

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA**

Raphaella Barcellos Fernandes

**Rugosidade superficial de diferentes bráquetes ortodônticos e sua
relação com a adesão de *streptococcus mutans* – estudo *in vitro***

Juiz de fora

2020

Raphaella Barcellos Fernandes

**Rugosidade superficial de diferentes bráquetes ortodônticos e sua
relação com a adesão de *streptococcus mutans* – estudo *in vitro***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Marcio José da Silva Campos

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Morais Apolônio

Juiz de fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fernandes, Raphaella Barcellos.

Rugosidade superficial de diferentes bráquetes ortodônticos e sua relação com a adesão de streptococcus mutans – estudo in vitro / Raphaella Barcellos Fernandes. -- 2020.

42 f.

Orientador: Marcio José da Silva Campos

Coorientadora: Ana Carolina Morais Apolônio

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, 2020.

1. Bráquetes ortodônticos. 2. Rugosidade superficial. 3. Adesão bacteriana. I. Campos, Marcio José da Silva, orient. II. Apolônio, Ana Carolina Morais, coorient. III. Título.

Raphaella Barcellos Fernandes

**Rugosidade superficial de diferentes bráquetes ortodônticos e sua relação com a adesão
de *Streptococcus mutans* - estudo *in vitro***

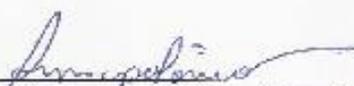
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre
Área de concentração: Clínica Odontológica

Aprovada em 22 de janeiro de 2020

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcio José da Silva Campos - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr.ª Ana Carolina Moraes Apolônio - Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr.ª Fernanda Campos Machado
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Sergio Luiz da Mota Júnior
Universidade Federal do Rio de Janeiro

À minha **Wilma**,

o maior e mais profundo amor que já fui capaz de merecer.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Marcio José da Silva Campos** e Co-orientadora **Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Moraes Apolônio** por todo suporte, incentivo e correções. As amigas do núcleo em Ortodontia que dividiram essa caminhada com tamanha generosidade e companheirismo, **Fernanda, Carolina e Paula**.

As mentoras de profissão e vida, **Prof^a. Dr^a. Renata Tolêdo Alves** e **Prof^a. Dr^a. Fernanda Campos Machado**, a quem devo tudo que almejo conquistar.

Agradeço a **Ana Bárbara Polo** por toda a atenção dispensada no Laboratório de Microbiologia e ao **Prof. Vinícius N. Rocha** pelo suporte e colaboração com as análises de topografia de superfície de biofilme bacteriano (microscopia eletrônica de varredura). Agradeço ainda a **Prof^a. Flávia Bastos** e seu aluno **Keven Bello do Nascimento** pela disponibilidade do escaneamento na Faculdade de Engenharia UFJF.

Agradeço a banca examinadora, **Prof. Dr. Sergio Luiz da Mota Júnior** e **Prof^a. Dr^a. Fernanda Campos Machado** pela disponibilidade em participar dessa banca.

RESUMO

O tratamento ortodôntico altera a ecologia bucal pela introdução de novas áreas retentivas para a colonização microbiana, estando associado a níveis elevados de *Streptococcus mutans*. As características superficiais dos bráquetes podem afetar a adesão e colonização bacteriana. O estudo tem por objetivo caracterizar a rugosidade superficial de diferentes tipos de bráquetes ortodônticos e relacionar com a adesão de *S. mutans*. Os grupos foram divididos em MSL (autoligados metálicos), C (estéticos cerâmicos) e CM (convencionais metálicos). As áreas de superfícies dos bráquetes foram definidas em escaneamento 3D e posteriormente submetidos à leitura da rugosidade superficial. A aderência bacteriana foi avaliada após 8h e 24h de crescimento bacteriano em caldo BHI suplementado com sacarose (1%) pela visualização dos biofilmes formados (microscopia eletrônica de varredura - MEV), quantificação de células totais (leitura de densidade ótica – DO) e quantificação de células viáveis (unidades formadoras de colônias – UFC). O bráquete cerâmico apresentou rugosidade superficial significativamente maior que os demais bráquetes avaliados. Entretanto essa diferença na rugosidade não se refletiu na adesão bacteriana, não houve diferença estatisticamente significativa considerando-se DO e UFC. O bráquete cerâmico teve maior rugosidade superficial, entretanto, não houve diferença significativa nos níveis de adesão bacteriana entre os bráquetes avaliados.

Palavras-chave: Bráquetes ortodônticos. Rugosidade superficial. Adesão bacteriana.

ABSTRACT

Orthodontic treatment alters the oral ecology by introducing new retentive areas for microbial colonization, being associated with high levels of *Streptococcus mutans*. The surface characteristics of the brackets may affect bacterial adhesion and bacterial colonization. The study aims to characterize the surface roughness of different types of orthodontic brackets and to relate them to the adhesion of *S. mutans*. The groups were divided into MSL (self-ligating metallic), C (ceramic aesthetics) and CM (conventional metallic). The surface areas of the brackets were defined in 3D scanning and subsequently subjected to surface roughness reading. Bacterial adherence was evaluated after 8h and 24h of bacterial growth in BHI broth supplemented with sucrose (1%) by the biofilm formed views (Scanning Electron Microscopy - SEM), total cell quantification (optical density reading - OD) and quantification of viable cells (colony forming units - CFU). The ceramic bracket presented significantly higher surface roughness than the other evaluated brackets. However, this difference in roughness was not reflected in bacterial adhesion, which was not significant considering OD and CFU. The ceramic bracket had higher surface roughness, however, there was no significant difference in the levels of bacterial adhesion between the evaluated brackets.

Keywords: Orthodontic brackets. Surface roughness. Bacterial adhesion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fluxograma 1 – Grupos experimentais e quantitativo amostral para cada estratégia de avaliação utilizada.....	15
Quadro 1 – Descrição dos tipos de bráquetes utilizados.....	15
Figura 1 – Escaneamento do bráquete - Next EngineScanStudio®	16
Figura 2 – Software utilizado para mapeamento da área - Netfaab Autodesk®	16
Figura 3 – Imagem gerada pelo NextEngine ScanStudio® PRO versão 2.0.2.....	17
Figura 4 – Rugosímetro em posição para análise dos respectivos grupos MSL, C e CM.....	17
Figura 5 – Base previamente isolada com Resina Filtek Z350 XT Flow e bráquetes preparados para esterilização.....	19
Figura 6 – Microplaca de 96 poços com células aderidas coradas com 200µl de solução de cristal violeta.....	20
Figura 7 – Unidades formadoras de colônias observadas em 8h nos respectivos grupos MSL, C e CM.....	21
Figura 8 – Unidades formadoras de colônias observadas em 24h nos respectivos grupos MSL, C e CM.....	21
Figura 9 – Controle negativo de crescimento bacteriano.....	22
Figura 10 – Imagens dos bráquetes MSL, C e CM em MEV.....	23
Figura 11 – Imagens dos respectivos grupos MSL, CM e C em 8h e 24h.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios das variáveis analisadas e a comparação entre os grupos.....	31
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 CÁLCULO AMOSTRAL.....	14
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	14
3.3 AVALIAÇÃO DA ÁREA DE SUPERFÍCIE DOS BRÁQUETES.....	16
3.4 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL.....	17
3.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	18
3.5.1 Bactéria	18
3.5.1.1 <i>Preparo do inóculo</i>	18
3.5.2 Quantificação da adesão de <i>S. mutans</i> aos bráquetes	19
3.5.2.1 <i>Quantificação de células totais por meio de densidade ótica (DO)</i>	19
3.5.2.2 <i>Quantificação de células viáveis por meio de contagem de unidades formadoras de colônia (UFC)</i>	20
3.5.2.3 <i>Análise da adesão de <i>S. mutans</i> na superfície dos bráquetes por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	22
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
4 ARTIGO	25
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A evolução dos acessórios utilizados em Ortodontia, especialmente no desenho e nos materiais empregados na confecção dos bráquetes, tem apresentado grandes avanços tecnológicos. Sabe-se que o tratamento ortodôntico com aparatologias fixas leva ao aumento do acúmulo placa bacteriana e a níveis elevados de *Streptococcus mutans*, que é considerado um dos principais agentes da cárie dentária (PAPAIOANNOU et al., 2007). Portanto, a presença dos aparelhos ortodônticos aumenta a possibilidade de adesão bacteriana intrabucal e assim, o risco à cárie nos pacientes ortodônticos em tratamento (FATANI et al., 2017).

O aparelho fixo predispõem os pacientes a um maior acúmulo de biofilme nas superfícies adjacentes aos bráquetes devido à dificuldade de higienização dessas áreas, facilitando o surgimento de lesões de cárie no esmalte dentário em semanas após a instalação do mesmo que, em muitos casos, além de comprometerem a saúde do indivíduo, comprometem também o resultado estético final após a sua remoção (TUNCER, TUNCER e ULUSOY, 2009; SHARMA, SHARMA e SAWHNEY, 2018). A probabilidade de formação de lesões de cárie incipiente e/ou cavitada ao redor do bráquete e na interface esmalte e bráquete oriunda de descuido com a higiene, é uma desvantagem do tratamento (BERGAMO et al., 2018a).

