

---

Copyright 2018, ABRACO

Trabalho apresentado durante o INTERCORR 2018, em São Paulo, no mês de maio de 2018.

As informações e opiniões contidas neste trabalho são de exclusiva responsabilidade do(s) autor(es).

## **Simulação “*in vitro*” de condições típicas de peri-implantite no processo de corrosão de implantes dentários da liga de titânio (grau V).**

Larissa Oliveira Berbel<sup>a</sup>, Everson do Prado Banczek<sup>b</sup>, Mitiko Saiki<sup>c</sup>, Rachel Black<sup>d</sup>, Georgios A. Kotsakis<sup>e</sup>, Isolda Costa<sup>f</sup>

### **Abstract**

---

Titanium alloy grade V (Ti-6Al-4V) is widely used in dental implants because of its biocompatibility, mechanical strength and corrosion resistance. However, it is observed that corrosion products are formed on the surface of implants, particularly in cases of peri-implantitis. The relationship between hygiene procedures for removal of biofilms from the implant surface and corrosion behavior is not yet known. In this study, samples of Ti-6Al-4V alloy were contaminated with microorganisms and then submitted to hygiene procedures for biofilm removal. Some types of cleaning treatments were evaluated, namely: (1) contaminated surface, surfaces after brushing with (2) Nylon (3) Ti and (4) brush treated with chlorhexidine (CHX). The surfaces were then exposed to the MEM solution for 4 weeks and then removed from this solution for surface observation (SEM) and electrochemical assays (OCP, EIS and polarization curves) in depleted PBS solution with addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and BSA and with pH adjusted to 3, to simulate peri-implantitis conditions. Analysis of the MEM solution was performed by neutron activation analysis (NAA) and the results showed dissolution of Al and Ti from the samples surfaces. The results showed that the biofilm on the alloy surface (contaminated sample) acts as a barrier between the medium and the alloy, increasing corrosion potentials and impedances. On the other hand, treatments that resulted in partial removal of the biofilm caused a decrease in the alloy surface impedance, increase of the anodic currents and decrease of the open circuit potential by exposing the metal surface directly to the corrosive medium.

**Keywords:** corrosion, titanium grade V, dental implants.

### **Resumo**

---

A liga de Ti grau V (Ti-6Al-4V) é amplamente utilizada em implantes dentários devido sua biocompatibilidade, resistência mecânica e resistência à corrosão. Porém, observa-se que produtos de corrosão são formados em sua superfície, particularmente em casos peri-implante. A relação entre os tratamentos de limpeza para remoção de biofilmes da superfície de

---

<sup>a</sup> Mestre, Química - IPEN

<sup>b</sup> PhD, Químico - UNICENTRO

<sup>c</sup> PhD, Engenheira Química – IPEN

<sup>d</sup> PhD Student, Periodontista - Universidade de Washington

<sup>e</sup> PhD, Periodontista – Universidade de Washington

<sup>f</sup> PhD, Engenheira Química - IPEN

implantes e o comportamento frente à corrosão ainda não é conhecida. Neste estudo, amostras da liga Ti-6Al-4V foram contaminadas com microorganismos e, em seguida, foram submetidas a tratamentos de limpeza para remoção do biofilme. Alguns tipos de tratamentos de limpeza foram avaliados, a saber: (1) superfície **contaminada**, e superfícies com tratamentos para remoção de biofilme por escovamento com escova de (2) **Nylon** (3) **Ti** e (4) tratadas com clorexidina (**CHX**). As superfícies foram em seguida expostas a solução de MEM por 4 semanas sendo então removidas desta solução para análise da superfície (MEV) e ensaios eletroquímicos (OCP, EIS e curvas de polarização) em solução de PBS deaerada, com adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e BSA e com pH ajustado a 3, para simular condições peri-implantite. A solução de MEM foi investigada por análise por ativação com nêutrons e os resultados mostraram dissolução de Al e Ti das superfícies. Os resultados mostraram que o biofilme na superfície da liga (amostra contaminada) atua como barreira entre o meio e a liga, resultando em mais altos potenciais e maiores impedâncias entre as superfícies ensaiadas. Todavia, os tratamentos que resultaram na remoção parcial do biofilme causaram diminuição da impedância da superfície da liga, aumento das correntes anódicas e diminuição do potencial de circuito aberto por exporem a superfície metálica diretamente ao meio corrosivo.

