



**FUNDAÇÃO OSWALDO ARANHA**  
**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM MATERIAIS**

**FIOS ORTODÔNTICOS ANTIMICROBIANOS REVESTIDOS COM**  
**NANOPARTÍCULAS DE PRATA (Ag)**

**PAULA CHAGAS SILVA DE OLIVEIRA**

**Volta Redonda**  
**2017**



**FUNDAÇÃO OSWALDO ARANHA**  
**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM MATERIAIS**

**FIOS ORTODÔNTICOS ANTIMICROBIANOS REVESTIDOS COM  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA (Ag)**

Dissertação apresentada ao Mestrado Profissional em Materiais do Centro Universitário de Volta Redonda - UniFOA, como requisito obrigatório para a obtenção do título de mestre em Materiais sob a orientação do Prof. Dr. Sinara Borborema Gabriel na área de Processamento e Caracterização de Materiais Reciclados, Compósitos, Nanomateriais e Biomateriais na linha de pesquisa de Materiais Cerâmicos.

Aluna: Paula Chagas Silva de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Sinara Borborema Gabriel

### FICHA CATALOGRÁFICA

Bibliotecária: Alice Tacão Wagner - CRB 7/RJ 4316

O48f Oliveira, Paula Chagas Silva de.  
Fios ortodônticos antimicrobianos revestidos com nanopartículas (Ag). / Paula Chagas Silva de Oliveira . - Volta Redonda: UniFOA, 2017.

49 p. : Il

Orientador(a): Sinara Borborema Gabriel

Dissertação (Mestrado) – UniFOA / Mestrado Profissional em Materiais, 2017

1. Materiais - dissertação. 2. Fios de niti. 3. Fios antimicrobianos. 3. Nanopartículas. I. Gabriel, Sinara Borborema. II. Centro Universitário de Volta Redonda. III. Título.

CDD – 620.1

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Aluna: Paula Chagas Silva de Oliveira**

**FIOS ORTODÔNTICOS ANTIMICROBIANOS REVESTIDOS COM  
NANOPARTICULAS DE PRATA (Ag) POR SÍNTESE HIDROTHERMAL**

Orientador:

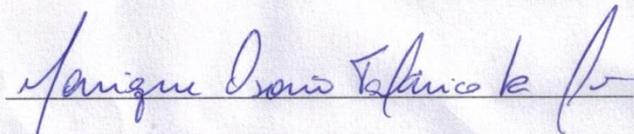
Profa. Dra. Sinara Borborema Gabriel

Banca Examinadora

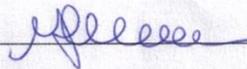


---

Profa. Dra. Sinara Borborema Gabriel



Profa. Dra. Monique Osório Talarico da Conceição



---

Profa. Dra. Monica Costa Rezende

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pois sem ele não teria chegado até aqui, aos meus pais Edinho Silva e Amélia Silva que me incentivaram, à minha filha Laura que compreendeu minha ausência algumas vezes, abdicando de alguns momentos em família para a dedicação ao mestrado, ao meu esposo Jairo que me apoiou e vivenciou comigo cada momento, aos meus irmãos Camilla e George que também estiveram na torcida para que tudo ocorresse com sucesso, ao meu primo Hernane Barud, por todo o carinho e paciência, sempre disposto e sendo peça chave para que este trabalho acontecesse, e a minha orientadora Sinara Borborema por caminhar comigo.

OLIVEIRA.P.C.S. FIOS ORTODÔNTICOS ANTIMICROBIANOS REVESTIDOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA (Ag)2017. 46f. Dissertação ( Mestrado Profissional em Materiais) - Fundação Oswaldo Aranha do Campus Três Poços. Centro Universitário de Volta Redonda. Volta Redonda/RJ.

## RESUMO

Este trabalho apresenta resultados obtidos a partir da inserção de nanopartículas de Prata em fios ortodônticos. As nanopartículas foram inseridas nos fios através da síntese hidrotermal, pois se trata de um método verde para a síntese das nanopartículas. Foram utilizadas diferentes concentrações de nitrato de Prata, e esta foi utilizada a fim de promover uma ação antimicrobiana a esses fios ortodônticos. Os fios ortodônticos (FO) foram caracterizados por diferentes ensaios físicos-químicos, a saber, Difração de Raios-x (DRX), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), além da realização de ensaios biológicos, tais como Antibiograma, e Citotoxicidade.

Os resultados obtidos mostram que houve a redução das partículas de Prata ao tamanho de nanopartículas, e que essas nanopartículas se apresentaram de maneira dispersa sobre toda a superfície dos fios ortodônticos (FO). O DRX não evidenciou a presença de Nps de Prata, devido à baixa concentração. No ensaio do DSC, houve a confirmação que a síntese hidrotérmica não altera as propriedades do fio, sendo indicada a sua aplicação clínica. No antibiograma, o método utilizado pela literatura, não foi suficiente para detectar efeito antimicrobiano, devido à área de contato ser pequena.

Ao Ensaio de Citotoxicidade FO puros e FO recoberto com nanopartículas de Prata não se mostraram tóxico, sendo indicada sua aplicação na ortodontia.

**Palavras-Chave:** Fios de Niti; fios antimicrobianos; nanopartículas; síntese hidrotérmica.

OLIVEIRA.P.C.S. ANTIMICROBIAL ORTHODONTICAL YARNS COATED WITH SILVER NANOPARTICLES 2017. 46f. Dissertation ( Professional Master in Materials) -Oswaldo Foundation Spider from the Tres Poços Campus. University Center of Volta Redonda. Volta Redonda / RJ.

## ABSTRAT

This paper presents results from the insertion of silver nanoparticles in orthodontic. The nanoparticles were inserted in by hydrothermal synthesis, since it is a green method for the synthesis of nanoparticles. We used different concentrations of silver nitrate, and this was used to promote an antimicrobial action to these orthodontic wires. The orthodontic (FO) were characterized by different physical-chemical tests, namely, x-ray Diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC), scanning electron microscopy (SEM), in addition to biological trials, such as W, and Cytotoxicity.

The results obtained show that the reduction of silver particles the size of nanoparticles, and these nanoparticles were dispersed manner over the entire surface of the orthodontic (FO). The DRX not evidenced the presence of silver Nps, due to low concentration. DSC testing, there was confirmation that the hydrothermal synthesis does not change the properties of the wire, being indicated to your clinical application. In culture, the method used in literature, was not sufficient for detecting antimicrobial effect, due to the small contact area.

To the pure FO and FO cytotoxicity assays covered with silver nanoparticles were not toxic, being indicated its application in orthodontics.

**Keywords:** NiTi wires; Antimicrobial threads; Nanoparticles; Hydrothermal synthesis.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2 . REVISÃO BIBLIOGRAFICA .....	14
2.1 Fios Ortodônticos .....	14
2.2 Lesões de mancha branca e incidência de cárie .....	17
2.3 A importância das nanopartículas de Prata .....	18
2.4 Síntese hidrotermal .....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	24
3.1 Obtenção de fios ortodônticos de Níquel-Titânio .....	24
3.2 Classificação dos Fios Ortodônticos .....	24
3.3 Revestimentos dos fios ortodônticos de Níquel-Titânio por inserção de nanopartículas de Prata .....	25
3.4 Caracterização físico-química e biológica dos fios ortodônticos de Níquel-Titânio .....	26
3.4.1 Difractometria de Raios-X (DRX) .....	26
3.4.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	27
3.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	28
3.4.4 Antibiograma dos fios ortodônticos de Níquel-titânio revestidos de Prata .....	29
3.4.5 Citotoxicidade .....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
4.1 Difractometria de Raios-X (DRX) .....	32
4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	34
4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	36
4.4 Antibiograma dos fios ortodônticos de Níquel-titânio revestidos de Prata .....	39
4.5 Citotoxicidade .....	39
5. CONCLUSÃO .....	41
REFERÊNCIAS .....	43

## LISTA DE TABELA

Tabela 1. Concentração de nanopartículas de Prata das marcas MA e MO. ....	25
Tabela 2. Linhagem celular, as células e o meio de cultura Depositados em cada fio .....	31

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reator utilizado no processo de síntese hidrotermal .....	22
Figura 2. Tecnologia hidrotermal no século 21 .....	23
Figura 3. Arco ortodôntico da marca Abzil (MA) .....	24
Figura 4. Reator hidrotérmico utilizado para a inserção da Nanopartículas de Prata nos fios Ortodônticos .....	26
Figura 5. Difratorômetro Rigaku RINT2000 .....	27
Figura 6 Difratorômetro Mettler .....	28
Figura 7. Microscópio eletrônico modelo JEOL JMF-60700F (Field Emission Scanning Electron Microscopy) .....	29
Figura 8. Esquema do procedimento a ser realizado nos testes biológicos dos fios ortodônticos com e sem adição de Prata .....	30
Figura 9. DRX MA1 e MA CTRL .....	33
Figura 10. DRX MO1 e MO CTRL .....	34
Figura 11. (a) amostra MA1, (b) amostra MA CTRL .....	35
Figura 12. (a) amostra MO1, (b) amostra MO CTRL .....	36
Figura 13. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura: MA CTRL (a- b), MA1 (c-d), MA2 (e-f), MA3 (g-h). .....	37
Figura 14. Resultado de EDS para todas as amostras MA CTRL, MA1, MA2 e MA3 .....	38
Figura 15. Antibiograma realizado pelo modo contato amostras MA CTRL, MA1, MA2 e MA3 .....	39
Figura 16. Valores de densidade óptica (DO) obtidos em um comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 570 nm num espectrofotômetro, convertidos em porcentagens de viabilidade celular relativa amostra controle negativo .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS

DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil Sulfoxido
DO	Densidade óptica
DRX	Difratometria de Raios-X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FO	Fios ortodônticos
MA	Marca Abzil
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MO	Marca Orthometric
NiTi	Níquel-Titânio
NPs	Nanopartículas
SBF	Soro Bovino Fetal

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente é grande a procura nos consultórios odontológicos, por pacientes interessados no tratamento ortodôntico. Diversas causas justificam tal demanda como a modernização dos aparelhos, as vantagens estéticas e funcionais que eles oferecem após a movimentação ortodôntica, e a conscientização por parte da sociedade.<sup>[1]</sup>

Na ortodontia utilizam-se diferentes fios ortodônticos, que são responsáveis pela movimentação dentária. Para que se tenha um melhor desempenho no tratamento, faz-se necessário que o profissional conheça cada uma das propriedades dos fios.<sup>[13] [25] [20]</sup>

Os materiais mais utilizados na produção de fio são: aço inoxidável, ligas de Cobalto-Cromo, ligas de titânio do tipo beta e mais recentemente as ligas de Níquel-Titânio (NiTi). Sendo que nesta classe as ligas de NiTi podem ser classificadas em convencional e duas ligas superelásticas.<sup>[13] [25]</sup>

Os fios de aço inoxidável eram os mais utilizados na movimentação dentária. Porém, atualmente, com o desenvolvimento de novas ligas metálicas, o interesse do profissional em encurtar o tempo de tratamento, e também a simplicidade do mesmo, fez com que tais ligas ganhassem prioridade pelos ortodontistas.<sup>[11]</sup>

Ainda com toda a tecnologia gerando fios mais atraentes, uma grande preocupação dos ortodontistas é o acúmulo de placa bacteriana entre o fio e a superfície dentária. Já que é estabelecido que os *Streptococcus mutans* são responsáveis pela iniciação de cárie e os *Lactobacillus acidophilus* pela progressão da doença. Tal efeito faz com que o dente fique mais susceptível a desmineralização do esmalte, gerando assim um risco maior à lesões de cárie.<sup>[21]</sup>

[32]

Este acúmulo se dá pela incompleta higienização por parte do paciente, pela não remoção total da placa bacteriana, já que o uso do aparelho e seus dispositivos dificultam tal procedimento.<sup>[32]</sup>

Uma modificação importante possível de ser realizada em um fio de NiTi tradicional à fim de melhorar suas funções e torna-lo mais eficiente, é fornecer a ele propriedades antimicrobianas. Fios ortodônticos antimicrobianos possuem capacidade de controlar a progressão de cáries, uma vez que a presença de elementos antimicrobianos nesses fios pode inibir a presença de microrganismos que se fazem presentes na placa bacteriana aderida.<sup>[21]</sup>

Nos dias atuais, a incorporação da nanopartículas de Prata em diversos dispositivos tem criados novos biomateriais, e seu uso pode oferecer novas possibilidades ao tratamento ortodôntico.<sup>[1]</sup>

Existem diversos agentes antimicrobianos, porém a Prata tem seu destaque, pois apresenta alta eficiência contra doenças causadas por micróbios, como bactérias e fungos. O grande interesse da incorporação da Prata nos fios ortodônticos é devido à cárie ser uma doença bacteriana causada pelo *Streptococcus mutans* (que são responsáveis pela iniciação) e os *Lactobacillus acidophilus* (responsáveis pela progressão da doença).<sup>[12] [26] [21] [14]</sup>

