



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA INFANTIL**



MÓNICA VERÓNICA ESCALANTE ROMERO

Elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex: Quantificação de endotoxina bacteriana e avaliação da degradação de força, do diâmetro interno, da estrutura micromorfológica e da rugosidade superficial, *in vitro*

Ribeirão Preto

2020

MÓNICA VERÓNICA ESCALANTE ROMERO

Elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex: Quantificação de endotoxina bacteriana e avaliação da degradação de força, do diâmetro interno, da estrutura micromorfológica e da rugosidade superficial, *in vitro*

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências.

Programa: Odontopediatria

Área de concentração: Odontopediatria

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marília Pacífico Lucisano Politi

Ribeirão Preto

2020

AUTORIZAÇÃO PARA REPRODUÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Romero, Mónica Verónica Escalante

Elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex: Quantificação de endotoxina bacteriana e avaliação da degradação de força, do diâmetro interno, da estrutura micromorfológica e da rugosidade superficial, *in vitro*. Ribeirão Preto, 2020.

82 p.: il.; 30 cm

Orientadora: Marília Pacífico Lucisano Politi.

1. Elásticos intermaxilares
2. Látex
3. Não látex
4. Endotoxina bacteriana
5. Microscopia confocal
6. Rugosidade superficial
7. Degradação de força
8. Diâmetro interno.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Romero ME. **Elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex: Quantificação de endotoxina bacteriana e avaliação da degradação de força, do diâmetro interno, da estrutura micromorfológica e da rugosidade superficial, *in vitro*.** 2020.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Programa: Odontopediatria

Área de concentração: Odontopediatria

Orientador: Prof^a. Dr^a. Marília Pacífico Lucisano Politi

Aprovado em: ____/____/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof^a. Dr^a. Marília Pacífico Lucisano Politi

Assinatura: _____

MÓNICA VERÓNICA ESCALANTE ROMERO

DADOS CURRICULARES

Nascimento: 27 de julho de 1991 - Lima – Perú

Filiação: Raul Escalante Jibaja
Maria Mónica Romero Graos

2011-2016: Graduação em Odontologia
Universidade San Martín de Porres, Lima, Perú.

2018: Curso Aperfeiçoamento em Pacientes Especiais
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto –USP

2018-2020: Atual Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Odontologia
Área de Concentração: Odontopediatria Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto.

DEDICATÓRIA

A Deus,

Pois sem Ele nada seria possível, quando algumas vezes me sentindo desacreditada e perdida nos meus projetos, ideais ou em minha pessoa, me fez vivenciar a delícia de alcançar meus objetivos e de hoje desfrutar desses momentos que são tão importantes.

Aos meus pais,

Pelo amor incondicional em todos os momentos de minha vida. De vocês recebi o dom mais precioso, a vida, inspiraram-me a certeza de sua presença e a segurança de seus passos guiando os meus.

À minha irmã Lorena,

Por sempre me servir de exemplo de constância, força e coragem para buscar meus sonhos, por me ensinar a ser mais forte, mesmo quando a vida era mais difícil.

Aos meus irmãos Aracelly, Karen, Raul e Claudio,

Que iluminaram de maneira especial meus pensamentos. A vida é sempre melhor e mais fácil quando se tem pessoas tão especiais ao lado.

Diz-que-direi ao senhor o que nem tanto é sabido: sempre que se começa a ter amor a alguém, no ramerrão, o amor pega e cresce é porque, de certo jeito, a gente quer que isso seja, e vai, na ideia, querendo e ajudando; mas, quando é destino dado, maior que o miúdo, a gente ama inteiriço fatal, carecendo de querer, e é um só facear com as surpresas. Amor desse, cresce primeiro; brota é depois.

*Joao Guimaraes Rosa
Grande Sertão: Veredas*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora, **Prof^á. Dr^a. Marília Pacífico Lucisano Politi**, por ter me acolhido, tenho muito respeito e admiração por seu trabalho como pesquisadora. Por ser uma pessoa tão iluminada e atenciosa. Obrigada por sua competência, atenção e suporte e por toda a ajuda e contribuição durante o período do Mestrado. Por compreender e aceitar minhas dificuldades em momentos difíceis para mim. Muito obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo, nas pessoas do atual Reitor, **Prof. Dr. Vahan Agopyan**, e do Vice-Reitor, **Prof. Dr. Antônio Carlos Hernandes**.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do atual diretor **Prof. Dr. Paulo Nelson Filho**, e do Vice-Diretor **Prof. Dr. Ricardo Gariba da Silva**.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Coordenadora, **Profª. Drª. Raquel Assed Bezerra Segato** e da Vice-Coordenadora **Profª. Drª. Léa Assed Bezerra da Silva**. Sinto-me muito agradecida por ter me recebido e ter me dado à oportunidade de estudar nesta prestigiosa Faculdade.

Aos Professores do Departamento de Clínica Infantil da FORP-USP, **Prof. Dr. Alberto Consolaro**, **Profª. Drª. Alexandra Mussolino de Queiroz**, **Profª. Drª. Aldevina Campos de Freitas**, **Profª. Drª. Andiará De Rossi Daldegan**, **Prof. Dr. Fabrício Kitazono de Carvalho**, **Prof. Dr. Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva**, **Profª. Drª. Kranya Victoria Díaz Serrano**, **Profª. Drª. Maria Cristina Borsatto**, por todos os ensinamentos.

À **Profª Drª. Raquel Assed Bezerra Segato**, por sua dedicação e incentivo, buscando sempre dar o melhor do programa aos pós-graduandos, ajudando ao crescimento dos alunos e pela oportunidade de aprendizado durante o curso de Mestrado.

Ao **Prof. Dr. Paulo Nelson Filho**, seu jeito de ensinar é único e transforma a aprendizagem em uma experiência maravilhosa, obrigada por suas extraordinárias aulas, sua dedicação à vida acadêmica é um exemplo a ser seguido. Obrigada pela contribuição em todas as etapas dessa pesquisa e na elaboração da minha Dissertação.

Ao **Prof. Dr. Fábio Lourenço Romano**, pela disposição e conhecimentos transmitidos durante meu Mestrado e sugestões muito importantes na realização deste trabalho.

À **Drª. Juliana Faraoni**, do Departamento de Odontologia Restauradora da FORP/USP, por seu suporte e força nos momentos que mais precisei. Obrigada por ser um ser de luz na vida das pessoas, que Deus multiplique as bênçãos na sua vida e retribua a sua generosidade.

À **Profª. Drª. Regina Guenka Palma**, do Departamento de Odontologia Restauradora da FORP/USP, obrigada por ter permitido a utilização de um equipamento indispensável à realização desse trabalho.

Aos **Funcionários da FORP/USP**, Carolina Paes Torres Mantovani, Mary Possani Carmessano, Filomena Leli Placciti, Matheus Morelli Zanela, Marco Antônio dos Santos, Fátima Aparecida Jacinto Daniel, Fátima Aparecida Rizoli, Nilza Letícia Magalhães, Rosemary Alves e Mauro Henrique Leoni Bernardo pela disponibilidade, atenção nas informações e orientações.

Aos **colegas** do Curso de Mestrado, pelo convívio, solidariedade e amizade compartilhados durante todo esse tempo. Obrigada por todos os momentos bons e trocas de experiência que me proporcionaram.

A meus **amigos estrangeiros**, obrigada por fazerem parte do meu tempo no Brasil, por me trazerem as melhores lembranças. Agradeço a Deus por ter conhecido cada um de vocês, aprendi muitas coisas e sei que nossa amizade perdurará.

A **CAPES** pelo apoio financeiro e pelo incentivo ao desenvolvimento de pesquisa e ciência no Brasil.

