UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Dissertação

Efeito de cobertura antiaderente no acúmulo de biofilme em dispositivos ortodônticos

Adauê Siegert de Oliveira

Pelotas, 2012

ADAUÊ SIEGERT DE OLIVEIRA

EFEITO DE COBERTURA ANTIADERENTE NO ACÚMULO DE BIOFILME EM DISPOSITIVOS ORTODÔNTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia (área de concentração: Odontopediatria).

Orientador: Prof. Dr. Rafael Ratto de Moraes

Co-orientador: Prof. Dr. Maximiliano Sérgio Cenci

Pelotas, 2012

ados de Catalogação da Publicação

O48e Oliveira, Adauê Siegert de

Efeito de cobertura antiaderente no acúmulo de biofilme em dispositivos ortodônticos / Adauê Siegert de Oliveira ; orientador: Rafael Ratto de Moraes ; co-orientador: Maximiliano Sérgio Cenci. - Pelotas: UFPel, 2012.
32 f. : fig. ; tab.

Dissertação (Mestrado) Odontopediatria. Faculdade de Odontologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.

1. Angulo de contato. 2. Biofilme dentário.
3. Braquetes ortodônticos. 4. Hidrofobia. 5. Organo-silanos.
I. Moraes, Rafael Ratto de (orient.)
II. Cenci, Maximiliano Sérgio (co-orient.) III. Título.

D602

Bibliotecário: Fabiano Domingues Malheiro CRB -10/1955

Banca Examinadora:

Prof[a.] Dr[a.] Ana Regina Romano

Prof[a.] Dr[a.] Luciane Macedo de Menezes

Prof. Dr. Rafael Ratto de Moraes

Prof[a.] Dr[a.] Dione Dias Torriani (Suplente)

Dedicatória

Dedico a realização deste trabalho aos meus pais, Aldo e Vera, pois se hoje ultrapasso esta etapa da minha carreira de forma “independente” é por que nunca me faltou suporte e apoio em etapas anteriores. **Muito Obrigado**.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pois, além da benção da vida, Ele me permite realizar sonhos e viver momentos tão felizes como a conclusão deste trabalho.

Agradeço aos meus pais (Aldo e Vera), por toda educação e apoio que me proporcionaram durante toda minha vida, essa conquista é mais de vocês que minha. Amo Vocês!

Agradeço aos meus irmãos (Tatiane e Diego) que, por serem mais velhos, sempre foram exemplos para mim.

Agradeço a minha namorada Marina que foi a maior vítima do estresse e do cansaço gerado por um curso de mestrado. Obrigado por tudo minha Linda, Te Amo.

Um agradecimento especial ao meu amigo e orientador Prof. Rafael Moraes. Tenho muito orgulho de ser um de seus primeiros orientados, pois tenho certeza que com seu conhecimento, comprometimento, dedicação e amizade terá um futuro brilhante na carreira. Muito obrigado por tudo.

Agradeço, ainda, aos Professores Max e Fabrício e às colegas Marina Kaiser e Marina Azevedo com quem tive amizade fortalecida uma vez que me ajudaram diretamente neste trabalho. Estendendo o agradecimento aos alunos de iniciação Ana Paula, Andressa, Quéren e Tiago pelo sacrifício prestado na difícil rotina de trabalho com biofilme.

Agradeço também aos mestres com quem tive a oportunidade de aprender, admirar e tentar copiar: Profª. Dione, Profª. Ana Romano, Profª. Maria Laura, Profª. Lizandrea, Prof. Miguel e Prof. Douver.

Agradeço aos meus colegas de odontopediatria por compartilhar conhecimento, além de alegrias e sofrimentos. Vanessa, Aya, Tânia, Marília, Marina, Roberto e Marcos, valeu tudo.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia **(PPGO)** da UFPel, ao qual me sinto plenamente integrado devido ao ótimo acolhimento que recebi. Em especial, a toda família CDC-Bio onde tive todo apoio técnico e humano para realização deste trabalho. Agradeço também a Faculdade de Engenharia de Materiais da UFPel pelo suporte técnco. Da mesma maneira, agradeço à

coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior **(CAPES) p**elo financiamento e apoio à pesquisa.

Por fim, mas de maneira especial, agradeço aos todos meus amigos (sem citar nomes para não cometer injustiças), pois cada amigo do PPGO, da graduação, da especialização, do colégio, do futebol, do poker,... é muito importante para mim. Me apoiam, me ajudam ou me aturam de maneiras diferentes. Muito obrigado a cada um de vocês.

Resumo

OLIVEIRA, Adauê Siegert**. Efeito de cobertura antiaderente no acúmulo de biofilme em braquetes ortodônticos.** 2012. 32f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O uso de dispositivos ortodônticos tem sido associado ao aumento da retenção de biofilme dentário. Neste estudo, foi testado o efeito de coberturas hidrófobas, baseadas em organo-silanos (flourados ou não), no aumento do ângulo de contato e redução de acúmulo de biofilme inicial em dispositivos ortodônticos. Dois tipos diferentes de soluções hidrófobas foram testadas: solução hidrófoba 1 (SH1), obtida pela diluição de 2,5% de hexadecil-trietóxi-silano em etanol, e solução hidrófoba 2 (SH2), composta por 2,5% de perfluorodecil-trietóxi-silano diluído em dimetilsulfóxido. As soluções foram aplicadas em substratos cerâmico e de aço inox e, via processo sol-gel e reticulação, foram formadas redes siloxanas na superfície dos dispositivos. O efeito das coberturas foi avaliado em duas etapas. Na primeira etapa, buscando a caracterização da superfície, foi analisado o ângulo de contato com água. Placas de aço inox e alumina policristalina foram preparadas, aplicando ou não jateamento prévio das superfícies com partículas de alumina. Foi observado aumento significativo do ângulo de contato com a aplicação das duas soluções hidrófobas em ambos substratos, sendo que o jateamento do substrato propiciou a formação de superfície superhidrófoba no substrato cerâmico (ângulo de contato de até 155^{o}), enquanto superfícies hidrófobas foram obtidas no substrato aço (ângulo de contato até 123^{o}). Na segunda fase do trabalho, avaliou-se o efeito da cobertura no acúmulo de biofilme em braquetes ortodônticos, através de modelo de microcosmos. Braquetes ortodônticos foram previamente preparados conforme os tratamentos de superfície que apresentaram melhores resultados na primeira fase (SH1 para aço, SH2 para cerâmica). Foi avaliado o efeito da cobertura na formação de biofilme em períodos de 12h e 24h (controles: substratos não-recobertos e substratos jateados). Os resultados mostraram que as coberturas hidrófobas não resultaram em efeito significativo no acúmulo de biofilme no tempo 12h, entretanto todos os tratamentos de cobertura reduziram de forma significativa o acúmulo de biofilme sobre os braquetes metálicos e cerâmicos comparados aos grupos controle no período 24h. Foi observada relação de redução exponencial significativa entre ângulo de contato e acúmulo de biofilme para o tempo 24h. Dessa forma, conclui-se que a aplicação de coberturas (super)-hidrófobas reticuladas via processo sol-gel na superfície de dispositivos ortodônticos metálicos e cerâmicos reduziu o molhamento das superfícies em contato com a água e teve efeito significativo na retenção de biofilme bucal sobre esses dispositivos após 24h.

Palavras-chave: Ângulo de contato. Biolfime dentário. Braquetes ortodônticos. Hidrofobia. Organo-silanos. Processo sol-gel. Propriedades de superfície.