Métodos físicos e químicos podem reduzir às partículas de Prata, transformando as em nanopartículas. Uma característica relevante das nanopartículas é a biocompatibilidade e dificuldade de resistência microbiana. Os íons de Prata causam inibição no crescimento das bactérias através do seu efeito bacteriostático (inibição do crescimento) e bactericida (antibacteriano). Tais propriedades levaram a ampliação dessas nanopartículas em materiais de uso médico e odontológico.<sup>[26] [21]</sup>

A síntese hidrotermal, é um processo onde ocorrem diversas reações químicas, por meio aquoso ou organo-aquoso, sob ação simultânea de calor e pressão, e é utilizado para sintetizar as nanopartículas de Prata.<sup>[36]</sup>

Este trabalho tem como objetivo o revestimento e caracterização de fios ortodônticos usados em aparelhos ou contensões, com propriedades antimicrobianas através do revestimento com nanopartículas de Prata, obtidas pela síntese hidrotérmica.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Fios ortodônticos

Diariamente na sua rotina clínica, são utilizados diversos materiais pelo ortodontista, que na maioria de casos, estão incluídos metais ou mais corretamente falando, ligas metálicas. Portanto para que o tratamento seja eficaz faz se necessário que o profissional tenha conhecimento das propriedades mecânicas e químicas dos fios metálicos, e também a interação adequada de diversos fatores tais como fatores relacionados ao paciente, à mecânica aplicada, aos dentes e suas estruturas de suporte participam da efetividade do movimento ortodôntico.<sup>[13] [25]</sup>

A responsabilidade da movimentação dentária na ortodontia atribui-se aos fios ortodônticos. Tais fios devem exercer forças leves e contínuas. Desta maneira vários fatores devem ser considerados como espessura, composição da liga metálica, distância intrabraquetes, atrito entre o fio e o braquete, secção transversal, tipo de amarrilho, tamanho dos braquetes e a curvatura do arco.<sup>[31] [25]</sup>

Algumas características e propriedades são de grande valia na escolha de um fio ideal, tais como características de estética, biocompatibilidade, capacidade de proporcionar baixa fricção, formabilidade, capacidade de ser soldado, possuir uma alta energia acumulada, baixa dureza, além de uma boa capacidade de memória. Para que ocorra a movimentação dentária é importante que o fio exerça uma força leve e contínua, diminuindo o potencial de desconforto ao paciente, de reabsorção dentária e também de hialinização tecidual.<sup>[13] [28]</sup>

Existem no mercado diferentes tipos de fios. São eles: fios de aço inoxidável, fios de cromo-cobalto, fios de beta-titânio e fios de níquel-titânio que são subdivididos em uma liga convencional e duas ligas superelásticas, o que diferem muito dos fios ortodônticos convencionais e que tem sido eleita por muitos ortodontistas, pela simplicidade e rapidez ao tratamento <sup>[13] [25]</sup>

Com o surgimento das ligas de NiTi na odontologia, grandes mudanças e aprimoramentos ocorreram nas técnicas de tratamento, trazendo consideráveis

avanços nos tratamentos ortodônticos. Tal advento deve se a Buehler que em 1963 desenvolveu a liga, e a Andreasen e Morrow (1978) que a apresentou para a classe odontológica.<sup>[9] [17] [25]</sup>

O desenvolvimento das ligas NiTi ocorreu na década de 60, no laboratório Naval da Marinha Americana, em Silver Springs – Maryland, Estados Unidos pelo pesquisador Wilian Bueeler. Em tal ocasião foi observado o efeito memória de forma desse material, ou seja, essa liga tem grande capacidade de ser deformada, dobrada, aquecida e resfriada em uma forma específica, e retornar a sua forma original antes do aquecimento. Entretanto, essa liga foi aplicada somente na área de Engenharia nesta época. Foi na década de 70 que iniciou a produção industrial da liga NiTi na Odontologia, pela empresa Unitek Corporation, sob o nome comercial de Nitinol®.<sup>[13] [9] [17] [25]</sup>

Em 1976, chegou ao mercado uma nova geração de ligas de NiTi, que foi caracterizada por possuir memória de forma e superelasticidade. Tal memória pode ser definida como a capacidade da liga em alterar sua estrutura atômica mediante a submissão de temperatura. Atualmente os procedimentos realizados com tais ligas são praticamente padrão na clínica ortodôntica.<sup>[13] [28]</sup>

Os fios ortodônticos de NiTi possuem baixa resiliência, assim favorecem o movimento dentário, são pobres em formabilidade, portanto não aceitam soldagem, apresentam maior coeficiente de atrito com braquetes quando comparados aos de aço, não aceitam dobras. Por não aceitarem reconformação são vendidos em formato pré- contornados.<sup>[11] [25]</sup>

Na ortodontia, as reações biológicas é um fator importante na seleção dos dispositivos utilizados no tratamento. Com isso faz se necessário à utilização de materiais que apresentem biocompatibilidade, baixa toxicidade, baixo índice de alergia e hipersensibilidade, a fim de evitar qualquer alteração no sistema imunológico do paciente. Portanto um biomaterial deve apresentar algumas características para que se torne ideal, como ser biocompatível, resistentes a grandes impactos, ter variedades de formas e tamanhos, e capacidade de atuar na interface biológica do sistema melhorando qualquer dispositivo que interfira de forma negativa ao organismo.<sup>[20] [8] [35]</sup>

Com o advento de novas ligas no mercado como ligas de NiTi, que apresentam diferentes propriedades mecânicas, o ortodontista obteve recursos adicionais para a obtenção do controle sobre a magnitude da força aplicada no tratamento ortodôntico. Atualmente as ligas superelásticas e com memória de forma são amplamente usadas pelos ortodontistas, sendo praticamente padrão nos consultórios odontológicos.<sup>[22] [23] [25]</sup>

Nos últimos anos, a utilização de superelasticidade tem sido selecionada pelos ortodontistas para iniciar os movimentos dentários na primeira fase do tratamento, por ser considerada biologicamente compatível com tais movimentos, por incluir a capacidade de melhor adaptação na ranhura do braquete, propiciando simplicidade e rapidez ao tratamento e envolvendo a fase de alinhamento e nivelamento.<sup>[13] [23]</sup>

As ligas de NiTi possuem algumas características que as tornam atraentes como alta elasticidade, boa resistência e baixa rigidez. Essas propriedades fazem com que os fios apresentem maior resistência à deformação permanente e que retornem a sua forma original após o uso.<sup>[2]</sup>

A mecânica ortodôntica consiste no acúmulo de energia elástica e transformação dessa energia em trabalho mecânico, gerando assim a movimentação dentária. Para ter controle do movimento dentário, o ortodontista necessita da aplicação de um sistema de forças específico, direcionado por acessórios tais como os fios ortodônticos. Apesar do vasto número de fios ortodônticos no mercado, os mais utilizados são: o aço inoxidável; as ligas de níquel-titânio (NiTi) que podem ser superelásticos, termodinâmicos e com adição de cobre; as ligas de Titânio tipo beta e as estéticas de compósitos.<sup>[13] [25]</sup>

É muito importante que o profissional conheça cada uma das propriedades dos fios para a melhor seleção no tratamento. Na aparelhagem fixa, a fase mais importante consiste no alinhamento e nivelamento, e necessita de forças leves e contínuas para produzir um movimento dentário eficiente e com o mínimo de repercussão para os dentes e tecidos de suporte.<sup>[13] [25] [11]</sup>

Atualmente é possível o ortodontista utilizar arcos de secção transversal retangular com módulos de elasticidade adequados, com capacidade de manter o controle sobre a posição radicular, mesmo durante as fases iniciais da terapia ortodôntica. Por estarem com contato direto com a mucosa bucal por um período de tempo, é imprescindível que os fios sejam resistentes à corrosão, não permitam a liberação de íons na cavidade bucal e não gerem respostas alérgicas, sendo compatíveis com os tecidos bucais.<sup>[13] [25] [23]</sup>

Para que a movimentação ortodôntica seja efetiva, faz se necessário à interação adequada de fatores relacionados ao paciente, à mecânica que se aplica aos dentes e estruturas de suporte, e o mais importante, aos fios ortodônticos. Por anos, os fios de aço inoxidável eram os eleitos para o tratamento ortodôntico, porem com o advento de novos fios que atuam encurtando o tempo de cadeira, bem como do tratamento como um todo, aumentou o interesse dos profissionais por tais ligas metálicas novas.<sup>[11]</sup>

Para uma eficaz correção ortodôntica é necessário a coerência dos fios ortodônticos juntamente com um ótimo diagnóstico e planejamento, assim minimizando o período de tempo clínico de tratamento.<sup>[11]</sup>

## **2.2 Lesões de mancha branca e incidência de cárie**

Atualmente é considerável o avanço da ortodontia em diferentes casos, porém uma questão ainda continua a ser um efeito colateral negativo e de grande preocupação pelos ortodontistas, que é a alta incidência de manchas brancas em torno de braquetes e bandas, pós tratamento ortodôntico.<sup>[32]</sup>

O grande acúmulo de placa bacteriana entre o fio e a superfície dentária, expõe o dente em maior risco de desmineralização do esmalte, exacerbando assim o risco de lesões de cáries. Os aparelhos ortodônticos impedem uma correta técnica de higiene, responsável pela remoção total desta placa.<sup>[21] [32]</sup>

Lesões de mancha branca são consideradas áreas de descalcificação local do esmalte e se apresenta com uma opacidade branca leitosa sem formação de cavidades. Tal processo pode ser atribuído à incompleta remoção de placa

bacteriana pela dificuldade de higienização oral, que faz com que ocorra uma diminuição do pH inclinando o equilíbrio desmineralização-remineralização para a perda de mineral (desmineralização), que aumenta a susceptibilidade de cárie, já que alguns grupos bacterianos como *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* fermentam açúcares para criarem um ambiente ácido, que ao longo do tempo, induzem ao desenvolvimento da cárie dentária.<sup>[32]</sup>

A prevenção da desmineralização durante o tratamento ortodôntico ainda é um desafio enfrentado pelos ortodontistas, apesar da moderna evolução em prevenção de cáries. Considera-se que a dificuldade de higiene, gera um acúmulo de placa bacteriana, e conseqüentemente o desenvolvimento de lesões de mancha branca ao redor de braquetes, já que após a completa colocação do aparelho ortodôntico fixo uma mudança na flora bucal ocorre.<sup>[32]</sup>

Estão presentes na placa níveis mais elevados de bactérias acidogênicas principalmente *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, que fazem com que ocorra a diminuição do pH, levando assim à progressão de cáries. As manchas brancas tornam-se visíveis em tornos dos braquetes dentro de 1 mês após a colocação do aparelho, embora a formação de cáries geralmente levam em torno de 6 meses, e é comumente vistas nas superfícies vestibulares e gengivais dos elementos dentários.<sup>[33]</sup>

### **2.3 A importância das nanopartículas de Prata**

A nanociência ou nanotecnologia pode ser definida como um processo de transformação dos materiais em escala nanométrica, que variam de 0,1 a 100 nm, apresentando suas propriedades e comportamentos comparados aos materiais em escala macroscópica. As nanopartículas tem o tamanho menor do que 100 nm.<sup>[7][21][5]</sup>

A manipulação da matéria nos níveis atômico e molecular pode ser definida como nanotecnologia. A nanobiotecnologia é a combinação entre a nanotecnologia e a biotecnologia, sendo esta muito importante, pois traz à sociedade vários benefícios utilizados em medicina, agricultura, eletrônica,

cosméticos, meio ambiente etc. As nanopartículas de Prata apresentam grande potencial de matar germes e atuam em sinergia, por isso são amplamente usadas. Estudos comprovaram que as nanopartículas de Prata apresentam alta eficiência contra doenças causadas por micróbios como bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e fungos (micose de pele) e *Candida albicans*.<sup>[26]</sup>

Atualmente tem sido utilizado o recobrimento de nanopartículas de Prata na superfície de materiais utilizados em aplicações biomédicas, com isso, surgem novos modelos de biomateriais. As nanopartículas de Prata destacam por conterem amplo espectro e propriedades antimicrobianas.<sup>[18][16][38]</sup>

O uso de nanopartículas em ortodontia pode oferecer novas possibilidades ao tratamento ortodôntico, porém, alguns estudos mais aprofundados devem investigar o desempenho a longo prazo do material a ser utilizado tal como os possíveis problemas de segurança (toxicidade) que podem ser associados ao tamanho das nanopartículas.<sup>[1]</sup>

Com o surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos, alguns metais em forma de nanopartículas se tornaram bastante atraentes. Há uma probabilidade menor das bactérias desenvolverem resistências as nanopartículas metálicas do que aos antibióticos convencionais.<sup>[21]</sup>