A todos que de alguma forma, contribuíram para a concretização dessa pesquisa.

A gratidão é a memória do coração

Antístenes de Atenas

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.

Chico Xavier

RESUMO

Romero ME. **Elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex: Quantificação de endotoxina bacteriana e avaliação da degradação de força, do diâmetro interno, da estrutura micromorfológica e da rugosidade superficial, *in vitro*.** 82f. Dissertação (Mestrado) - Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2020.

O objetivo do presente estudo *in vitro* foi comparar elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex (Dentaurum, Newtown, PA, EUA, diâmetro 3/16", de força média) por meio da quantificação da endotoxina bacteriana aderida, avaliação da rugosidade superficial, análise qualitativa da micromorfologia superficial e da avaliação da força e do diâmetro interno desses elásticos, após ensaio de deformação. Para a quantificação da endotoxina bacteriana, efetuada por meio do teste QCL-1000™ em leitor de ELISA, os elásticos ortodônticos foram divididos em 5 grupos conforme segue: Grupos experimentais: elásticos ortodônticos intermaxilares do tipo látex (n=12) e não-látex (n=12), contaminados por 24 horas pela solução de endotoxina previamente preparada; Grupos Controles Negativos: elásticos ortodônticos intermaxilares do tipo látex (n=6) e não-látex (n=6) retirados de suas embalagens originais, sem contaminação pela solução de endotoxina e; Grupo Controle Positivo (n = 6): corpos de prova de aço inoxidável (réplicas metálicas), contaminados pela solução de endotoxina. Os valores foram obtidos em UE/mL e transformados em escores para análise estatística. Paralelamente, uma análise descritiva qualitativa da micromorfologia estrutural (n=6 elásticos de cada tipo látex e não látex) e análise quantitativa da rugosidade superficial (valores em μm) (n=10 elásticos de cada tipo) foram realizadas em microscopia confocal a laser. Essas análises foram realizadas no tempo 0 e após 24 e 72 horas em ensaio de deformação. Da mesma forma, foi realizada avaliação da força (valores em g) e do diâmetro interno (valores em mm) de ambos os tipos de elásticos (n=10), nos períodos de 0, 24 e 72 horas, por meio de um dinamômetro e um paquímetro digital, respectivamente. Os dados foram analisados por meio do programa estatístico GraphPad Prism® 5, por meio dos testes Shapiro Wilk, Kruskal-Wallis, Dunn, ANOVA e Bonferroni, sendo o nível de significância de 5% adotado para todas as análises. De acordo com os resultados obtidos observou-se que a endotoxina bacteriana se aderiu em ambos os elásticos testados, sem diferença estatisticamente significativa entre elásticos látex, não látex e réplicas de aço inoxidável ($p>0,05$). A microestrutura da superfície de ambos os elásticos apresentou irregularidades e porosidades, inicialmente e nos períodos de 24 e 72 horas após ensaio de deformação. Após 24 horas, a rugosidade superficial dos elásticos do tipo látex foi significativamente menor em comparação aos

elásticos do tipo não látex ($p < 0,001$), enquanto que no período de 72 horas os valores foram semelhantes para ambos os tipos ($p > 0,05$). Com relação à força, os elásticos do tipo não látex apresentaram valores significativamente maiores, em comparação aos do tipo látex, nos períodos de 0, 24 e 72 horas ($p < 0,05$), apesar de ambos os elásticos terem apresentado uma redução dessa força ao longo do tempo. Por outro lado, apesar dos valores iniciais semelhantes, os elásticos do tipo não látex apresentaram diâmetro interno significativamente maior do que os de látex nos períodos de 24 e 72 horas ($p < 0,001$), sendo observado um aumento significativo do diâmetro interno ($p < 0,01$) em ambos os tipos, com o tempo. Com base nas metodologias utilizadas e nos resultados obtidos no presente estudo *in vitro*, pôde-se concluir que: a) a endotoxina foi aderida em ambos os tipos de elásticos, sem diferença significativa entre eles, evidenciando a alta afinidade por esses materiais; b) a microestrutura da superfície de ambos os elásticos apresentou irregularidades, inicialmente e nos períodos de 24 e 72 horas após ensaio de deformação; c) os elásticos não látex apresentaram maiores valores de força, porém a perda ocorreu nos dois tipos e; d) a deformação do diâmetro interno foi maior nos elásticos do tipo não látex.

Palavras-chave: Elásticos intermaxilares; Látex; Não látex; Endotoxina bacteriana; Microscopia confocal; Rugosidade superficial; Degradação de força; Diâmetro interno.

ABSTRACT

Romero ME. **Latex and non-latex intermaxillary orthodontic elastics: Quantification of bacterial endotoxin and evaluation of force degradation, internal diameter, micromorphological structure and surface roughness, *in vitro***. 82f. (Master thesis) - Ribeirão Preto: Faculty of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo. 2020.

The aim of this *in vitro* study was to compare latex and non-latex intermaxillary orthodontic elastics (Dentaurum, Newtown, PA, USA, 3/16 " diameter, medium strength) through the quantification of the adhered bacterial endotoxin, evaluation of the surface roughness, qualitative analysis of the superficial micromorphology and the evaluation of the force and internal diameter of these elastics, after deformation test. For the quantification of bacterial endotoxin, performed using the QCL-1000™ test in an ELISA reader, the orthodontic elastics were divided into 5 groups as follows: Experimental groups: latex (n = 12) and non-latex (n = 12) intermaxillary orthodontic elastics, contaminated for 24 hours by the previously prepared endotoxin solution; Negative Control Groups: latex (n = 6) and non-latex (n = 6) intermaxillary orthodontic elastics removed from their original packaging, without contamination by the endotoxin solution and; Positive Control Group (n = 6): stainless steel specimens (metallic replicates), contaminated by the endotoxin solution. The values were obtained in UE / mL and transformed into scores for statistical analysis. In parallel, a qualitative descriptive analysis of the structural micromorphology (n = 6 elastics of each latex and non-latex type) and quantitative analysis of surface roughness (values in μm) (n = 10 elastics of each type) were performed using confocal laser microscopy. These analyzes were performed at time 0 and after 24 and 72 hours in a strain test. Likewise, an evaluation of the force (values in g) and the internal diameter (values in mm) of both types of elastics (n = 10) was performed in the periods of 0, 24 and 72 hours, by means of dynamometer and digital caliper, respectively. Data were analyzed using the GraphPad Prism® 5 statistical program, using the Shapiro Wilk, Kruskal-Wallis, Dunn, ANOVA and Bonferroni tests, with a significance level of 5% adopted for all analyzes. According to the results obtained, it was observed that the bacterial endotoxin adhered to both tested elastics, with no statistically significant difference between latex, non-latex and stainless steel replicates ($p > 0.05$). The microstructure of the surface of both elastics showed irregularities and porosities, initially and in the periods of 24 and 72 hours after strain test. After 24 hours, the surface roughness of the latex elastics was significantly lower compared to non-latex elastics ($p < 0.001$), while in the 72 hours period the values were similar for both types ($p > 0.05$). Regarding force, the non-latex elastics showed significantly higher values, compared to the latex types, in the periods

of 0, 24 and 72 hours ($p < 0.05$), although both elastics have shown a reduction in force over time. On the other hand, despite similar initial values, the non-latex elastics had a significantly larger internal diameter than those of latex in the periods of 24 and 72 hours ($p < 0.001$), with a significant increase in the internal diameter ($p < 0.01$) in both types, through the time. Based on the methodologies used and the results obtained in the present *in vitro* study, it was concluded that: a) the endotoxin was adhered to both types of elastics, with no significant difference between them, evidencing the high affinity for these materials; b) the microstructure of the surface of both elastics showed irregularities in all periods; c) the non-latex elastics showed higher force values, however, the loss occurred in both types and; d) the deformation of the internal diameter was greater in the elastics of the non-latex type.

