Implante conectado a pilar UCLA com cinta pré-fabricada de Ag-Pd.

Grupo 2: Implante conectado a pilar personalizável de titânio

Grupo 3: Implante conectado a pilar personalizável de titânio

Grupo 4: Implante conectado a pilar UCLA com cinta pré-fabricada de titânio

Grupo 5: Implante conectado a pilar UCLA calcinável fundido em titânio

Grupo 6: Implante conectado a pilar UCLA calcinável fundido em Co-Cr

n: número de corpos-de-prova ou número de observações

O titânio foi quantificado nas soluções teste e controle de todos os grupos, mas a não foi detectado em todos os casos. Além do titânio, os íons Ag e Pd não foram detectados durante a análise química da solução do grupo 1. Todos os outros grupos demonstraram liberação de íons tanto nas soluções teste como controle.

Os valores médios de liberação de íons dos grupos teste foram maiores que nos grupos controle para todos os íons, exceto para o cromo cujos valores encontrados foram muito baixos para todos os componentes que o possuíam em sua composição.

Os valores médios da concentração de cada íon liberado por grupo em relação ao tempo na solução (sete, 14 e 28 dias) para os grupos teste e controle são apresentados na Tabela 6 e Figuras 26 e 27.

Tabela 6 - Média da concentração (μg) de cada íon liberado por grupo, em relação ao tempo (em dias) na solução

Grupo	Tempo	Metal	Controle		Teste	
			N	Média	n	Média
2	7	Al	1	4,12	1	2,73
	14	Al	1	5,39	1	7,42
	28	Al	3	5,02	3	24,44
3	7	Cr	1	0,04	1	0,05
		Ni	1	0,32	1	0,06
	14	Cr	1	0,00	1	0,29
		Ni	1	3,46	1	6,03
	28	Cr	3	0,40	3	0,53
		Ni	3	10,44	3	14,79
4	7	Cr	1	0,48	1	0,11
		Ni	1	0,06	1	0,32
	14	Cr	1	0,26	1	0,22
		Ni	1	6,16	1	8,83
	28	Cr	3	0,46	3	0,46
		Ni	3	5,56	3	16,06
5	7	Cr	1	0,53	1	0,30
		Ni	1	0,24	1	0,56
	14	Cr	1	0,35	1	1,25
		Ni	1	10,73	1	13,72
	28	Cr	3	1,07	3	1,55
		Ni	3	4,75	3	11,57
6	7	Co	1	1,23	1	1,32
		Cr	1	0,12	1	0,04
	14	Co	1	2,06	1	2,52
		Cr	1	0,21	1	0,20
	28	Co	3	3,07	3	6,11
		Cr	3	0,37	3	0,23

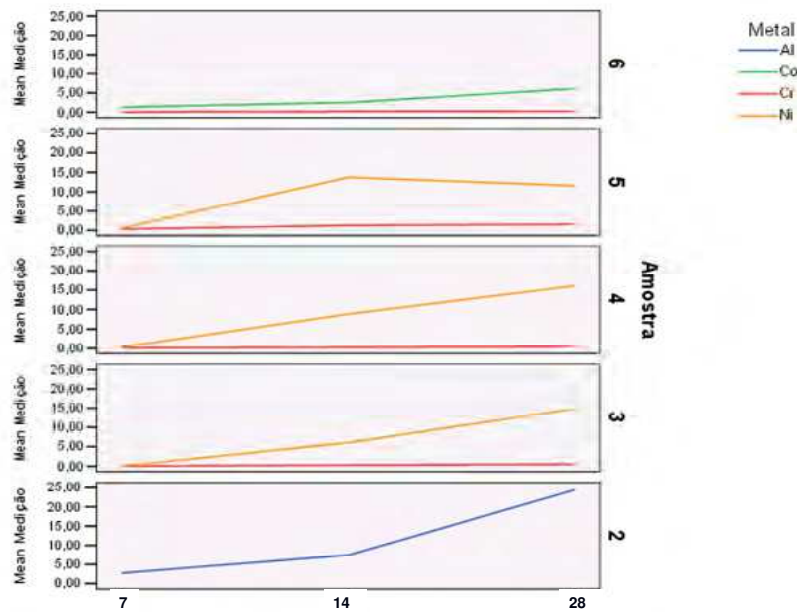


Figura 26 - Gráfico da concentração (μg) de Íons nas soluções do grupo teste em relação ao tempo (em dias) de permanência dos corpos-de-prova na solução