Os bráquetes mais amplamente utilizados são os convencionais metálicos de aço inoxidável, que apresentam uma boa lisura superficial, tendo propriedades mecânicas favoráveis além de resistência à corrosão (AGARWAL et al., 2016). Os bráquetes autoligados metálicos, embora ainda sem consenso na literatura, foram introduzidos para criar um sistema com menos atrito, proporcionando redução no tempo de tratamento (ONG, 2010). Esses apresentam vantagens em comparação com bráquetes convencionais, como número reduzido de consultas odontológicas e tempo de consulta clínica. Entretanto, eles têm mecanismos de fechamento que podem facilitar adesão bacteriana (HARRADINE, 2013). No Entanto, a busca pela estética no tratamento ortodôntico vem se tornando uma exigência crescente nos consultórios, promovendo uma demanda cada vez maior por aparelhos estéticos cerâmicos (MALTAGLIATI et al., 2006). Os bráquetes cerâmicos apresentam dificuldades na

aplicação de força adequada e no controle de ancoragem, uma menor longevidade do que os metálicos, pois aparentam mais fragilidade e possuem maior risco de fratura, principalmente em arcos retangulares (REN et al., 2014). Não existe na literatura um consenso sobre qual tipo de bráquete apresenta melhores propriedades, considerando-se o acúmulo de biofilme dental. Entretanto, determinar quais estratégias provocam menos danos causados pelo biofilme bacteriano à superfície do esmalte é essencial. Considerando-se *S. mutans* uma das espécies bucais com maior potencial de formação de biofilme, este estudo buscou caracterizar a rugosidade superficial de diferentes tipos de bráquetes ortodônticos e relacionar com a adesão desta bactéria por meio de diferentes estratégias metodológicas.

2 OBJETIVOS

Este estudo apresenta objetivos gerais e específicos abordados a seguir.

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo caracterizar a rugosidade superficial de diferentes tipos de bráquetes ortodônticos e relacionar com a adesão de *Streptococcus mutans* utilizando diferentes estratégias metodológicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a rugosidade das superfícies de três tipos de bráquetes ortodônticos (convencional metálico, autoligado metálico e cerâmico estético);
- Avaliar a capacidade de adesão de *S. mutans* aos bráquetes selecionados;
- Quantificar *S. mutans* aderidos aos diferentes bráquetes;
- Quantificar células viáveis de *S. mutans* aderidos aos diferentes bráquetes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este subcapítulo aborda o cálculo amostral, os grupos experimentais e as análises realizadas.

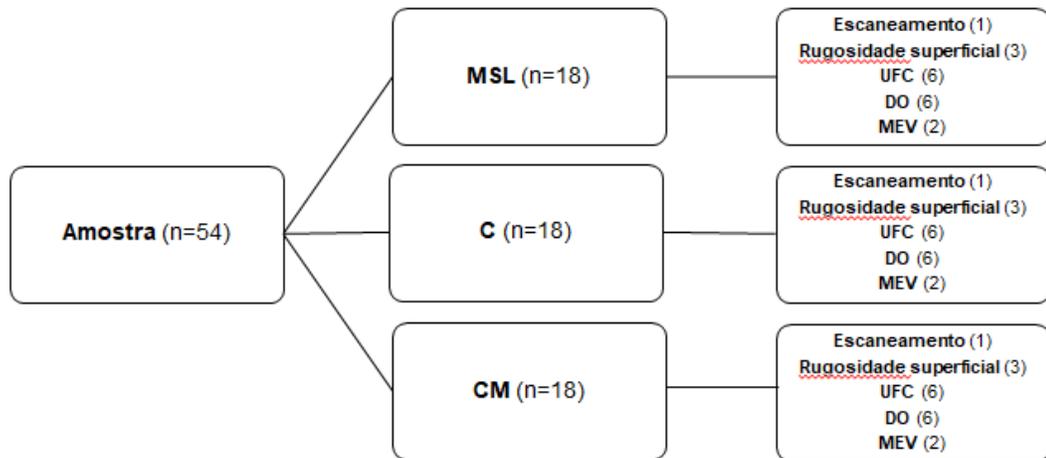
3.1 CÁLCULO AMOSTRAL

Para cálculo da unidade amostral foram tomados 08 artigos com metodologias semelhantes para contagem de unidades formadoras de colônia (GHASEMI et al., 2017; BERGAMO et al., 2017; BERGAMO et al., 2018a; TUPINAMBÁ et al., 2017; GARCEZ et al., 2011; PAPAIOANNOU et al., 2007; AHN et al., 2002; GASTEL et al., 2009) e a partir destes, aplicado o teste para a diferença de médias sobre seus resultados. A partir dessas análises, com base nos resultados de 3 artigos selecionados (BERGAMO et al., 2017; BERGAMO et al., 2018a; TUPINAMBÁ et al., 2017) e suas respectivas quantidades de unidades formadoras de colônias (UFC) encontradas, calculou-se a quantidade amostral, considerando-se uma significância de 0,05. Desta forma, cada grupo contou com 6 unidades amostrais para cada teste em dois tempos.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

A amostra foi constituída por bráquetes ortodônticos metálicos (CM n=6), bráquetes autoligados metálicos (MSL n=6) e bráquetes estéticos cerâmicos (C n=6) correspondentes ao incisivo central superior direito prescrição MBT- Bennett, McLaughlin e Trevisi (slot 0,022") selecionada devido a sua ampla utilização, que foram avaliados em dois tempos diferentes (8h e 24h). Para tanto foram utilizados bráquetes de mesma marca (3M/ Unitek, Moronvia – CA, USA) resultando num total de 54 bráquetes para os experimentos e 06 bráquetes para controle de crescimento bacteriano, divididos em três grupos conforme descrição apresentada a seguir:

Fluxograma 1 - Grupos experimentais e quantitativo amostral para cada estratégia de avaliação utilizada.



MSL – Autoligado metálico / C – Cerâmico /CM – Metálico convencional.

UFC – Unidade formada de colônia / DO – Densidade ótica / MEV – Microscopia eletrônica de varredura.

Fonte: elaborado pela autora.

O quadro 1 descreve as especificações dos bráquetes utilizados segundo o fabricante.

Grupo MSL: Bráquetes autoligados metálicos Portia®

Grupo C: Bráquetes estéticos cerâmicos Gemini Crystal Clear® fabricados a partir cerâmica policristalina pelo método de moldagem por injeção.

Grupo CM: bráquetes convencionais metálicos Gemini®

Quadro 1 – Descrição dos tipo bráquetes utilizados.

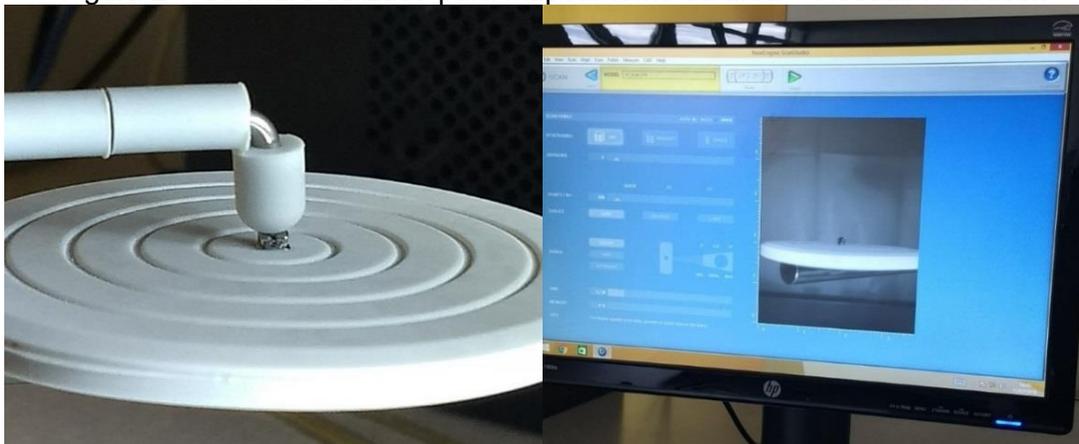
BRÁQUETE	MALHA	SLOT	PRESCRIÇÃO	FABRICAÇÃO	COMPOSIÇÃO
Autoligado Portia® MSL	80µm	0.022"	MBT	Injeção metálica de alta precisão	Aço 17-4 PH Trava de Nitinol
GeminiClear® C	80µm	0.022"	MBT	Moldados por injeção	Cerâmica policristalizada
Gemini3M® CM	80µm	0.022"	MBT	Usinagem	Aço 17-4 PH

Fonte: elaborado pela autora.

3.3 AVALIAÇÃO DA ÁREA DE SUPERFÍCIE DOS BRÁQUETES

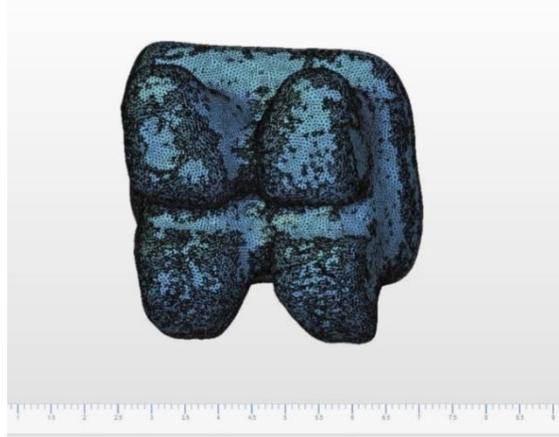
As áreas de superfícies de cada tipo de bráquete foram definidas em digitalização e escaneamento 3D seguido de delineamento de área através de mapeamento no NextEngine Desktop 3D Scanner[®] (NextEngine Inc, Santa Mônica, CA, USA), utilizando o programa NextEngine ScanStudio[®] PRO versão 2.0.2 e o Software para correção de falhas e avaliação da área dos bráquetes Autodesk Netfabb Standard[®] 2018. Essa etapa teve a função de proporcionar o cálculo de células de bactérias por cm² e não por bráquete, evitando o viés das diferenças de áreas entre os bráquetes. Para a avaliação do bráquete cerâmico, previamente ao ensaio, o bráquete foi submetido a metalização com ouro para que possível fazer a digitalização.