**Palavras-chave:** corrosão, titânio grau V, implantes dentários.

## Introdução

Os materiais metálicos são amplamente utilizados em implantes dentários, principalmente o titânio e suas ligas, devido a suas vantagens em relação a outros materiais, tais como: biocompatibilidade, facilidade de osseointegração, alta resistência mecânica e resistência à corrosão [1].

A corrosão em implantes dentários depende das condições do meio em que este está exposto e das substâncias agressivas presentes, tais como, íons fluoreto, ácido láctico, proteínas, ácido cítrico, peróxido de hidrogênio, íons cloreto, e biofilme. O biofilme consiste de microorganismos alojados na superfície do implante formando um filme microbiológico sobre o implante dentário [2].

A resistência à corrosão é uma propriedade muito importante para implantes dentários, devido à interação do material metálico com os fluidos biológicos o que pode causar várias alterações no meio (mudança de pH, temperatura, produção de enzimas e ácidos, presença de microorganismos e proteínas), e resultar em reações químicas com liberação de espécies que podem causar reações tóxicas ou alérgicas [3].

A peri-implantite é uma doença inflamatória crônica que pode acarretar na perda ou falha do implante. A inflamação peri-implante é caracterizada pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) no decorrer do processo inflamatório (ex. influxo de granulócitos polimorfonucleares)[4-6]. Os processos inflamatórios levam à formação de peróxido de hidrogênio a partir da formação de espécies oxidativas por meio de reações de Fenton [7].

Tratamentos de intervenção com objetivo de limpeza com remoção do biofilme são utilizados para remoção deste da superfície do implante, porém, a relação entre os procedimentos de remoção de biofilme e o comportamento frente à corrosão da superfície tratada ainda não é conhecida.

O objetivo deste estudo é investigar a eficiência de alguns tratamentos clínicos de peri-implantite, simulando as condições peri-implante quanto a remoção do biofilme da superfície, para compreensão das propriedades eletroquímicas dos implantes de titânio após serem submetidos a estes tratamentos.

---

## Metodologia

---

Os materiais metálicos utilizados foram discos de liga de titânio grau V (Ti-6Al-4V) com 10 mm de diâmetro. Sob a superfície da amostra, foi cultivado um biofilme *ex-vivo*. Após cultivo do biofilme na superfície, procedimentos de limpeza foram utilizados para remoção deste.

As condições da superfície da liga de titânio testadas foram: (1) Contaminada (sem remoção do biofilme); (2) após escovamento com escova de Nylon e (3) com escova de Titânio (*Straumann Inc.*), utilizando máquina rotativa manual e (4) exposição a clorexidina (CHX).

Após as intervenções de limpeza, as amostras de titânio foram imersas em meio de cultura (solução de Minimum Eagle Medium (MEM) suplementada com 10% de soro fetal bovino) por um período de 4 semanas, simulando os fluidos corporais, na ausência de oxigênio atmosférico ( $O_2$ ), para simular a aeração reduzida que ocorre em processos inflamatórios.

Alíquotas da solução de ensaio (MEM) foram retiradas a cada semana, de 1 a 4 semanas após imersão, e sua composição analisada por análise de ativação com neutrôns.

A superfície das amostras de Ti-6Al-4V foi caracterizada por microscópio eletrônico de varredura (MEV) TM 3000.

Nos testes eletroquímicos foi utilizada uma solução tampão de fosfato salino (PBS) como meio corrosivo, acidificada para pH 3 e com adição de 1% de  $H_2O_2$  para simular reações inflamatórias, condições típicas de peri-implantite, e 1% de albumina, que é uma proteína típica de fluidos fisiológicos.