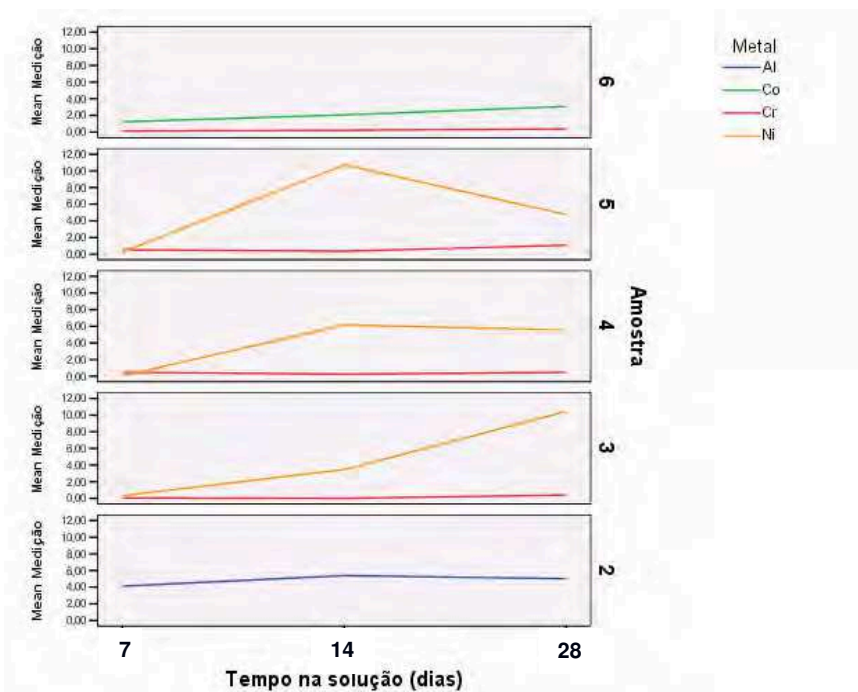


Figura 27 - Gráfico da concentração (μg) de Íons nas soluções do grupo controle em relação ao tempo (em dias) de permanência dos corpos-de-prova na solução

Com o objetivo de verificar se existe diferença estatística significativa entre os grupos teste e controle quanto à corrosão (liberação de íons) foi aplicado o teste de Wilcoxon. Este teste é utilizado para comparações pareadas, ou seja, cada controle deve ser exatamente um espelho da unidade teste. Este teste permite apenas a comparação entre teste e controle dentro de cada tipo de componente protético.

A liberação de íons foi maior no grupo teste que no controle, de maneira significativa, nas amostras dos grupos 4 (UCLA com cinta pré-fabricada de Ni-Cr), 5 (UCLA calcinável fundido em Ni-Cr) e 6 (UCLA calcinável fundido em Co-Cr (Tabela 7)).

Tabela 7 - Valores de p quando comparado os grupos teste e controle quanto à liberação de íons

Amostra	Metal	P-valor
2	Al	0,080
3	Cr	0,068
	Ni	0,225
4	Cr	0,686
	Ni	0,043
5	Cr	0,893
	Ni	0,043
6	Co	0,043
	Cr	0,225

Teste de Wilcoxon

Quando considerada as médias e intervalos de confiança da quantidade de liberação de íons dentro de cada grupo teste (Figura 28), o grupo 1 (UCLA com cinta de Ag-Pd) não liberou íons. O grupo 6 (UCLA calcinável fundido em Co-Cr) apresentou menor liberação de íons que os grupos 2 (pilar personalizável de titânio), 3, 4 e 5 (Pilares confeccionados em Ni-Cr).

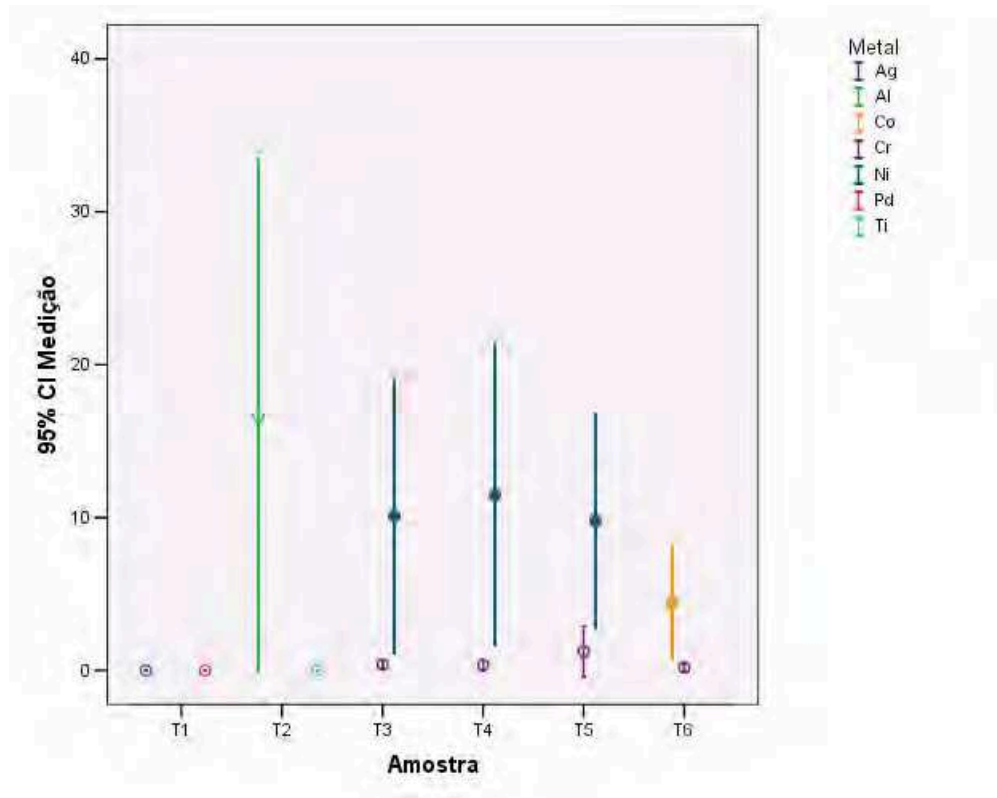


Figura 28 – Gráfico das médias e intervalos de confiança da quantidade de íons dentro de cada grupo teste

6 DISCUSSÃO

O uso dos implantes osseointegrados para reabilitação oral de pacientes parcial ou totalmente edêntulos tornou-se um método efetivo e de rotina, após a apresentação do conceito de osseointegração à comunidade científica, pelo professor Brånemark e sua equipe, na década de oitenta.

Apesar das próteses suportadas por implantes alcançarem altos índices de sucesso (aproximadamente 91-98%) (ADELL, 1983; ADELL et al., 1981; ALBREKTSSON, 1988), as falhas permanecem suscitando dúvidas e constituem objeto de estudo entre pesquisadores.