Figura 1 – Escaneamento do bráquete – Next EngineScanStudio[®]
Figura 2 – Software utilizado para mapeamento da área – Netfaab Autodesk[®]



Fonte: Autoria própria.

Figura 3 – Imagem gerada pelo NextEngineScanStudio®PRO versão 2.0.2.

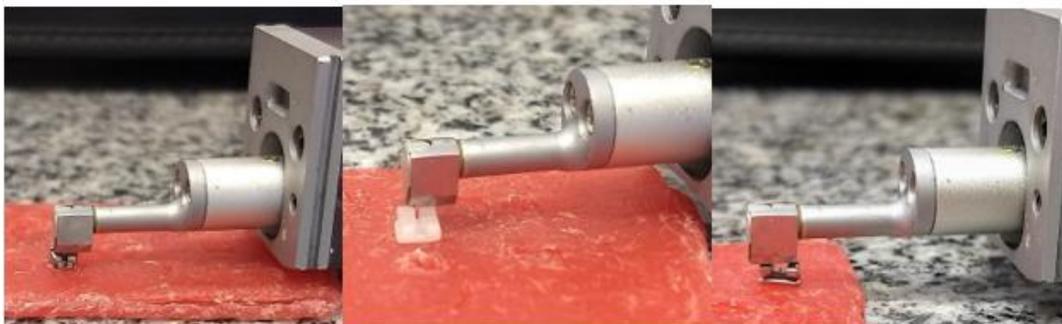


Fonte: Autoria própria.

3.4 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL

Para a realização das leituras de rugosidade das superfícies dos bráquetes foi utilizado o rugosímetro digital SJ-210 (Mitutoyo, Miyasaki, Japão), ajustado com um *cut-off* de 0,25mm e a amplitude do movimento de leitura da ponta de 0,3mm. As leituras foram realizadas por meio de um único operador, sendo repetidas 3 vezes para assegurar a precisão da leitura (CARRION-VILCHES, BERMUDEZ e FRUCTUOSO, 2015). O parâmetro utilizado foi a média dos valores das áreas avaliadas, as superfícies externas dos bráquetes (aletas, slot e clip), não sendo a base de colagem considerada na determinação da superfície total. Foram utilizadas 3 bráquetes de cada grupo em teste triplicata (n=9).

Figura 4 – Rugosímetro em posição para análise dos respectivos grupos MSL, C e CM



Fonte: Autoria própria.

3.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Esse subcapítulo aborda bactéria, preparo do inóculo e quantificação da adesão de *S. mutans* aos bráquetes através de análises microbiológicas.

3.5.1 Bactéria

O microrganismo utilizado ao longo dos ensaios laboratoriais de avaliação do biofilme foi o *S. mutans*, linhagem de referência ATCC 25175. Optou-se por esta bactéria porque ela possui uma grande capacidade de formação de biofilme, especialmente em meios na presença de sacarose, além de sua relação com a etiologia da cárie dentária (TUPINAMBÁ et al., 2017).

3.5.1.1 Preparo do inóculo

Uma suspensão inicial de *S. mutans* ajustada para 10^8 UFC/ml com auxílio do padrão de turbidez de 0,5 da escala de McFarland foi preparada em meio Brain Heart Infusion (BHI) a partir de uma cultura em meio sólido com crescimento *overnight* em BHI suplementado com 1% de sacarose. Os bráquetes tiveram sua base previamente isolada com Resina Filtek Z350 XT Flow (3M, Moronvia – CA, USA) para que malha de retenção não influenciasse o resultado, conforme exposto na Figura 6, posteriormente foram limpos por imersão em detergente enzimático por 20 minutos, lavados em água destilada e esterilizados por calor úmido em autoclave, a 121°C, com pressão atmosférica por 15 minutos. Os bráquetes foram colocados asepticamente com a base de colagem voltada para baixo em poços de microplaca (96 poços) pré-fabricada com fundo reto (OLEN, Kasvi, São José dos Pinhais, Paraná - Brasil), contendo 200µL da suspensão bacteriana e incubada a 37°C em atmosfera de microaerofilia por 8h ou 24h. Para cada tempo de incubação foi preparada uma microplaca diferente. Os testes foram realizados em duplicata considerando-se cada tipo de bráquete, e realizados em três momentos diferentes, obtendo-se assim três repetições (PEREIRA et al., 2011).

Figura 5 – Base previamente isolada com Resina Filtek Z350 XT Flow e bráquetes preparados para esterilização.



Fonte: Autoria própria.

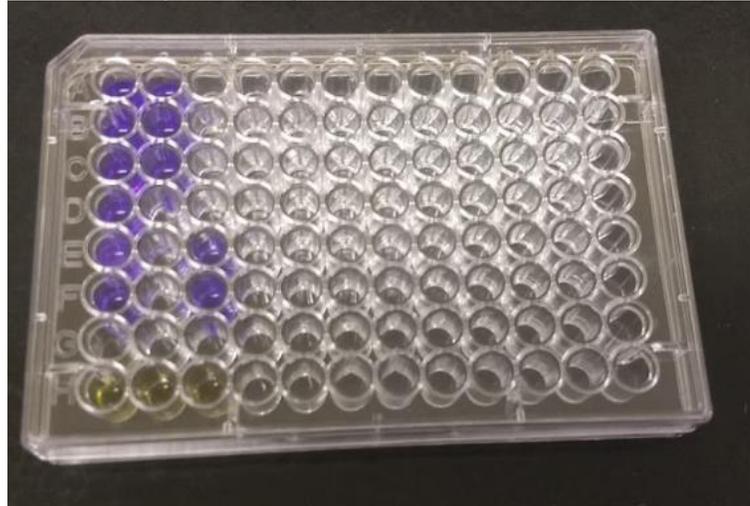
3.5.2 Quantificação da adesão de *S. mutans* aos bráquetes

3.5.2.1 Quantificação de células totais por meio de densidade ótica (DO)

Para a quantificação de células totais de *S. mutans* aderidas aos bráquetes, após o período de incubação (8h ou 24h) das microplacas conforme descrito no item 3.5.1.2, cada bráquete foi cuidadosamente removido assepticamente do poço e gentilmente transferido para um novo poço limpo e seco. Os bráquetes foram então lavados duas vezes com tampão fosfato (PBS - 137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄, 2mM KH₂PO₄), pH 7, 0,01M e deixados secar no ambiente do fluxo laminar. As células aderidas foram coradas com 200µl de solução de cristal violeta (0,1 % solução aquosa) por 15 minutos, conforme exposto na Figura 7. As amostras foram novamente lavadas duas vezes com PBS 0,1M e secas. Posteriormente o corante foi solubilizado com uma mistura de 80:20 de álcool:acetona por agitação à temperatura ambiente por 20 minutos e a absorbância foi lida a 595nm no aparelho Zenyth 3100 (Alfagene, Wals-Siezenheim, Áustria), procedendo-se a três ciclos de leitura. Como controle negativo de crescimento bacteriano (controle de contaminação microbiana) um bráquete de cada grupo foi

processado de forma igual aos demais utilizando-se meio de cultura sem inóculo (PEREIRA et al., 2011).

Figura 6 – Microplaca de 96 poços com células aderidas coradas com 200µl de solução de cristal violeta.



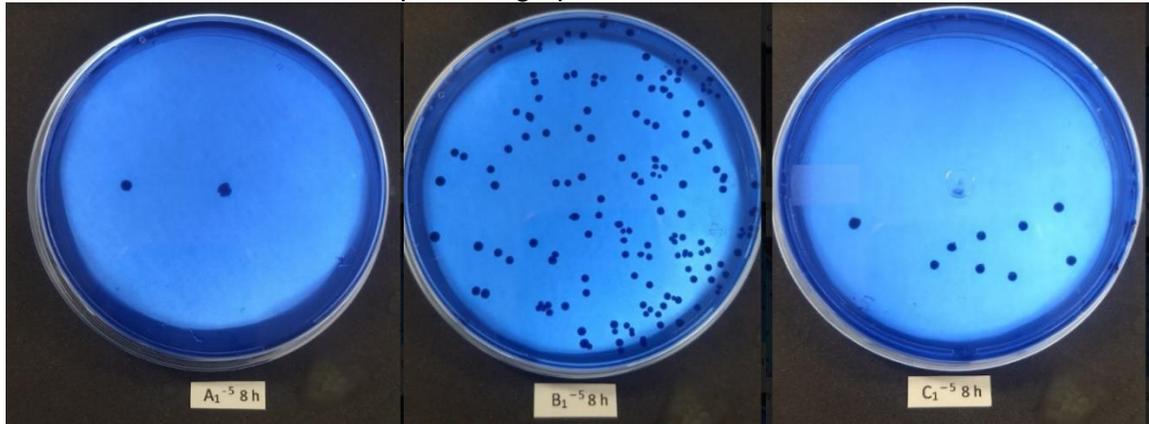
Fonte: Autoria própria.