Keywords: Intermaxillary elastics; Latex; Not latex; Bacterial endotoxin; Confocal microscopy; Surface roughness; Degradation of force; Internal diameter.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. PROPOSIÇÃO	35
2.1. Objetivo Geral.....	37
2.2. Objetivos Específicos	37
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Quantificação da Endotoxina Bacteriana (LPS).....	41
3.1.1. <i>Preparo da solução de Endotoxina</i>	41
3.1.2. <i>Quantificação de Endotoxina Bacteriana (LPS) por meio do “Limulus Amebocyte Lysate”.....</i>	42
3.2. Avaliação da micromorfologia estrutural e da rugosidade superficial.....	43
3.3. Ensaio de Deformação.....	43
3.4. Avaliação da degradação da força e deformação do diâmetro interno.....	44
3.4.1. <i>Mensuração da força</i>	45
3.4.2. <i>Deformação do diâmetro interno.....</i>	45
4. RESULTADOS	47
4.1. Quantificação da Endotoxina Bacteriana	49
4.2. Análise micromorfológica estrutural superficial.....	49
4.4. Análise do diâmetro interno	55
5. DISCUSSÃO	57
6. CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS	71

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

Para a realização do tratamento ortodôntico corretivo são utilizados diversos materiais sólidos e elásticos na cavidade bucal (Steinberg e Eyal, 2004), incluindo bráquetes, bandas, mini-implantes, acrílico, fios, elásticos e ligaduras. Na presença desses aparatos, ocorre um aumento do biofilme bacteriano (de Almeida Cardoso et al., 2015; Nelson-Filho et al., 2011a; Andrucioi et al., 2019), especialmente devido à dificuldade de higienização (Faltermeier et al., 2008; Nassar et al., 2013; Bergamo et al., 2019a). Dessa forma, podem ocorrer alterações no meio bucal, como queda no pH salivar, retenção aumentada de biofilme e elevação dos níveis de micro-organismos na saliva (Atack et al., 1996; Anhoury et al., 2002; Jung et al., 2014; Bergamo et al., 2019b) e na superfícies dos dentes e dos aparatos ortodônticos (Taha et al., 2015), o que pode promover um aumento do risco ao desenvolvimento da cárie dental (manchas brancas ativas) e da doença periodontal (Anhoury et al., 2002; Lo et al., 2008; Sudjalim et al., 2007; Rechmann et al., 2018), caso não seja implementado um protocolo preventivo (Bergamo et al., 2019a). Durante os primeiros meses após a instalação dos aparelhos ortodônticos, mesmo pacientes com higiene bucal mecânica satisfatória, podem apresentar gengivite (Zachisson e Zachisson, 1972).

Estudos *in vivo* têm demonstrado que os diferentes aparatos ortodônticos metálicos são intensamente colonizados por micro-organismos cariogênicos e periodontopatogênicos (Magno et al., 2008; Peixoto et al., 2011; Andrucioi et al., 2012; Nelson-Filho et al., 2011a, 2011b; 2012; Bagatin et al., 2017; Bergamo et al., 2017; Andrucioi et al., 2019). Particularmente com relação aos patógenos periodontais, sabe-se que a microbiota supra e subgengival apresenta, predominantemente, micro-organismos anaeróbios, particularmente Gram-negativos (Jenkins e Papapanou, 2001).

É sabido que micro-organismos anaeróbios Gram-negativos apresentam moléculas de endotoxina bacteriana, também conhecidas como LPS (lipopolissacarídeos), na sua parede celular, as quais são liberadas durante a morte ou multiplicação bacteriana, e podem promover uma série de efeitos biológicos relevantes no ambiente em que se encontram (Rietschel e Brade, 1992; Leonardo et al., 2004; Lucisano et al., 2014), participando em diversos eventos da resposta imuno-inflamatória (Hook et al., 1970; Maidwell-Smith et al., 1987; Ren et al., 2005; Ou et al., 2017) e estimulando a reabsorção de tecidos mineralizados (Nelson-Filho et al., 2002).

Estudos têm demonstrado que a endotoxina bacteriana adere-se a bráquetes (Knoernschild et al., 1999; Nelson-Filho et al., 2011a), resinas acrílicas (Gagnon et al., 1994; Knoernschild et al., 1996), mini-implantes (Andrucioli et al., 2018), ligas metálicas (Knoernschild et al., 1997), implantes (Nelson et al., 1997), materiais cerâmicos (Robinson et al., 1996), ligaduras elastoméricas estéticas (Pinto et al., 2020) e a sistemas adesivos ortodônticos (Romualdo et al., 2017). Essa afinidade da endotoxina por diversos materiais pode aumentar a sua concentração no sulco gengival e contribuir para a ocorrência de inflamação dos tecidos adjacentes (Knoernschild et al., 1999).

Salienta-se que não há estudos publicados, até o momento, avaliando se a endotoxina bacteriana adere-se a elásticos intermaxilares e se a composição desses elásticos interfere nesse processo.

Além disso, durante o uso clínico, as propriedades químicas e mecânicas dos materiais ortodônticos são afetadas (Eliades e Bourauel, 2005), incluindo a variação da rugosidade (Taha et al., 2015). Estudos prévios verificaram que a rugosidade em diversos materiais odontológicos influenciou o seu comportamento clínico (Alves Filho et al., 2009; Guimarães et al., 2013; Hobbelink et al., 2015; Muguruma et al., 2017; Cury et al., 2019; Diener et al., 2019). De Albuquerque et al. (2017) avaliaram a rugosidade na superfície de arcos ortodônticos estéticos antes e após a deflexão, sendo os fios submetidos ao teste de resistência à flexão. Concluíram que a deflexão aumentou a rugosidade do arco ortodôntico estético, o que pode comprometer a estética durante o tratamento ortodôntico. Posteriormente, Papadopoulou et al. (2019) avaliaram as alterações da rugosidade superficial e as propriedades mecânicas de aparelhos Invisalign® ao longo de uma e duas semanas, observando que o tempo desempenhou um efeito prejudicial na rugosidade da superfície e nas propriedades mecânicas desse aparelho. No entanto, até o momento nenhum estudo avaliou a rugosidade superficial dos elásticos ortodônticos.

Na clínica ortodôntica, a utilização de elásticos constitui-se uma ferramenta indispensável e tem grande aplicabilidade durante o tratamento (Wong, 1976). Os elásticos são considerados elastômeros, os quais possuem a característica de retornar às suas dimensões originais após serem deformados, devido à sua estrutura geométrica e ao tipo de atração molecular existente entre eles (ligações químicas fracas) (Alexandre et al., 2008; Berthelot et al., 2014). Os elásticos intermaxilares são comumente indicados para correção de linha média, intercuspidação dentária,

ancoragem e para correções de maloclusões de Classe II ou Classe III. Vantagens como elevada resiliência, versatilidade e baixo custo justificam a ampla aplicação desses materiais no tratamento ortodôntico corretivo (Oliveira et al., 2017).

De acordo com sua composição, os elásticos podem ser de dois tipos: naturais (do tipo látex) e sintéticos (do tipo não látex). O látex natural é um polímero de isopropeno, composto por moléculas pesadas, proteínas e ácidos graxos (López et al., 2012). Em relação à sua estrutura química, estão constituídos por arranjos torcidos irregulares de cadeias moleculares longas e ligadas entre si em determinados pontos por ligações covalentes, como enxofre com 2 átomos de carbono (Fernandes et al., 2011) apresentando, assim, um elevado peso molecular (Guimarães et al., 2013). Estes polímeros são constituídos por ligações primárias e secundárias, apresentando um padrão espiral, com fraca atração molecular. Além disso, quando são deformados devido à aplicação de força, essas cadeias poliméricas ordenam-se em estrutura linear com algumas ligações cruzadas (Marafon e Soares, 2009).