Existem dois tipos básicos de insucessos de implantes relatados na literatura odontológica: precoces e tardios. As falhas precoces geralmente ocorrem antes da obtenção da osseointegração e estão associadas à técnica cirúrgica imprópria e qualidade e quantidade óssea insatisfatórias. As tardias são, geralmente, decorrentes do planejamento protético inapropriado, adaptação inadequada da prótese, presença de biofilme bacteriano, desajuste oclusal ou corrosão metálica (GUINDY et al., 2004).

A adaptação inadequada da prótese, na região entre o componente protético e a plataforma do implante, gera problemas mecânicos e biológicos. O acúmulo de microrganismos nessa região pode gerar inflamação gengival, perda óssea, culminando com a perda de implantes. Outro importante papel dos microrganismos é a corrosão dos metais utilizados nas restaurações. Apesar de consolidada em diversas áreas, a corrosão causada por microrganismos tem sido pouco abordada na área odontológica.

Este trabalho avaliou a microinfiltração e corrosão microbiológica em diferentes componentes protéticos parafusados sobre implantes.

De acordo com a literatura, a interface entre a plataforma do implante e o componente protético parafusado pode variar entre 2 e 7 μm (DE MORI, 2005; PIATELLI et al., 2001) podendo chegar até 39,5 μm (SILVEIRA JUNIOR et al., 2002). A microinfiltração está relacionada diretamente à precisão de adaptação desta interface, ou seja, quanto maior o espaço entre implante e pilar protético, maior a microinfiltração (BESIMO et al., 1999; DIBART et al., 2005; PIATELLI et al., 2001).

O tamanho da interface implante/componente protético parafusado depende de fatores como sistema ou marca comercial do implante, tipo de componente protético (pré-fabricado ou calcinável), metal e processo utilizado na usinagem ou fundição e torque utilizado para fixação do pilar.

Alguns autores demonstraram diferenças estatísticas significantes quanto à precisão de adaptação da interface implantes/componente protéticos (também denominada interface protética) entre as diferentes marcas de implantes (GROSS; ABRAMOVICH; WEISS, 1999; STEINEBRUNNER et al., 2005).

O presente trabalho não teve como objetivo comparar marcas ou sistemas de implantes e sim diferentes componentes protéticos fabricados com ligas nobres e não nobres. Portanto, foram utilizados implantes e componentes protéticos de uma mesma marca comercial (Neodent®).

Quando avaliada a precisão de adaptação dos componentes pré-fabricados e calcináveis, diversos autores atestam a superioridade dos primeiros em relação aos segundos (BYRNE et al., 1998; GROSS; ABRAMOVICH; WEISS, 1999; STEINEBRUNNER et al., 2005). De acordo com esses autores, os pilares calcináveis têm maior propensão à desadaptação, pois tendem a incorporar falhas durante os procedimentos laboratoriais (inclusão, fundição e acabamento da estrutura metálica), principalmente devido à contração sofrida pelos espécimes

durante a fundição. Em nosso estudo comparamos a microinfiltração entre pilares protéticos UCLA calcinável, UCLA com cinta pré-fabricada e componentes personalizáveis. Apesar de ter ocorrido microinfiltração em um maior número de pilares com cinta pré-fabricada (20%) do que nos calcináveis (10%) e não ter ocorrido microinfiltração nos pilares personalizáveis, a análise estatística não demonstrou diferenças significantes entre os grupos.

Este resultado pode ser justificado pelo experimento de De Mori (2005). O autor mediu, por microscopia eletrônica de varredura, o espaço entre o implante e dois tipos de componentes protéticos (UCLA pré-fabricado e calcinável), encontrando uma média de desadaptação para o primeiro grupo de 7,36 μm e para o segundo grupo de 5,33 μm .

Quando comparado cada tipo de componente protético, considerando o metal utilizado para sua confecção verificamos que a infiltração bacteriana ocorreu em uma das cinco amostras de UCLA calcinável fundido em liga de tilite (20%) e em duas das cinco amostras de UCLA com cinta pré-fabricada de prata-paládio (40%). A infiltração bacteriana não foi observada nos outros grupos: UCLA com cinta pré-fabricada de tilite, UCLA calcinável fundido em liga de cobalto-cromo, pilar personalizável de tilite e pilar personalizável de titânio. O teste estatístico utilizado não demonstrou diferenças estatísticas significantes entre os grupos. O desempenho inferior do pilar pré-fabricado de prata-paládio, embora estatisticamente não significante, não era esperado, pois, de acordo com Carvalho, Neisser e Bottino (2004), os componentes pré-fabricados em liga nobre apresentaram melhores resultados quanto a adaptação ao implantes quando comparados aos calcináveis confeccionados com a mesma liga.

Vale a pena ressaltar, que neste experimento utilizou-se dez corpos-de-prova para cada grupo, sendo cinco para o grupo teste e cinco para o controle. O

tamanho da amostra é justificado pelo custo dos componentes protéticos e dos implantes e pela complexidade das etapas laboratoriais de fundição e acabamento das coroas. Além disso, as fases experimentais eram delicadas e complexas, impossibilitando o uso de um maior número de corpos-de-prova.

Outra variável que influencia a adaptação do pilar protético sobre implante e, conseqüentemente a microinfiltração, é o torque utilizado para fixação do pilar. O aumento do torque aumenta a adaptação da interface protética (BYRNE et al.,1998) e diminui significativamente a microinfiltração (GROSS; ABRAMOVICH; WEISS, 1999).