3.5.2.2 Quantificação de células viáveis por meio de contagem de unidades formadoras de colônia (UFC)

Para a quantificação da biomassa de *S. mutans* viável aderida no biofilme, foi realizada a contagem de UFC. Após a incubação nos diferentes tempos avaliados, os bráquetes foram submetidos à lavagem duas vezes com PBS para remoção das células livres e transferidos assepticamente para tubo de microcentrifuga contendo 1 ml de PBS e 2 pérolas de vidro esterilizadas. Posteriormente submetidos a agitação magnética por 30 segundos para a liberação das células aderidas, formando assim uma suspensão. Para cada suspensão foram preparadas diferentes diluições (10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6}) que foram semeadas em Ágar Mitis Salivarius Sacarosado e suplementado com telurito de potássio com volume de 0,1ml. Para cada diluição foram semeadas três placas. As placas foram incubadas em microaerofilia a 37°C por 48 horas para posterior contagem de UFC, conforme ilustrado nas figuras 8 e 9 abaixo. Para o cálculo do valor final de UFC nos bráquetes foi utilizada a seguinte fórmula: número de UFC contadas \times fator de diluição \times fator de correção / área. Como controle negativo de crescimento

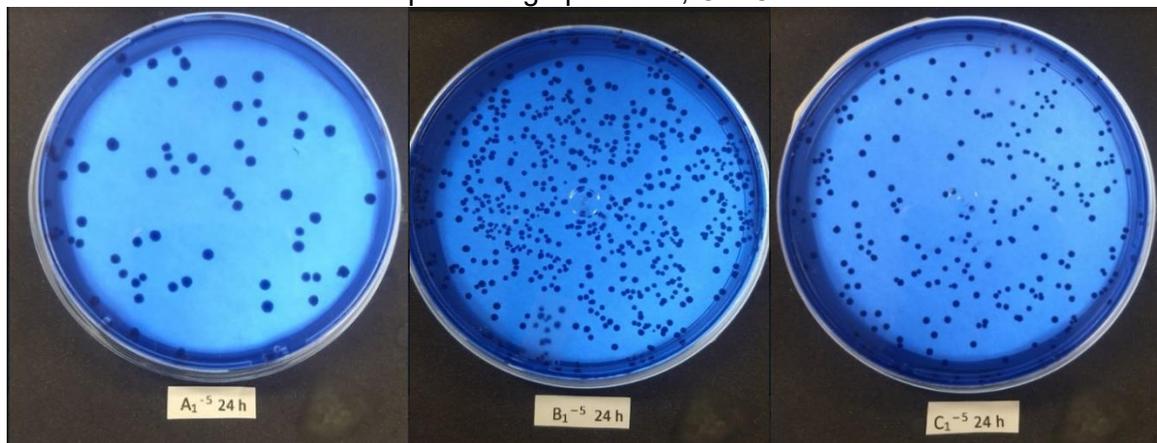
bacteriano (controle de contaminação microbiana) um bráquete de cada grupo foi processado de forma igual aos demais utilizando-se meio de cultura sem inóculo, vide Figura 10.

Figura 7 – Unidades formadoras de colônias observadas em 8h nos respectivos grupos MSL, C e CM.



Fonte: Autoria própria.

Figura 8 – Unidades formadoras de colônias observadas em 24h nos respectivos grupos MSL, C e CM.



Fonte: Autoria própria.

Figura 9 – Controle negativo de crescimento bacteriano.

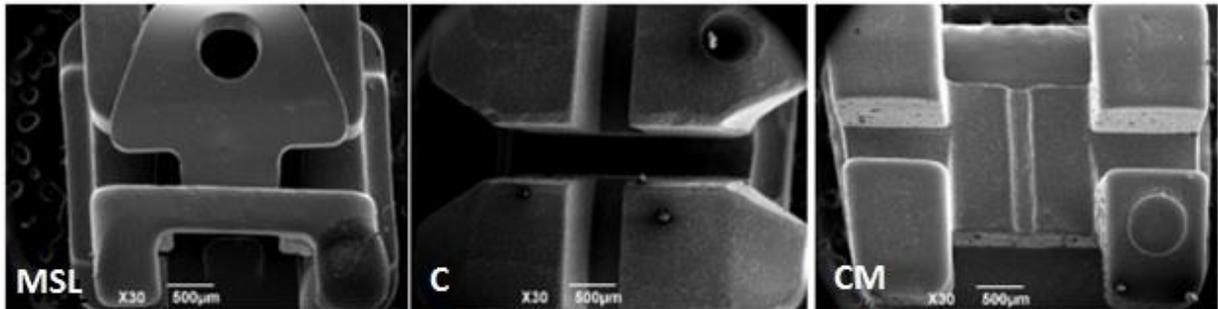


Fonte: Aatoria própria.

3.5.2.3 Análise da adesão de *S. mutans* na superfície dos bráquetes por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

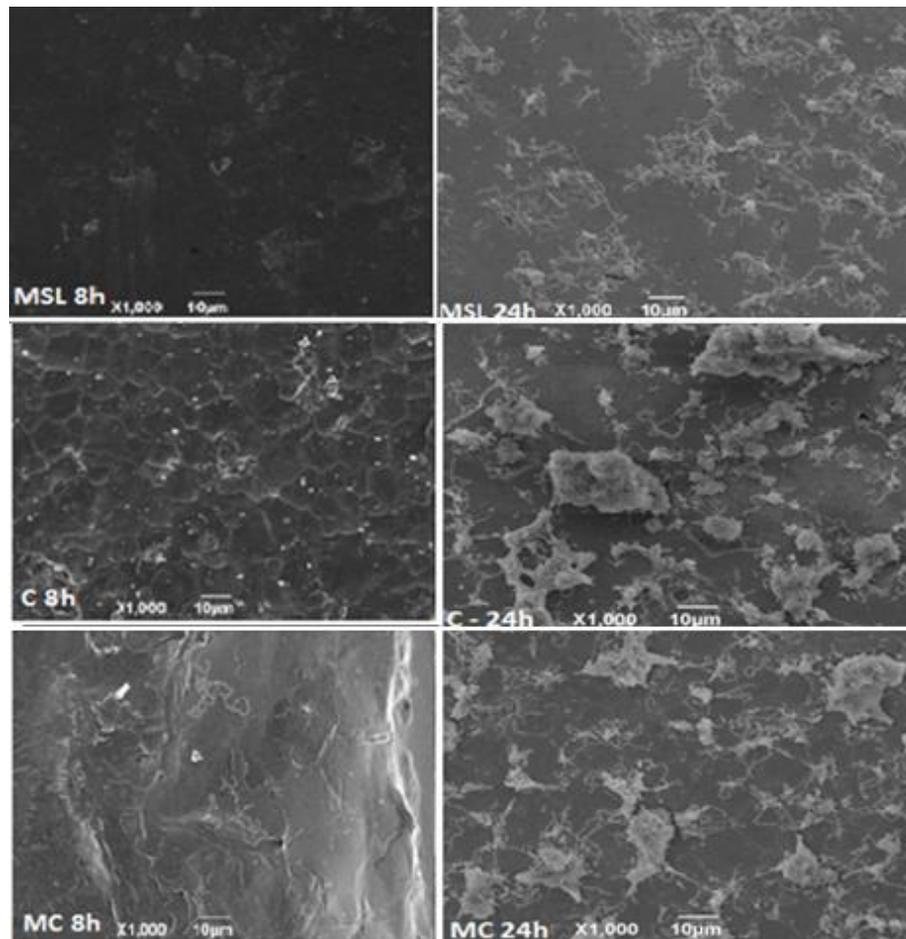
Para visualização da adesão de *S. mutans* na superfície dos bráquetes foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Após incubação (8h ou 24h), os bráquetes foram preparados por meio de fixação prévia em glutaraldeído a 2,5% e, posteriormente, lavados em tampão cacodilato, desidratados em solução crescente de álcool, secos em ponto crítico e metalizados com cobertura de ouro (RADHAKRISHNAN, VARMA e AJITH, 2017). Após metalização, as amostras foram analisadas ao microscópio eletrônico de varredura a 15KV JEOL-JSM – 6390LV (JEOL BRASIL Instrumentos Científicos Ltda, SP, Brasil) que foi realizada na Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth – Fiocruz, Rio de Janeiro. As imagens geradas estão ilustradas na Figura 11 e 12 abaixo.

Figura 10 – Imagens dos bráquetes MSL, C e CM em MEV.



Fonte: Autoria própria.

Figura 11 – Imagens dos respectivos grupos MSL, C e CM em 8h e 24h.



Fonte: Autoria própria.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação da rugosidade superficial, inicialmente o teste de normalidade foi utilizado para verificar se a distribuição de probabilidade associada aos dados se aproximava pela distribuição normal, o teste utilizado foi Kolmogorov-Smirnov. Após verificação, aplicou-se análise de variância (ANOVA One Way) para determinação dos valores médios e *post hoc* de Tukey para comparações múltiplas dos diferentes grupos. Para UFC e DO utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para análise de distribuição entre os grupos devido ao número amostral utilizado e por se tratar de amostras independentes. Caso houvesse diferença significativa, este seria seguido do teste de Mann-Whitney. Em todo o estudo, o nível de significância empregado foi 0,05. Os dados foram computados no *software* SPSS versão 21.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

4 ARTIGO

Rugosidade superficial de diferentes bráquetes ortodônticos e sua relação com a adesão de *Streptococcus mutans* – estudo *in vitro*.

Autores: Raphaella Barcellos Fernandes; Ana Bárbara Polo; Vinicius N. Rocha; Ana Carolina Morais Apolônio, Robert Willer Farinazzo Vitral; Marcio José da Silva Campos.