Embora o látex não seja um alérgeno, o processo de vulcanização, realizado para aumentar sua resistência e elasticidade, envolve a adição de amônia e estabilizadores como óxido de zinco e outros agentes químicos, produzindo proteínas que são potencialmente alergênicas (Cronin, 1980).

Treze alérgenos de látex foram reconhecidos pela União Internacional de Sociedades Imunológicas. Com base em resultados de estudos publicados, Hev b 2 nativo, Hev b 5 recombinante, Hev b 6 nativo ou recombinante, Hev b 13 nativo e possivelmente Hev b 4 nativo foram considerados os principais alérgenos relevantes para adultos sensibilizados ao látex. Embora haja uma tendência para identificar e caracterizar alérgenos de látex amplamente com base em suas formas recombinantes, nem todas essas proteínas recombinantes foram totalmente validadas contra suas contrapartes nativas no que diz respeito ao significado clínico (Yeang, 2004).

Produtos derivados de látex são onipresentes e a alergia ao látex continua a ser um risco de saúde prevalente em muitas ocupações e para a população em geral (Wu et al., 2016).

As reações alérgicas mais comuns desenvolvidas pela equipe odontológica são alergias ao látex, acrilatos e formaldeído. Devido ao aumento do número de pacientes que apresentam reações alérgicas a diferentes materiais nos últimos anos, os cirurgiões-dentistas devem ter conhecimento sobre processos alérgicos

documentados a materiais conhecidos e, assim, evitar tais manifestações na clínica odontológica (Syed et al., 2015). Embora não haja estudos avaliando a afinidade de elásticos de látex por endotoxina, foi demonstrado que luvas de látex são contaminadas com elevadas quantidades de endotoxina, sendo considerado um possível fator para as reações de hipersensibilidade desencadeadas pelo contato com luvas desse material (Williams e Halsey, 1997).

Devido ao aumento no número de casos de sensibilidade ao látex, como consequência, iniciou-se a comercialização de produtos sem látex na sua composição (Kersey et al., 2003). Nesse sentido, os polímeros de borracha sintética foram desenvolvidos por indústrias petroquímicas, a partir da década de 1920, sendo sua utilização na Ortodontia difundida em 1960. Estes polímeros apresentam uma atração molecular constituída por ligações primárias e secundárias (Singh et al., 2012).

O produto sintético ou não látex é uma borracha de poliuretano, a qual é sintetizada por meio do alongamento de um poliéster ou de um polieterglicol (Dos Santos et al., 2012). Assim, os elásticos do tipo não látex são constituídos por polímeros artificiais que reproduzem as propriedades físicas da borracha natural, sendo denominados silicone e borracha de butadieno-estireno (Hwang e Cha, 2003).

Com relação às propriedades biológicas dos elásticos intermaxilares, nosso grupo de pesquisa publicou um estudo com o objetivo de avaliar *in vivo* a compatibilidade tecidual e o extravasamento plasmático em resposta a elásticos ortodônticos do tipo látex e não látex, implantados em tecido subcutâneo de ratos, bem como avaliar *in vitro* a estrutura superficial desses elásticos em microscopia eletrônica de varredura. Os parâmetros histopatológicos e inflamatórios demonstraram que, em curtos períodos de avaliação, os elásticos de látex apresentaram menor compatibilidade tecidual e maior agressão que os elásticos não látex. Além disso, a avaliação em MEV demonstrou que os elásticos do tipo não látex apresentaram uma estrutura física superficial mais homogênea e com ausência de porosidades, em comparação aos elásticos do tipo látex (Martinez-Colomer et al., 2016).

Hanson e Lobner, em 2004, demonstraram em cultura de células neuronais de camundongos que elásticos intermaxilares do tipo látex foram mais citotóxicos em relação aos elásticos livres de látex, com o maior índice de morte celular ocasionada pelo material de látex atribuído à elevada liberação de zinco.

A quantidade de endotoxina bacteriana aderida a ligaduras elastoméricas estéticas de poliuretano e de silicone (não látex) foram avaliadas recentemente pelo nosso grupo de pesquisa. Por meio de metodologias *in vitro* e *in vivo*, esse estudo demonstrou que esses materiais são fortemente contaminados por endotoxina bacteriana, sugerindo a necessidade de implementação de medidas preventivas, visando a saúde periodontal dos pacientes (Pinto et al., 2020). Esses resultados são relevantes clinicamente pelo fato de que qualquer material que permaneça em contato com a mucosa bucal por períodos prolongados pode desencadear respostas teciduais desfavoráveis (Martinez-Colomer et al., 2016).

Conforme salientado por Braun et al., em 2016, a morfologia de superfície e a composição química dos materiais podem influenciar diretamente nessas respostas teciduais. Assim, o conhecimento mais aprofundado sobre a rugosidade superficial, propriedades mecânicas e afinidade pela endotoxina bacteriana dos elásticos intermaxilares poderá ter influência, por exemplo, na escolha do tipo látex ou não látex e na determinação do período mais adequado para sua troca, durante o atendimento clínico.

Apesar da evolução dos elásticos ortodônticos, estes materiais ainda apresentam deficiências uma vez que as propriedades mecânicas dos elásticos podem ser afetadas por diferentes fatores próprios do material, como a perda de elasticidade, quantidade de força, composição e marca comercial (Tomé Júnior, 2008). Por outro lado, também existem fatores locais como a composição da saliva, alteração do pH salivar, a dieta e efeitos dos movimentos mandibulares, que também podem influenciar nas propriedades dos elásticos ortodônticos (Alexandre et al., 2008). A exposição a esses fatores resulta em um enfraquecimento das forças intermoleculares e, como consequência, ocorre a formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas de água e as macromoléculas do polímero (Marafon e Soares, 2009). Ainda, podem ser percebidas alterações no volume e na coloração dos elásticos utilizados no tratamento ortodôntico, como resultado do preenchimento de espaços vazios da matriz por fluidos e pela microbiota, o que determina um aumento da degradação da força liberada pelos elásticos ortodônticos (Marafon e Soares, 2009). Estudos recentes têm sido direcionados à avaliação do grau de deformação, degradação e características mecânicas dos elásticos intermaxilares, avaliando a influência dos fatores relacionados ao ambiente bucal, como variações no pH,

temperatura, ação microbiana e enzimática (Russell et al., 2001; Shailaja et al., 2016; Pithon et al., 2016; Oliveira et al., 2017; Nitrini et al., 2019).

Os elásticos não látex dependem de uma união estrutural em forma de entrelaçamento molecular que tem como objetivo limitar o relaxamento da força. Já os elásticos látex possuem ligações cruzadas covalentes, que resultam em uma melhor união e resistência à deformação (Russell et al., 2001). No entanto, estudos têm demonstrado que os elásticos sintéticos (não látex) apresentam uma degradação de força mais rápida, em comparação com os elásticos látex (López et al., 2012; Guimarães et al., 2013; Oliveira et al., 2017).

De acordo com a literatura específica, a força produzida pelo elástico está diretamente relacionada à distância entre os pontos de fixação, diâmetro e espessura do elástico (Vieira et al., 2013). Yang et al. (2020) descreveram que os valores de 100-150g são considerados como os ideais para a correção de maloclusões do tipo Classe II e III. Entretanto, com o decorrer do tempo, os elásticos possuem a propriedade de degradação da força, onde a magnitude de força inicial é reduzida e, como consequência, a movimentação dentária pode diminuir ou cessar, podendo aumentar o tempo de tratamento.