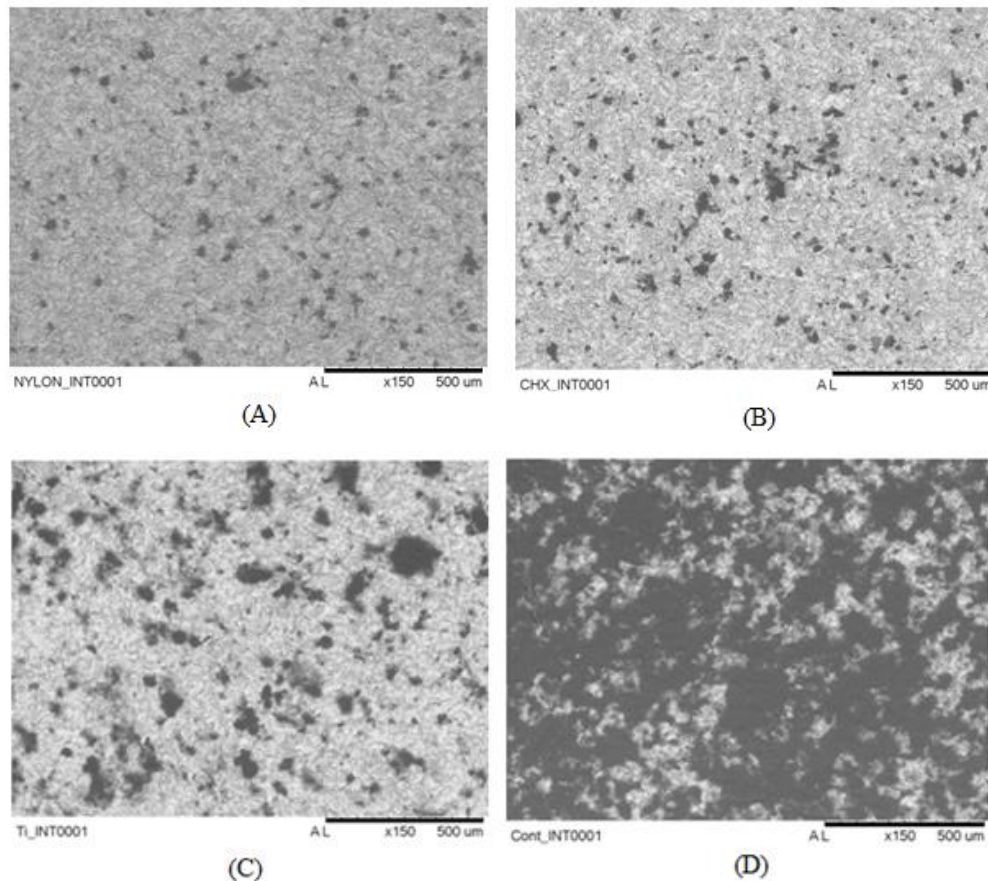
Um arranjo experimental de três eletrodos, constituído por um fio de titânio recoberto com ródio como contra eletrodo, eletrodo de Ag/AgCl (3M KCl) como eletrodo de referência e a liga de titânio grau V, como eletrodo de trabalho. As medidas eletroquímicas foram realizadas em analisador de resposta em frequências (Gamry modelo EIS 300®), acoplado a potenciostato Gamry PCI4/300® e consistiram de medidas de potencial de circuito aberto, espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) e curvas de polarização potenciodinâmica anódica com taxa de varredura de  $1 \text{ mV s}^{-1}$ . Os ensaios foram realizados em triplicata para avaliar a reprodutibilidade dos resultados.

---

## Resultados e discussão

---

As superfícies dos discos de Ti-6Al-4V após cultivo do biofilme, tratamentos de limpeza e exposição ao meio de ensaio, foram analisadas por microscópio eletrônico de varredura. As micrografias obtidas por MEV das diferentes superfícies ensaiadas são apresentadas na Figura 1.



**Figura 1. Imagens de MEV após tratamentos de limpeza e imersão em solução de MEM por 4 semanas: (A) Limpeza com escova de Nylon, (B) Imersão em clorexidina, (C) Limpeza com escova de titânio (D) Superfície sem limpeza (Contaminada).**

A Figura 1 mostra manchas escuras as quais foram analisadas semi-quantitativamente por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Foi comprovado que as manchas escuras sobre as amostras apresentavam alto teor de carbono, ou seja, indicando que se tratava de resquícios do biofilme que não foram removidos pelos tratamentos de limpeza. A amostra contaminada apresentou, naturalmente, a maior quantidade de biofilme entre as superfícies analisadas, sendo esta seguida em grau de contaminação pela amostra que tratada com escova de titânio (*Straumann Inc*). As amostras que apresentaram menores quantidades de biofilme em sua superfície foram as expostas a clorexidina, que é um bactericida utilizado para evitar o surgimento de biofilme, e a amostra tratada com escova de Nylon. Os biofilmes observados apresentaram maior aderência em regiões mais rugosas, conforme esperado. Os resultados sugerem que os tratamentos de limpeza peri-implante não são altamente efetivos para remoção do biofilme, principalmente das regiões mais rugosas.