RESUMO

O tratamento ortodôntico altera a ecologia bucal pela introdução de novas áreas retentivas para a colonização microbiana, estando associado a níveis elevados de *Streptococcus mutans*. As características superficiais dos bráquetes podem afetar a adesão e colonização bacteriana. O estudo teve como objetivo caracterizar a rugosidade superficial de diferentes tipos de bráquetes ortodônticos e relacioná-la com a adesão de *S. mutans*. Os bráquetes foram divididos em MSL (autoligados metálicos), C (estéticos cerâmicos) e CM (convencionais metálicos). As áreas de superfícies dos bráquetes foram definidas por escaneamento 3D e posteriormente submetidos à leitura da rugosidade superficial. A adesão bacteriana foi avaliada após 8h e 24h de crescimento bacteriano em caldo BHI suplementado com sacarose (1%) pela visualização direta (Microscopia eletrônica de varredura - MEV), quantificação de células totais (leitura de densidade ótica – DO) e quantificação de células viáveis (unidades formadoras de colônias – UFC). O bráquete cerâmico apresentou rugosidade superficial significativamente maior que os demais, não houve diferença estatisticamente significativa considerando-se DO e UFC. O bráquete cerâmico apresentou rugosidade superficial significativamente maior, entretanto, essa diferença não está relacionada ao aumento da adesão bacteriana já que não houve diferença estatisticamente significativa considerando-se DO e UFC.

Palavras-chave: Bráquetes ortodônticos. Rugosidade superficial. Adesão bacteriana.

INTRODUÇÃO

Os acessórios ortodônticos evoluíram especialmente no desenho e nos materiais empregados na confecção dos bráquetes, apresentando avanços tecnológicos relevantes (FATANI et al., 2017). Apesar dessa evolução, os acessórios ainda criam condições favoráveis ao acúmulo de restos alimentares e microrganismos ao seu redor, podendo causar um aumento no processo de desmineralização dental, especialmente quando a higiene bucal não é adequadamente executada (SHARMA, SHARMA e SAWHNEY, 2018). Aparatologias fixas estão associadas a níveis elevados de *Streptococcus mutans*, que são considerados os principais patógenos iniciadores da carie dentária (PAPAIIOANNOU et al., 2007).

Cerca de 60% dos pacientes experimentam alguma alteração no acúmulo de biofilme após colagem de aparelhos ortodônticos fixos sendo estes correlacionados à doença cárie (BERGAMO et al., 2018). O tratamento ortodôntico com bráquetes pode alterar a ecologia da cavidade bucal pela introdução de novas áreas retentivas disponíveis para a colonização bacteriana e retenção de substratos (ONG et al., 2010).

Vários fatores físicos são importantes na colonização microbiana de superfícies sólidas, um deles é a rugosidade da superfície (ANHOURY et al., 2002). Os materiais dentários apresentam características de superfícies distintas que afetam a formação da película adquirida e subsequente adesão e colonização bacteriana (TUFEKCI et al., 2011). Atualmente, os bráquetes ortodônticos são fabricados a partir de diversos tipos de materiais com vários graus de rugosidade, como metal, cerâmica, plástico, titânio e compósito (AGARWAL et al., 2016).

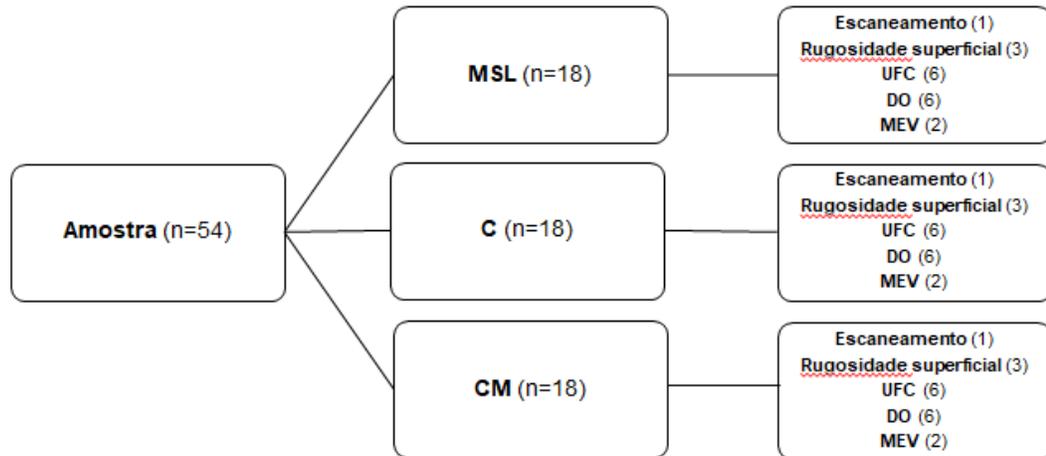
Este trabalho tem por objetivo avaliar a influência da rugosidade da superfície de diferentes tipos de bráquetes ortodônticos na formação de biofilme de *S. mutans*.

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra contou com 54 bráquetes (3M/ Unitek, Moronvia – CA, USA) divididos em metálicos convencionas (Gemini®) - grupo CM, autoligados metálicos (Portia®) - grupo MSL e estéticos cerâmicos (Gemini Crystal Clear®) - grupo C, todos

correspondentes ao incisivo central superior direito prescrição MBT (slot 0,022”), conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Fluxograma dos grupos experimentais e quantitativo amostral para cada estratégia de avaliação utilizada.



Fonte: Autoria própria.

MSL – Autoligado metálico / C – Cerâmico / CM – Metálico convencional.

UFC – Unidade formada de colônia / DO – Densidade ótica / MEV – Microscopia eletrônica de varredura.

As áreas de superfícies dos bráquetes foram avaliadas através de escaneamento 3D seguido de delineamento de área através do NextEngine Desktop 3D Scanner® (NextEngine Inc, Santa Mônica, CA, USA) com NextEngine ScanStudio® PRO versão 2.0.2. Foi escolhido aleatoriamente 01 bráquete de cada grupo para o escaneamento. O bráquete cerâmico foi metalizado com ouro previamente ao ensaio para que fosse possível a digitalização.

A rugosidade superficial foi determinada utilizando três bráquetes de cada grupo (n=3), definidos aleatoriamente, em triplicata, utilizando o rugosímetro digital SJ-210 (Mitutoyo, Miyasaki, Japão), ajustado com um *cut-off* de 0,25mm e a amplitude do movimento de leitura da ponta de 0,3mm (CARRION-VILCHES, BERMUDEZ e FRUCTUOSO, 2015). O parâmetro utilizado foi a média dos valores das áreas avaliadas, que foram as superfícies externas dos bráquetes (aletas, slot e clip), não sendo a base de colagem considerada na determinação da superfície total.

Para os testes de adesão bacteriana, todos os bráquetes tiveram a base isolada com Resina Filtek Z350 XT Flow (3M, Moronvia – CA, USA) para que malha de retenção não influenciasse o resultado. Posteriormente os bráquetes foram limpos por imersão em detergente enzimático por 20 minutos, lavados em água destilada e esterilizados por calor úmido em autoclave, a 121°C por 15 minutos.

A bactéria utilizada foi *S. mutans* ATCC 25175 em suspensão inicial ajustada para 10^8 UFC/ml (0,5 da escala de McFarland), a partir de cultura com crescimento *overnight* em BHI com 1% de sacarose. Os bráquetes foram colocados assepticamente com a base de colagem voltada para baixo em poços de microplaca (96 poços) pré-fabricada com fundo reto (OLEN, Kasvi, São José dos Pinhais, Paraná – Brasil), contendo 200µL da suspensão bacteriana e incubado a 37°C em atmosfera de microaerofilia por 8h ou 24h. Para cada tempo de incubação foi preparada uma microplaca diferente (PEREIRA et al., 2011; GHASEMI et al., 2017).

Para a quantificação da adesão bacteriana por meio de contagem de células totais usando densidade ótica (DO), após o período de incubação (8h ou 24h), cada bráquete foi cuidadosamente removido do poço e gentilmente transferido para um novo poço limpo e seco, onde foram então lavados duas vezes com tampão fosfato PBS, pH 7, 0,01M e deixados secar no ambiente do fluxo laminar. As células aderidas foram então coradas com 200µl de solução de cristal violeta (0,1 % solução aquosa) por 15 minutos. As amostras foram novamente lavadas duas vezes com PBS 0,1M e secas. Posteriormente o corante foi solubilizado com uma mistura de 80:20 de álcool:acetona por agitação à temperatura ambiente por 20 minutos e a absorbância a 595nm foi lida no aparelho Zenyth 3100 (Alfagene, Wals-Siezenheim, Áustria), procedendo-se a três ciclos de leitura. Como controle negativo de crescimento bacteriano (controle de contaminação microbiana) um bráquete de cada grupo foi processado de forma igual aos demais utilizando-se meio de cultura sem inóculo (PEREIRA et al., 2011).

Para a quantificação celular viável de *S. mutans*, foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Após a incubação (8h ou 24h), os bráquetes foram lavados duas vezes com PBS para remoção das células livres e transferidos assepticamente para tubo de microcentrifuga contendo 1ml de PBS e 2 pérolas de vidro. Posteriormente submetidos a agitação magnética por 30 segundos para liberação

das células aderidas, formando assim uma suspensão. Para cada suspensão foram preparadas diferentes diluições (até 10^{-6}) que foram semeadas (0,1ml) em Ágar Mitis Salivarius Sacaroso suplementado com telurito de potássio. Para cada diluição foram semeadas três placas. As placas foram incubadas em microaerofilia a 37°C por 48 horas para posterior contagem de UFC. Para o cálculo do valor final de UFC nos bráquetes foi utilizada a seguinte fórmula: número de UFC contadas \times fator de diluição \times 10 / área. Como controle negativo de crescimento bacteriano (controle de contaminação microbiana) um bráquete de cada grupo foi processado de forma igual aos demais utilizando-se meio de cultura sem inóculo.