Abstract

OLIVEIRA, Adauê Siegert**. Efeito de cobertura antiaderente no acúmulo de biofilme em braquetes ortodônticos.** 2012. 32f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The use of orthodontic devices has been associated with an increase in dental biofilm retention. In this study, the effect of hydrophobic coatings, based on (fluorinated or not) organo-silanes, on the reduction of the contact angle and early biofilm retention in orthodontic devices was tested. Two different types of hydrophobic were tested: hydrophobic solution 1 (SH1), obtained by dilution of 2.5% of hexadecyl-triethoxy-silane in ethanol, and hydrophobic solution 2 (SH2), composed of 2.5% of perfluorodecyl-triethoxy-silane diluted in dimethyl sulfoxide. The solutions were applied in ceramic and stainless steel substrates and, via sol-gel process and crosslinking, siloxane networks were formed on the surface of the devices. The effect of the coatings was evaluated in two stages. In the first stage, aiming the characterization of the surface, the water contact angle was analyzed. Stainless steel and polycrystalline alumina plates were prepared, previously applying or not alumina sandblasting as surface treatment. A significant increase in contact angle was observed with the application of both hydrophobic solutions in both substrates, with the sandblasting allowing formation of super-hydrophobic surface in the ceramic substrate (contact angle up to 155^{o}), while hydrophobic surfaces were obtained in the steel substrate (contact angle up to 123^{o}). In the second phase, the effect of the hydrophobic coating on the biofilm retention in orthodontic brackets was evaluated using a microscosm model. Orthodontic brackets were previously prepared according to the surface treatments that showed the best results in the phase 1 (SH1 for steel, SH2 for ceramic). The effect of the coatings on the biofilm formation was evaluated in periods of 12h and 24h (controls: uncoated substrates and sandblasted substrates). The results showed that the hydrophobic coatings did not result in significant effect in biofilm retention for the time 12h, whereas all coating treatments significantly reduced the biofilm retention in the metal and ceramic brackets compared with the control groups. A significant exponential reduction in biofilm retention at 24h was associated with the increase in contact angle. It can be concluded that application of (super)-hydrophobic crosslinked coatings via sol-gel process on the surface of orthodontic metal and ceramic brackets reduced the surface wetting of the surfaces in contact with water and had a significant effect on the retention of dental biofilm after 24h.

Keywords: Contact angle. Oral biofilm. Orthodontic brackets. Hydrophobia. Oragbo-silanes. Sol-gel process. Surface properties.

Sumário

1 Introdução 09

2 Capítulo 1 13
2.1 Introdução 13
2.2 Metodologia 15
2.3 Resultados e Discussão 19
2.4 Conclusão 26
2.5 Referências 27

3 Conclusões 30

4 Referências 31

1 Introdução

A utilização de braquetes em tratamentos ortodônticos tem sido associada a alterações bucais que incluem redução do pH, colonização por microrganismos e aumento do acúmulo de biofilme (STEINBERG; EYAL, 2004). A desmineralização do esmalte adjacente a braquetes ortodônticos, como mostrado na Figura 1, é um grande problema clínico que pode aumentar a prevalência e gravidade de lesões de cárie (MEI et al., 2009). Tal condição ocorre pois a superfície dos dispositivos ortodônticos atua como área de retenção (Figura 1), facilitando o acúmulo de biofilme (LEE et al., 2001; TURKKAHRAMAN et al., 2005).

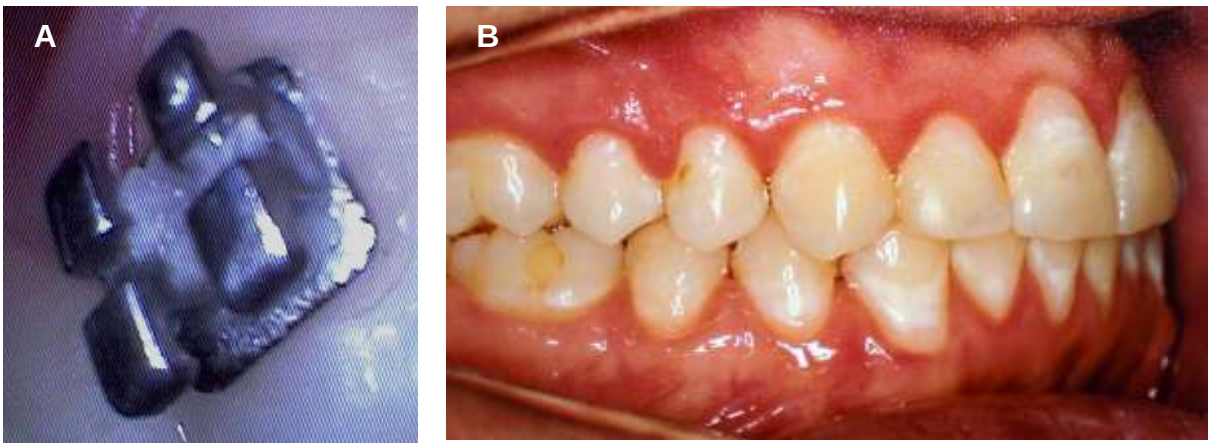

Figura 1 – Biofilme aderido à superfície de braquete ortodôntico (A). Lesões de mancha branca em esmalte adjacente a dispositivos ortodônticos, observadas após remoção destes (B).

O tratamento ortodôntico é muitas vezes indicado para crianças que não possuem a capacidade motora totalmente desenvolvida ou para adolescentes que não possuem maturidade para respeitar os cuidados exigidos pelo tratamento, o que torna os pacientes com esse perfil os mais prejudicados pelos efeitos negativos da retenção adicional de biofilme em dispositivos ortodônticos (SANPEI; ENDO; SHIMOOKA, 2010). Um estudo longitudinal mostrou que lesões de cárie

desenvolvidas durante o tratamento ortodôntico progridem mesmo após o término do tratamento, e que o percentual de regressão das lesões formadas durante a utilização dos dispositivos é mínimo (VAN DER VEEN; MATTOUSCH; BOERSMA, 2007).

A constante busca pela estética aumentou de maneira considerável a utilização de braquetes cerâmicos. Entretanto, apesar da significativa melhoria na qualidade desses braquetes, estes têm apresentado maior aderência bacteriana em relação aos tradicionais braquetes de aço inox (VAN GASTEL et al., 2009). Entre as formas já testadas para redução dos problemas associados ao acúmulo de biofilme em dispositivos ortodônticos estão o aprimoramento da técnica de colagem dos braquetes, utilização de substratos menos retentivos, utilização de braquetes que não necessitam de amarria (autoligáveis) e utilização de agentes de cimentação com propriedades antimicrobianas (BISHARA et al., 1998). Estas abordagens, entretanto, não têm apresentado efeitos notórios.

A cobertura do substrato de dispositivos ortodônticos com agentes que minimizem a formação de biofilme bacteriano surge como possibilidade ainda pouco estudada. A cobertura prata-platina em braquetes apresentou um efeito antimicrobiano positivo (RYU et al. 2012). Outro estudo, *in vivo,* em crianças e adolescentes em dentição mista mostrou que o revestimento de braquetes com fita de politetrafluoretileno reduziu de maneira significativa a aderência de biofilme bacteriano, e os resultados motivam novos estudos de superfícies antiaderentes em dispositivos ortodônticos (DEMLING et al., 2010).

A capacidade de formar uma superfície hidrófoba esta diretamente ligada à capacidade de um material ou estrutura ter baixa energia de superfície. Nos últimos anos, a possibilidade de desenvolver superfícies (super)-hidrófobas tem recebido muita atenção, pois controlar o molhamento de uma superfície é pertinente às mais diversas áreas da ciência. Na natureza, existem muitas superfícies com estas características; folhas de plantas como couve e agrião, ou as asas da borboleta, são exemplos. Dominar esse conhecimento pode permitir evitar desde a formação de geada em uma superfície a impedir o acúmulo de biofilme em lentes de contato, dentre outros vários exemplos (NOSONOVSKY; BHUSHAN, 2009).

Entre os materiais utilizados para tornar superfícies antiaderentes se destacam os fluorocarbonos. A partir desses precursores foi possível desenvolver um filme superhidrófobo comercialmente difundido como Teflon®. Outro material bem conhecido de baixa energia de superfície é o polidimetilsiloxano, que pertence ao conhecido grupo dos silicones; esse material permite a obtenção de superfícies hidrofóbicas a partir de diferentes métodos. Além dos já conhecidos fluorcarbonos e silicones, outros materiais orgânicos e inorgânicos têm sido desenvolvidos como alternativas para obtenção de superfícies hidrófobas (MA; HILL, 2006). Novas coberturas repelentes à água, produzidas através do processo sol-gel sem presença de flúor, tem obtido elevados ângulos de contatos, o que torno a composição menos tóxica e ainda eficiente (LAKSHMI et al., 2011; DASTJERDI et al., 2012).