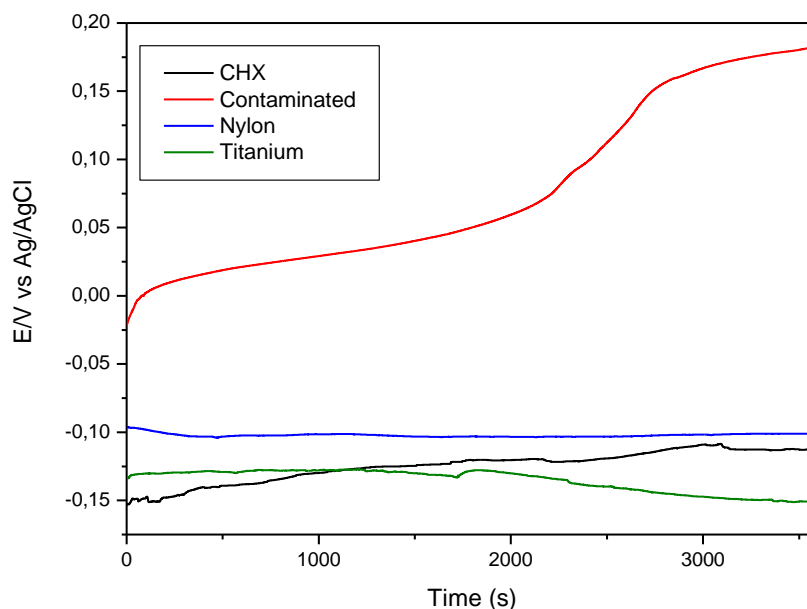
Os resultados da Tabela 1 mostram o efeito dos tratamentos de limpeza para remoção da peri-implantite na eluição de elementos metálicos da liga (Ti, Al e V) na solução de ensaio. Maior eluição significa menor resistência à corrosão da superfície após limpeza. Vale salientar que na superfície contaminada (sem tratamento de limpeza) ocorreu eluição do alumínio e vanádio no meio de ensaio para um período de 4 semanas de exposição ao meio. Eluição do Ti no meio de ensaio foi observada para todas as superfícies tratadas, porém os maiores teores de titânio em solução foram observados na solução em que foram expostas amostras tratadas por escovação com escova de titânio. Este resultado sugere que o uso de

escova de titânio não é eficiente para remoção de biofilme e pode favorecer a eluição de titânio no meio de ensaio.

**Tabela 1 - Composição da solução de ensaio (MEM+proteína) em que discos da liga Ti-6Al-4V foram imersos por 1 ou 4 semanas.**