Para visualização da adesão de *S. mutans* na superfície dos bráquetes foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Após incubação, os bráquetes foram fixados em glutaraldeído a 2,5%, lavados em tampão cacodilato e desidratados em solução álcool, secos em ponto crítico e metalizados com cobertura de ouro (RADHAKRISHNAN, VARMA e AJITH, 2017). Posteriormente foram analisados em microscópio 15KV JEOL-JSM – 6390LV (JEOL BRASIL Instrumentos Científicos Ltda, SP, Brasil).

A distribuição normal dos valores de rugosidade superficial foi confirmada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, seguido de análise de variância (ANOVA One Way) para determinação dos valores médios e post hoc de Tukey para comparações múltiplas dos diferentes grupos. Para UFC e DO utilizou-se Kruskal Wallis. Em todo o estudo, o nível de significância empregado foi 0,05. Os dados foram analisados utilizando o programa SPSS 21.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

RESULTADOS

As áreas de superfícies totais dos bráquetes foram $0,46\text{ cm}^2$ e $0,59\text{ cm}^2$ e $0,42\text{ cm}^2$ respectivamente para os grupos, MSL, C e CM. Os bráquetes cerâmicos apresentaram uma rugosidade significativamente maior que CM e MSL (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios das variáveis analisadas e a comparação entre os grupos.

	MSL	C	CM	P valor
	Média / DP	Média / DP	Média / DP	-
Rugosidade Superficial	0.067 ^b ± 0.01	0.304 ^{ab} ± 0.07	0.090 ^a ± 0.03	0.001*
Densidade Ótica 8h	2.91 ± 0.05	2.08 ± 0.34	2.04 ± 1.15	0.174**
Densidade Ótica 24h	2.96 ± 0.87	3.79 ± 0.14	3.21 ± 0.54	0.155**
Log UFC/cm ² 8h	5.87 ± 0.82	5.56 ± 0.30	4.84 ± 0.23	0.740**
Log UFC/cm ² 24h	5.85 ± 1,49	5.44 ± 1.73	6.28 ± 1.74	0.554**

* Anova

Tukey – letras iguais indicam diferença significativa.

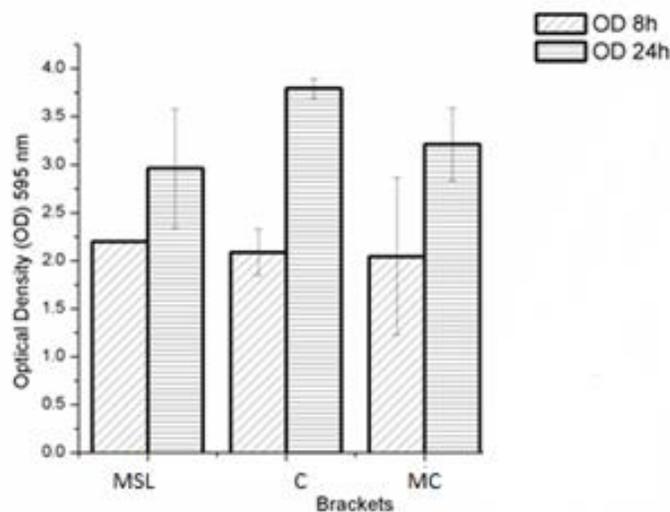
** Kruskal Wallis

MSL – Autoligado metálico / C – Cerâmico / CM – Metálico convencional.

Fonte: elaborado pela autora.

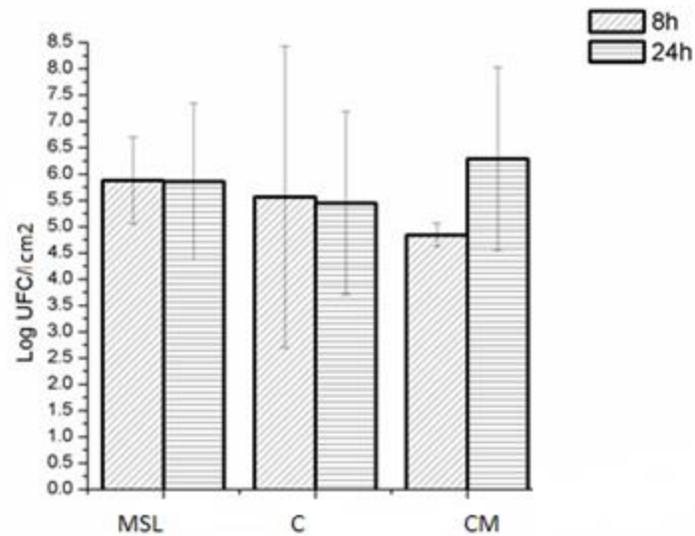
Considerando a avaliação bacteriológica por quantificação microbiana *in vitro*, não foi possível determinar, nos tempos analisados, diferença estatística entre os tipos de bráquetes estudados utilizando-se a bactéria *S. mutans*. A distribuição de adesão microbiana tanto pela avaliação de células totais (densidade ótica), quanto por células viáveis (UFC), não apresentou diferença significativa entre os grupos de bráquetes (Tabela 1 e Figura 2 e 3).

Figura 2 - Gráfico Densidade Ótica de 8h e 24



Fonte: elaborado pela autora.

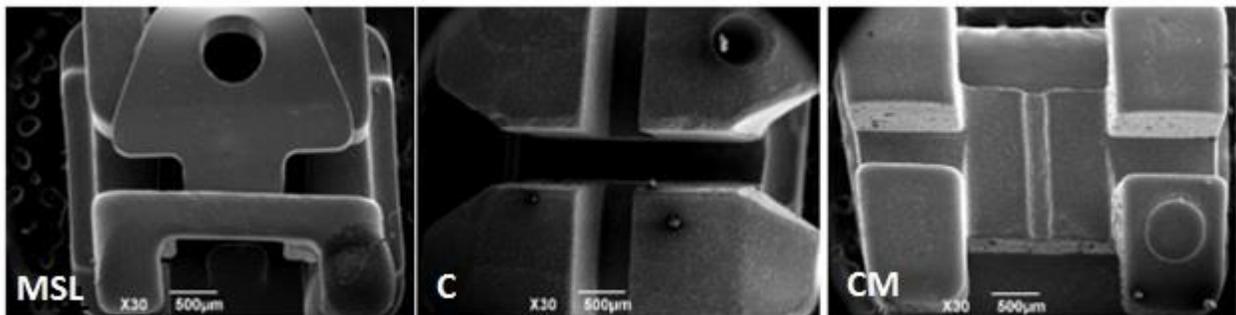
Figura 3 - Gráfico Unidade Formadora de Colônia 8h e 24



Fonte: elaborado pela autora.

A Figura 4 ilustra os bráquetes em seus respectivos grupos MSL, C, CM em imagens determinadas através de MEV.

Figura 4 – Imagens dos bráquetes MSL, C e CM em MEV no aumento de 10x



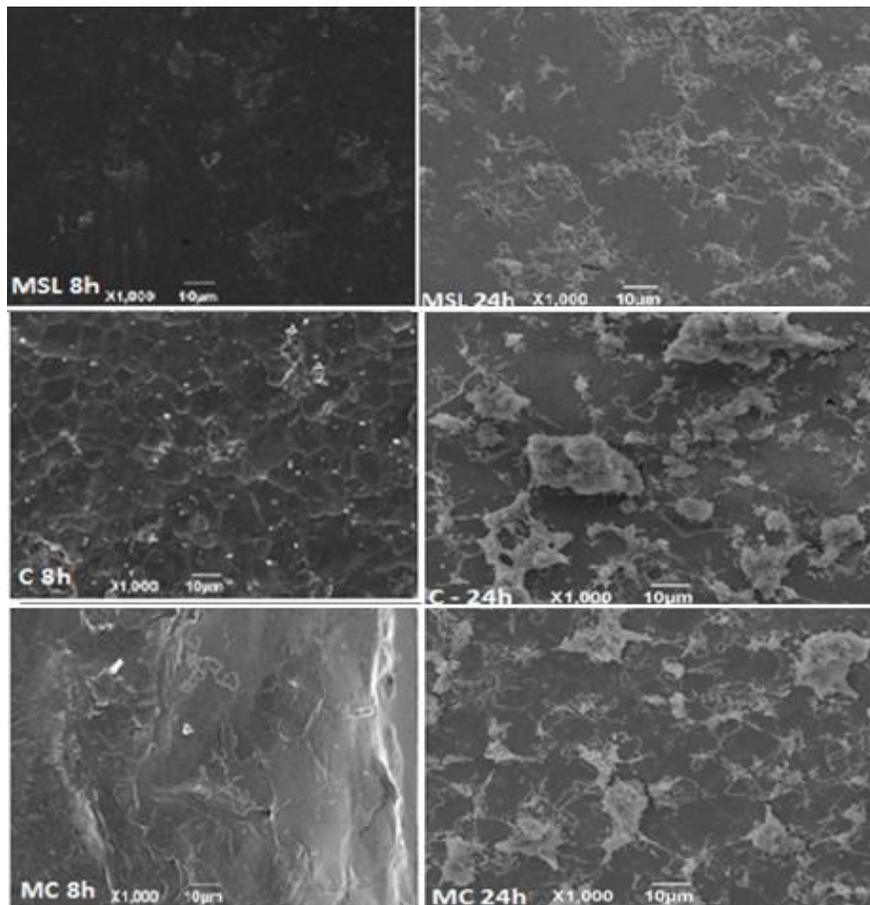
Fonte: Autoria própria.