Vários agentes antimicrobianos exercem papéis importantes, porém a Prata é um elemento químico de destaque. A Prata atua na inativação de microrganismos através da interação com suas enzimas, proteínas ou DNA, para que haja o bloqueio da proliferação celular ou a divisão celular. Uma ligação da Ag às células bacterianas negativas faz com que ocorra a alteração da funcionalidade da membrana celular, assim impedindo a regeneração bacteriana.<sup>[12]</sup>

A Prata é bem conhecida pela sua atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e negativas, fungos, protozoários e alguns vírus. Os fios revestidos de Prata apresentam propriedades anti-aderentes eficaz contra *Lactobacillus acidophilus*. As superfícies de revestimento de Prata podem ser

obtidos por diferentes métodos como: deposição de vapor físico, eletrodeposição, não eletrolítico e metalurgia.<sup>[21]</sup>

Uma característica muito importante para a atividade bactericida da Prata é decorrente da interação entre a carga negativa da parede celular da bactéria e as cargas positivas das nanopartículas de Prata. Desta forma um aumento da permeabilidade da célula na membrana da bactéria as deixa incapaz de regular o transporte entre o plasma bacteriano e o exterior da célula o que resulta na sua morte. Neste caso os íons de Prata provocam a libertação de íons K<sup>+</sup> estrutura das bactérias, assim o plasma bacteriano é um sitio alvo importante para os íons de Prata.<sup>[10][16]</sup>

Indústrias eletrônica, química e médicas utilizam pós de Prata de tamanhos ultrafinos, devido às propriedades únicas, como elevada condutividade elétrica e térmica, elevada resistência à oxidação e à ação bactericida. A Prata em comparação ao iodo apresenta maior durabilidade, elevada estabilidade de temperatura e volatilidade reduzida.<sup>[29][30]</sup>

Desde tempos antigos sabe que os íons de Prata (Ag) causam um efeito antimicrobiano para uma vasta gama de microrganismos, como bactérias Gram-positivas e negativas, fungos, protozoários e certos vírus. Hoje este elemento em sua forma catiônica é usado na Medicina em diversas aplicações, como na área ortodôntica, em cateteres e para cicatrização de queimaduras.<sup>[10]</sup>

FENG et al (2000) demonstrou que as bactérias possuem sua superfície carregada negativamente e, quando em contato com o cátion de Prata, os íons interagem com a membrana bacteriana, causando descontrole hidroeletrolítico na célula e desequilibrando a utilidade de suas enzimas. O revestimento de Prata dificulta a adesão de microrganismos nos fios e os íons de Prata invadem o citoplasma e se acumulam como grânulos em vacúolos, em membranas citoplasmáticas e, finalmente, na região do DNA, impedindo sua replicação e, conseqüentemente, o crescimento bacteriano.

## 2.4 Síntese hidrotermal

Nos últimos anos tem se desenvolvido vários métodos para a preparação de nanopartículas de Prata. A grande maioria deles necessita da utilização de solventes orgânicos tóxicos e agentes redutores, tais como borohidreto de sódio<sup>[34]</sup>, N, N- dimetilformamida<sup>[24]</sup>, e/ou um agente de protetor colóide/surfactante.<sup>[15]</sup> No entanto, todos estes reagentes químicos trazem riscos de segurança ambientais e biológicos por serem altamente reativos.

A síntese hidrotermal é definida como um processo onde reações químicas ocorrem em meio aquoso ou organo-aquoso, sob a aplicação simultânea de calor e pressão, e é também conhecida como "método verde". Tal método é utilizado para sintetizar as nanopartículas de Prata e atender a crescente demanda de aplicação das nanopartículas na biomedicina.<sup>[36]</sup>

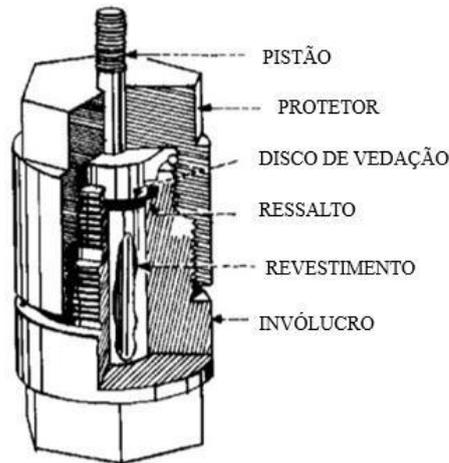
Devido às vantagens no processamento de materiais nanoestruturados para uma grande variedade de aplicações tecnológicas como produtos eletrônicos, cerâmicos, biomédicos e biofotônicos, a síntese hidrotermal vem sendo uma das mais importantes ferramentas para o avanço de tais processamentos. A técnica atua como uma das técnicas mais atrativas para o processamento de materiais nano-híbridos e nanocompósitos, além de auxiliar no processo de monodispersão e alta homogeneidade das nanopartículas.<sup>[3]</sup>

O termo "hidrotermal" pode ser definido como uma reação química heterogênea na presença de um solvente (seja ele aquoso ou não aquoso) acima da temperatura ambiente e sobre pressão maior que 1 atm em um sistema fechado.<sup>[4]</sup>

Por possuírem diversas vantagens em relação aos outros métodos, os processos hidrotérmicos podem ser utilizados para a obtenção de produtos com alta homogeneidade e altos graus de pureza, obtenção de cristais simétricos, compostos estáveis com propriedades únicas; requer uma menor temperatura de sinterização; possui a capacidade de produzir materiais com grande variedade de composições químicas; requer baixa energia; possui tempo de reação rápido, entre

muitas outras aplicações. A Figura 1 ilustra um reator comumente utilizado no processo de síntese hidrotermal.<sup>[3]</sup>

**Fig 1.** Reator utilizado no processo de síntese hidrotermal.



**Fonte:** Adaptado de Byrappa & Adschiri (2007).

O uso de temperaturas de reação relativamente baixa, a maior homogeneidade de fase e controle da morfologia das partículas, a reduzida aglomeração das partículas formadas, a distribuição uniforme do tamanho das partículas, além da não utilização de solventes tóxicos, são algumas das vantagens dos processos hidrotérmicos sobre as vias de síntese de nanopartículas convencionais. Com isso tal processo tem sido aplicado com sucesso na síntese de diferentes nano-materiais.<sup>[36] [27] [37]</sup>

Alguns processos já foram utilizados na preparação de nanopartículas, mas até então, estes apresentaram riscos citológicos e ambientais. Um processo vantajoso na obtenção dessas nanopartículas é a síntese hidrotermal, técnica que vêm sendo bastante utilizada na nanotecnologia devido ao fato de não ser prejudicial ao meio ambiente, já que gera resíduos químicos em baixíssimas quantidades, e devido à relativa facilidade de produção, criando grandes quantidades de amostras. Neste processo reações químicas ocorrem em meio aquoso ou organo-aquoso, sob aplicações simultâneas de calor e pressão.<sup>[36] [3]</sup>

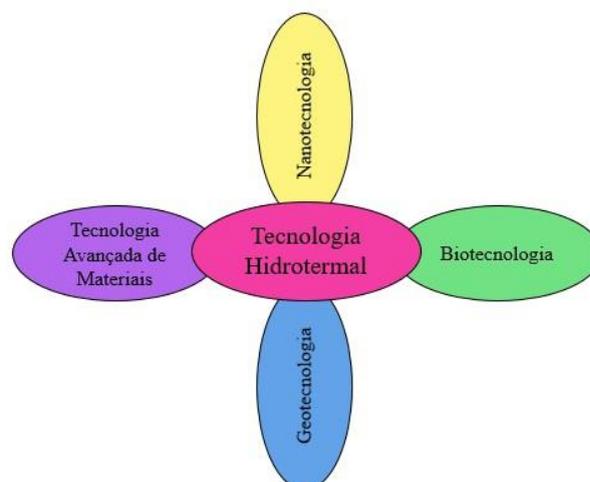
Atualmente é a técnica mais utilizada no processamento de materiais nano- híbridos e nanocompósitos, auxiliando também na dispersão e alta

homogeneidade das nanopartículas. Na presença de um solvente aquoso ou não aquoso, em condições de temperatura acima da ambiente e sob pressão maior que 1 atm, essa técnica apresenta vantagens na produção de materiais com composição química variada, além de requerer baixa energia e ter o tempo de reação relativamente rápido.<sup>[3]</sup>

Suas vantagens ainda vão além: a técnica hidrotermal é ideal para o processamento de pós muito finos com alta pureza e controlada estequiometria, com distribuição de partículas de morfologia controlada, apresentando menos defeitos, alta cristalinidade, excelente reprodutibilidade e alta reatividade, além de facilidade de sinterização. Seu mecanismo se resume da seguinte maneira: a solução contendo elementos que se querem processar entra em contato com a parede de um reator hidrotérmico que é aquecido por fonte externa via condução térmica. Isso cria correntes de convecção no interior da solução, o que a mantém sob constante agitação até que se alcance um equilíbrio térmico. O sistema recebe pelo aquecimento energia suficiente para a redução da Prata ao tamanho de nanopartícula, que pode então ser inserida nos materiais em que se deseja utilizá-la.<sup>[36] [37] [19]</sup>

Uma nova perspectiva se destacou no século 21, que foi a tecnologia hidrotérmica. A Figura 2 demonstra que tal tecnologia reúne todas as importantes tecnologias para a formação da tecnologia hidrotermal, como a geotecnologia, biotecnologia, nanotecnologia e tecnologia de avanço de materiais.

**Fig. 2.** Tecnologia hidrotermal no século 21.



**Fonte:** Adaptado de Byrappa & Adschiri (2007).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção de fios ortodônticos de Níquel-titânio

Para essa avaliação foram utilizados 40 arcos ortodônticos superelásticos de níquel-titânio pré contornados, de duas marcas distintas. Foram selecionados 20 arcos da marca Abzil, classificada como (MA) e 20 arcos da marca Orthometric, classificada como (MO). Da MA os arcos apresentaram 0,017"x0,025" de secção e foram do lote 1410600410. Da MO os arcos também apresentaram 0,017"x0,025" de secção e foram do lote 026712001. Ambos com recomendação de utilização na arcada superior. A figura 3 mostra o arco da MA.

**Fig.3** Arco ortodôntico da marca Abzil (MA)



**Fonte:** Própria autoria

#### 3.2 Classificação dos Fios Ortodônticos

Os FO foram classificados conforme as marcas Abzil e Orthometric, e de acordo com a concentração de nanopartículas de Prata, evidenciados na tabela 1.

MARCA ABZIL (MA)		MARCA ORTHOMETRIC (MO)	
CONCENTRAÇÃO (mol.)		CONCENTRAÇÃO (mol.)	
MA CTRL AMOSTRA CONTROLE	SEM ADIÇÃO DE PRATA	MO CTRL AMOSTRA CONTROLE	SEM ADIÇÃO DE PRATA
MA1	$10^{-1}$	MO1	$10^{-1}$
MA2	$10^{-2}$	MO2	$10^{-2}$
MA3	$10^{-3}$	MO3	$10^{-3}$

**Tabela 1.** Concentração de nanopartículas de Prata das marcas MA e MO

$10^{-3}$

### 3.3 Revestimento dos fios ortodônticos de Níquel-titânio por inserção de nanopartículas de Prata

Foram realizados ensaios pela redução "*in situ*" das nanopartículas de Prata nos fios ortodônticos, e como precursor da Prata o  $\text{AgNO}_3$  foi eleito. O método da síntese hidrotermal foi utilizado para a redução "*in situ*" dos íons  $\text{Ag}^+$ , e em tal procedimento foi utilizado um reator similar a uma autoclave, representado na figura 4, para que ocorra o controle da pressão e temperatura durante a síntese. O objetivo da utilização do reator hidrotérmico foi controlar a morfologia, o formato e dispersão das nanopartículas (NPs) de Prata.

Os fios ortodônticos previamente lavados foram colocados sob agitação por um período de 3 horas a 160 rpm em agitador IKA KS 130 Basic, juntamente com 30 mL da solução de  $\text{AgNO}_3$ . Após o período de agitação, foram transferidas para o recipiente de teflon do reator hidrotermal, mostrado na Figura 4, juntamente com a solução utilizada durante a agitação. Após a montagem do reator, este foi colocado em estufa a  $120^\circ\text{C}$  por um período de 4 horas, seguindo metodologia adaptada de Yang et al. (2000). Após o período de reação hidrotermal, os fios foram lavados com água destilada para a retirada do excesso de solução. Foram utilizadas soluções de  $\text{AgNO}_3$  em três concentrações diferentes:  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  mol.

**Fig.4** Reator hidrotérmico utilizado para a inserção das nanopartículas de Prata nos fios ortodônticos



**Fonte:** Própria autoria.

### **3.4. Caracterização físico-química e biológica dos fios ortodônticos de Níquel- titânio**

Os nanocompósitos foram caracterizados por diversas técnicas, incluindo Difractometria de Raios-X (DRX), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), além da realização de ensaios biológicos, tais como Antibiograma e Citotoxicidade.