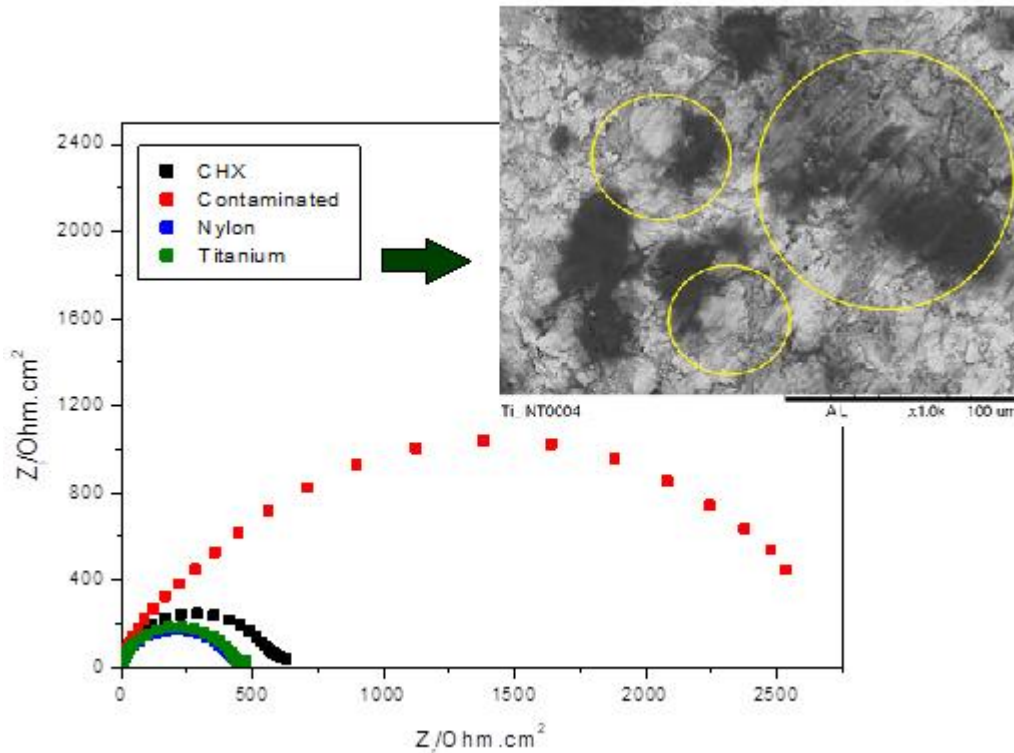
| Superfície                             | Al, µg/mL          | Ti, µg/mL         | V, µg/mL         |
|--|--------------------|-------------------|------------------|
| CHX, 1 semana                          | N.D                | N.D               | N.D              |
| CHX, 4 semanas                         | N.D                | <b>81.4 ± 3.4</b> | N.D              |
| Contaminada, 1 semana                  | N.D                | N.D               | N.D              |
| Contaminada, 4 semanas                 | <b>0.38 ± 0.06</b> | <b>92.0 ± 6.0</b> | <b>1.6 ± 0.1</b> |
| Nylon, 1 semana                        | N.D                | <b>20.2 ± 5.7</b> | N.D              |
| Nylon, 4 semanas                       | N.D                | <b>67.5 ± 1.8</b> | N.D              |
| Ti ( <i>Straumann Inc</i> ), 1 semana  | N.D                | <b>22.3 ± 4.2</b> | N.D              |
| Ti ( <i>Straumann Inc</i> ), 4 semanas | N.D                | <b>99.7 ± 6.0</b> | N.D              |

Os resultados da Tabela 1 mostram o efeito dos tratamentos de limpeza para remoção de biofilme típico de peri-implantite na eluição de elementos metálicos da liga (Ti, Al e V) na solução de ensaio. Vale salientar que a exposição da superfície contaminada ao meio de ensaio por 4 semanas resultou em eluição de titânio, alumínio e vanádio. O vanádio é um elemento tóxico cuja eluição em fluidos fisiológicos deve ser evitada. Os maiores teores de titânio em solução de ensaio foram relacionados com a superfície tratada com a escova de titânio e exposta ao meio por longos períodos. Os resultados dos ensaios eletroquímicos mostrados nas Figuras 2 a 5 permitem comparar as superfícies ensaiadas.



**Figura 2. Potencial de circuito aberto (E) para a liga Ti-6Al-4V em solução tamponada de fosfato com pH ajustado para 3 e com adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e albumina, sob condições de aeradas. Tratamentos de (1) imersão em clorexidina, (2) sem tratamento (contaminada), (C) limpeza com escova de nylon, (D) escova de titânio.**

Os resultados da Figura 2 mostram os valores de E na faixa de + 0.18 V a – 0.10 V, com os valores mais elevados associados à superfície sem limpeza, ou contaminada. A estabilização do potencial ocorreu mais rapidamente para as amostras tratadas do que para a contaminada. As amostras com potenciais mais negativos foram as limpas com escova de titânio (*Straumann Inc.*) (-0,15 V), seguida pelo tratamento com clorexidina (-0,11V), finalmente a tratada com escova de Nylon (-0,10V). Este resultado é explicado pela presença do biofilme na superfície contaminada, atuando como uma camada barreira entre o substrato metálico e o meio de ensaio. Já as amostras com maior exposição da superfície ao eletrólito apresentaram potenciais mais negativos devido à maior interação do eletrólito com a liga.



**Figura 3.** Diagramas de Nyquist para o Ti-6Al-4V sem tratamento ou após procedimentos de limpeza por imersão em Clorexidina, ou escovação com escova de nylon ou escova de titânio, seguido por imersão em PBS (pH 3) com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e albumina, em condições de deaeração.