Byrne et al. (1998) encontraram melhor adaptação para componentes pré-fabricados quando comparados aos calcináveis, mas enfatizaram que o primeiro grupo recebeu torque de 32 N.cm, enquanto o segundo grupo recebeu torque de 20 N.cm. Segundo os autores a diferença de torque aplicado pode ter contribuído para maior adaptação dos componentes pré-fabricados. Gross, Abramovich e Weiss (1999) avaliaram o grau de microinfiltração na interface implante/pilar protético de diferentes sistemas e verificaram que o aumento do torque (de 10 N.cm para 20 N.cm) diminuiu significativamente a microinfiltração ($p < 0,05$) em todos os sistemas. Em nosso experimento utilizamos torque de 32 N.cm para todos os componentes (pré-fabricados e calcináveis), provavelmente o maior torque gerado para fixação dos pilares, levou a uma maior compressão das superfícies, diminuindo o desajuste e contribuindo para os baixos índices de microinfiltração e para a ausência de diferenças estatísticas entre os grupos.

Streptococcus mutans são bactérias Gram positivas que medem em torno de 0,5 a 0,7 μ m (UENO; JORGE, 2006). Conforme descrito anteriormente, a fresta entre implante e componente protético parafusado varia de 2 a 7 μ m, podendo chegar até 37,5 μ m. Sendo assim, este microrganismo, assim como a maioria das bactérias

buciais, seriam capazes de atravessar a interface implante/pilar protético e se alojar no interior do implante.

Este fato é confirmado por alguns estudos que verificaram que diferentes bactérias são capazes de penetrar na interface implante/ pilar protético parafusado, causando microinfiltração (CRAVINHOS, 2003; JANSEN; CONRADS; RICHTER, 1997; PIATTELLI et al., 2001; PROFF et al., 2006; STEINEBRUNNER et al., 2005).

No experimento realizado por Piattelli et al. (2001), pilares protéticos retidos por cimento apresentam melhores resultados em relação à infiltração de *Pseudomonas* quando comparados a pilares protéticos retidos por parafuso que apresentaram microinfiltração em todas as amostras avaliadas.

Neste estudo, para a maioria dos corpos-de-prova, *S. mutans* não passou do interior do implante para o meio externo, através da interface protética. A diferença entre os resultados do presente trabalho e os obtidos por Piattelli et al. (2001) pode ser estar no fato de os autores terem utilizado uma máquina agitadora (que facilitaria microinfiltração), que não foi utilizada em nosso estudo ou mesmo pela espécie microbiana utilizada.

Steinebrunner et al. (2005) também avaliaram a microinfiltração por *E. coli* em implantes conectados a pilares protéticos parafusados. Neste estudo os corpos-de-prova foram submetidos a um ensaio que simulava a mastigação e, todos os corpos-de-prova, apresentaram microinfiltração. No presente trabalho outra possibilidade para a menor ocorrência de microinfiltração seria a não utilização de qualquer tipo de carga nos corpos-de-prova.

Em trabalho com metodologia semelhante a utilizada neste trabalho, onde também foi utilizada cultura contaminada na parte interna de implantes parafusados e tempo experimental de 14 dias, Jansen, Conrads e Richter (1997) verificaram microinfiltração em todos os corpos-de-prova. Cravinhos (2003) observou

microinfiltração em aproximadamente 80% dos corpos-de-prova, quando considerado todos os grupos testados, enquanto no presente estudo houve microinfiltração em 10%.

Além da possibilidade de a fresta na interface implante/ pilar protético ter sido menor que a relatada pela literatura consultada (dado que será averiguado por MEV em trabalho complementar a este), talvez a ausência de infiltração bacteriana, na maioria dos corpos-de-prova, possa ser explicada pela natureza da bactéria escolhida para este experimento e/ou quantidade de inóculo utilizado para a contaminação dos implantes.

S. mutans são microrganismos sensíveis, ou seja, necessitam de nutrientes em abundância para serem cultivados *in vitro* (RENYE et al., 2004) Talvez, a quantidade do meio de cultura (1 μ l) utilizado no presente trabalho não tenha fornecido nutrientes suficientes para a quantidade de microrganismos ali presentes ($1,6 \times 10^7$) ficarem viáveis até que o meio de cultura, do meio externo, pudesse penetrar no interior do implante.

Embora houvesse espaço para até 3 μ l no interior do implante, optamos por 1 μ l devido ao risco de extravasamento do inóculo no processo de aparafusamento do componente protético ao implante.

Assim sendo, outros experimentos deverão ser realizados com uma quantidade maior de inóculo e, talvez, menor de microrganismos para contaminação do implante, e os resultados de microinfiltração confrontados com os valores médios do espaço existente entre a plataforma do implante e os componentes protéticos.

Apesar da fragilidade de *S. mutans*, este microrganismo foi escolhido para este estudo devido à sua capacidade de produzir ácido na presença de sacarose e assim, intensificar o processo de corrosão (ANGELL, 1999; CHANG et al., 2003).

O meio bucal é altamente corrosivo e os metais expostos à cavidade bucal

sofrem corrosão mediante vários mecanismos como: alterações do pH, causadas pela ingestão de alimentos; variação da temperatura; corrosão galvânica, causada pelo acoplamento galvânico entre metais com diferentes potenciais eletroquímicos; corrosão sob fadiga, causada pela força mastigatória e corrosão influenciada por microrganismos.

Com o aumento do uso de implantes para reabilitação de pacientes, total ou parcialmente edêntulos, surge a preocupação sobre a corrosão galvânica que poderia ocorrer entre a plataforma do implante (sua maioria de Ti CP) e as diferentes ligas metálicas usadas nas próteses implantossuportadas. Vários trabalhos avaliam e atestam que a corrosão galvânica ocorre na interface implante/componente protético, quando diferentes ligas são utilizadas nas restaurações, principalmente quando essas ligas são de metais básicos (AMOEDO, 2005; FOTI et al., 1999; GEIS-GERSTORFER; WEBER; SAUER, 1989; GUINDY et al., 2004; TAHER; AL JABAB, 2003).