#### **3.4.1 Difractometria de raios-X (DRX)**

Tal técnica permite a realização de estudos estruturais em materiais, determinando sua estrutura cristalina e sua fração percentual cristalina. Possibilita a determinação da célula unitária de um dado elemento. Os difratogramas de Raios X foram obtidos utilizando-se um difratômetro Rigaku RINT2000 demonstrado na figura 5, com potência de 40 kV, 50 mA. Detector:

D/teX Fendas com divergência de 0,25 graus e Soller primária e secundária de 2,5° de divergência. O comprimento de onda  $K_1 = 1,5406 \text{ \AA}$  e  $K_2 = 1,5444 \text{ \AA}$ ,  $I_2/I_1 = 0,5$ . A região de 2 medida: 1 a 60°. O modo de medidas foi de varredura contínua de 4°/min,  $2\theta = 0,020^\circ$ . Tal ensaio foi realizado no Laboratório de Química UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP.

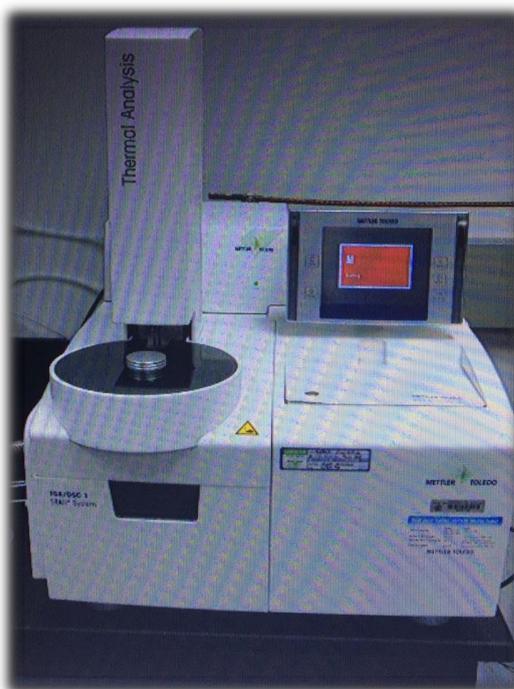
**Fig.5** Difratorômetro Rigaku RINT2000



**Fonte:** Laboratório de Química UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP

### 3.4.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O método de calorimetria exploratória diferencial (DSC) é o mais frequentemente empregado para análises térmicas. Tal técnica permite identificar as temperaturas de transição de fase e a quantidade de energia liberada ou absorvida durante o resfriamento e/ ou aquecimento. As curvas DSC foram obtidas em DSC1 da Mettler, demonstrado na figura 6, com massa de 3 mg, cadinho de alumínio. Atmosfera inerte de nitrogênio, e fluxo de 70mL/mg. As análises foram realizadas no Instituto de Química da UNESP em Araraquara-SP e UNIARA-SP.

**Fig.6** Calorímetro Mettler

Fonte: Instituto de Química da UNESP em Araraquara-SP e UNIARA-SP.

### 3.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma das principais ferramentas disponíveis para o estudo da estrutura fina da morfologia de materiais. As micrografias foram obtidas no microscópio eletrônico modelo JEOL JMF-6700F (Field Emission.Scanning Electron Microscopy), demonstrado na figura 7. A amostra foi colocada em suporte de cobre, recoberta com uma camada de ouro com espessura de 1nm durante 60 segundos; tensão de 3KV e corrente de 9,5  $\mu$ A. As análises foram realizadas no Instituto de Química da UNESP em Araraquara-SP e UNIARA-SP.

**Fig.7** Microscópio eletrônico modelo JEOL JMF-6700F (Field Emission.Scanning Electron Microscopy)



Fonte: UNESP/Araraquara

#### **3.4.4 Antibiograma dos fios ortodônticos de Níquel-titânio revestidos de Prata**

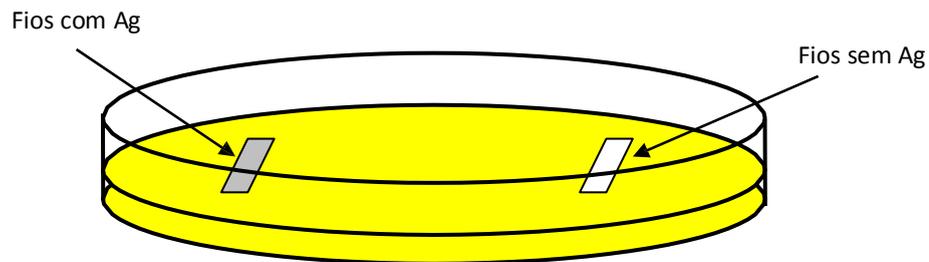
Tal ensaio foi realizado através de teste por contato.

Cepas de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* – ATCC 25923) e Gram-negativas (*Escherichia coli* - ATCC 25922) foram semeadas em TSB (Tryptic Soy Broth) marca OXOID e incubadas por um período suficiente para atingir a escala turbidimétrica 0,5 de MacFarland, correspondente a  $1,5 \times 10^8$  UFC (Unidades Formadoras de Colônias)/mL.

Foram adicionados 5 mL da suspensão bacteriana na escala 0,5 de MacFarland em tubo Falcon, juntamente com um fragmento do fio controle (área  $1\text{cm}^3$ ), e o mesmo foi feito com cada amostra teste, nas diferentes concentrações testadas. O tubo foi incubado sob agitação em estufa BOD, marca Marconi, a  $35\text{ }^\circ\text{C}$  por um período de 24 horas. Em seguida, 100  $\mu\text{L}$  da suspensão foram semeados em uma placa de Petri contendo ágar Ágar Mueller Hinton, marca Difco, com o auxílio de uma alça de Drigalski. A placa foi incubada em estufa bacteriológica, marca

Marconi, a 37 °C por 18 horas. Após o período de incubação, foi realizada uma análise quantitativa para a avaliação do número de colônias crescidas. Tal ensaio foi realizado no Laboratório de Química da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP.

**Fig.8:** Esquema do procedimento a ser realizado nos testes biológicos dos fios ortodônticos com e sem adição de Prata



**Fonte:** Própria autoria

### 3.4.5 Citotoxicidade

As células foram semeadas em placa de cultura de 96 poços, mantidas em meio de cultura enriquecido com SBF e antibióticos e encubadas em estufa 37°C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de ar atmosférico, por 24 horas.

As amostras mediam 1 cm e pesava aproximadamente 25mg. Os extratos foram preparados utilizando a concentração 25mg/mL e mantido em estufa 37°C por 24 horas.

Após 24 horas, o meio de cultura foi substituído por 100µL dos extratos. Foram preparadas triplicata. E mantidos em estufa 37°C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de ar atmosférico, por 24 horas.

Após 24 horas os poços foram lavados com PBS 1X, e foram adicionados 50 µL de MTT, a placa foi novamente incubada em estufa 37°C por 4 horas. Após 4 horas, 100 µL de isopropanol foram adicionados aos poços e homogeneizados delicadamente para a solubilização dos cristais de formazan.

Os valores de densidade óptica (DO) obtidos em um comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 570 nm num espectrofotômetro foram convertidos em percentagens de

viabilidade celular relativa amostra controle negativo. Tal ensaio foi realizado no Laboratório de Química da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP.

A tabela 2 mostra a linhagem celular, as células e o meio de cultura depositados em cada fio.

Amostras	Linhagem celular	Células/poço	Meio de cultura
(1) FO 10 <sup>-1</sup>	MC3TE (Pré Osteoblasto)	1 x 10 <sup>4</sup>	<b>CRTL +</b> DMEM (Gibco/ Thermofisher), suplementado com Soro Bovino Fetal (SBF)(nutricell) e penicilina e estreptomicina 10U/mL (sigma)
(2) FO 10 <sup>-2</sup>			
(3) FO 10 <sup>-3</sup>			
(4) FO Controle (CTRL)			<b>CRTL –</b> DEM + 25% de DMSO

**Tabela 2:** Linhagem celular, as células e o meio de cultura depositados em cada fio.

## 4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

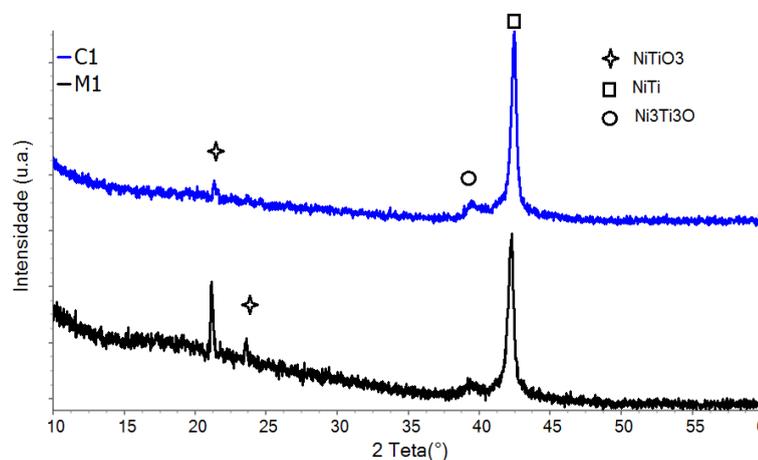
Os dados apresentam resultados obtidos a partir da inserção de nanopartículas de Prata em fios ortodônticos (FO). As nanopartículas foram sintetizadas in situ usando o FO por meio da síntese hidrotermal. Foram utilizadas diferentes concentrações de nitrato de Prata, e esta foi utilizada a fim de promover uma ação antimicrobiana a esses fios. Os FO foram caracterizados por diferentes ensaios físico-químicos, a saber, Difratomia de Raios-X (DRX), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), além da realização de ensaios biológicos, tais como Antibiograma e Citotoxicidade.

### 4.1 Difratomia de Raios-X (DRX)

As fases cristalinas foram identificadas com o banco de dados PDF-2, conforme se observa no difratograma Rigaku RINT2000.

Para as amostras MA1 e MA CTRL foram identificadas as fases NiTiO<sub>3</sub> (PDF 77-152), NiTi (PDF 65-4572) e Ni<sub>3</sub>Ti<sub>3</sub>O (PDF 75-399), representadas na figura 9 como era de se esperar, devido a composição química dos fios ortodônticos. A presença das Nps de Ag não foram evidenciadas, provavelmente devida a baixa concentração de Prata, ou o tempo de aquisição utilizado nessa medida.

**Fig 9:** DRX MA1 e MA CTRL

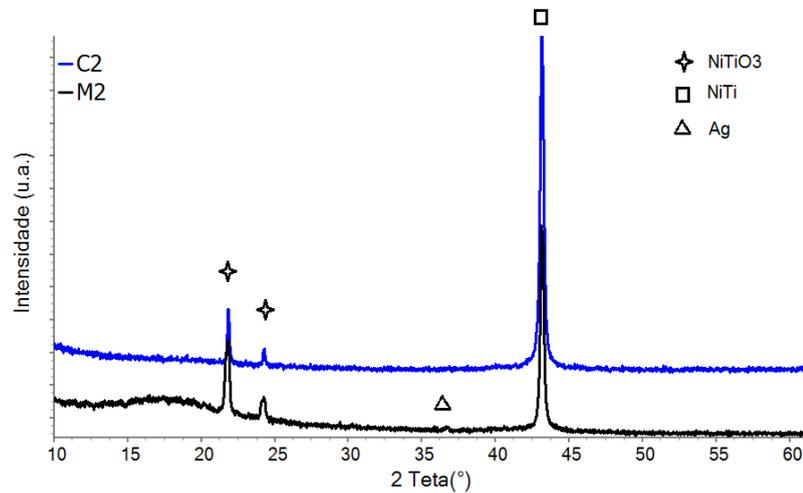


**Fonte:** Laboratório da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP

Para as amostras MO1 e MO CTRL foram identificadas as respectivas fases NiTiO<sub>3</sub> (PDF 77-152), NiTi (PDF 65-4572), confirmando a composição química do fio. Observou-se ainda um pico com pequena intensidade relativo à presença de Nps de Ag.

Para ambas os filamentos utilizados, os dados de DRX ainda permitem inferir que o processo hidrotermal não alterou de maneira significativa os perfis dos difratogramas dos filamentos, e que pode de fato ser um processo utilizado para a produção de fios antimicrobianos.