A Figura 3 mostra diagramas de Nyquist para as várias condições de superfície ensaiadas. Como esperado, altas impedâncias foram associadas com as superfícies com maiores quantidades de biofilme, ou seja, a contaminada, enquanto menores quantidades de biofilme devido à maior eficiência da limpeza na remoção do biofilme, resultaram em menores impedâncias. A escovação com titânio resultou nas menores impedâncias provavelmente devido ao efeito mecânico deste tipo de escova que resultou na formação de ranhuras em sua superfície, Figura 3. Estas ranhuras resultam na remoção do filme de óxido de titânio ativando reações eletroquímicas entre a superfície do implante e o meio fisiológico, favorecendo a eluição de titânio no meio de ensaio.

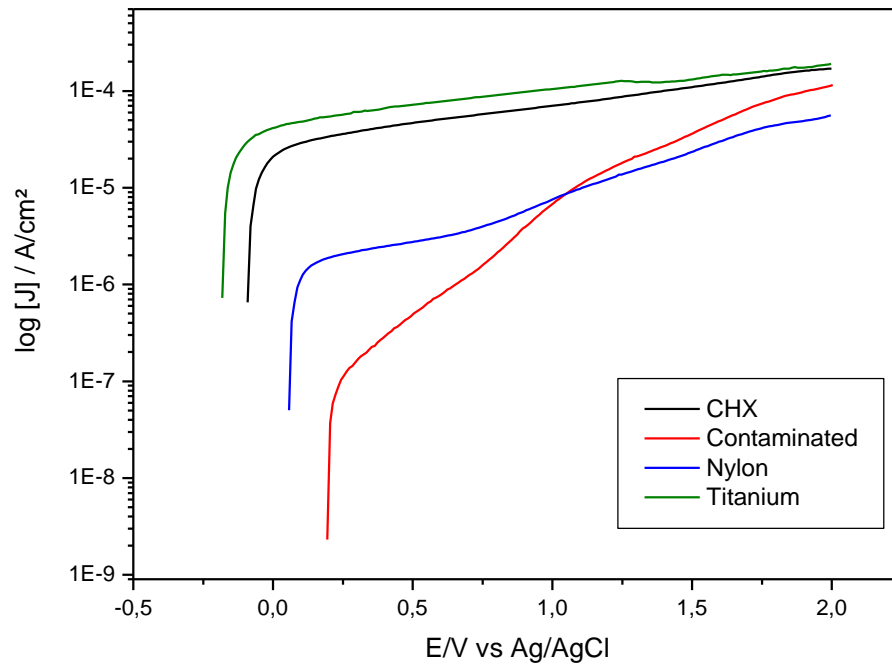
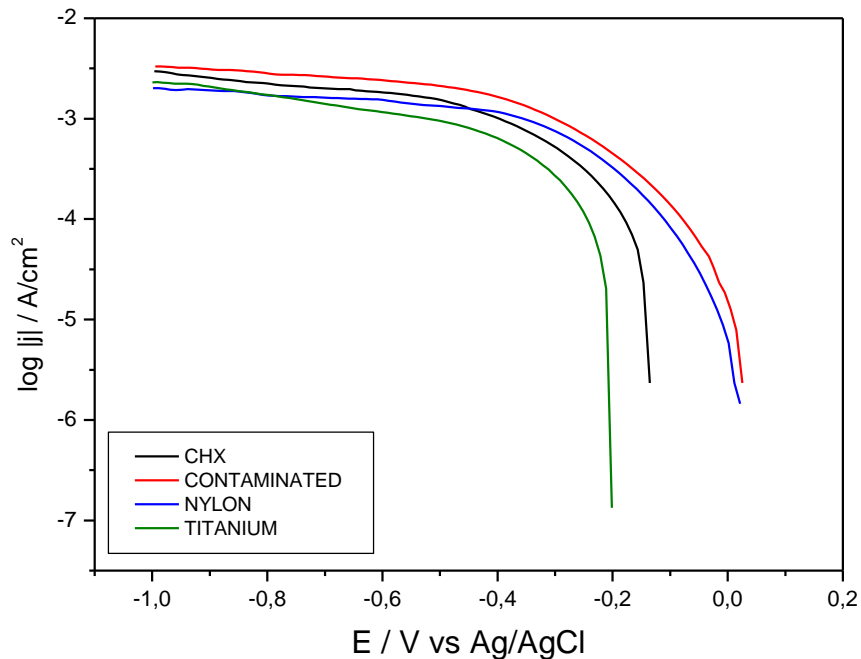


Figura 4. Curvas de polarização potenciodinâmica anódica para o Ti-6Al-4V após procedimentos de limpeza e imersão em PBS (pH 3) com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e albumina, sob condição de deaeração. Condição da superfície: tratamento por imersão em (1) clorexidina, (2) sem tratamento de limpeza (contaminado), (C) Escovação com escova de nylon ou (D) escova de titânio.