Como a corrosão microbiológica na interface do implante de titânio acoplado a diferentes ligas metálicas tem sido pouco abordada pela literatura, este trabalho, tentando contribuir para o conhecimento da corrosão de próteses sobre implantes, procurou avaliar a influência de um microrganismo bucal, com capacidade de produzir ácido, na corrosão de diferentes ligas acopladas a implantes dentais de titânio.

Biocorrosão ou corrosão microbiológica é assunto consolidado e bem pesquisado em diversos campos industriais, devido a sua importância ambiental e econômica (XU; CHAN; FANG, 2002). Na literatura odontológica os poucos autores que se propuseram a estudar este fenômeno concluíram que os microrganismos têm capacidade de gerar corrosão em metais utilizados em restaurações dentárias (CHANG et al., 2003; LAURENT et al., 2001; MABILLEAU et al., 2006; WILSON et

al., 1995; 1997).

Existem várias formas de analisar a corrosão. Dentre elas podemos citar: a utilização de célula de corrosão, com auxílio de potenciostato (CHANG et al., 2003; CORTADA et al., 2000; KUPHASUK et al., 2001; VENUGOPALAN; LUCAS, 1998), espectrofotometria de absorção atômica (CORTADA et al., 2000, SERADAT et al., 2001), microscopia eletrônica de varredura (AMOEDO, 2005) e microscopia de força atômica (MABILLEAU et al.; 2006; XU; CHAN; FANG, 2002). No presente trabalho, os elementos químicos liberados da corrosão dos diferentes pares galvânicos foram avaliados por espectrofotometria de absorção atômica. Esta técnica mede quantitativamente a concentração dos íons liberados a partir de uma determinada liga ou metal na solução de imersão (EWING, 1972).

Laurent et al. (2001) compararam o comportamento corrosivo de ligas de Ni-Cr e Au na presença e ausência de bactérias (*Actinomyces viscosus*) concluindo que as bactérias aumentaram a corrosão das ligas estudadas. Chang et al. (2003) avaliaram o comportamento corrosivo de várias ligas odontológicas, dentre elas Ni-Cr e TiCP, na presença de *S. mutans*, verificando que a bactéria aumentou significativamente a corrosão das ligas estudadas, sendo que as ligas básicas apresentam maior teor de corrosão que as nobres. Os resultados do presente trabalho apresentaram resultados semelhantes. Houve maior corrosão para os grupos submetidos ao microrganismo (*S. mutans*), de forma significativa para os grupos 4 (Ni-Cr), 5 (Ni-Cr) e 6 (Co-Cr) e não significativa para os grupos 2 (Ti6Al4V) e 3 (Ni-Cr), além disso, também não foi observada corrosão para o TiCp e grupo 1 (Ag-Pd).

A concentração de titânio foi avaliada em todas as soluções de imersão, entretanto os valores foram muito baixos sendo considerados nulos em todos os grupos. Esses achados são semelhantes aos resultados obtidos por Geis-Gerstorfer,

Weber e Sauer (1989) e Cortada et al. (2000). Esses resultados já eram esperados em função da natureza do metal estudado. O titânio, quando em contato com oxigênio se oxida rapidamente, formando uma película de óxido de titânio sobre sua superfície (película passivadora) que o torna altamente resistente à corrosão (ELIAS, 2001).

Por outro lado, na cavidade bucal, o implante está sujeito à ação das forças mastigatórias (fadiga), que poderiam romper a camada superficial de óxido, deixando o titânio suscetível à corrosão, conforme evidenciado por Amoedo (2005). A camada de óxido de titânio confere resistência à corrosão ao implante sob condições estáticas, mas não é estável para prevenir o fenômeno de corrosão sob fadiga. Entretanto, essa variável (fadiga) não foi estudada no presente experimento.

Discos de Ti CP foram avaliados, por MEV e microscopia de força atômica, quanto a resistência à corrosão em presença de *Streptococcus mitis*. Não possível detectar corrosão no metal estudado por MEV, mas somente por microscopia de força atômica que detecta corrosão em um nível nanométrico, significando que a corrosão foi muito discreta (MABILLEAU et al., 2006). Além da espectrofotometria de absorção atômica, utilizada no presente estudo, avaliações por microscopia óptica e MEV deverão ser realizadas futuramente para avaliar a superfície do implante de titânio em busca de sinais de corrosão.

A não detecção dos íons Ag e Pd nas soluções teste e controle, pode ser justificada pela natureza da liga estudada. A liga de Ag-Pd possui alta resistência à corrosão, sendo considerada uma liga semi-nobre. Alguns autores relatam que esta liga se comporta de forma bem semelhante ao ouro (JOÃO; LA CROIX, 1993; TAHER; AL JABAB, 2003).

Os mecanismos envolvidos na corrosão microbiológica ainda não estão totalmente elucidados, mas o biofilme depositado na superfície do metal pode

causar corrosão pela alteração do pH do meio, ação de enzimas extracelulares, atividade dentro da matriz do biofilme e por reações eletroquímicas na interface entre o biofilme e o metal (BEECH; SUNNER, 2004; GENTIL, 2003, XU; CHAN; FANG, 2002).

S. mutans possui grande poder de produção de ácido e de permanecer viável em pH ácido. O meio utilizado para cultura dos *S. mutans* no experimento (caldo tioglicolato) estava acrescido de sacarose. Quando existe disponibilidade de sacarose, o microrganismo metaboliza esta molécula formando como produto final o ácido láctico. Este ácido orgânico reduz o pH e possui alto poder desmineralizante (KURAMITSU, 1993; MARGOLIS, 1999). Provavelmente, a redução do pH do meio, causada pelo metabolismo da sacarose pela bactéria, contribuiu para a maior liberação de íons metálicos das amostras do grupo teste. Isto explicaria, pelo menos em parte, o mecanismo de corrosão por *S. mutans*.