**Fig 10:** DRX MO1 e MO CTRL

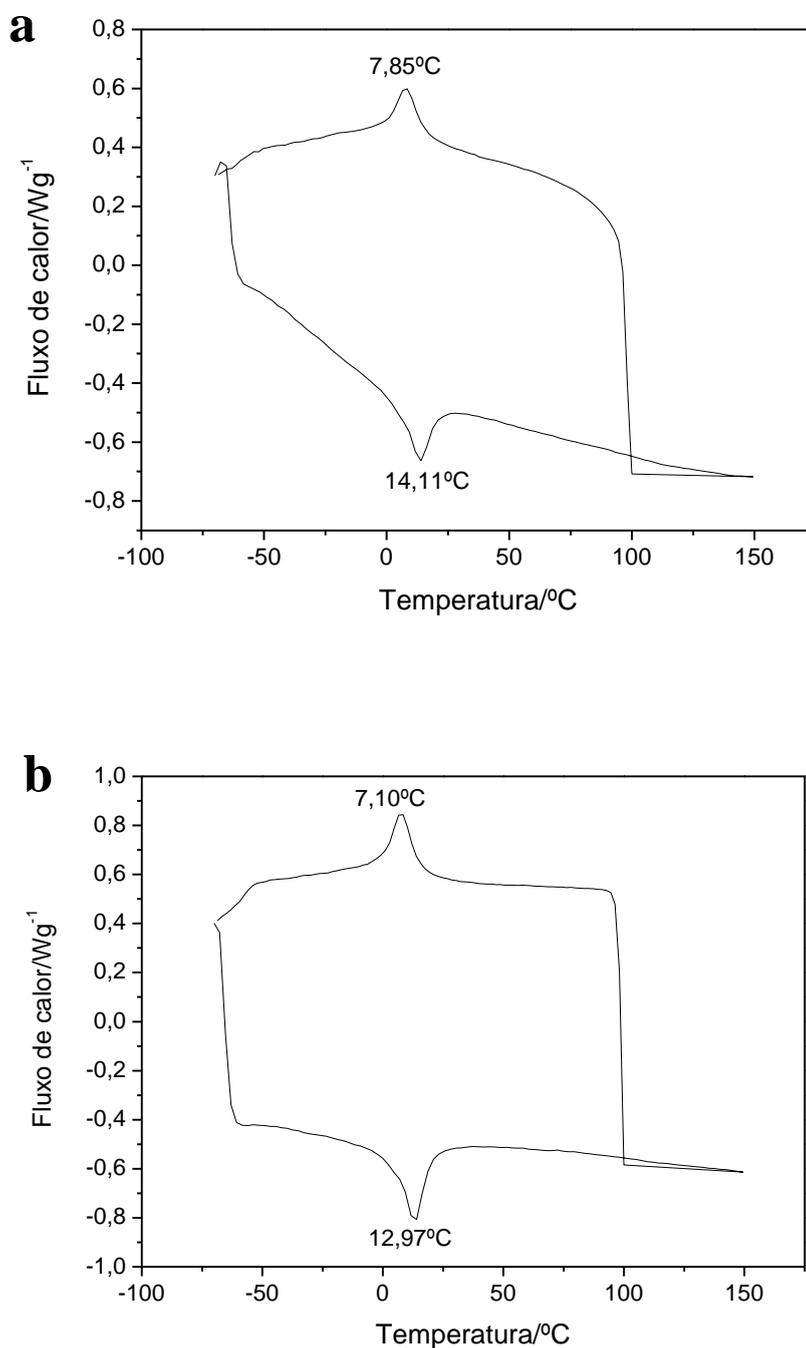


**Fonte:** Laboratório da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP

## 4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

No presente ensaio foram realizados estudos nas amostras controle e com concentração de 10-1 de Ag, demonstrados nas figuras 11 (a-b) e 12 (a-b).

Nas amostras MA CTRL pode se observar uma curva similar tanto nas amostras controle quanto na amostra com adição de nanopartículas de Prata mostrando uma transição perto de 14,11°C. Os picos exotérmicos da MA CTRL foi de 7,85°C e MA1 de 7,10°C e nos picos endotérmicos na MA CTRL foi de 14,11 °C e MA1 12,97°C. Portanto tal ensaio mostrou que a presença de Nps de Ag após a síntese não alterou as propriedades do fio sendo interessante a sua aplicação clínica.

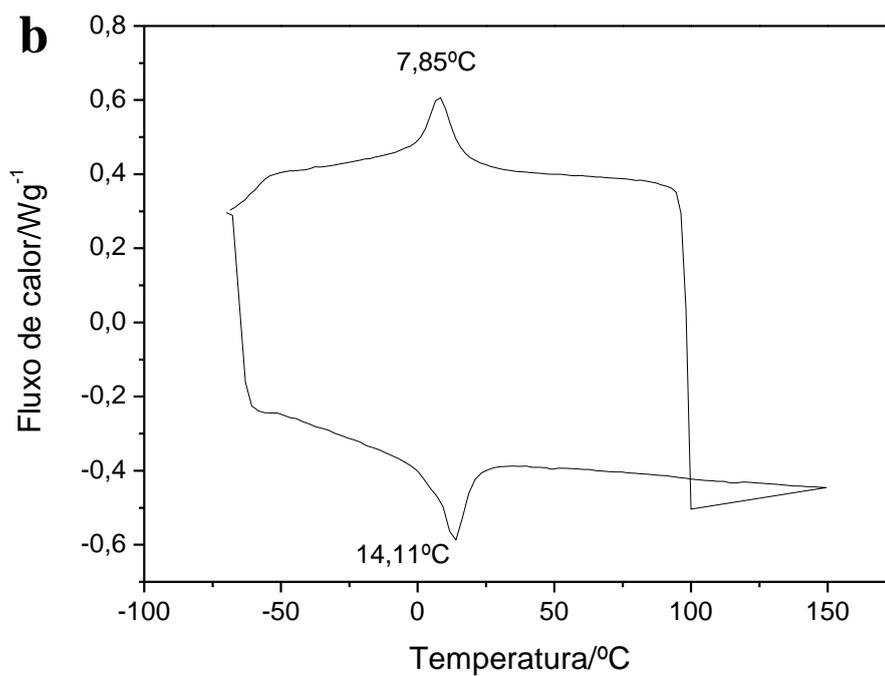
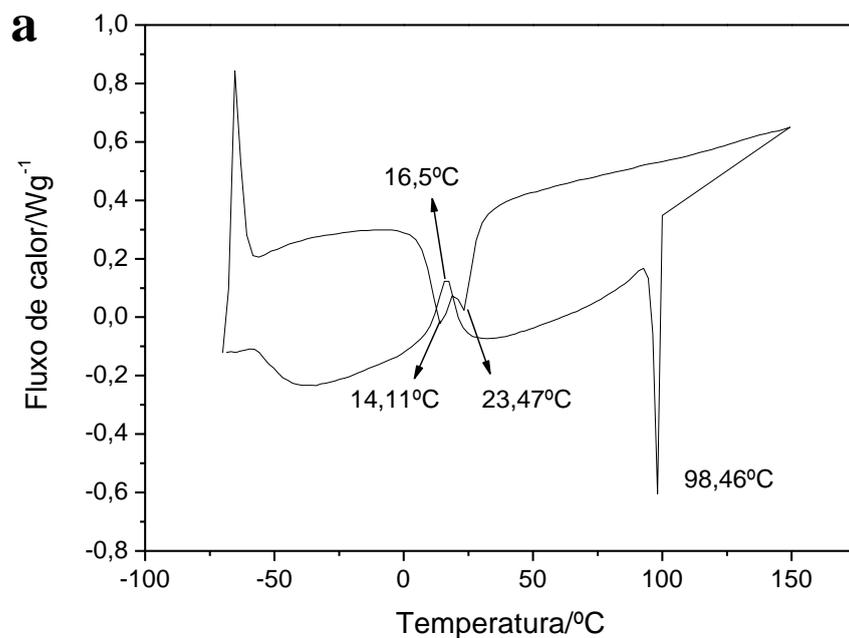
**Fig 11: (a)** amostra MA1, **(b)** amostra MA CTRL

**Fonte:** Laboratório da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP

Nas amostras MO CTRL e MO1, os resultados demonstraram que o processo hidrotérmico não gerou alteração mesmo após a adição de nanopartículas de Prata. Embora o pico exotérmico da MO CTRL ter sido 16,5°C e a MO1 ter sido 7,85°C, nos picos endotérmicos das duas amostras se mostraram

na mesma faixa de 14,11°C. Portanto conclui se que há uma pequena alteração, mas nada que influencie na faixa operacional do fio.