A observação da superfície dos bráquetes em MEV revelou uma boa regularidade de superfície do MSL. Já as imagens obtidas de C demonstram uma deposição de cristais que aparenta uma superfície irregular com visualização de muitos

sítios de colonização bacteriana. Ainda pela análise visual, as imagens obtidas no grupo CM demonstraram uma superfície mais irregular que MSL e menos que C.

As imagens da Figura 5 comparam os achados de MEV em 8h e 24h, em que pode-se observar um biofilme mais maduro em 24h com número maior de colônias, o grupo C apresentou visualmente mais adesão.

Figura 5 – Imagens dos respectivos grupos MSL, C e CM em 8h e 24h



Fonte: Autoria própria.

DISCUSSÃO

Sob condições clínicas, a rugosidade superficial de qualquer material colocado na cavidade oral é a propriedade mais relevante considerando-se a adesão bacteriana e formação de biofilme (REN et al., 2014). Portanto, este trabalho teve como hipótese

nula que a rugosidade da superfície de diferentes tipos de bráquetes ortodônticos não teria influência na adesão bacteriana.

A determinação da área dos bráquetes foi feita a fim de minimizar diferenças de adesão/viabilidade bacteriana associada a maior superfície. Destaca-se que a repetição dos testes em dias diferentes e com inóculos diferentes permitiu uma avaliação mais confiável (YU et al., 2016). O presente estudo utilizou diferentes estratégias metodológicas para determinação da adesão apresentando três diferentes avaliações com resultados semelhantes, enquanto estudos anteriores utilizaram apenas um tipo de análise (GASTEL et al., 2009; JUNG et al., 2016; PAPAIOANNOU et al., 2007; TUPINAMBÁ et al., 2017;).

A avaliação da densidade óptica é baseada no fato de as células microbianas dispersarem a luz, ainda que mortas ou fragmentadas, podendo assim, ser detectadas, por medição da absorvância em um espectrofotômetro determinando o valor total de células, diferente da análise de contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) que é uma medida utilizada para estimar o número de bactérias viáveis, ou seja, com metabolismo ativo e capacidade de multiplicação expressa como o logaritmo do número de bactérias (KRZYŚCIAK et al., 2014).

A rugosidade pode ser definida como a existência de irregularidades na superfície de um material, e quando igual ou superior a $0,2\mu\text{m}$, pode conduzir a maior retenção de placa bacteriana (AGARWAL et al., 2016), sendo desejável que a superfície seja lisa (CARRION-VILCHES, BERMUDEZ e FRUCTUOSO, 2015). Os resultados deste estudo em relação à rugosidade superficial em MSL (autoligados metálicos) corroboram aos de estudo Brandão et al (2015), que afirmaram que os bráquetes autoligados geraram menos atrito que os convencionais, o que segundo o autor, estaria relacionado à superfície mais lisa do slot dos autoligados que os demais bráquetes avaliados (BRANDÃO et al., 2015).

O desempenho clínico dos bráquetes autoligados pode ser prejudicado pelo acúmulo de cálculo sobre o mecanismo de fechamento do slot (JUNG et al., 2016). Nestes bráquetes, a presença de um clipe de NiTi como elemento de ligação implica na presença de um túnel interno longitudinal, o que resulta em um local adicional para a adesão bacteriana e proliferação (TUPINAMBÁ et al., 2017). Nossos achados estão de

acordo com essas afirmativas, embora a superfície desses bráquetes tenham se mostrado significativamente menos rugosa que o bráquete cerâmico, não foi observado significância estatística quando comparado ao grupo metálico convencional.

Bráquetes cerâmicos policristalinos são compostos por partículas de óxido de alumínio e aglutinantes, são moldados e cortados para que se obtenham o formato desejado do bráquetes, posteriormente é feita a queima da cerâmica (MALTAGLIATI et al., 2006). Esse método de fabricação pode produzir poros, imperfeições, além de favorecer trincas e fraturas (GASTEL et al., 2009; VIDOR et al., 2015). A rugosidade superficial dos bráquetes cerâmicos significativamente maior que os bráquetes metálicos encontrada em nosso trabalho pode ser explicada por esse motivo. Além disso, pela análise do MEV, foi possível observar mais irregularidades de superfície no bráquete cerâmico em relação aos demais. Porém, a maior rugosidade não foi relacionada á maior adesão bacteriana de forma significativa. Isso pode ser justificado pela presença do óxido de alumínio utilizado para o tratamento de superfície que possui atividade antibacteriana (GHASEMI et al. 2017; VIDOR et., 2015). Dessa forma o bráquete cerâmico apresentou dificuldade de manutenção das células de bactérias viáveis, o que pode ter provocado inibição da formação de biofilme nas primeiras 8 horas de contato microbiano (até 24 h).

Estudos apontaram que bráquetes cerâmicos mostraram alta adesão microbiana (GASTEL et al., 2009; BRUSCA et al., 2007), contudo, Eliades, Eliades e Brantley (1995) encontraram que o aço inoxidável apresentou a maior tensão superficial crítica de adesão, indicando um alto potencial para fixação de microrganismos em bráquetes metálicos. Esse potencial de adesão em bráquetes metálicos provavelmente foi compensado em nosso estudo pela maior rugosidade dos bráquetes cerâmicos, não sendo possível, portanto perceber diferença significativa na adesão de *S. mutans* entre os grupos. Além disso, nossos dados estão em concordância com o estudo de Anhoury et al (2002) no qual não foi detectado diferença significativa entre bráquetes metálicos e cerâmicos em relação a adesão bacteriana.

Com o objetivo de corroborar a avaliação da adesão bacteriana, a microscopia eletrônica de varredura também foi utilizada, por análise qualitativa por MEV em diferentes campos dos bráquetes. Embora na análise de UFC os diferentes bráquetes

não tenham apresentado resultados significantes, os resultados obtidos por DO para 24 horas, que representa para *S. mutans* um biofilme já estabelecido, corroboram as observações feitas ao MEV, em que a adesão microbiana foi menor nos bráquetes autoligados. Os resultados encontrados na avaliação visual pelo MEV nesse estudo concordam com os achados dos estudos de Radhakrishnan, Varma e Ajith (2017) que afirmaram que bráquetes cerâmicos apresentaram maior quantidade de rugosidade da superfície enquanto autoligados apresentaram irregularidade superficial mínima.

Uma revisão sistemática buscou estabelecer se o *design* dos bráquetes (convencionais ou autoligados) apresentaria influência na adesão e formação de colônias de *S. mutans* e relataram que outros fatores como características dos tipos de bráquetes, o nível de higiene bucal individual, colagem e idade dos indivíduos, podem ter maior influência (NASCIMENTO et al., 2014).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes de crescimento bacteriano entre os dois tempos de incubação testados (8h e 24 h) assim como no estudo realizado por Jung et al (2016) com bráquetes cerâmicos e autoligados. Entretanto no presente estudo, observou-se maior taxa de adesão, embora não significativa, do *S. mutans* aos bráquetes estéticos cerâmicos.

CONCLUSÃO

Não houve diferença significativa nos níveis de adesão bacteriana entre os bráquetes autoligados metálicos, cerâmicos e convencionais metálicos, nos dois tempos de incubação de 8h e 24h. O bráquete cerâmico apresentou rugosidade superficial significativamente maior que os demais bráquetes avaliados, entretanto, essa diferença na rugosidade não foi relacionada ao aumento da adesão bacteriana.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a FIOCRUZ e CAPES pelo apoio a este estudo.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, C. O. et al. Evaluation of surface roughness of the bracket slot floor – a 3D perspective study. **Progress in Orthodontics**, v. 17, n. 3, p.2-11, 2016.
- ANHOURY, P. et al. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. **The Angle Orthodontist**, v. 72, n. 4, p. 338-343, 2002.
- BERGAMO, A. Z.N. et al. Orthodontic appliances did not increase risk of dental caries and periodontal disease under preventive protocol. **The Angle Orthodontist**, 2018b.
- BRANDÃO, G. A. M. et al. Does the bracket composition material influence initial biofilm formation?. **Indian Journal of Dental Research**, v. 26, n. 2, p. 148, 2015.
- BRUSCA, M. I. et al. Influence of different orthodontic brackets on adherence of microorganisms in vitro. **The Angle Orthodontist**, v. 77, n. 2, p. 331-336, 2007.
- CARRION-VILCHES, F. J.; BERMUDEZ, M. D; FRUCTUOSO, P. Static and kinetic friction force and surface roughness of different archwire bracket sliding contacts. **Dental Materials Journal**, v. 34, n. 5, p. 648-653, 2015.
- ELIADES, T; ELIADES, G; BRANTLEY, W. A. Microbial attachment on orthodontic appliances: I. Wettability and early pellicle formation on bracket materials. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 108, n. 4, p. 351-360, 1995.
- FATANI, E. J. et al. In vitro assessment of stainless steel orthodontic brackets coated with titanium oxide mixed Ag for anti-adherent and antibacterial properties against *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. **Microbial pathogenesis**, v. 112, p. 190-194, 2017.
- GASTEL, J. et al. Microbial Adhesion on Different Bracket Types in vitro. **The Angle Orthodontist**, v. 79, n. 5, p. 915-921, 2009.
- GHASEMI, T. et al. Antimicrobial effect, frictional resistance, and surface roughness of stainless steel orthodontic brackets coated with nanofilms of silver and titanium oxide: a preliminary study. **Microscopy Research and Technique**, v. 80, n. 6, p. 599-607, 2017.
- IJIMA, T. et al. Influence of surface treatment of yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystal with hot isostatic pressing on cyclic fatigue strength. **Dental Materials Journal**, v. 32, n. 2, p. 274-280, 2013.
- JUNG, W. S. et al. Adhesion of periodontal pathogens to self-ligating orthodontic brackets: An in-vivo prospective study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 150, n. 3, p. 467-475, 2016.