Neste experimento, não foi possível a aplicação de teste estatístico para avaliar diferenças entre as ligas estudadas, entretanto, com exceção da liga de Ag-Pd, todos os outros grupos apresentaram liberação de íons.

Pela análise dos valores médios da concentração dos íons liberados nas soluções (Tabela 5) verificamos o grupo que apresentou maior liberação de íons, embora sem diferença estatística significativa entre teste e controle, foi o grupo 2 (pilar personalizável de titânio). Neste grupo, não houve liberação de íons Ti, entretanto houve grande liberação de íons Al. A liberação deste íon já era esperada pois a liga utilizada foi Ti6Al4V (Ti grau IV) e, embora a camada passivadora seja formada por dióxido de titânio, quando rompida, íons Al e V podem ser liberados até a regeneração da camada passiva (HANAWA, 2004). No presente trabalho, devido a problemas técnicos, não foi possível a detecção de vanádio.

Pouca alteração na liberação de íons Cr foi observada para os grupos teste e

controle tanto para as ligas de Ni-Cr (grupos 3, 4 e 5) quanto para a de Co-Cr (grupo 6), entretanto, a quantidade de Ni liberada das ligas Ni-Cr foi elevada (Tabela 6), demonstrando maior susceptibilidade à corrosão das ligas Ni-Cr acopladas ao titânio.

O cromo é adicionado às ligas a base de níquel para aumentar a capacidade de formação da camada passiva, sendo o teor de cromo sugerido na faixa de 16 a 27% . Ligas com teor de cromo mais baixo não podem desenvolver uma camada de óxido que possibilite uma maior resistência à corrosão (CORTADA, 2000, GIL et al., 2003). No presente trabalho, a quantidade de Cr nas ligas de Ni-Cr é inferior (13,5%) à recomendada, isto poderia justificar o elevado teor de níquel liberado, entretanto a liga de Co-Cr apresentava teor elevado de Cr (30,37%) e mesmo assim, liberou quantidade de íons significativa quando submetidas ao *S. mutans*.

Resultados semelhantes com relação à corrosão da ligas de Ni-Cr e Co-Cr foram observados nos experimentos de João e La Croix (1993) e de Taher e Al Jabab (2003)

A utilização das ligas de Ni-Cr, Co-Cr e de titânio (Ti6Al4V) para pilares de próteses implantossuportadas deve ser analisada cuidadosamente. Um maior número de estudos experimentais e clínicos deve ser realizado para que se possa determinar a extensão dos danos que a corrosão desses metais pode causar tanto para as estruturas de próteses sobre implante, quanto para o organismo humano. O níquel em sua forma iônica pode gerar reações alérgicas locais, perda óssea perimplantar e até perda de implantes (TAGGER-GREEN et al., 2002; SCHMALS; GARHAMMER, 2002), enquanto o alumínio absorvido pelo organismo pode causar deficiência fosfórea no sangue e osso devido a combinação dos íons Al com fósforo inorgânico além de poder gerar desordens neurológicas, incluindo o mal de Alzheimer (TADDEI et al., 2004).

O uso da liga de Ag-Pd é uma boa opção para próteses sobre implantes, entretanto, dentre as suas desvantagens estão o alto custo e a falta de conhecimento da técnica de fundição pelos laboratórios de prótese. Devido ao seu alto custo, a liga é pouco utilizada por dentistas, e conseqüentemente poucos laboratórios estão habituados a realizar procedimentos de fundição dessas ligas. Dentre as ligas alternativas, estão os pilares de titânio comercialmente puro. Esses componentes são economicamente viáveis, possuindo menor custo que as ligas à base de prata, paládio e ouro. Além disso, o acoplamento TiCP/TiCP não resultaria na formação de par galvânico.

Uma outra alternativa seria a utilização de sistemas de corpo único. Esses implantes geralmente são compostos por três segmentos unidos: o corpo (parte intra-óssea), uma cinta transmucosa e o componente protético. Nesses implantes o componente protético é uma extensão da porção intra-óssea. São confeccionados totalmente em TiCP, não havendo interface de conexão protética. Como exemplos, podem-se citar os implantes Colosso Pilar (Colosso, Itu, SP – Brasil) e Titamax GT cortical (Neodent, Curitiba, PR - Brasil).

Além de reduzir a corrosão galvânica, se elimina a fresta entre implante e o componente protético, reduzindo a microinfiltração, a contaminação do interior do implante e conseqüentemente problemas como inflamação gengival, perda óssea, corrosão microbiológica e até perda de implantes.

Entretanto, somente a realização de experimentos com os componentes acima citados poderão comprovar suas reais vantagens.

7 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos a partir do presente experimento *in vitro*, e levando-se em conta o contexto exposto e discutido, parecem lícitas as seguintes conclusões:

- Com exceção do componente protético de Ag-Pd, todos os componentes testados tiveram um aumento na corrosão quando imersos em meio contendo *Streptococcus mutans*, de forma significativa ou não.
- Pilares UCLA com cinta pré-fabricada em Ag-Pd apresentaram maior porcentagem de microinfiltração (40%) embora sem diferença estatística significativa para os demais grupos testados
- A liga de Ag-Pd demonstrou maior resistência à corrosão, seguida pela liga de Co-Cr. A liga de Ti6Al4V apresentou maior suscetibilidade à corrosão seguida pela liga de Ni-Cr.