A funcionalização da superfície de substratos ortodônticos pode gerar superfícies hidrófobas, ou seja, com ângulo de contato com a água entre 90° e 150°. Para melhor desempenho, é desejável ainda que a superfície do braquete seja modificada para que possa ser obtido efeito superhidrófobo na mesma, ou seja, ângulo de contato com a água maior que 150°. Superfícies com essa característica podem ser resistentes à adesão microbiana, uma vez que os biolfilmes orais se formam por recobrimento protéico de superfícies sólidas e formação de película adquirida, embora a adesão microbiana dependa ainda da hidrofilia dos microrganismos e ioutras nterações físico-químicas destes com as superfícies sólidas.

Recentemente foi depositado pedido de patente de uma composição antiaderente para utilização em tecidos dentários como o esmalte (OGLIARI et al., 2010). Tal composição obtém efetividade de cobertura antiaderente do substrato, tornando-o (super)-hidrófobo e/ou lipófobo, por meio da utilização de composto exemplificado abaixo:

em que R = cadeia linear, ramificada ou cíclica de dois ou mais carbonos e/ou fluorcarbonos, e X = grupo funcional com capacidade de ligar-se à estrutura do substrato, como silano, clorosilano, ácido carboxílico, ácido fosfórico, ácido fosfônico, ácido sulfônico, isocianato e haleto de acila.

Tais moléculas são caracterizadas por um sítio com capacidade de se ligar ao substrato dentário e um sítio constituído de cadeia de átomos com características hidrófobas/lipófobas. O propósito deste estudo foi ampliar a utilização desses tratamentos de cobertura para substratos ortodônticos, possibilitando obtenção de dispositivos com características superficiais antiaderentes, considerando a hipótese de impacto direto nos efeitos do acúmulo de biofilme nesses substratos. A possibilidade de trabalhar em substratos ortodônticos permitem melhores condições para modificação da superfície, como formação de rugosidades superficiais e aplicação de calor para melhorar a qualidade da ligação composição-substrato, o que pode ser inviável com dentes.

2 Capítulo 1

Cobertura (super)-hidrófoba de dispositivos ortodônticos e redução da retenção inicial de biofilme bucal

(Super)-hydrophobic coating of orthodontic devices and reduction of early oral biofilm retention

2.1 Introdução

A utilização intrabucal de dispositivos ortodônticos tem sido associada a alterações na microbiota oral, incluindo aumento da densidade microbiana, atividade metabólica e patogenicidade dos microrganismos (CHANG; WALSH; FREER, 1999; DIAMANTI-KIPIOTI; GUSBERTI; LANG, 1987). Estes efeitos se devem ao acúmulo de biofilme propiciado pela superfície dos dispositivos ortodônticos, embora a aderência microbiana possa ser influenciada pelo tipo de material do substrato (LINDEL et al., 2011; VAN GASTEL et al., 2009). Entre as formas já testadas para redução dos problemas associados ao acúmulo de biofilme em dispositivos ortodônticos pode-se citar a utilização de braquetes que não necessitam de amarria (autoligáveis) e agentes de cimentação com propriedades antimicrobianas; entretanto, a efetividade desses métodos na redução de problemas associados ao acúmulo de biofilme ainda levanta suspeita (AMASYALI et al., 2011; GAMEIRO et al., 2009; TURKKAHRAMAN et al., 2005).

A formação de biofilme no meio bucal se inicia por formação de película adquirida pela adsorção de biopolímeros salivares, formando interface entre os microrganismos e as superfícies (HANNIG; HANNIG, 2009). Uma vez que a formação de biofilme envolve adesão à superfície como passo inicial ao acúmulo de placa, a alteração da superfície dos dispositivos ortodônticos, tornando-os menos suscetíveis a essa aderência, poderia reduzir a colonização e/ou facilitar a remoção mecânica do biolfime nos estágios iniciais de colonização. A capacidade de formar

uma superfície com características de pouca aderência está diretamente ligada à capacidade de um material ou estrutura ter baixa energia de superfície, e ao ângulo de contato formado com o aderente (GAO; MCCARTHY, 2006). Adesão microbiana e formação de biofilme dependem da interação entre diversos fatores relacionados aos microrganismos e ao substrato colonizado, incluindo contato com fluidos bucais e cobertura glicoproteica, hidrofobia e molhabilidade e das superfícies, além de forças físico-químicas específicas entre ligante e receptor (BUSSCHER et al., 2010; CHRISTERSSON et al., 1989; HANNIG; HANNIG, 2009; HERMANSSON, 1999; OKADA et al., 2008).

Nos últimos anos, a possibilidade de desenvolver superfícies (super)-hidrófobas tem recebido muita atenção, e diversos materiais e métodos para controlar a topografia e química de superfícies e torná-las antiaderentes foram testados (MA; HILL, 2006). Superfícies que formam ângulo de contato com a água entre 90° e 150° são consideradas hidrófobas, e >150° são consideradas super-hidrófobas (GAO; MCCARTHY, 2006; MA; HILL, 2006). Entre os materiais utilizados com essa finalidade destacam-se os organo-silanos, que possuem um grupamento inorgânico na extremidade da molécula, um grupamento hidrolisável (geralmente alcóxi) e uma cadeia carbônica na outra extremidade, que pode variar em tamanho e funcionalidade, podendo conter fluorcarbonos. A extremidade orgânica dos silanos pode propiciar efeito antiaderente a superfícies de diferentes naturezas (GAO; MCCARTHY, 2006; KONDO et al., 2004; SAMBHY; PETERSON; SEN, 2008).

A funcionalização da superfície de substratos ortodônticos poderia gerar superfícies que dificultassem a adesão microbiana, formação da película adquirida e retenção inicial de biofilme bucal. O uso de coberturas antiaderentes para controle de biofilme ou aumento da resistência à pigmentação de materiais odontológicos foi avaliado anteriormente, porém a modificação de substratos ortodônticos não recebeu atenção. Um recente estudo *in vivo* em crianças e adolescentes em dentição mista mostrou que o revestimento de braquetes com fita de politetrafluoretileno reduziu de maneira significativa a aderência de biofilme bacteriano (DEMLING et al., 2010). Dessa forma, substratos ortodônticos modificados por meio de cobertura antiaderente poderiam reduzir a formação de biofilme ou facilitar remoção mecânica do mesmo; entretanto, este método não tem relato na literatura.

O objetivo do presente estudo foi aplicar coberturas antiaderentes via formação de camada reticulada por processo sol-gel sobre a superfície de substratos e braquetes ortodônticos (metálicos e cerâmicos) no intuito de avaliar a capacidade dessa cobertura na redução da retenção inicial de biofilme bucal utilizando modelo de microcosmos. A hipótese testada foi a de que a obtenção de camadas (super)-hidrófobas levaria à menor retenção inicial de biofilme sobre os dispositivos ortodônticos.

2.2 Metodologia

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (parecer 226/2011). Espécimes de aço inoxidável e alumina policristalina (cerâmica) foram utilizados para avaliação do ângulo de contato com a água. Braquetes ortodônticos correspondentes, de aço e cerâmica, foram utilizados para avaliação do acúmulo de biofilme bucal.

2.2.1 Preparo das soluções hidrófobas

Duas soluções hidrófobas distintas baseadas em silanos foram preparadas. A Solução Hidrófoba 1 (SH1) foi obtida pela diluição de 2,5% de hexadecil-trietóxi-silano (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) em etanol, enquanto a Solução Hidrófoba 2 (SH2) era composta por 2,5% de perfluorodecil-trietóxi-silano (Sigma-Aldrich) diluído em dimetilsulfóxido. A Figura 1 apresenta a estrutura molecular dos silanos utilizados. Os reagentes foram utilizados conforme recebidos. A concentração de fluorosilanos e o tipo de solvente necessário foram definidos com base em experimentos-piloto.