Estudos demonstraram que os elásticos látex apresentaram resultados mais consistentes que os elásticos não látex. Na prática clínica, os elásticos sintéticos deveriam apresentar propriedades mecânicas similares ou superiores aos elásticos látex. Assim, para serem utilizados no tratamento ortodôntico, necessitaria de uma abordagem distinta, sugerindo sua substituição clínica a cada 12 horas, enquanto que os elásticos látex poderiam ser substituídos a cada 72 horas (Vieira et al., 2013).

Assim, tendo em vista a ampla utilização dos elásticos intermaxilares na prática clínica, estudos avaliando sua afinidade com a endotoxina bacteriana, que é um potente estimulador da resposta inflamatória e da reabsorção óssea, são relevantes. Esse conhecimento pode conduzir à seleção do tipo mais adequado de elástico (látex ou não látex) e a realização de estudos adicionais, avaliando métodos para a inativação da endotoxina bacteriana, uma vez que esses elásticos são inseridos na cavidade bucal em íntimo contato com os tecidos moles. Além disso, a avaliação de propriedades morfológicas e mecânicas desses elásticos pode fornecer respaldo ainda maior para a periodicidade de sua substituição, durante o tratamento ortodôntico, a fim de manter seu desempenho clínico adequado.

2. Proposição

2. PROPOSIÇÃO

2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral do presente estudo *in vitro* foi quantificar a endotoxina bacteriana aderida à superfície e avaliar a degradação de força, o diâmetro interno, a estrutura micromorfológica e a rugosidade de elásticos ortodônticos dos tipos látex e não látex.

2.2. Objetivos Específicos

- Quantificar a endotoxina bacteriana aderida aos elásticos ortodônticos do tipo látex e não látex, por meio do teste *Limulus Amebocyte Lysate*;
- Avaliar a rugosidade superficial e a variação em função do tempo e distensão (análise quantitativa) dos elásticos ortodônticos do tipo látex e não-látex, em microscopia confocal.
- Analisar a micromorfologia superficial (análise qualitativa) dos elásticos ortodônticos do tipo látex e não látex, em microscopia confocal.
- Avaliar a força e o diâmetro interno dos elásticos ortodônticos utilizados em diferentes períodos, por meio do ensaio de deformação e uso de dinamômetro e paquímetro digital.

3. Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Quantificação da endotoxina bacteriana (LPS)

Todo o material utilizado, incluindo ponteiras, tubos de vidro, tubos plásticos (tubos Falcon), placas de Petri e placas de cultura de células, foi obtido diretamente do fabricante e livre de pirogênio. As pinças para manuseio dos elásticos no laboratório foram submetidas à esterilização em estufa de despirogenização à seco (Lab-Line Imperial V Gravity Convection Ovens – Barnstead International – Massachusetts, USA), a 200°C, durante 2 horas. Para a quantificação da endotoxina bacteriana foi utilizada a metodologia descrita por Pinto et al. (2020).

3.1.1. Preparo da solução de Endotoxina

A solução de endotoxina bacteriana foi preparada a partir de um frasco com 350mg de endotoxina liofilizada de *Escherichia coli* (Lipopolysaccharide B *E. coli* 055:B5 – Sigma Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA). O conteúdo foi suspenso em 4,7mL de água livre de pirogênio no fluxo laminar, originando uma solução de concentração igual a 25ng/mL. Posteriormente, a contaminação foi efetuada por meio da imersão das amostras na solução, em tubos de vidro com tampa medindo 10x75mm, livres de pirogênio (*Pyrogen-free tubes*, BioWhittaker, Cambrex Corporate, NJ, USA), sendo colocados em incubadora (Incubadora 430/RDB, Nova Ética, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil) a 37°C, por 24 horas, sob agitação (126rpm). Para quantificação da endotoxina bacteriana aderida, foram constituídos os seguintes grupos experimentais e controles:

- ✓ **Grupos experimentais:** elásticos ortodônticos intermaxilares do tipo látex (n=12) e do tipo não látex (n=12) (Dentaurum, Newtown, PA, EUA, diâmetro 3/16”, de força média), os quais contaminados pela solução de endotoxina previamente preparada.
- ✓ **Grupos controles negativos:** elásticos do tipo látex (n=6) e do tipo não látex (n=6), retirados diretamente das suas embalagens originais.
- ✓ **Grupo controle positivo:** corpos de prova de aço inoxidável (réplicas metálicas) (n=6), os quais foram confeccionados em formato idêntico aos elásticos ortodônticos na Oficina de Precisão da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto e, posteriormente, contaminados com a solução de endotoxina previamente preparada.

3.1.2. Quantificação de Endotoxina Bacteriana (LPS) por meio do “*Limulus Amebocyte Lysate*”

As amostras dos grupos experimentais e controles foram depositadas individualmente em novos tubos com tampa de 10x75mm, livres de pirogênio, contendo 1mL de água livre de pirogênio (solução de recuperação). Em seguida, os tubos foram colocados na cuba ultrassônica (Ultracleaner USC 1600A, Unique, Indaiatuba, SP, Brasil) por 15 minutos, para a liberação da endotoxina presente nos materiais. Em uma placa de poliestireno de 96 poços apirogênica (96 Wells Cell Culture Cluster – non pyrogenic- Corning Incorporated – Tewksbury, MA, USA), foram pipetadas 50µL das soluções preparadas de cada concentração de padrão conhecido (1UE/mL; 0,5 UE/mL; 0,25 UE/mL; 0,1 UE/mL; 0 UE/mL) e 50µL do controle negativo (água apirogênica). Nos demais poços da placa, foram pipetados 50µL de cada amostra obtida dos grupos experimentais e controles, as quais foram diluídas em água apirogênica em uma proporção de 1:1, baseada em padronização obtida em estudo prévio (Pinto et al., 2020).

O ensaio de liberação da endotoxina bacteriana na solução de recuperação (UE/mL, Unidades de Endotoxina por mililitro) foi efetuado através do teste QCL-1000™ (*Limulus Amebocyte Lysate QCL-1000™*, Lonza Walkersville, MD, USA), seguindo as instruções do fabricante. A concentração de endotoxina nas amostras foi determinada pela curva padrão, a partir de quantidades conhecidas de endotoxina. Posteriormente, em cada poço do grupo experimental foram acrescentados 50µL do *Limulus Amebocyte Lysate (LAL)*, seguido de agitação por 15 segundos e incubação por 10 minutos, a 37°C. A seguir, foram adicionados 100µL do substrato cromogênico em ausência de luz e mantendo uma taxa de pipetagem constante, seguido de agitação e incubação por 6 minutos. Posteriormente, foram acrescentados 100µL de reagente de parada (25% v/v de ácido acético glacial em água), a fim de interromper a reação.

As absorbâncias de cada amostra foram obtidas em um leitor de ELISA (Ultramark, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) a 410nm. As absorbâncias resultantes foram diretamente proporcionais à concentração de endotoxina presente nos poços (valores pertencentes à correlação linear: 0,1 - 1,0 EU/mL).