REFERÊNCIAS

ADELL, R. Clinical results of osseointegrated implants supporting fixed prostheses in edentulous jaws. **J. Prosthet. Dent.**, v. 50, n. 2, p. 252-254, Aug. 1983.

ADELL, R. et al. A 15 years study of Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaws. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Denmark, v. 10, n. 6, p. 387-416, Dec. 1981.

ALBREKTSSON, T. A multicenter report on osseointegrated implants. **J. Prosthet. Dent.**, v. 60, n. 1, p. 75-84, July 1988.

AMOEDO, R. M. P. **Corrosão em fadiga de supra-estruturas de Ni-Cr e Co-Cr acopladas a Implantes de titânio em meio fluoretado**. 2005. 80 f. Dissertação. (Mestrado em Odontologia) – Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté, Taubaté, 2005.

ANGELL, P. Understanding microbially influenced corrosion as biofilm-mediated changes in surface chemistry. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 10, n. 3, p. 269-272, June 1999.

ANUSAVICE, K. J.; BRANTHEY, W. A. Propriedades físicas dos materiais dentários. In: ANUSAVICE, K. J. (Org.). **Phillips Materiais Dentários**. São Paulo: Elsevier, 2005. cap. 3, p. 39-68.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CORROSÃO, 2007. Disponível em: <<http://www.abraco.org.br/corros17.htm>>. Acesso em: 23 jan. 2007.

BEECH, I. B. et al. Microbially-influenced corrosion: damage to prostheses, delight for bacteria. **Int. J. Artif. Organs.**, v. 29, n. 4, p. 443-452, Apr. 2006.

BEECH, I. B; SUNNER, J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metal. **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 15, n. 3, p. 181-186, June 2004.

BESIMO, C. E. et al. Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 14, n. 5, p. 654-660, Sept./Oct. 1999.

BYRNE, D. et al. The fit of cast and premachined implant abutment. **J. Prosthet. Dent.**, v. 80, n. 2, p.184-192, Aug. 1998.

CARVALHO, M. C. A.; NEISSER, M. P.; BOTTINO, M. A. Avaliação *in vitro*, por MEV, da interface implante/componente protético (Golg UCLA e UCLA calcinável) fundidos em Ti c. p. e Ni-CrTiMo. **Rev. Bras. Implantodont. Prótese Implant.**, Curitiba, v. 11, n. 42, p. 133-140, 2004.

CHANG, L. C. et al. Electrochemical study on microbiology-related corrosion of metallic dental materials. **Biomed. Mater. Eng.**, v. 13, n. 3, p. 281-295, 2003.

CRAVINHOS, J. C. P. **Análise *in vitro* da contaminação bacteriana na interface implante/conector protético em três sistemas de implantes endósseos.** 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2005.

CORTADA, M. et al. Galvanic corrosion behavior of titanium implants coupled to dental alloys. **J. Mater. Sci. Mater. Méd.**, v.11, n.5, p. 287-293, May. 2000.

DE MORI, R. **Avaliação da interface implante/pilar protético antes e após carregamento cíclico.** 2005. 62 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté, Taubaté, 2005.

DIBART, S. et al. *In vitro* evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 20, n. 5, p. 732-737, Sept./Oct. 2005.

DIETER, G. R. Fadiga em metais. In:_____. (Org.). **Metalurgia mecânica.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. cap. 12, p. 369-370.

ELIAS, C. N. **Implantes Osseointegráveis:** conceito e bioengenharia. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense, 2001. (Apostila).

EWING, G. W. Espectroscopia de chama. In:_____. (Org.). **Métodos instrumentais de análise química.** São Paulo: Edgard Blucher, 1972. v. 1, cap. 8, p. 150-165.

FOTI, B. et al. Polymetallism and osseointegration in oral implantology: pilot study on primate. **J. Oral Rehabil.**, v. 26, n. 6, p. 495-502, June 1999.

GEIS-GEISTORFER, J.; WEBER, H.; SAUER, K. H. In vitro substance loss due to

galvanic corrosion in Ti implant/Ni-Cr supraconstructin systems. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 4, n. 2, p. 119-123, Summer 1989.

GENTIL, V. **Corrosão**. 4. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2003. 412 p.

GIL, F. J. et al. Fretting corrosion behaviour of ball-and-socket joint on dental implants with different prosthodontic alloys. **Bio-medic. Mat. Engin.**, v. 13, n.1, p. 27-34, 2003.

GROSS, M; ABRAMOVICH, I; WEISS, E. I. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 14, n. 1, p. 94-100, Jan./Feb. 1999.

GUINDY, J. S. et al. Corrosion at the marginal gap of implant-supported suprastructures and implant failure. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 19, n. 6, p. 826-831, Nov./Dec. 2004.

HAMADA, S.; SLADE, H. D. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. **Microbial. Rev.**, v. 44, n. 2, p. 331-384, June 1980.

HAMADA, S.; KOGA, T.; OOSHIMA, T. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. **J. Dent. Res.**, v. 63, n. 3, p. 407-411, Mar. 1984.

HANAWA, T. Metal ion release from metal implants. **Mater. Science Eng.**, v. 24, n. 6-8, p. 745-752, Dec. 2004.

JANSEN, V. K.; CONRADS, G.; RICHTER, E. J. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 12, n. 4, p. 527-540, July/Aug. 1997.

JOÃO, M; LA CROIX, S. P. Estudo de uma liga alternativa de prata-paládio para uso odontológico. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 6, p. 36-45, nov./dez. 1993.

KAROV, J.; HINBERG, I. Galvanic corrosion of selected dental alloys. **J. Oral Rehabil.**, v. 28, n. 3, p. 212-219, Mar. 2001.