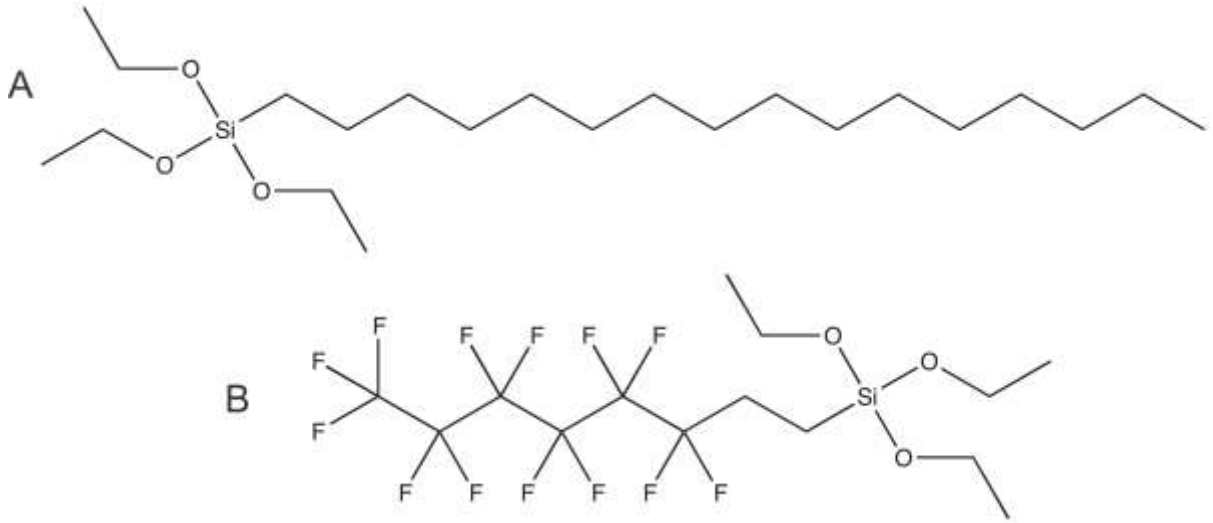

Figura 1 – Estrutura molecular dos silanos utilizados: hexadecil-trietóxi-silano (A) e perfluorodecil-trietóxi-silano (B). As moléculas se caracterizam pela presença de longa cadeia carbônica na extremidade orgânica (contendo fluorcarbonos em B). O mecanismo e potencial arranjo do polímero reticulado sobre diferentes superfícies, utilizando moléculas similares a estas, foi descrito anteriormente (SAMBHY; PETERSON; SEN, 2008).

2.2.2 Recobrimento das superfícies via processo sol-gel

Placas de aço cirúrgico 316L (10 × 10mm) e discos de alumina policristalina (diâmetro 10mm × espessura 2mm) foram utilizados. A lisura das superfícies foi padronizada por polimento com lixas SiC granulação 600, 1200, 1500 e 2000, seguida de polimento com pasta de pedra pomes e água. Os espécimes de cada substrato foram divididos em 6 grupos, de acordo com o tratamento de superfície e solução hidrófoba utilizados. A Tabela 1 apresenta a descrição dos grupos testados e tratamentos realizados. Em estudos-piloto, definiu-se o jateamento com partículas de alumina como tratamento ótimo para obtenção da cobertura antiaderente. O jateamento era realizado por 10s, distância de 15mm, utilizando partículas de 30µm e pressão de 30psi. Os espécimes eram lavados com spray ar-água e secos após jateamento. Superfícies não-tratadas foram utilizadas como controle. O recobrimento das superfícies foi realizado aplicando-se 3 camadas de cada solução hidrófoba com intervalos de 1 min. Os espécimes foram aquecidos a 150^{o}C por 2h (INTI FL 1300; São Carlos, SP), com taxa de aquecimento de 10^{o}C/min, para condensação de camada siloxana reticulada na superfície dos substratos.

Tabela 1 – Descrição dos grupos testados

Substrato	Tratamento de superfície	Solução hidrófoba	Código
Aço	Nenhum	-	A¥
		SH1	A-1
		SH2	A-2
	Jateamento*	-	AJ¥
		SH1	AJ-1¥
		SH2	AJ-2¥
Cerâmica	Nenhum	-	C¥
		SH1	C-1
		SH2	C-2
	Jateamento	-	CJ¥
		SH1	CJ-1¥
		SH2	CJ-2¥

*Detalhes do tratamento descritos na seção 2.2.
¥Grupos testados na análise de acúmulo de biofilme.

2.2.3 Avaliação do ângulo de contato estático

O ângulo de contato (n=5 por grupo) formado com a água de espécimes tratados e não tratados (Tabela 1) foi avaliado por meio de fotografias digitais padronizadas (T1i; Canon, Tóquio, Japão). Uma gota de 20µL de água destilada era dispensada sobre o espécime, e o registro fotográfico realizado 5s após o gotejamento. O ângulo de contato foi calculado nas imagens pela média dos ângulos obtidos entre a superfície do espécime e os limites esquerdo e direito da gota.

2.2.4 Crescimento de biofilme em modelo de microcosmos

Foi utilizado modelo de biofilme de microcosmos anteriormente descrito (FILOCHE; SOMA; SISSONS, 2007; VAN DE SANDE et al., 2011). Saliva humana foi utilizada como inóculo; como substrato, foram utilizados braquetes ortodônticos de aço inox e alumina (Edgewise Slim, slot 0,018"; Morelli Ortodontia, Sorocaba,

SP). Os braquetes foram divididos em 8 grupos (n=16 braquetes por grupo), conforme tratamentos descritos na Tabela 1, os quais foram alocados em dois tempos de avaliação para crescimento de biofilme: 12h e 24h. Os braquetes foram pesados em conjunto com microtubos estéreis (peso inicial). O biofilme de microcosmos cresceu sobre os braquetes em placa de 24 micropoços em meio definido enriquecido com mucina com glicose a 1%.

Foram utilizados ~80mL de saliva, estimulada por filme de parafina (Parafilm M; Chicago, IL, EUA), de um doador saudável envolvido na pesquisa. O doador suspendeu a higiene oral por 24h e a alimentação por 2h previamente à coleta de saliva. Os braquetes foram transferidos assepticamente para cada poço e alíquota de 0,4mL de saliva fresca e homogeneizada foi dispensada sobre cada braquete. Após 1h a 37°C, a saliva foi delicadamente aspirada do fundo do poço e 1,8mL de meio de crescimento foram adicionados sobre cada braquete. As placas foram incubadas em jarras de anaerobiose, com geradores atmosféricos com 5-10% CO_2 e O_2 < 1% (Anaerobac; Probac, São Paulo, SP), e mantidas a 37^{o}C por 12h ou 24h.

2.2.5 Análise do acúmulo de biofilme sobre os braquetes

Após os períodos de crescimento, os braquetes foram retirados dos poços e as células não-aderidas foram removidas delicadamente em banho individual (2mL) de solução salina estéril a 0,9%, sendo recolocados em seus microtubos. Os conjuntos espécime-microtubo foram novamente pesados, solução salina estéril foi adicionada (1mL/mg de biofilme) e sonicados a 40W e amplitude de 5%, usando 3 pulsos de 10s cada para obtenção de biofilme em suspensão homogênea. As suspensões foram diluídas em séries de até 1×10^{7} e imediatamente inoculadas em duplicata no meio de cultura em ágar sangue para contagem dos microrganismos totais. Todas as placas foram incubadas em jarras de anaerobiose, como descrito acima, por 96h; ao final, as unidades formadoras de colônia (UFC) foram contadas por único operador treinado. Os resultados foram expressos em UFC/mg de biofilme úmido.

2.2.6 Análise estatística

Os dados de ângulo de contato para cada substrato foram separadamente submetidos à Análise de Variância–ANOVA de duas vias (tratamento de superfície × solução hidrófoba). Os dados de UFCs foram transformados em ranks e analisados por ANOVA de duas vias (tratamento × tempo). Comparações múltiplas aos pares foram realizadas utilizando o teste de Student-Newman-Keuls. Análises de regressão não-linear foram utilizadas para investigar a relação ângulo de contato × acúmulo de biofilme, separadamente para cada tempo de avaliação. O nível de significância de 5% foi adotado em todas as análises.

2.3 Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise de ângulo de contato. Os fatores 'tratamento de superfície' ($P \leq 0,003$) e 'solução hidrófoba' ($P < 0,001$) foram significativos para ambos substratos, assim como a interação entre os dois fatores ($P < 0,001$). O poder do teste foi ≥ 0,862 para todas as condições.