As curvas de polarização anódica mostram as menores densidades de corrente associadas às superfícies sem tratamento pela presença do biofilme, enquanto as maiores foram associadas com os tratamentos, CHX e escova de titânio. Todavia, em potenciais superiores a 1 V, a amostra contaminada apresentou altos valores de corrente, ordem de  $10^{-4}$  A/cm<sup>2</sup>, indicando que isto se deve pelo ataque corrosivo promovido nas regiões não cobertas da superfície. Nota-se que os valores de densidade de corrosão para todas as superfícies ensaiadas se aproximam em altos potenciais de polarização.



**Figura 5.** Curvas de polarização potenciodinâmica catódica para o Ti-6Al-4V após procedimentos de limpeza e imersão, a saber: (1) Clorexidina, (2) Contaminado, (C) Escova de nylon e (D) Escova de titânio, imersa em PBS (pH 3) com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e albumina, deaerado.

Na Figura 5 nota-se que em potenciais de -1.0 V até -0.4 V o comportamento das curvas sugere reação controlada por difusão, ou seja, característica da reação de redução do oxigênio. É interessante observar que esta reação predomina na faixa de potenciais varrida mesmo sob condições de deaeração, o que mostra que oxigênio residual estava presente no meio de ensaio. Os valores de densidade de corrente limite para todas as condições de superfície ensaiadas foram muito próximos considerando que a reação catódica é controlada por difusão do oxigênio para a superfície das amostras.

## Conclusões

Os tratamentos mais efetivos para remoção de biofilme típico de peri-implantite foram o escovamento com escova de nylon e a exposição a clorexidina. A presença do biofilme ou resquícios deste devido à remoção insuficiente por métodos de limpeza, resultaram em maiores impedâncias, maior potencial de circuito aberto e menores densidades de corrente, resultados típicos de superfícies com alta resistência à corrosão. Tais resultados são contraditórios e podem levar a conclusões errôneas relacionadas com os tratamentos. Análise por ativação com neutrões da solução de ensaio para tempos de exposição das amostras de 1 e 4 semanas mostrou que a limpeza da superfície é fundamental para evitar a eluição de elementos de liga prejudiciais à saúde humana, como o vanádio, no meio fisiológico, particularmente para longos períodos de exposição. Os ensaios eletroquímicos devem, portanto, ser combinados com análises da solução de ensaio após tempos variados de exposição das superfícies visando avaliar os elementos lixiviados no meio e seus teores.



---

**Referências bibliográficas**

---

- (1) FONSECA-GARCÍA, A; PÉREZ-ALVAREZ, J.; BARRERA, C. C.; MEDINA, J. C.; ALMAGUER-FLORES, A.; SÁNCHEZ, R. B., RODIL, S. E. The effect of simulated inflammatory conditions on the surface properties of titanium and stainless steel and their importance as biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 66, p. 119-129, 2016.
- (2) NORONHA OLIVEIRA, M.; SCHUNEMANN, W. V. H.; MATHEW, M.T.; HENRIQUES, B.; MAGINI, R. S.; TEUGHEL, W.; SOUZA, J. C. M. Can degradation products releases from dental implants affect peri-implant tissues?. **Journal of Periodontal Research**, p. 1-11, 2017.
- (3) GALAN Jr, J.; VIEIRA, R. M. Caracterização das superfícies de implantes dentais comerciais em MEV/EDS. Ver. **Bras. Odont.**, v. 70, n. 1, 2013.
- (4) GUO, M.; LIU, L.; ZHANG, J.; LIU, M. Role of reactive oxygen species and advanced glycation end products in the malfunctioning of dental implants. **West Indian Med J**, v. 64, 2015.
- (5) NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; SILVA, M. R. A.; VILLA, R. D. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. *Química nova*, v. 30, p. 400-408, 2007.
- (6) FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Ver. **Ass. Med Brasil**, v. 43, p. 61.68, 1997.
- (7) BROOKS, E.; TOBIAS, M.; KRAUTSAK, K.; EHRENSBERGER, M. The influence of cathodic polarization and simulated inflammation on titanium electrochemistry. **Wiley online library**, 2014.