KUPHASUK, C. et al. Electrochemical corrosion of titanium and titanium-based alloys. **J. Prosthet. Dent.**, v. 85, n. 2, p. 195-202, Feb. 2001.

KURAMITSU, H. K., Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 4, n. 2, p. 159-176, 1993.

LAURENT, F. et al. Comparison of corrosion behavior in presence of oral bacteria. **Biomater.**, v. 22, n. 16, p. 2273-2282, Aug. 2001.

LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. **Microbiol. Rev.**, v. 50, n. 4, p. 353-380, Dec. 1986.

LORENZO, J. L.; LORENZO, A. Cariologia: Etiopatogenia da cárie. In: LORENZO, J. L. (Org.). **Microbiologia para o estudante de odontologia**. São Paulo: Atheneu, 2004, cap. 7, p. 87-114.

MABILLEAU, G. et al. Influence of fluoride, hydrogen peroxide and lactic acid on corrosion resistance of commercially pure titanium. **Acta Biomater.**, v. 2, n. 1, p. 121-129, Jan. 2006.

MARGOLIS, H. C. et al. Kinetics of enamel demineralization in vitro. **J. Dent. Res.**, v. 78, p. 326-1335, July 1999.

MIRANDA, E. et al. Biocorrosion of carbon steel alloys by a hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. **Corrosion Science**, v. 28, n. 9, p. 2417-2431, 2006.

PAK, K. R. et al. Involvement of organic acid during corrosion of iron coupon *Desulfovibrio desulfuricans*. **J. Microbiol. Biotechn.**, v. 13, p. 937-941, 2003.

PROFF, P. et al. Bacterial colonization of interior implant threads with and without sealing. **Folia Morphol (Warsz)**, v. 65, n. 1, p. 75-77, Feb. 2006.

PIATTELLI, A. et al. Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 9, p. 1146-1150, Sept. 2001.

RAVNHOLT, G.; JENSEN, J. Corrosion investigation of two materials for implant supraconstruction couple to a titanium implant. **Scand. J. Dent. Res.**, Denmark, v. 99, p. 181-186, Apr. 1991.

RENYE, J. A. et al. Persistence of *Streptococcus mutans* in stationary-phase batch cultures and biofilms. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 70, n. 10, p. 6181-6187, Oct. 2004.

SANZ, M.; NEWMAN, M.G. Placa dental e cálculo. In: NISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G. (Org.). **Microbiologia Oral e Imunologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. cap. 26, p. 275-91.

SCHMALS, G; GARHAMMER, P. Biological Interactions of dental cast alloys with oral tissues. **Dent. Mater.**, v. 18, n. 5, p. 396-406, July 2002.

SEDARAT, C. et al. *In vitro* kinetic evaluation of titanium alloy biodegradation. **J. Periodontol. Res.**, v. 36, n. 5, p. 269-274, Oct. 2001.

SILVEIRA JÚNIOR, C. D. et al. Influência dos procedimentos laboratoriais na adaptação pilar UCLA/ implante - Estudo piloto. **PCL**, v. 4, n. 22, p. 392-400, 2002.

SONG, J. H. et al. In vitro anti-cariogenic activity of dichloromethane fraction from *Rheum undulatum* L. root. **Arch. Pharm. Res.**, v. 29, n. 6, p. 490-496, June 2006.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. **Periodontol. 2000**, v. 28, p. 12-55, 2002.

STEINEBRUNNER, L. et al. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 2, n. 6, p. 875-881, Nov./Dec. 2005.

TADDEI, E. B. et al. Sinterização a vácuo da liga Ti-35Nb-7Zr-5Ta. **Rev. Bras. Aplic. Vácuo**, Bauru, v. 23, n. 2, p. 68-72, 2004.

TAGGER-GREEN, N. et al. Fracture of Dental Implants: Literature Review and Report of Case. **Implant. Dent.**, v. 11, n. 2, p. 137-143, 2002.

TAHER, N. M.; AL JABAB, A. S. Galvanic corrosion behavior of implant suprastructure dental alloy. **Dent. Mater.**, v. 19, n. 1, p. 54-59, Jan. 2003.

TAKESHITA, F. et al. A quantitative study on the interface between bone tissue and blade-vent implants using the image processing system. **J. Oral Implantol.**, v.15, n.3, p. 154-159, 1989.

TAYLOR, D. F. Fundição de ligas de metais preciosos. In: O'BRIEN, W. J; RYGE, G. (Org.). **Materiais Dentários**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. cap. 19, p. 207-218.

UENO, M.; JORGE, A. O. C. Cocos Gram-positivos In: JORGE, A. O. C. (Org.). **Princípios de Microbiologia e Imunologia**. São Paulo: Santos, 2006. cap. 6, p. 65-84.

UPADHYAY, D. et al. Corrosion of alloys used in dentistry: A review. **Mater. Science Eng.**, v. 432, n. 25, p. 1-11, 2006.

VENUGOPALAN, R.; LUCAS, L. C. Evaluation of restorative and implant alloys galvanically coupled to titanium. **Dent. Mater.**, v.14, n. 3, p.165-172, June 1998.

WILSON, M. et al. Corrosion of intra-oral magnets in the presence and absence of biofilms of *Streptococcus sanguis*. **Biomat.**, v. 16, n. 9, p. 721-725, June 1995.

WILSON, M. et al. Corrosion of intra-oral magnets by multi-species biofilms in the presence and absence of sucrose. **Biomat**, v. 18, n. 1, p. 53-57, Jan. 1997.

XU, L. C.; CHAN, K. Y.; FANG, H. H. P. Application of atomic force microscopy in the study of microbiologically influenced corrosion. **Mat. Character.**, v. 48, n. 2-3, p. 195-203, Apr. 2002.