**Fig 12: (a) amostra MO1, (b) amostra MO CTRL**

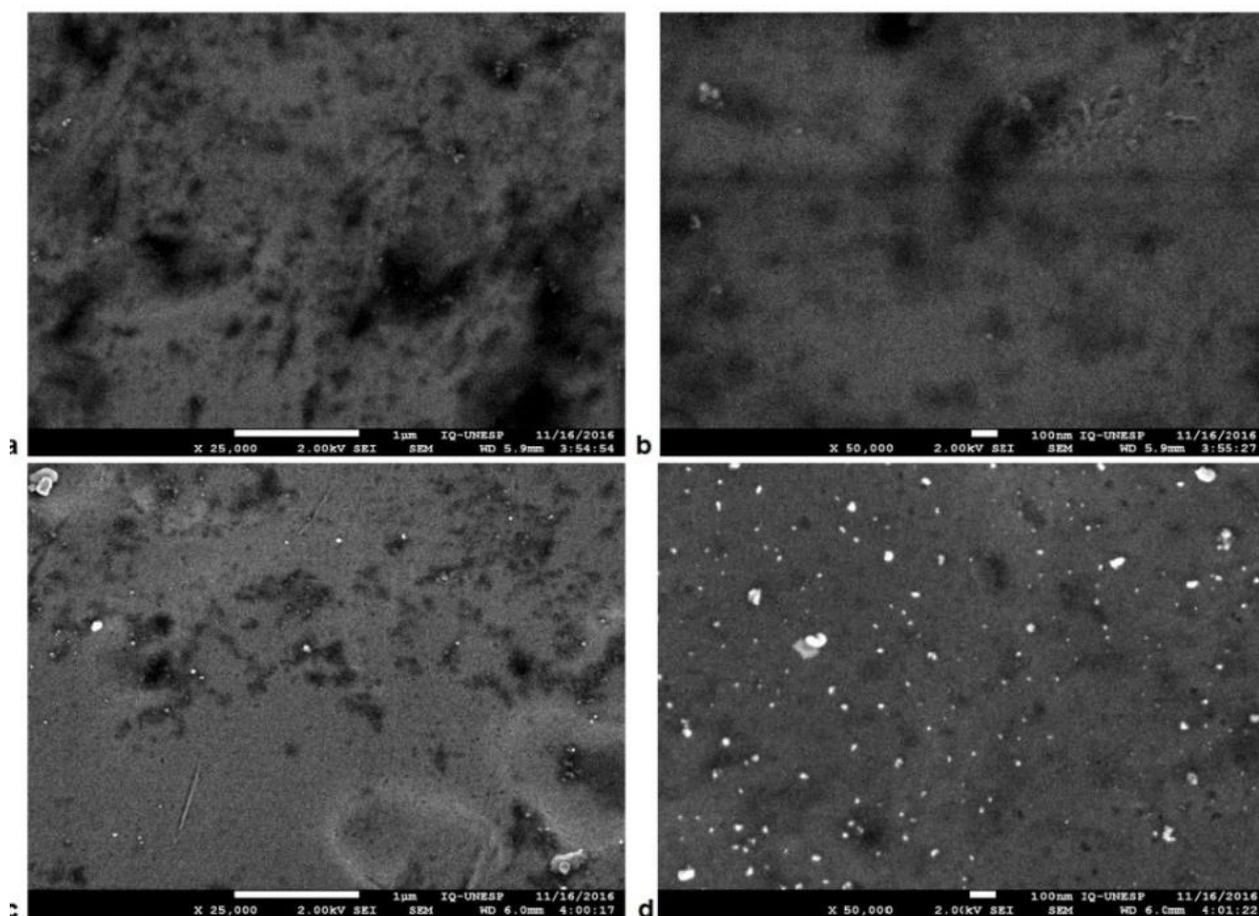


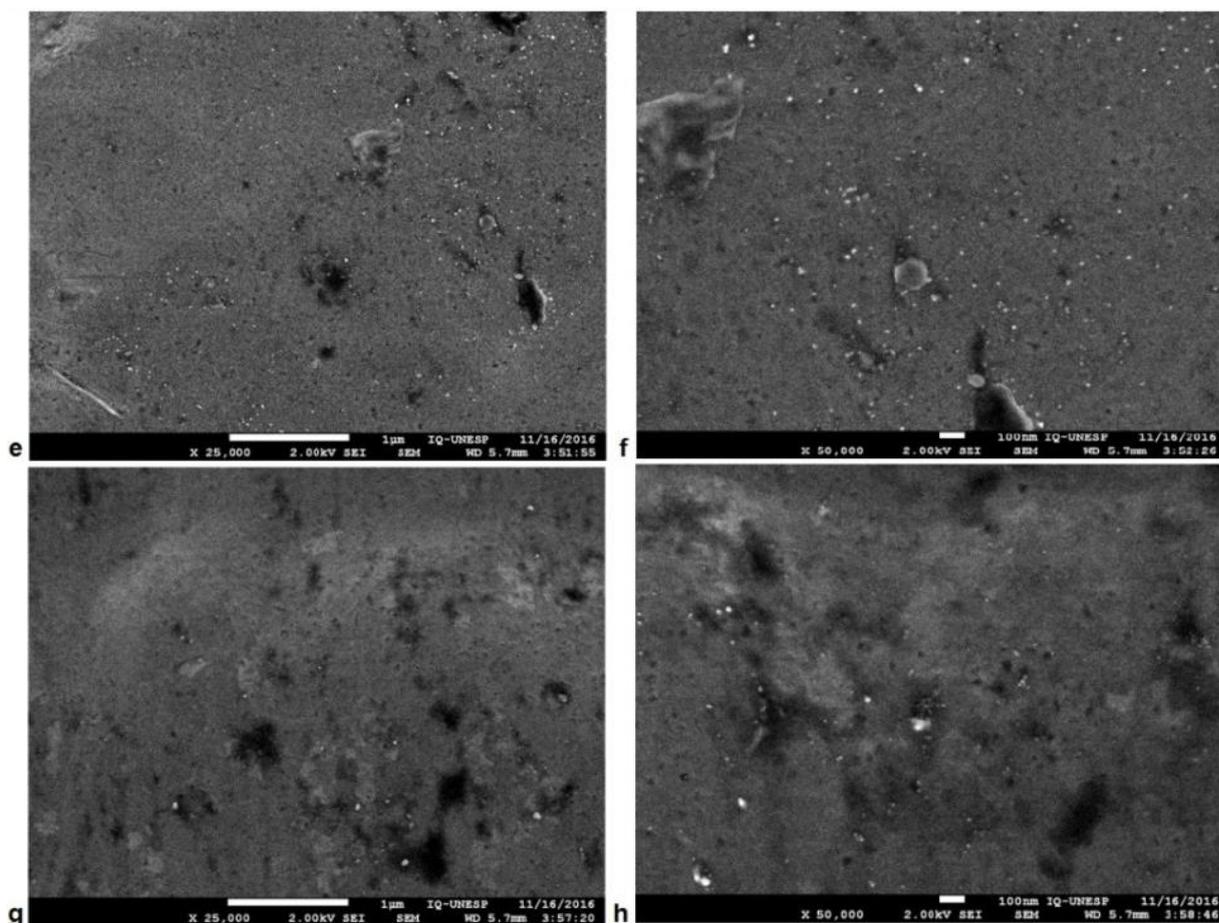
**Fonte:** Laboratório da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP

### 4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A figura 13 apresenta resultado de MEV para a amostra MA. Conforme observado nas imagens (a-b), o FO apresenta uma superfície porosa. Entretanto, para todas as amostras de FO modificadas pela síntese hidrotérmica com nitrato de Prata, observa-se claramente partículas de Prata distribuídas de forma homogênea por toda a superfície do FO. A presença de Ag se diferencia devido ao brilho, evidenciada pelos pontos brancos observados nas imagens. Todas as amostras de Fio modificadas com Prata possuem o metal em escala nanométrica, com tamanhos inferiores a 20 nm.

**Fig 13.** Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura: MA CTRL (a-b), MA1 (c-d), MA2 (e-f), MA3 (g-h).



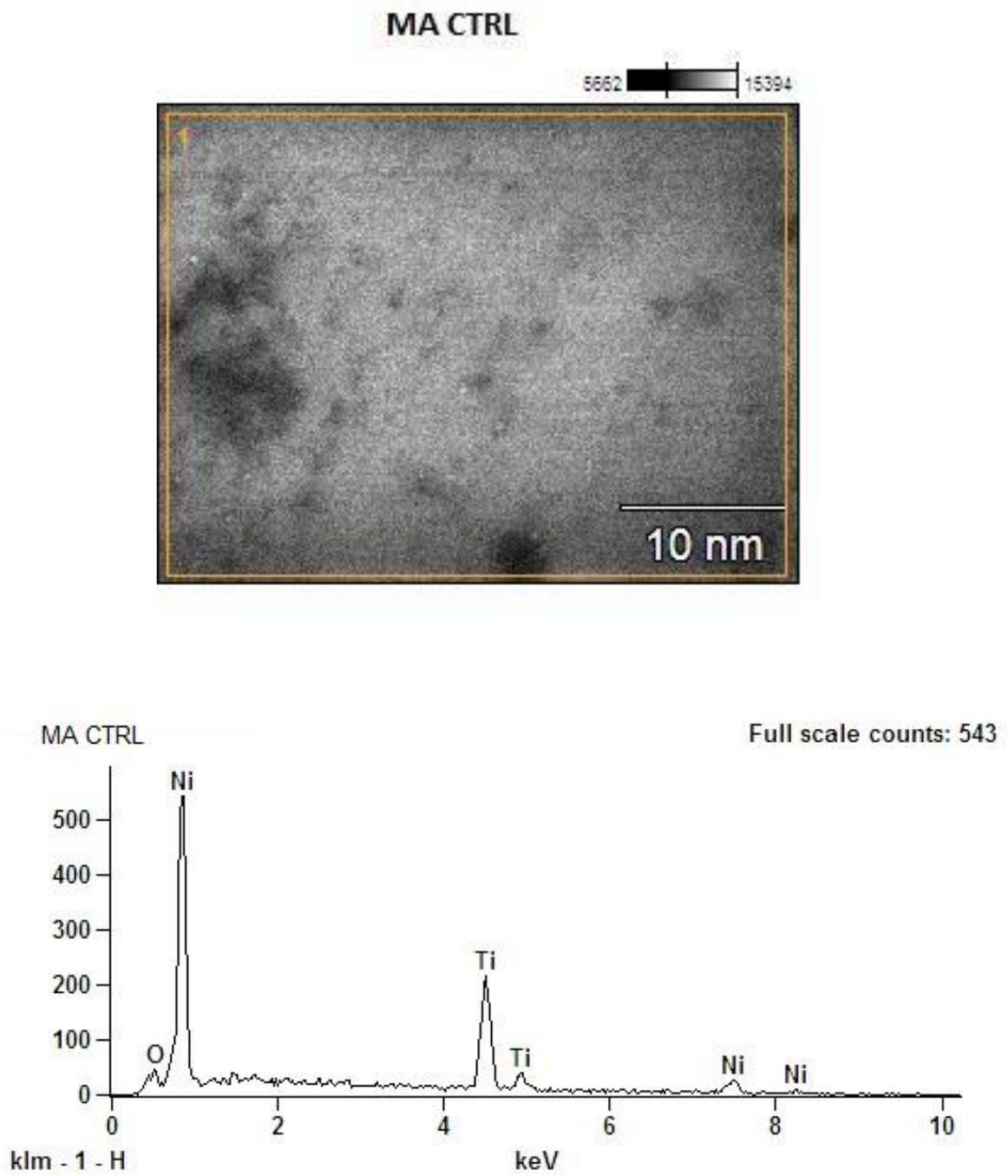


Fonte: Laboratório da UNESP Araraquara-SP e UNIARA-SP

A figura 14 apresenta resultado de EDS para as amostras MA CTRL, MA1, MA2 E MA3.

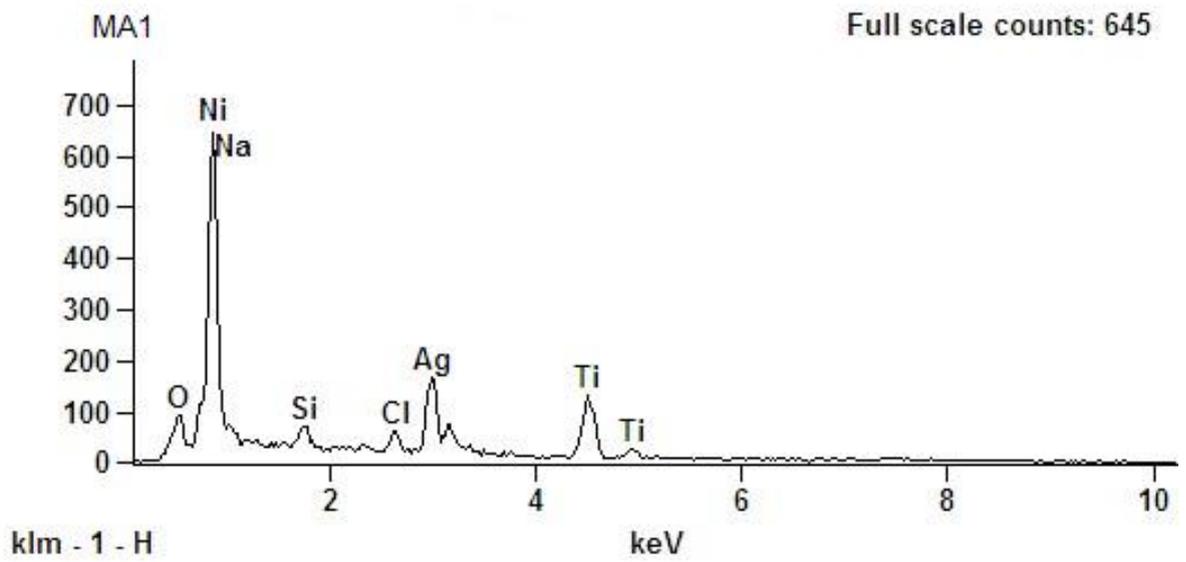
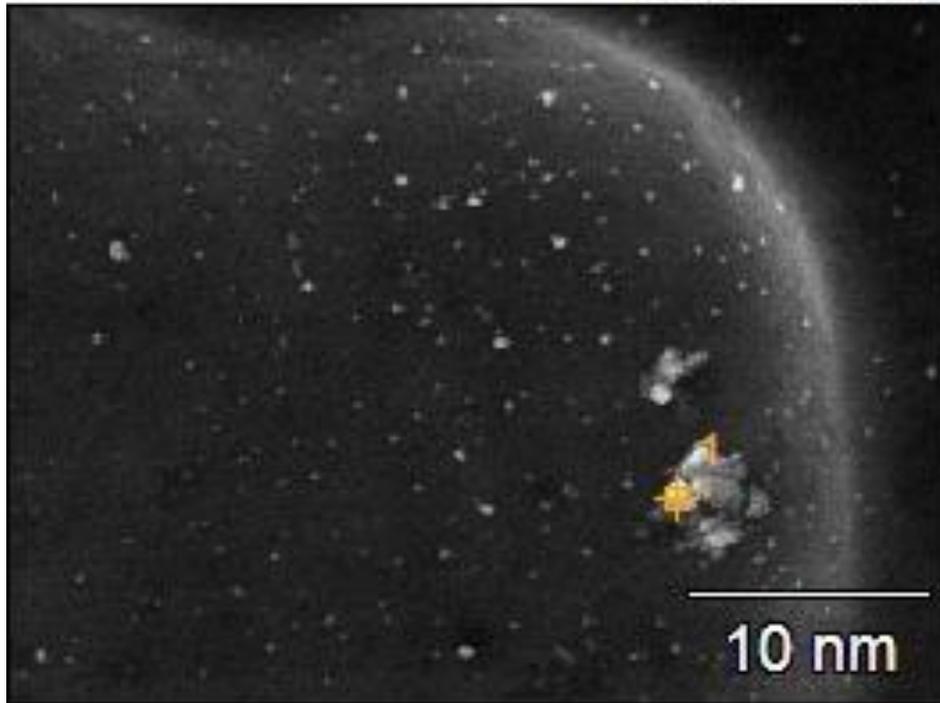
Conforme observado na imagem, o FO apresenta composição química compatível com aquela sugerida pelos fabricantes. A presença dos elemento Ni e Ti fica evidenciada sobre toda a superfície dos FO. O EDS para toda as amostras de FO modificadas pela síntese hidrotérmica com nitrato Prata confirmam a inserção do elemento Ag nos FO. A presença dos elemento Ni e Ti também ficou evidenciada sobre toda a superfície dos FO, mostrando que a síntese hidrotérmica não causa nenhum destruição nos FO.

Fig 14. Resultado de EDS para todas as amostras MA CTRL, MA1, MA2 e MA3.