A concentração de endotoxina em cada amostra foi calculada a partir da seguinte fórmula:

[Endotoxina bacteriana] = Valor de absorvância (curva padrão) x fator de diluição

Para a realização da análise estatística, os valores das concentrações de endotoxina foram categorizados em três escores (Romualdo et al., 2017):

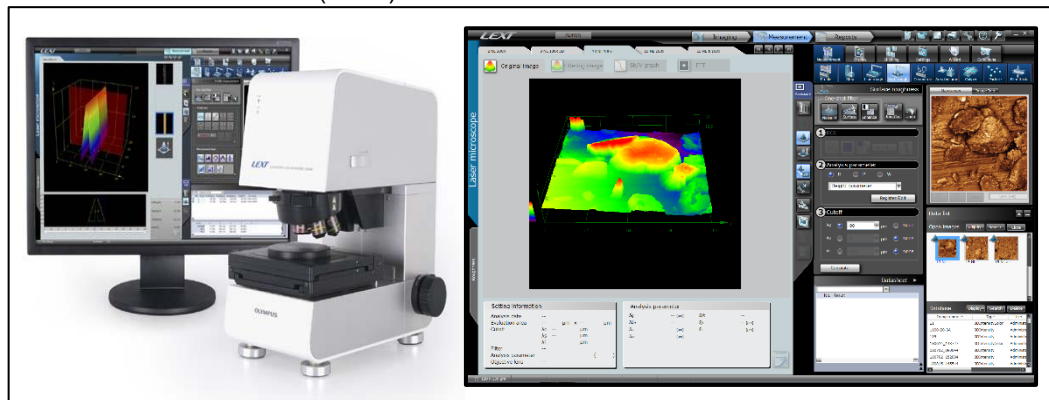
- escore 1 (concentração $\leq 0,5$ UE/mL)
- escore 2 (0,51 a 1,0 UE/mL)
- escore 3 ($>1,0$ UE/mL)

3.2. Avaliação da micromorfologia estrutural e da rugosidade superficial

Inicialmente, os elásticos do tipo látex (n=6) e do tipo não-látex (n=6) (Dentaurum, Newtown, PA, EUA, diâmetro 3/16”, de força média) foram retirados de suas embalagens originais e analisados no microscópio confocal a laser 3D (LEXT OLS4000® Olympus, Japão) (Figura 1). Essa análise consistiu tanto de uma descrição qualitativa da morfologia estrutural em imagens obtidas nos aumentos de 20 e 100X e de imagens 3D, quanto da avaliação quantitativa da rugosidade superficial, por meio de imagens da superfície de cada elástico no aumento de 10X (leitura em μm , em uma área de $0,5\text{mm}^2$). As imagens foram analisadas por meio do software OLS4000 (Olympus, Japão).

A micromorfologia estrutural e a rugosidade superficial também foram avaliadas após o Ensaio de Deformação, descrito a seguir.

Figura 1- Análise micromorfológica e de rugosidade dos elásticos intermaxilares dos tipos látex e não látex: A) Microscópio confocal a laser 3D. B) Imagem do elástico analisada com o software OLS4000 (100X).



3.3. Ensaio de deformação

Para simulação da deformação dos elásticos ortodônticos intermaxilares, placas especiais de acrílico contendo pinos metálicos foram confeccionadas (Figura 2). Os elásticos intermaxilares dos tipos látex (n=10) e não látex (n=10) foram retirados das suas embalagens originais, adaptados nos pinos metálicos e distendidos a uma distância de 20mm, gerando uma força de aproximadamente 150 gramas. A distância escolhida simulou o estiramento do elástico intermaxilar necessário para o tratamento ortodôntico de maloclusões do tipo Classes II e III, em que o elástico é alongado 3 vezes o seu diâmetro. Os elásticos foram mantidos esticados durante 72 horas e todo o conjunto (placa de acrílico, pinos e elásticos) permaneceu imerso em recipientes de plástico contendo saliva artificial, composta por benzoato de sódio a 0,1%, cloreto de cálcio a 0,0166%, cloreto de potássio a 0,0625%, cloreto de sódio a 0,0865, cloreto de magnésio a 0,0055%, fluoreto de sódio a 0,0004%, fosfato de potássio dibásico a 0,0803%, nipagin (conservante) a 0,1%, sorbitol líquido a 4,274% e 1.000mL de água purificada, com pH entre 5 e 6 (Req. 701906, Laboratorio da Terra, Ribeirão Preto, SP, Brasil), a qual foi trocada a cada 24 horas (Oliveira et al., 2017). Após os períodos experimentais de 24 e de 72 horas, a morfologia estrutural e a rugosidade superficial foram novamente avaliadas em microscópio confocal, segundo a metodologia descrita anteriormente.

Figura 2- Placa de acrílico contendo pinos metálicos, utilizada para a fixação dos elásticos ortodônticos intermaxilares e realização do Ensaio de Deformação.



3.4. Avaliação da degradação da força e deformação do diâmetro interno

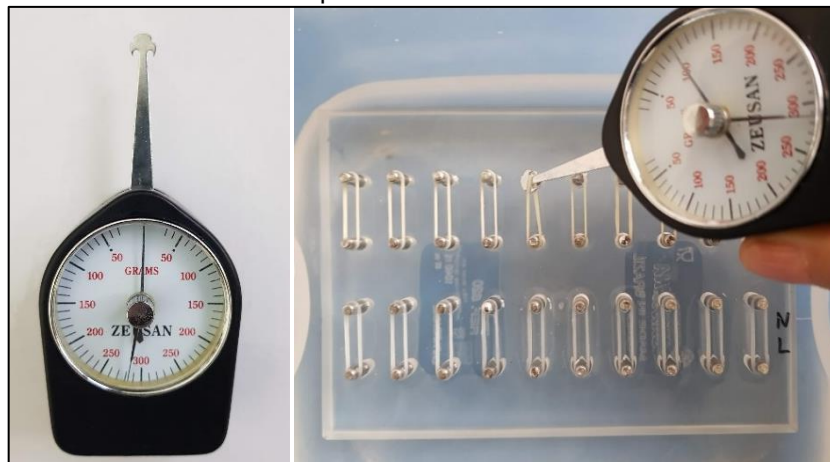
Para avaliar a intensidade de força e deformação do diâmetro interno dos elásticos intermaxilares ortodônticos dos tipos látex e não látex, o conjunto anteriormente descrito (placa de acrílico, pinos e elásticos) foi novamente utilizado.

Os elásticos foram mantidos alongados durante o período experimental de 72 horas e removidos apenas para realizar as medições.

3.4.1. Mensuração da força

As leituras de força foram realizadas com auxílio de um dinamômetro (Zeusan, SP, Brasil) (Figura 3). Cada elástico foi removido individualmente da parte superior dos dispositivos metálicos, sendo realizada a avaliação da força (em gramas), nos intervalos de tempo de 0, 24 e 72 horas.

Figura 3- Avaliação da força dos elásticos. A) Dinamômetro (Zeusan, SP, Brasil). B) Medição com o auxílio do dinamômetro dos elásticos intermaxilares por meio do registro de valores, em gramas, nos elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex.



3.4.2. Deformação do diâmetro interno

O diâmetro interno de cada elástico foi medido usando paquímetro digital (Digimess, SP, Brasil) (Figura 4). A medição (em mm) foi realizada no tempo 0 e após 24 e 72 horas, para cada elástico ortodôntico.

Figura 4- Paquímetro digital (Digimess, SP, Brasil) utilizado para a mensuração da deformação do diâmetro interno dos elásticos dos tipos látex e não látex, após ensaio de deformação, nos períodos experimentais de 0, 24 e 72 horas.



3.5. Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o software estatístico GraphPad Prism® 5 (GraphPad Software In., San Diego, Califórnia, EUA). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste Shapiro Wilk. Os dados de endotoxina bacteriana (escores) foram analisados por meio do teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. Os demais dados obtidos foram apresentados como média \pm DP (desvio-padrão), sendo analisados pelos testes ANOVA e Bonferroni. Os valores $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes em todas as comparações.