- KRZYŚCIAK, W. et al. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 499-515, 2014.
- MALTAGLIATI, L. A. et al. Aesthetic brackets – Clinics considerations. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 5, n. 3, p. 89-95, 2006.
- NASCIMENTO, L. E. A. G. et al. Are self-ligating brackets related to less formation of *Streptococcus mutans* colonies? A systematic review. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 19, n. 1, p. 60-68, 2014.
- ONG, E. et al. Efficiency of self-ligating vs conventionally ligated brackets during initial alignment. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 138, n. 2, p. 138-142, 2010.
- PAPAIOANNOU, W. et al. Adhesion of *Streptococcus mutans* to different types of brackets. **The Angle Orthodontist**, v. 77, n. 6, p. 1090-1095, 2007.
- PEREIRA, C. A. et al. *Streptococcus mutans* biofilm adhesion on composite resin surfaces after different finishing and polishing techniques. **Operative Dentistry**, v. 36, n. 3, p. 311-317, 2011.
- RADHAKRISHNAN, P. D; VARMA, N. K; AJITH, V. V. Assessment of bracket surface morphology and dimensional change. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 8, n. 1, p. 71, 2017.
- REN, Y. et al. Orthodontic treatment with fixed appliances and biofilm formation – a potential public health threat? **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 7, p. 1711-1718, 2014.
- SHARMA, R; SHARMA, K; SAWHNEY, R. Evidence of variable bacterial colonization on colored elastomeric ligatures during orthodontic treatment: An intermodular comparative study. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 10, n. 3, p. 271, 2018.
- TUFEKCI, E. et al. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. **The Angle Orthodontist**, v. 81, n. 2, p. 206-210, 2011.
- TUPINAMBÁ, R. A. et al. Bacterial adhesion on conventional and self-ligating metallic brackets after surface treatment with plasma-polymerized hexamethyldisiloxane. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 22, n. 4, p. 77-85, 2017.
- VIDOR, M. M. et al. Enamel surface evaluation after bracket debonding and different resin removal methods. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 20, n. 2, p. 61-67, 2015.
- YU, P. et al. Influence of surface properties on adhesion forces and attachment of *streptococcus mutans* to Zirconia in vitro. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes de crescimento bacteriano entre os dois tempos de incubação das amostras (8h e 24 h). Entretanto no presente estudo, observou-se uma maior taxa, embora não significativa ($p > 0,05$), do *S. mutans* nos bráquetes estéticos cerâmicos. Fato que corrobora com os achados da avaliação da rugosidade superficial dos bráquetes cerâmicos que foram estatisticamente significantes maiores que os demais bráquetes avaliados, assim como na avaliação do MEV, onde observou-se visualmente mais irregularidades de superfície.

Com base nos resultados obtidos pelo presente estudo é possível concluir que não houve diferença significativa nos níveis de adesão bacteriana entre os bráquetes estudados. não houve diferença significativa nos níveis de adesão bacteriana entre os bráquetes autoligados metálicos, cerâmicos e convencionais metálicos, nos dois tempos de incubação de 8h e 24h. O bráquete cerâmico apresentou rugosidade superficial significativamente maior que os demais bráquetes avaliados, entretanto, essa diferença na rugosidade não foi relacionada ao aumento da adesão bacteriana.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, C. O. et al. Evaluation of surface roughness of the bracket slot floor—a 3D perspective study. **Progress in Orthodontics**, v. 17, n. 3, p. 2-11, 2016.
- AHN, S.J. et al. Roles of salivary proteins in the adherence of oral streptococci to various orthodontic brackets. **Journal of Dental Research**, v. 81, n. 6, p. 411-415, 2002.
- ANHOURY, P. et al. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. **The Angle Orthodontist**, v. 72, n. 4, p. 338-343, 2002.
- BERGAMO, A. Z. N. et al. Microbial complexes levels in conventional and self-ligating brackets. **Clinical Oral Investigations**, v. 21, n. 4, p. 1037-1046, 2017.
- BERGAMO, A. Z. N. et al. Cytokine profile changes in gingival crevicular fluid after placement different brackets types. **Archives of Oral Biology**, v. 85, p. 79-83, 2018a.
- BERGAMO, A. Z.N. et al. Orthodontic appliances did not increase risk of dental caries and periodontal disease under preventive protocol. **The Angle Orthodontist**, 2018b.
- BRANDÃO, G. A. M. et al. Does the bracket composition material influence initial biofilm formation?. **Indian Journal of Dental Research**, v. 26, n. 2, p. 148, 2015.
- BRUSCA, M. I. et al. Influence of different orthodontic brackets on adherence of microorganisms in vitro. **The Angle Orthodontist**, v. 77, n. 2, p. 331-336, 2007.
- CARRION-VILCHES, F. J.; BERMUDEZ, M. D; FRUCTUOSO, P. Static and kinetic friction force and surface roughness of different archwire bracket sliding contacts. **Dental Materials Journal**, v. 34, n. 5, p. 648-653, 2015.
- ELIADES, T; ELIADES, G; BRANTLEY, W. A. Microbial attachment on orthodontic appliances: I. Wettability and early pellicle formation on bracket materials. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 108, n. 4, p. 351-360, 1995.
- FATANI, E. J. et al. In vitro assessment of stainless steel orthodontic brackets coated with titanium oxide mixed Ag for anti-adherent and antibacterial properties against *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 112, p. 190-194, 2017.
- GARCEZ, A. S. et al. Biofilm retention by 3 methods of ligation on orthodontic brackets: a microbiologic and optical coherence tomography analysis. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 140, n. 4, p. e193-e198, 2011.
- GASTEL, J. et al. Microbial Adhesion on Different Bracket Types in vitro. **The Angle Orthodontist**, v. 79, n. 5, p. 915-921, 2009.

GHASEMI, T. et al. Antimicrobial effect, frictional resistance, and surface roughness of stainless steel orthodontic brackets coated with nanofilms of silver and titanium oxide: a preliminary study. **Microscopy Research and Technique**, v. 80, n. 6, p. 599-607, 2017.

HARRADINE, N. Self-ligating brackets increase treatment efficiency. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 143, n. 1, p. 18, 2013.

IJIMA, T. et al. Influence of surface treatment of yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystal with hot isostatic pressing on cyclic fatigue strength. **Dental Materials Journal**, v. 32, n. 2, p. 274-280, 2013.

JUNG, W. S. et al. Adhesion of periodontal pathogens to self-ligating orthodontic brackets: An in-vivo prospective study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 150, n. 3, p. 467-475, 2016.

KRZYŚCIAK, W. et al. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 499-515, 2014.

MALTAGLIATI, L. A. et al. Aesthetic brackets – Clinics considerations. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 5, n. 3, p. 89-95, 2006.

NASCIMENTO, L. E. A. G. et al. Are self-ligating brackets related to less formation of *Streptococcus mutans* colonies? A systematic review. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 19, n. 1, p. 60-68, 2014.

ONG, E. et al. Efficiency of self-ligating vs conventionally ligated brackets during initial alignment. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 138, n. 2, p. 138-142, 2010.

PAPAIOANNOU, W. et al. Adhesion of *Streptococcus mutans* to different types of brackets. **The Angle Orthodontist**, v. 77, n. 6, p. 1090-1095, 2007.

PEREIRA, C. A. et al. *Streptococcus mutans* biofilm adhesion on composite resin surfaces after different finishing and polishing techniques. **Operative Dentistry**, v. 36, n. 3, p. 311-317, 2011.

RADHAKRISHNAN, P. D; VARMA, N. K; AJITH, V. V. Assessment of bracket surface morphology and dimensional change. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 8, n. 1, p. 71, 2017.

REN, Y. et al. Orthodontic treatment with fixed appliances and biofilm formation – a potential public health threat? **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 7, p. 1711- 1718, 2014.

SHARMA, R; SHARMA, K; SAWHNEY, R. Evidence of variable bacterial colonization on colored elastomeric ligatures during orthodontic treatment: An intermodular comparative study. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 10, n. 3, p. 271, 2018.

TUFEKCI, E. et al. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. **The Angle Orthodontist**, v. 81, n. 2, p. 206-210, 2011.

TUNCER, C; TUNCER, B.B; ULUSOY, Ç. Effect of fluoride-releasing light-cured resin on shear bond strength of orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 135, n. 14, p.1-6, 2009.

TUPINAMBA, R. A. et al. Bacterial adhesion on conventional and self-ligating metallic brackets after surface treatment with plasma-polymerized hexamethyldisiloxane. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 22, n. 4, p. 77-85, 2017.

VIDOR, M. M. et al. Enamel surface evaluation after bracket debonding and different resin removal methods. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 20, n. 2, p. 61-67, 2015.

YU, P. et al. Influence of surface properties on adhesion forces and attachment of streptococcus mutans to Zirconia in vitro. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.