Tabela 2 – Resultados de ângulo de contato com a água

Substrato	Solução hidrófoba	Tratamento de superfície	
		Nenhum	Jateamento
Aço	-	75,7 (3,2) ^{A,b}	72,9 (2,1) ^{A,c}
	SH1	107,4 (3,7) ^{B,a}	122,6 (2,8) ^{A,a}
	SH2	105,7 (1,1) ^{A,a}	100,7 (2,7) ^{A,b}
Cerâmica	-	52,3 (2,2) ^{A,c}	45,2 (2,1) ^{B,b}
	SH1	128,9 (3,7) ^{B,b}	151,4 (2,6) ^{A,a}
	SH2	151,4 (2,1) ^{A,a}	154,6 (2,3) ^{A,a}

Para cada substrato, letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna indicam diferenças entre os tratamentos e as soluções, respectivamente (α = 0,05).

Para o substrato aço, a aplicação de ambas soluções hidrófobas aumentou significativamente o ângulo de contato quando o jateamento não foi realizado (P < 0,001), sem diferença significativa entre as soluções (P = 0,646). O jateamento não influenciou de forma significativa o ângulo de contato do grupo em que a solução SH2 foi aplicada (P = 0,19); entretanto, aumentou significativamente o ângulo de contato com o aço quando foi utilizada a solução SH1 (P < 0,001). Para o substrato cerâmico, a aplicação das duas soluções hidrófobas também aumentou significativamente o ângulo de contato quando o jateamento não foi realizado (P < 0,001). Entretanto, o jateamento aumentou significativamente o ângulo de contato com a cerâmica apenas quando a solução SH1 foi aplicada (P < 0,001).

A Figura 2 apresenta imagens ilustrativas do ângulo de contato formado com a água nas superfícies controle (não-modificadas) e naquelas em que o tratamento hidrófobo foi mais efetivo em termos de aumento do ângulo de contato (SH1 para aço, SH2 para cerâmica). O tratamento do aço (AJ-1) gerou superfície com baixo molhamento, resultado da alta hidrofobia propiciada pelo tratamento antiaderente. Entretanto, apenas na cerâmica (especialmente no grupo CJ-2) foi possível a obtenção de superfície super-hidrófoba. A comparação com as imagens dos grupos controle (Fig. 2a e 2c) deixa evidente o efeito da cobertura hidrófoba na capacidade de reduzir substancialmente o molhamento na superfície do aço e cerâmica. As camadas depositadas na superfície dos substratos têm característica apolar; a água, quando encontra uma superfície hidrófoba plana, forma uma camada de depleção pouco densa por condução termodinâmica (POYNOR et al., 2006), em função do menor valor crítico de tensão superficial e menor coeficiente de fricção, causando pouca atratividade entre as moléculas da água e as condições físico-químicas da superfície.

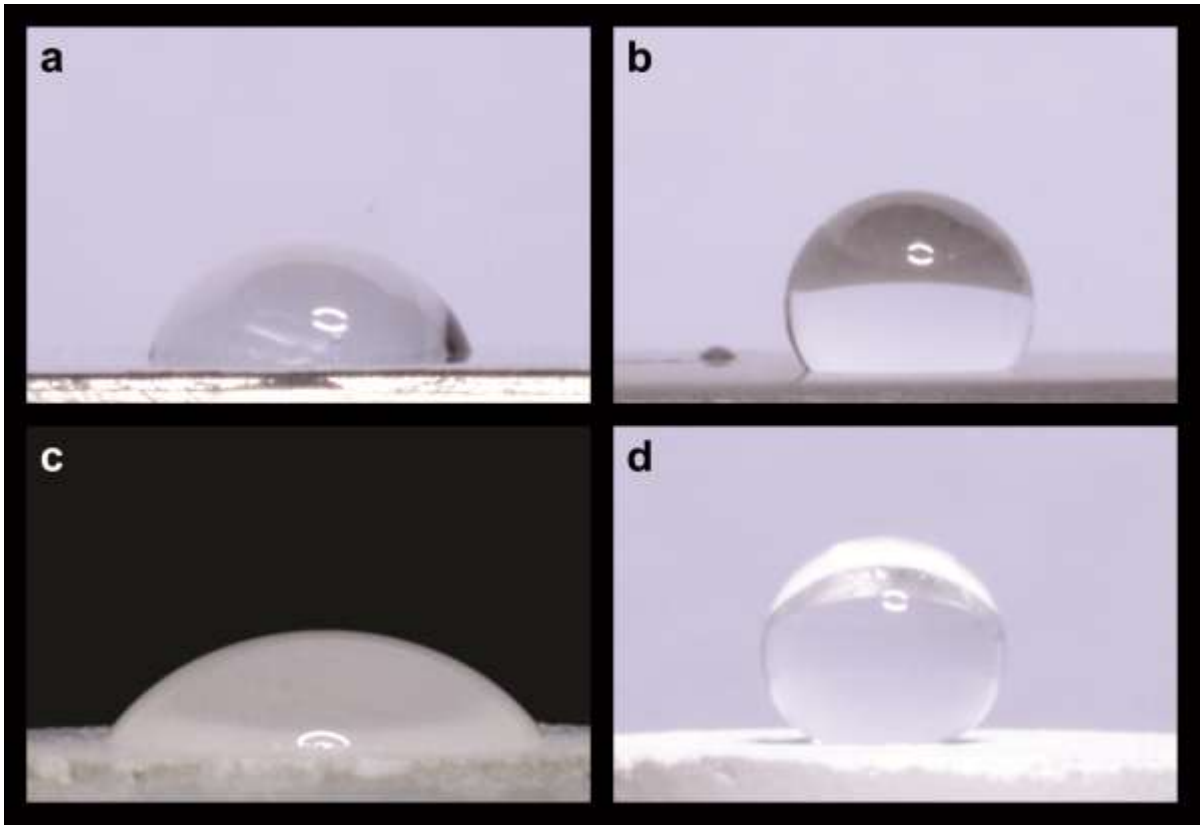

Figura 2 – Imagens representativas do ângulo de contato formado com a água para os grupos A (a), AJ-1 (b), C (c) e CJ-2 (d). As imagens mostram o ângulo de contato inicial (controle) de cada substrato (a, c) e o tratamento mais efetivo no aumento do ângulo de contato com a água para cada condição. No aço, a cobertura hidrófoba foi capaz de criar superfície de baixo molhamento, enquanto na cerâmica foi possível a obtenção de superfície super-hidrófoba.

Enquanto a solução SH1 dependeu da aplicação de tratamento da superfície do substrato para mais efetiva redução do ângulo de contato formado com a água, a solução SH2 não sofreu influência das condições do substrato – ou seja, da criação de porosidade para melhor interação da camada (super)-hidrófoba com a superfície. Em geral, algum tipo de tratamento prévio é necessário para promover cobertura mais uniforme e tornar superfícies repelentes à agua, em especial em substratos hidrófilos e utilizando polímeros fluorados (NAKAJIMA; HASHIMOTO; WATANABE, 2001; SAMBHY; PETERSON; SEN, 2008). Sabe-se que o molhamento da superfície e obtenção de camada super-hidrófoba dependem do tipo de material, topografia e química da superfície (FENG; JIANG, 2006; MA; HILL, 2006); o arranjo 3D da camada reticulada na superfície dos substratos também pode variar de acordo com o tipo e funcionalidade das moléculas (SAMBHY; PETERSON; SEN, 2008). Estes

fatores explicam as diferenças observadas entre as soluções hidrófobas testadas no estudo. Entretanto, os resultados de retenção inicial de biofilme, conforme descritos a seguir, se mostraram independentes do tratamento inicial do substrato (i.e., jateamento ou não) quando as camadas hidrófobas foram utilizadas, o que é importante do ponto de vista de simplificação do método de cobertura antiaderente.