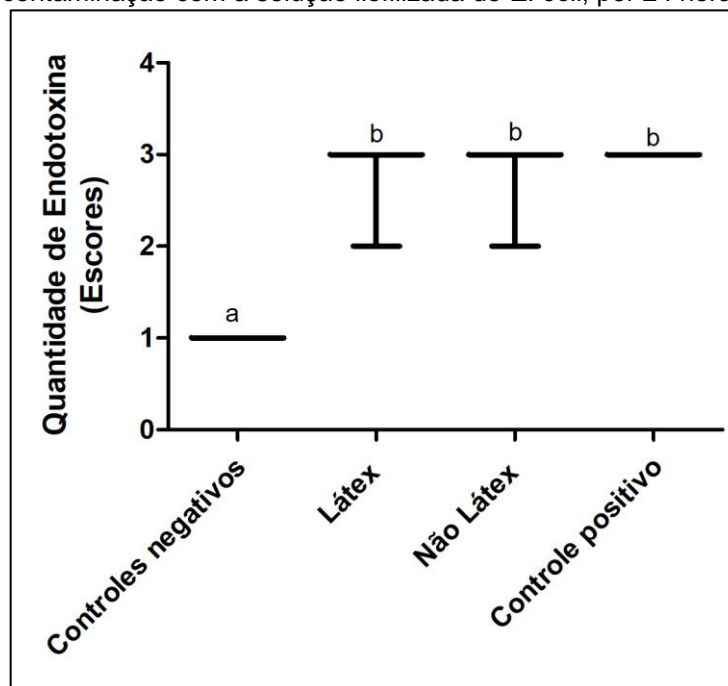
4. Resultados

4. RESULTADOS

4.1. Quantificação da endotoxina bacteriana

A quantidade da endotoxina bacteriana foi similar entre os elásticos dos tipos látex, não látex e grupo controle positivo (aço inoxidável), sem diferença estatística significativa entre esses grupos ($p > 0,05$). Já o grupo controle negativo, composto pelos elásticos do tipo látex e não látex sem contaminação prévia com LPS, apresentou quantidade significativamente menor de endotoxina em comparação aos demais grupos ($p < 0,0001$) (Figura 5).

Figura 5- Quantidade de endotoxina bacteriana (escores) em elásticos intermaxilares dos tipos látex e não látex após sua contaminação com a solução liofilizada de *E. coli*, por 24 horas.



4.2. Análise micromorfológica estrutural superficial

A morfologia dos elásticos foi avaliada a partir de fotomicrografias (20X e 100X) e de imagens 3D obtidas em microscopia confocal a laser (Figuras 6, 7 e 8), antes e após 24 e 72 horas da distensão dos elásticos a uma distância de 20mm e submersão em saliva artificial.

No período inicial (antes da deformação), o elástico do tipo látex se apresentou com inúmeras rugosidades e microesferas. Por outro lado, o elástico do tipo não látex apresentou uma morfologia mais lisa e homogênea, com algumas estruturas cristalóides na sua superfície (Figura 6).

No período de 24 horas, foi possível verificar a formação de microfissuras e aspecto estriado, nos elásticos do tipo látex. Já os elásticos do tipo não látex apresentaram superfície mais porosa, com múltiplas estruturas cristaloides, além de porosidades e depressões distribuídas de forma heterogênea (Figura 7).

Após 72 horas, os elásticos do tipo látex apresentaram uma superfície irregular, rugosa e com porosidades. Os elásticos do tipo não látex também apresentaram superfície rugosa, com sulcos e estruturas cristalóides (Figura 8).

Figura 6- Fotomicrografias dos elásticos dos tipos látex (A, B, C) e não látex (D, E, F) nos aumentos de 20x (A, D), 100x (B, E) e imagens 3D a 100x (C, F), na avaliação inicial, antes da deformação. O elástico látex apresentou uma morfologia rugosa (seta: microesferas distribuídas homogeneamente na superfície externa do elástico em 2D e 3D). Já o elástico não látex apresentou uma superfície mais homogênea e mais lisa (estrela: presença de algumas estruturas cristalóides e ausência de microesferas na estrutura).

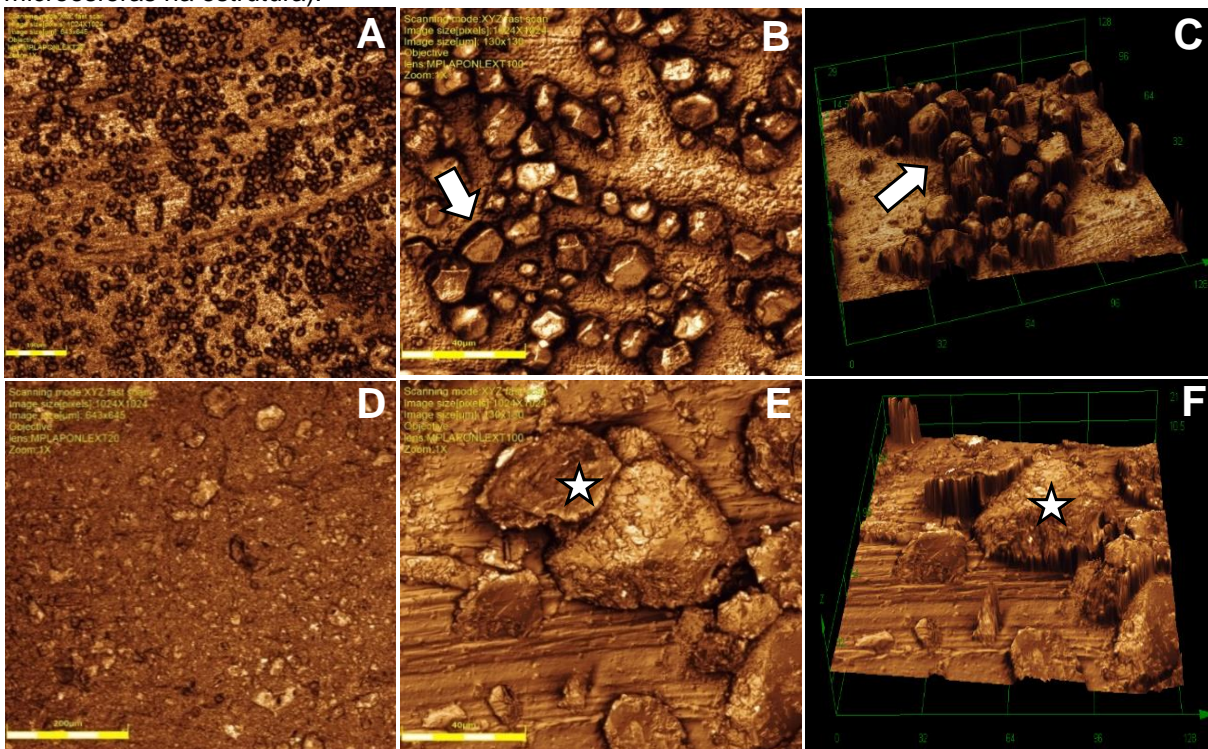


Figura 7- Fotomicrografias dos elásticos dos tipos látex (A, B, C) e não látex (D, E, F) em aumentos de 20x (A, B, D, E) e 100x (C, F), após 24 horas de deformação. O elástico do tipo látex demonstrou um aspecto estriado, com múltiplas microfissuras (seta). O elástico do tipo não látex apresentou uma superfície mais rugosa, com múltiplas estruturas cristalóides na superfície, porosidades e depressões distribuídas heterogeneamente (estrela).