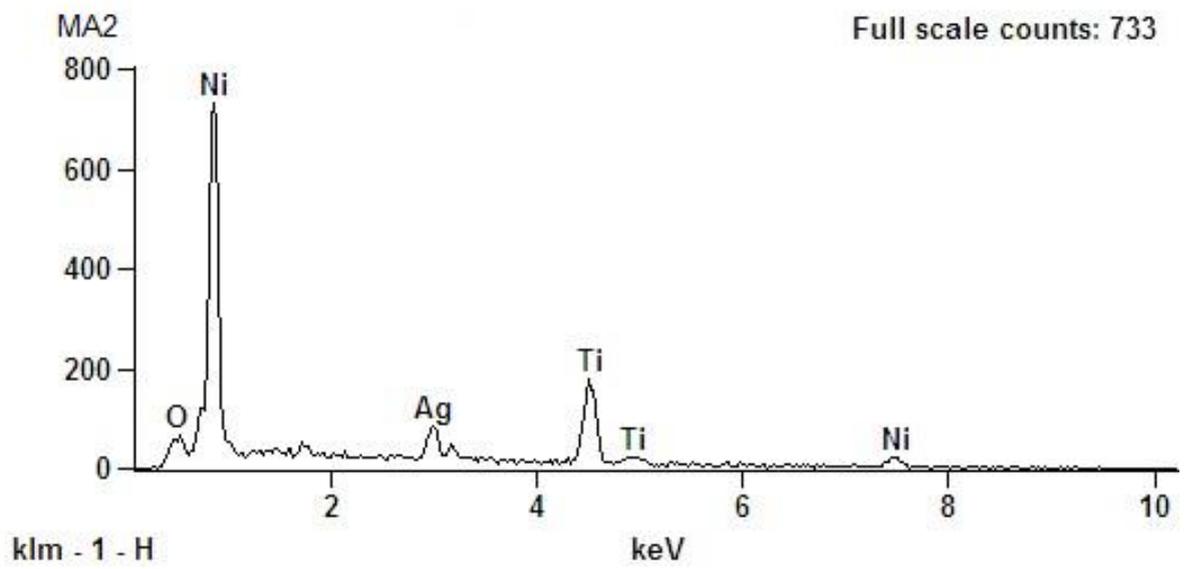
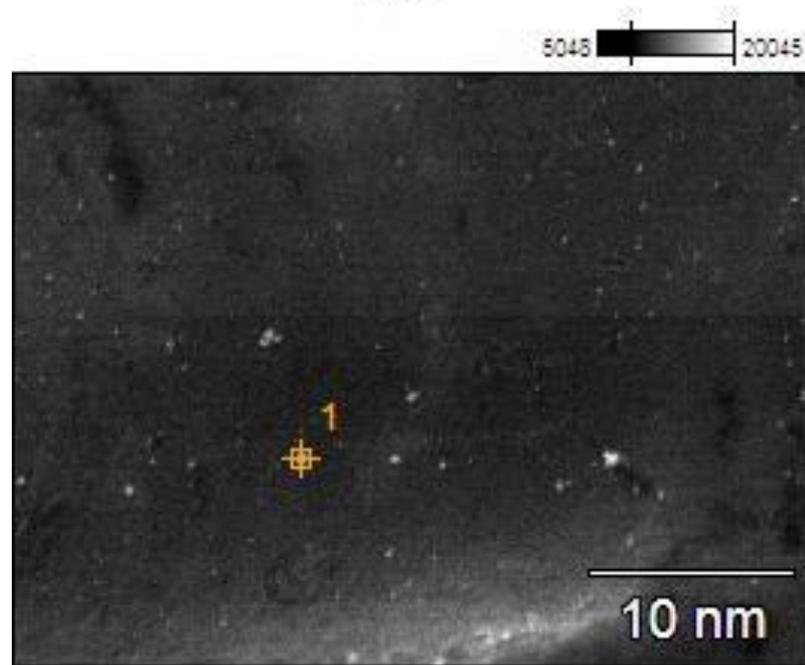


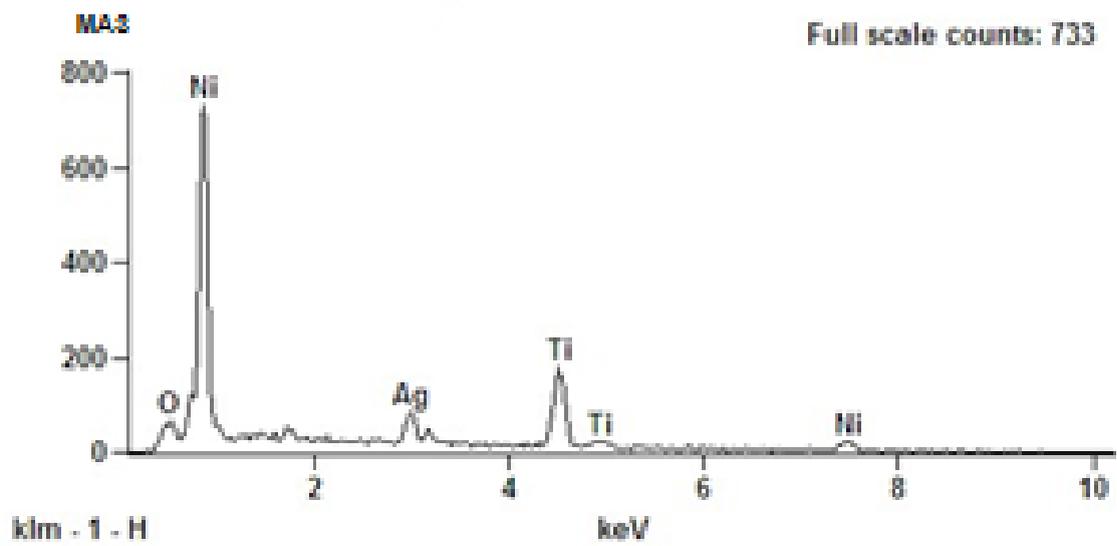
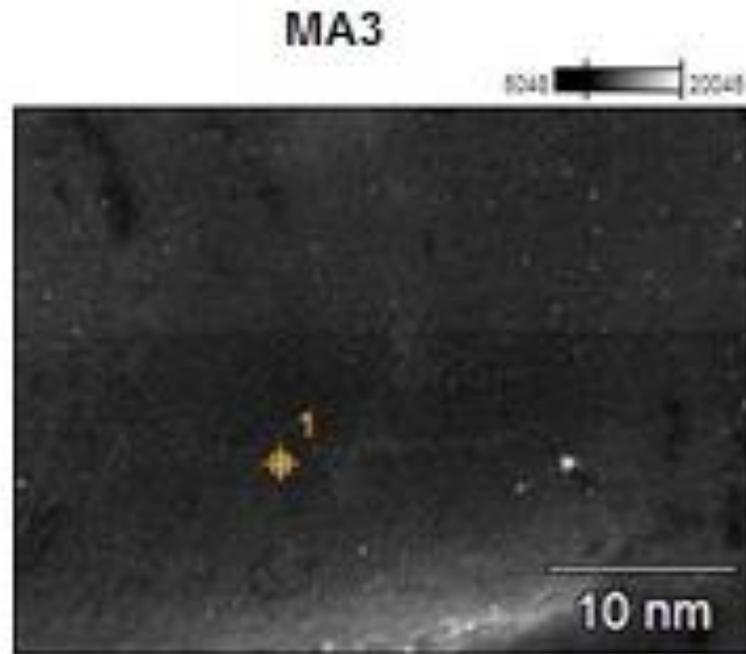
MA1

5338 29839



MA2





Fonte: Própria Autoria

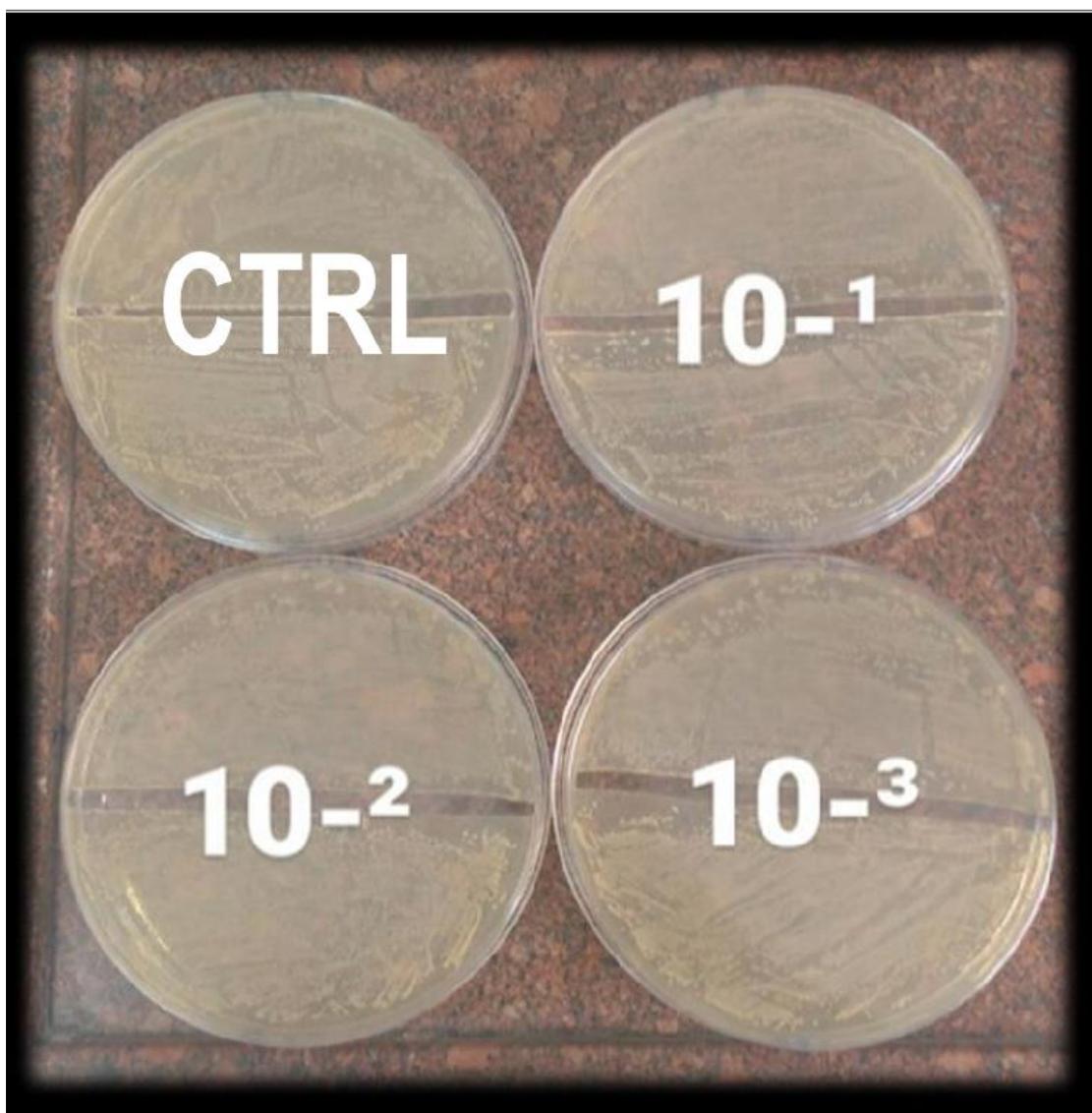
#### 4.4 Antibiograma dos fios ortodônticos de Níquel-titânio revestidos de Prata

No presente ensaio, os fios não se mostraram antimicrobianos devido à área de contato ser pequena, como demonstrado na figura 15.

O ensaio foi feito apenas para a amostra MA.

O método utilizado pela literatura, não foi suficiente para detectar efeito antimicrobiano, devido à área de contato ser pequena.

**Fig 15:** Antibiograma realizado pelo modo contato amostras MA CTRL, MA1, MA2 e MA3.



**Fonte:** Própria Autoria

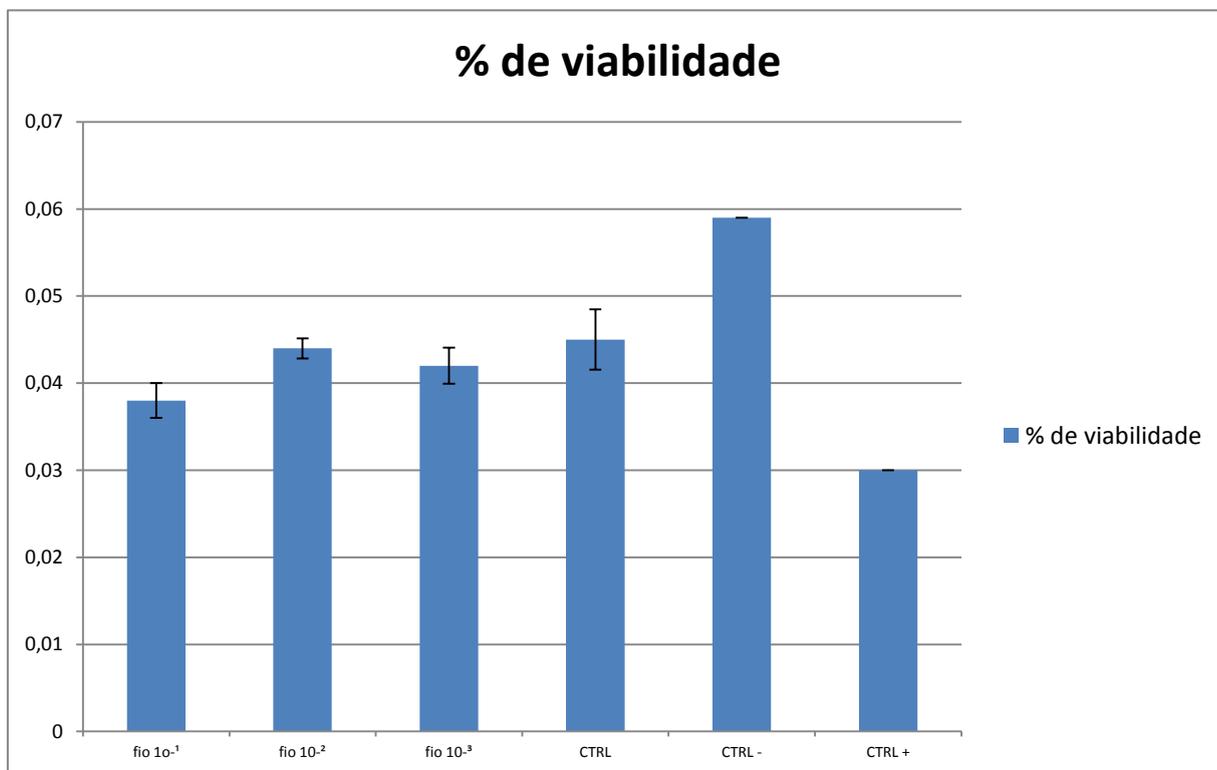
## 4.5 Citotoxicidade

A figura 16 mostra os valores de densidade óptica (DO) obtidos em um comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 570 nm num espectrofotômetro, convertidos em percentagens de viabilidade celular relativa amostra controle negativo. Nos ensaios para o controle negativos foram utilizados DMEM + soro bovino feral + antibióticos, e para o controle positivo foram utilizados DMEM + 25% DE DMSO.