Os resultados da análise de biofilme são apresentados na Figura 3. Os fatores 'tratamento' e 'tempo' foram significativos ($P < 0,001$), assim como a interação entre os fatores ($P = 0,003$). O poder do teste foi ≥ 0,846 para todas as condições. No tempo 12h, as coberturas hidrófobas, independente do substrato, não apresentaram efeito significativo na redução do acúmulo de biofilme: não houve diferença significativa ($P \geq 0,429$) entre os grupos controle (A e C) e os grupos em que a cobertura hidrófoba foi mais eficiente em reduzir o ângulo de contato (AJ-1 e CJ-2). Isto pode ser explicado pelo fato de que maior quantidade de proteínas salivares pode se aderir a superfícies hidrófobas, facilitando a formação da película adquirida, que media a colonização microbiana e formação inicial de biofilme (HANNIG; HANNIG, 2009). Esse efeito é observado principalmente em condições estáticas de formação de biofilme (BUSSCHER et al., 2010), conforme o modelo utilizado neste estudo. A adsorção de bactérias e proteínas salivares a partir de uma solução aquosa sobre uma superfície sólida é o resultado de diversas forças de interação que ocorrem simultaneamente entre todos os componentes envolvidos (fluido, sólido, proteínas solubilizadas). A polaridade de cada componente afeta esse processo de forma significativa, e diferentes forças de atração e repulsão, com diferentes limites ou distâncias de atuação, participam dos processos iniciais de adesão e manutenção do biofilme nos sólidos em meio aquoso (HANNIG; HANNIG, 2009), de acordo com a teoria DLVO estendida (HERMANSSON, 1999). Considerando esses aspectos, é razoável creditar efeito dos tratamentos baseados em cobertura hidrófoba na formação inicial e na manutenção do biofilme formado sobre superfícies sólidas.

Considerando o tempo 24h de formação de biofilme neste experimento, houve claro efeito das coberturas hidrófobas na redução da retenção de biofilme: todos os grupos recobertos apresentaram acúmulo significativamente menor comparados aos grupos não-recobertos ($P \leq 0,034$), exceto para algumas comparações com o grupo CJ-1. Os grupos em que a cobertura hidrófoba foi mais

eficiente na redução do ângulo de contato (AJ-1 e CJ-2) foram os grupos que apresentaram menor retenção de biofilme no tempo 24h. Este dado fica ainda mais claro quando os dados de regressão não-linear, mostrados na Figura 4, são analisados. Não houve relação significativa entre acúmulo de biofilme e ângulo de contato no tempo de 12h, enquanto redução exponencial do acúmulo de biolfime foi associada ao aumento do ângulo de contato no tempo 24h, independente do tipo de substrato.

De forma geral, a retenção de biofilme foi significativamente menor no tempo 12h *vs.* 24h ($P < 0,001$). Diferenças significativas entre os 2 tempos foram ausentes apenas para 3 grupos experimentais, sendo estes 3 grupos tratados com coberturas hidrófobas. Este dado evidencia que o recobrimento hidrófobo pode não ter efeito detectável pela técnica de coleta e cultivo nas 12h iniciais de acúmulo de biofilme, porém apresenta-se significativo na retenção que acontece posteriormente. Superfícies hidrófobas, apesar de permitirem maior adesão proteica inicial, também ocasionam ligações mais fracas com essas proteínas, facilitando o seu desprendimento da superfície, o que também se reflete na subsequente aderência microbiana e no desenvolvimento do biofilme. Isso explicaria o efeito de menor acúmulo de biofilme observado somente após 24h de formação nos espécimes com cobertura hidrófoba (BUSSCHER et al., 2010; HANNIG; HANNIG, 2009). Ainda, quando os biofilmes estão sujeitos às forças de cisalhamento as quais atuam sobre o biofilme supragengival presentes, por exemplo, na cavidade bucal, superfícies hidrófobas permitem maior desprendimento do biofilme formado (CHRISTERSSON et al., 1989), o que se reflete em menor recuperação de biomassa a partir destas superfícies comparadas a superfícies mais hidrófilas (BUSSCHER et al., 2010). Embora a formação da película adquirida tenha tendência a uniformizar a cobertura de superfícies com diferentes hidrofilia e energia de superfície, a adsorção de proteínas não elimina totalmente a influência das propriedades de superfície dos substratos na subsequente colonização microbiana e formação de biofilme (HANNIG; HANNIG, 2009). Esses fatores reforçam a importância do tipo de substrato e suas propriedades de superfície tanto na formação inicial quanto na manutenção do biofilme, que refletem diretamente na sua velocidade de formação e na facilidade de sua remoção.

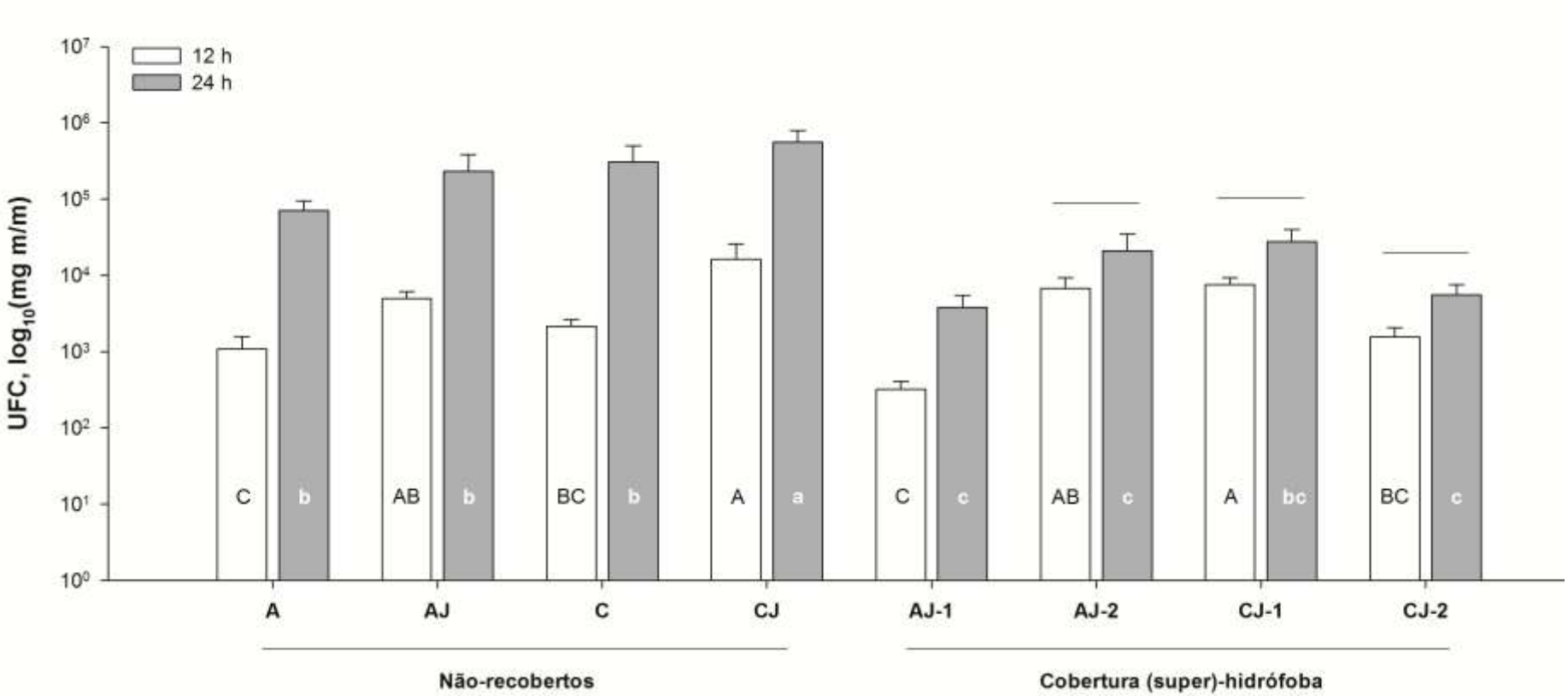

Figura 3 – Resultados da análise se acúmulo inicial de biofilme sobre os braquetes ortodônticos (barras são médias + erro padrão). Letras maiúsculas indicam diferenças entre os grupos no tempo 12h; letras minúsculas indicam diferenças entre os grupos no tempo 24h. Grupos unidos por linhas horizontais acima das barras não mostraram diferença significativa no acúmulo de biofilme entre 12h e 24h (α = 0,05).

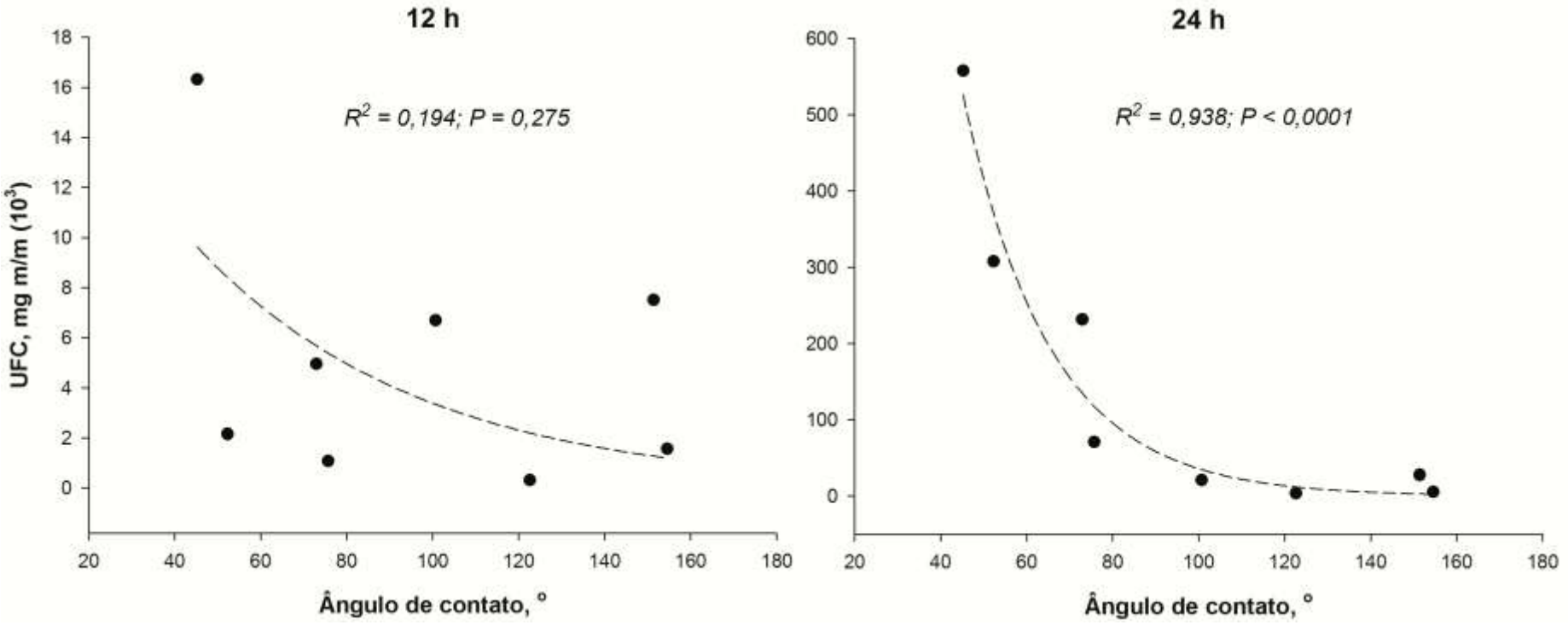

Figura 4 – Gráficos de análise de regressão não-linear tendo ângulo de contato como variável independente, para os tempos 12h e 24h de acúmulo de biofilme, utilizando o modelo de redução exponencial [f=a*exp(-b*x)]. Não houve relação significativa entre as variáveis no tempo de 12h, enquanto redução significativa do acúmulo de biolfime foi associada ao aumento do ângulo de contato no tempo 24h (α = 0,05).

A influência do ângulo de contato na retenção inicial de biofilme foi dependente da superfície testada, o que está de acordo com estudos anteriores (OKADA et al., 2008; SALERNO; LOGAN; VELEGOL, 2004; YOSHINO et al., 1998). Embora diferença entre os silanos utilizados tenha sido observada no que se refere ao ângulo de contato dentro de cada substrato, com cada molécula se mostrando mais efetiva na redução do molhamento da superfície, não houve diferença entre os silanos em relação ao acúmulo de biofilme no tempo 24h. Isso indica que a obtenção de camada super-hidrófoba não foi necessária para interferir na adesão e colonização microbiana das superfícies. Este resultado se explica pelo resultado da química das superfícies hidrófobas ser alterada quando estas são cobertas por glicoproteínas salivares, o que influencia a adesão microbiana e acúmulo de biofilme, conforme descrito anteriormente.

Os resultados do presente estudo indicam que a aplicação de coberturas hidrófobas baseadas em (fluoro)silanos sobre dispositivos ortodônticos tem efeito na redução da retenção de biofilme oral sobre esses substratos. Embora não tenha sido foco do estudo, a cobertura hidrófoba poderia, ainda, facilitar a remoção mecânica do biofilme acumulado sobre dispositivos ortodônticos. Sabe-se que a presença de dispositivos ortodônticos serve de nicho para acúmulo de biofilme, o que pode levar ao desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes. Reduzir o acúmulo inicial de biofilme e/ou facilitar a remoção do biofilme retido nas superfícies poderia ser benéfico para os pacientes. Durante consultas clínicas, após remoção de elásticos e fios, o profissional normalmente necessita remover biofilme e *debris* depositados sobre a superfície de braquetes – a cobertura hidrófoba poderia facilitar esse efeito também. Finalmente, embora o presente estudo se limite a retenção inicial de biofilme, este tipo de cobertura poderia ter outras aplicações ortodônticas e odontológicas, como a menor pigmentação de elásticos e facilitação à remoção de biofilme sobre outros substratos.

2.4 Conclusão

A aplicação de coberturas (super)-hidrófobas reticuladas via processo sol-gel na superfície de dispositivos ortodônticos metálicos e cerâmicos reduziu o

molhamento das superfícies em contato com a água e teve efeito significativo na retenção de biofilme bucal sobre esses dispositivos após 24h.

2.5 Referências

AMASYALI, M., ENHOS, S., UYSAL, T., SAYGUN, I., KILIC, A., BEDIR, O. Effect of a self-etching adhesive containing an antibacterial monomer on clinical periodontal parameters and subgingival microbiologic composition in orthodontic patients. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics,** v.140, n.4, p.e147-153, 2011.

BUSSCHER, H. J., RINASTITI, M., SISWOMIHARDJO, W., VAN DER MEI, H. C. Biofilm formation on dental restorative and implant materials. **Journal of Dental Research,** v.89, n.7, p.657-665, 2010.

CHANG, H. S., WALSH, L. J., FREER, T. J. The effect of orthodontic treatment on salivary flow, pH, buffer capacity, and levels of mutans streptococci and lactobacilli. **Australian Orthodontic Journal,** v.15, n.4, p.229-234, 1999.

CHRISTERSSON, C. E., DUNFORD, R. G., GLANTZ, P. O., BAIER, R. E. Effect of critical surface tension on retention of oral microorganisms. **Scandinavian Journal of Dental Research,** v.97, n.3, p.247-256, 1989.

DEMLING, A., ELTER, C., HEIDENBLUT, T., BACH, F. W., HAHN, A., SCHWESTKA-POLLY, R., STIESCH, M., HEUER, W. Reduction of biofilm on orthodontic brackets with the use of a polytetrafluoroethylene coating. **European Journal of Orthodontics,** v.32, n.4, p.414-418, 2010.

DIAMANTI-KIPIOTI, A., GUSBERTI, F. A., LANG, N. P. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. **Journal of Clinical Periodontology,** v.14, n.6, p.326-333, 1987.

FENG, X., JIANG, L. Design and creation of superwetting/antiwetting surfaces. **Advanced Materials,** v.18, p.3063-3078, 2006.

FILOCHE, S. K., SOMA, K. J., SISSONS, C. H. Caries-related plaque microcosm biofilms developed in microplates. **Oral Microbiology and Immunology,** v.22, n.2, p.73-79, 2007.

GAMEIRO, G. H., NOUER, D. F., CENCI, M. S., CURY, J. A. Enamel demineralization with two forms of archwire ligation investigated using an in situ caries model--a pilot study. **European Journal of Orthodontics,** v.31, n.5, p.542-546, 2009.

GAO, L., MCCARTHY, T. J. A perfectly hydrophobic surface (thetaA/thetaR = 180 degrees /180 degrees). **Journal of the American Chemical Society,** v.128, n.28, p.9052-9053, 2006.

HANNIG, C., HANNIG, M. The oral cavity--a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. **Clinical Oral Investigations,** v.13, n.2, p.123-139, 2009.

HERMANSSON, M. The DLVO theory in microbial adhesion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v.14, n.1-4, p.105-119, 1999.