Ao Ensaio colorimétrico de Citotoxicidade os FO puros e FO recobertos com nanopartículas de Prata não se mostraram tóxico, sendo indicada sua aplicação na ortodontia. Quanto mais viável a porcentagem de células, menos tóxico serão os FO.

Tanto os FO puros quanto aos revestidos com Prata, não apresentaram ação citotóxica comparados ao controle positivo.

**Fig 16:** Valores de densidade óptica (DO) obtidos em um comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 570 nm num espectrofotômetro, convertidos em percentagens de viabilidade celular relativa amostra controle negativo



Fonte: Própria Autoria

## 5. CONCLUSÃO

Os fios ortodônticos contendo nanopartículas de Prata foram preparadas por meio da síntese hidrotermal, um -método verde para a redução de partículas a tamanhos nanométricos. Esse método mostrou-se bastante eficiente, uma vez que apresentou partículas de Prata de tamanhos inferiores a 20 nm.

Tal método hidrotérmico é realizado sem agentes químicos, tendo indicação de uso na odontologia.

Nos ensaios de DSC, para as amostras MA e MO, mostraram que a presença de Nps de Ag após a síntese não alterou as propriedades do fio sendo interessante a sua aplicação clínica.

Os resultados obtidos por MEV comprovam que as NPs de Prata foram inseridas nos fios ortodônticos, e que as mesmas se apresentaram de maneira dispersa e homogênea sobre os FO.

Não houve alterações na espessura do FO e ocorreram formações de nanopartículas de Prata independentes da concentração, com isso, demonstrou que a síntese hidrotérmica não causa nenhuma destruição nos FO.

A utilização da síntese hidrotermal para a redução das partículas de Prata em tamanho nanométricos pode ser um diferencial na ortodontia devido não utilização de solventes orgânicos tóxicos e agentes redutores.

No antibiograma, o método utilizado pela literatura, não foi suficiente para detectar efeito antimicrobiano, devido à área de contato ser pequena, portanto é sugerido um próximo ensaio com a utilização de outras tecnologias.

Ao Ensaio de Citotoxicidade FO puros e FO recobertos com nanopartículas de Prata não se mostraram tóxico, sendo indicada sua aplicação na ortodontia. Quanto mais viável a porcentagem de células, menos toxico serão os FO.

Conclui se que os fios ortodônticos revestidos com nanopartículas de Prata têm indicação clínica por não apresentarem toxicidade ao meio bucal e também que a síntese hidrotérmica não altera as propriedades dos fios.

## REFERÊNCIAS

1. BORZABADI-FARAHANI, A.; BORZABADI, E.; LYNCH, E. Nanoparticles in orthodontics, a review of antimicrobial and anti-caries applications. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 72, p. 413-17, 2014.
2. BUCKTHAL, J.E.; KUSY, R.P. Effects of cold disinfectants on the mechanical properties and the surface topography of nickel-titanium arch wires. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 94, p. 117-22, 1988.
3. BYRAPPA, K.; ADSCHIRI, T. Hydrothermal technology for nanotechnology. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 53, p. 117-66, 2007.
4. BYRAPPA, K.; YOSHIMURA, M. **Handbook of hydrothermal technology**. William Andrew, 2012.
5. CAI, X.J.; XU, Y.Y. Nanomaterials in controlled drug release. **Cytotechnology**, v. 63, p. 319-23, 2011.
6. CAPELLOZA FILHO, Leopoldino et al. Tratamento ortodôntico em adultos: uma abordagem direcionada. **Rev. dent. press ortodon. ortop. maxilar**, v. 6, n. 5, p. 63-80, 2001.
7. CARREIRA, C.M.; PEREIRA, C.A.; BOMBANA, A.C.; JORGE, A.O.C. **Eficácia antimicrobiana das nanopartículas de Prata sobre esporos, leveduras e bactérias**. Artigo apresentado no XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação– Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, 2009.
8. CHAPEKAR, M. S.; Tissue engineering: Challenges and opportunities. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 53, p. 617-20, 2000.
9. CHEN, R.; ZHI, Y.F.; ARVYSTAS, M.G. Advanced Chinese NiTi alloy wire and clinical observations. *The Angle Orthodontist*, v. 62, n. 1, p. 59-66, 1992.
10. FENG, Q.L., WU, J., CHEN, G.Q., CUI, F.Z., KIM, T.N., KIM, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.52, p. 662-68, 2000.
11. GURGEL, J.A.; RAMOS, A.L.; KERR, S.D. Fios ortodônticos. **Rev Dental Press Ortod Ortop Facial**, Maringá, v. 6, n. 4, p. 103-14, 2001.
12. HONG, K.H. Preparation and properties of electrospun poly (vinyl alcohol)/silver fiber web as wound dressings. **Polymer Engineering & Science**, v. 47, p. 43-9, 2007

13. JACOB, V.P.; OLIVEIRA, D.T.N.; BIGLIAZZI, R.; BERTOZ, A.P.M. Fios ortodônticos superelásticos e sua aplicabilidade na clínica ortodôntica: revisão da literatura. **Ortho Sci**, v. 3, n. 11, p. 257-62, 2010.
14. JUNG, W.K.; KOO, H.C.; KIM, K.W.; SHIN, S.H.K.; PARK, Y.H. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Applied and environmental microbiology**, v. 74, n. 7, p. 2171-8, 2008.
15. KVITEK, L.; PANACEK, A.; SOUKUPOVA, J.; KOLAR, M.; VECEROVA, R.; PRUCEK, R.; HOLECOVA, M.; ZBORIL, R. Effect of surfactants and polymers on stability and antibacterial activity of silver nanoparticles (NPs). **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 15, p. 5825-34, 2008.
16. LEE, HY, PARK, H.K.; LEE, Y.M; KIM, K.; PARK, S.B. A practical procedure for producing silver nanocoated fabric and its antibacterial evaluation for biomedical applications. **Chemical Communications**, n. 28, p. 2959-61, 2007.
17. LIPSHATZ, J.; BROCKHURST, P.J.; WEST, V.C. Clinical note nº. 11. Mechanical properties in bending of shape-memory wires. **Australian Dental Journal**, Sydney, v. 37, n. 4, p. 315-6, 1992.
18. LOK, C.N.; HO, C.M.; CHEN, R.; HE, Q.Y.; YU, W.Y., SUN, H.;TAM, P.K.H.; CHIU, J.F.; CHE, C.M. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. **Journal of Proteome research**, v. 5, n. 4, p. 916-24, 2006.
19. LONGO, E.; VARELA, J.A.; VOLANTI, D.P.; CAVALCANTE, L.S.; KEYSON, D.; LIMA, R.C.; MOURA, A.P.; MOREIRA, M.L.; MACÁRIO, L.R.; JÚNIOR, M.G. Materiais nanoestruturados obtidos por síntese hidrotermal assistida por microondas. **Met. e Mater.**, v.63 p. 352-7, 2007.
20. MENEZES, L.M.; FREITAS, M. P.M.; GONÇALVES, T.S. Biocompatibilidade dos materiais em Ortodontia: mito ou realidade? **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 14, n. 2, p. 144-57, 2009.
21. MHASKE, A.R.; SHETTY, P.C.; BHAT, N.S.; RAMACHANDRA, C.S.; LAXMIKANTH, S.M.; NAGARAHALLI, K.; TEKALE, P.D. Antiadherent and antibacterial properties of stainless steel and NiTi orthodontic wires coated with silver against *Lactobacillus acidophilus*—an in vitro study. **Progress in orthodontics**, v. 16, n. 1, p. 1-6, 2015.
22. MIURA, F.; MOGI, M.; OHURA, Y.; HAMANAKA, H. The super-elastic property of the Japanese NiTi alloy wire for use in orthodontics. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v.90, n. 1, p. 1-10, July 1986.

23. MIURA, F.; MOGI, M.; OKAMOTO, Y. New application of superelastic NiTi rectangular wire. **Journal of Clinical Orthodontics**, Boulder, v. 24, n. 9, p. 544-54, 1990.
24. PASTORIZA-SANTOS, I.; LIZ-MARZÁN, L.M. Synthesis of silver nanoprisms in DMF. **Nano letters**, v. 2, n. 8, p. 903-5, 2002.
25. QUINTÃO, C.C.A.; BRUNHARO, I.H.V.P. Fios ortodônticos: conhecer para otimizar a aplicação clínica. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, Maringá, v. 14, n. 6, p. 144-57 2009.
26. RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 44-48, 2013.
27. REHAN, M.; LAI, X.; KALE, G.M. Hydrothermal synthesis of titanium dioxide nanoparticles studied employing in situ energy dispersive X-ray diffraction. **CrystEngComm**, v. 13, n. 11, p. 3725-32, 2011.
28. REIS, P.H.F.; SOUZA, J.M.F.; RUELLA, W.S.; PARANHOS, L.R.; SAKIMA, M.T.; LIMA-RIVERA, L.M. Comparação da razão carga/deflexão entre fios ortodônticos de Ni-Ti termoativados 0,014lx0,025ll e 0,016llx0,022ll. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1259-68, 2014.
29. SANTA MARIA, L.C., AGUIAR, M.R., COSTA, M.A., VALLE, A.S., SOARES, J.G., SOUZA, J.D.; WANG, S.H. Synthesis of composite based on submicron sized silver particles hosted on microspheres of surface-functional porous crosslinked copolymer networks. **Materials Letters**, v. 61, n. 14, p. 2993-9, 2007.
30. SANTA MARIA, LC, SOUZA, J.D, AGUIAR, M.R, WANG, S.H, MAZZEI, J.L, FELZENSZWALB, I.; AMICO, S.C. Synthesis, characterization, and bactericidal properties of composites based on crosslinked resins containing silver. **Journal of applied polymer science**, v. 107, p. 1879-86, 2008.
31. SCHEMANN-MIGUEL, F.; COTRIM-FERREIRA, F.; STREVA, A.M.; CHAVES, A.V.O.A.; COTRIM-FERREIRA, A. Análise comparativa da relação carga/deflexão de fios retangulares de NiTi convencionais e termoativados. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 17, n. 3, p. 35, 2012.
32. SUNDARARAJ, D.; VENKATACHALAPATHY, S.; TANDON, A.; PEREIRA, A.  
Critical evaluation of incidence and prevalence of white spot lesions during fixed orthodontic appliance treatment: A meta-analysis. **Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry**, v. 5, n. 6, p. 433, 2015.

33. TUFEKCI, E.; DIXON, J.S.; GUNSOLLEY, J.C.; LINDAUER, S.J. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. **The Angle orthodontist**, v. 81, n. 2, p. 206-10, 2011.
34. VAN HYNING, D.L.; KLEMPERER, W.G.; ZUKOSKI, C.F. Silver nanoparticle formation: predictions and verification of the aggregative growth model. **Langmuir**, v. 17, n. 11, p. 3128-35, 2001.
35. WILLIAMS, D.F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-909, 2009.
36. YANG, J.; MEI, S.; FERREIRA, J.M.F. Hydrothermal synthesis of nanosized titania powders: influence of peptization and peptizing agents on the crystalline phases and phase transitions. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 83, n. 6, p. 1361-8, 2000.
37. YOSHIMURA, M.; BYRAPPA, K. Hydrothermal processing of materials: past, present and future. **Journal of Materials Science**, v. 43, n. 7, p. 2085-103, 2008.
38. ZHANG, Y.; PENG, H.; HUANG, W.; ZHOU, Y.; YAN, D. Facile preparation and characterization of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles. **Journal of colloid and interface science**, v. 325, n. 2, p. 371-6, 2008.