KONDO, Y., MIYAO, K., AYA, Y., YOSHINO, N. Synthesis of and glass surface modificaton with fluorinated silane coupling agents with a benzene ring as a spacer. **Journal of Oleo Science,** v.53, n.3, p.143-151, 2004.

LINDEL, I. D., ELTER, C., HEUER, W., HEIDENBLUT, T., STIESCH, M., SCHWESTKA-POLLY, R., DEMLING, A. P. Comparative analysis of long-term biofilm formation on metal and ceramic brackets. **The Angle Orthodontist,** v.81, n.5, p.907-914, 2011.

MA, M., HILL, R. M. Superhydrophobic surfaces. **Current Opinion in Colloid & Interface Science,** v.11, p.193-202, 2006.

NAKAJIMA, A., HASHIMOTO, K., WATANABE, T. Recent studies on super-hydrophobic films. **Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly,** v.132, p.31-41, 2001.

OKADA, A., NIKAIDO, T., IKEDA, M., OKADA, K., YAMAUCHI, J., FOXTON, R. M., SAWADA, H., TAGAMI, J., MATIN, K. Inhibition of biofilm formation using newly developed coating materials with self-cleaning properties. **Dental Materials Journal,** v.27, n.4, p.565-572, 2008.

POYNOR, A., HONG, L., ROBINSON, I. K., GRANICK, S. How water meets a hydrophobic surface. **Physical Review Letters,** v.97, p.266101, 2006.

SALERNO, M. B., LOGAN, B. E., VELEGOL, D. Importance of molecular details in predicting bacterial adhesion to hydrophobic surfaces. **Langmuir,** v.20, n.24, p.10625-10629, 2004.

SAMBHY, V., PETERSON, B. R., SEN, A. Multifunctional silane polymers for persistent surface derivatization and their antimicrobial properties. **Langmuir,** v.24, n.14, p.7549-7558, 2008.

TURKKAHRAMAN, H., SAYIN, M. O., BOZKURT, F. Y., YETKIN, Z., KAYA, S., ONAL, S. Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. **The Angle Orthodontist,** v.75, n.2, p.231-236, 2005.

VAN DE SANDE, F. H., AZEVEDO, M. S., LUND, R. G., HUYSMANS, M. C., CENCI, M. S. An in vitro biofilm model for enamel demineralization and antimicrobial dose-response studies. **Biofouling,** v.27, n.9, p.1057-1063, 2011.

VAN GASTEL, J., QUIRYNEN, M., TEUGHELS, W., PAUWELS, M., COUCKE, W., CARELS, C. Microbial adhesion on different bracket types in vitro. **The Angle Orthodontist,** v.79, n.5, p.915-921, 2009.

YOSHINO, N., YAMAUCHI, T., KONDO, Y., KAWASE, T., TERANAKA, T. Plaque-controlling surface modifier containing fluorocarbon chain. **Reactive and Functional Polymers,** v.37, p.271-282, 1998.

Conclusões

Dentro das limitações do presente estudo, as seguintes conclusões podem ser definidas:

- As duas coberturas hidrófobas testadas foram capazes de aumentar o ângulo de contato de substratos ortoônticos, aço inox e cerâmica, e gerar superfícies (super)-hidrófobas;
- O jateamento com partículas de alumina como tratamento de superfície mostrou-se necessário para potencializar a cobertura antiaderente em termos de aumento do ângulo de contato;
- A solução a base de perfluorodecil-trietóxi-silano, assim como a solução a base de hexadecil-trietóxi-silano, apresentou resultados superiores no substrato cerâmico comparado ao metálico em termos de aumento do ângulo de contato;
- As coberturas hidrófobas não foram capazes de reduzir o acúmulo de biofilme sobre os dispositivos no tempo de 12h de crescimento;
- As coberturas antiaderentes foram capazes de reduzir o acúmulo de biofilme nos dispositivos ortodônticos após 24h, com uma relação de redução exponencial do ângulo de contato formado com a superfície do material e a redução do acúmulo de biofilme dentário;
- Superfícies antiaderentes parecem interferir mais no desenvolvimento do biofilme que na aderência inicial em substratos de dispositivos ortodônticos.

Referências

BISHARA, S. E., VONWALD, L., ZAMTUA, J., DAMON, P. L. Effects of various methods of chlorhexidine application on shear bond strength. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics,** v.114, n.2, p.150-153, 1998.

DASTJEDI, R., MONTAZER, M., STEGMAIER, T., MOGHADAM, M. B. A smart dynamic self-induced orientable multiple size nano-roughness with amphiphilic feature as a stain-repellent hydrophilic surface. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v.91, p.280-290, 2012.

DEMLING, A., ELTER, C., HEIDENBLUT, T., BACH, F. W., HAHN, A., SCHWESTKA-POLLY, R., STIESCH, M., HEUER, W. Reduction of biofilm on orthodontic brackets with the use of a polytetrafluoroethylene coating. **European Journal of Orthodontics,** v.32, n.4, p.414-418, 2010.

FILOCHE, S. K., SOMA, K. J., SISSONS, C. H. Caries-related plaque microcosm biofilms developed in microplates. **Oral Microbiology and Immunology,** v.22, n.2, p.73-79, 2007.

LAKSHMI, R. V., BHARATHIDASAN, T., BASU, B. J. Superhydrophobic sol–gel nanocomposite coatings with enhanced hardness. **Applied Surface Science,** v.257, p.10421-10426, 2011.

LEE, S. J., KHO, H. S., LEE, S. W., YANG, W. S. Experimental salivary pellicles on the surface of orthodontic materials. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics,** v.119, n.1, p.59-66, 2001.

LEITE, Françoise Hélène van de Sande. **Desenvolvimento de modelo de biofilme para avaliação de desmineralização do esmalte.** 2009. 99f. Tese (Mestrado em Odontologia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MA, M., HILL, R. M. Superhydrophobic surfaces. **Current Opinion in Colloid & Interface Science,** v.11, p.193-202, 2006.

MEI, L., BUSSCHER, H. J., VAN DER MEI, H. C., CHEN, Y., DE VRIES, J., REN, Y. Oral bacterial adhesion forces to biomaterial surfaces constituting the bracket-adhesive-enamel junction in orthodontic treatment. **European Journal of Oral Sciences,** v.117, n.4, p.419-426, 2009.

NOSONOVSKY, M., BHUSHAN, B. Superhydrophobic surfaces and emerging applications: Non-adhesion, energy, green engineering. **Current Opinion in Colloid & Interface Science,** v.14, p.270-280, 2009.

OGLIARI, F. A., PIVA, E., OLIVEIRA, I. R., SILVA, A. F., MORAES, R. R., CENCI, M. S. Composição odontológica anti-aderente. Depósito de pedido de patente ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial, protocolo 0000221002087648. 2010.

RYU, H. S., BAE, I. H., LEE, K. G., HWANG, H. S., LEE, K. H., KOH, J. T., CHO, J. H. Antibacterial effect of silver-platinum coating for orthodontic appliances. **The Angle Orthodontist,** v.82, n.1, p.151-157, 2012.

SANPEI, S., ENDO, T., SHIMOOKA, S. Caries Risk Factors in Children under Treatment with Sectional Brackets. **The Angle Orthodontist,** v.80, n.3, p.509-514, 2010.

STEINBERG, D., EYAL, S. Initial biofilm formation of Streptococcus sobrinus on various orthodontics appliances. **Journal of Oral Rehabilitation,** v.31, n.11, p.1041-1045, 2004.

TURKKAHRAMAN, H., SAYIN, M. O., BOZKURT, F. Y., YETKIN, Z., KAYA, S., ONAL, S. Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. **The Angle Orthodontist,** v.75, n.2, p.231-236, 2005.

VAN DER VEEN, M. H., MATTOUSCH, T., BOERSMA, J. G. Longitudinal development of caries lesions after orthodontic treatment evaluated by quantitative light-induced fluorescence. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics,** v.131, n.2, p.223-228, 2007.

VAN GASTEL, J., QUIRYNEN, M., TEUGHELS, W., PAUWELS, M., COUCKE, W., CARELS, C. Microbial adhesion on different bracket types in vitro. **The Angle Orthodontist,** v.79, n.5, p.915-921, 2009.