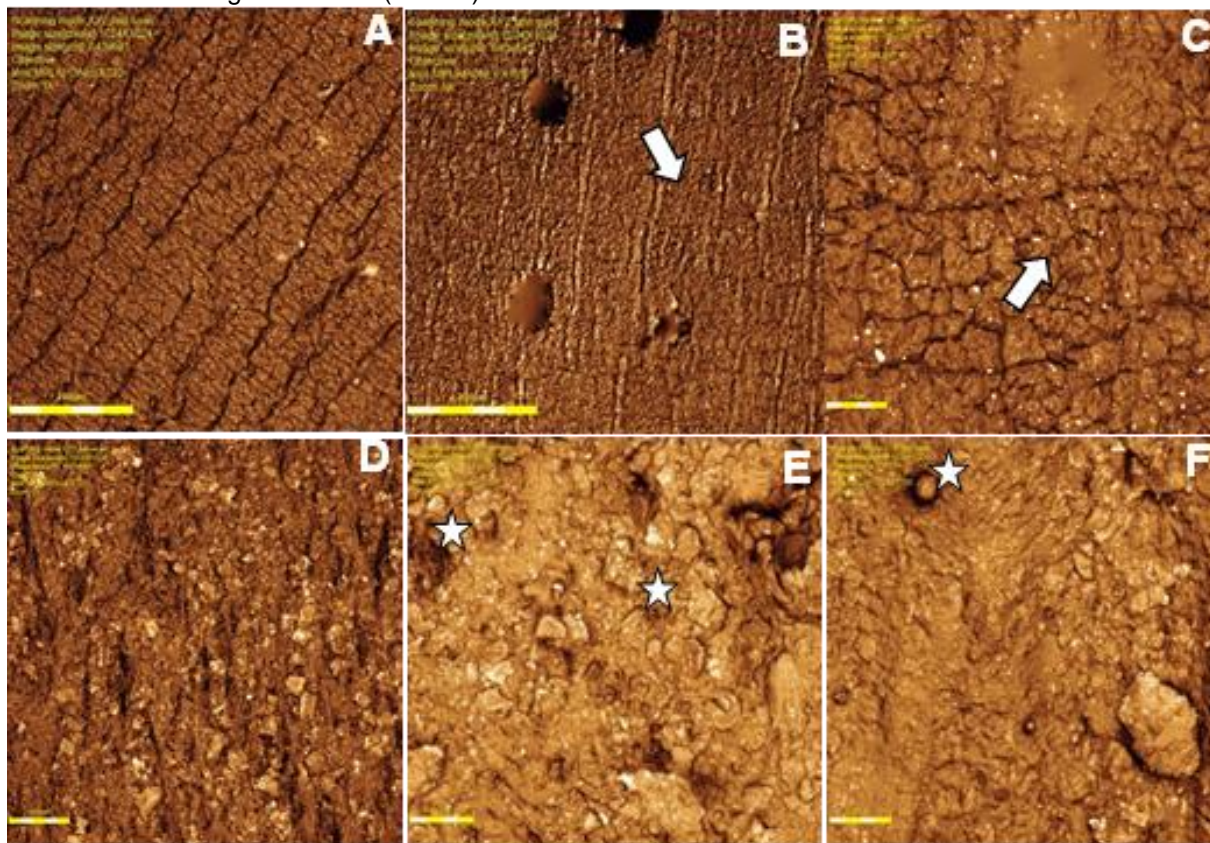
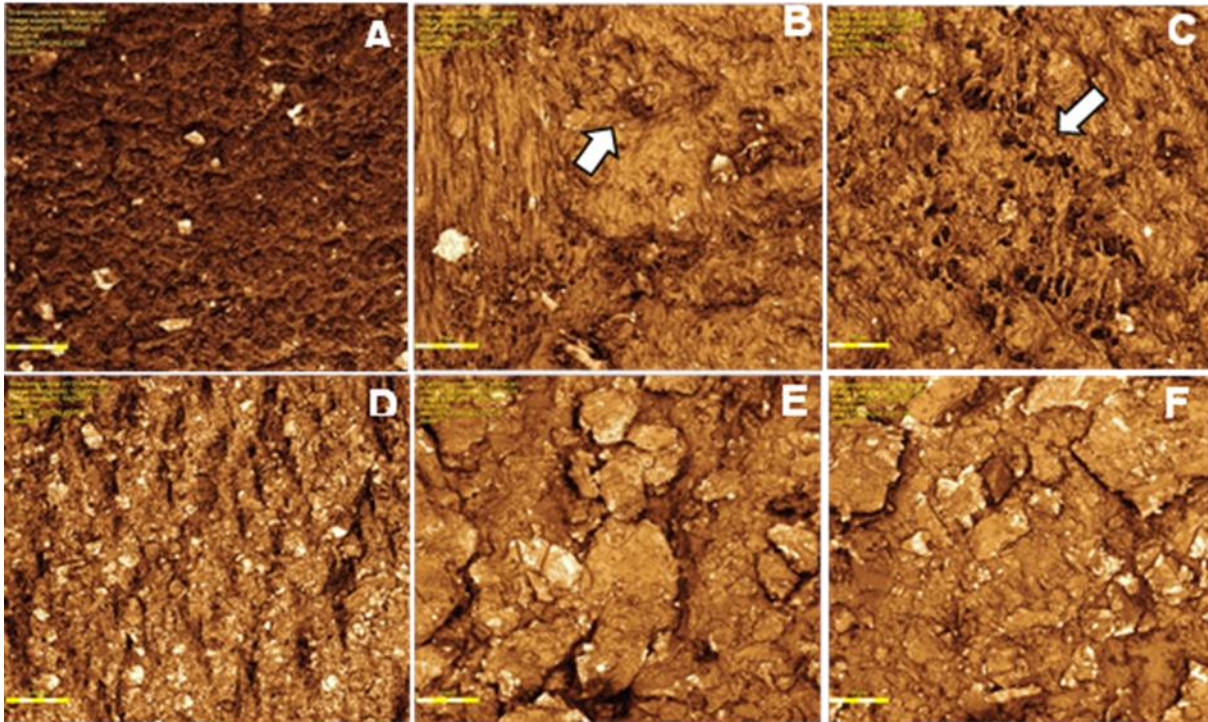


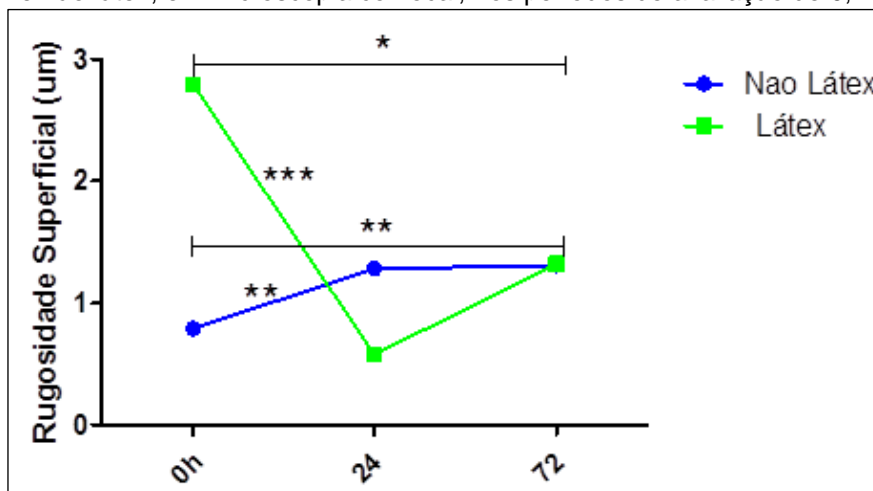
Figura 8- Fotomicrografias dos elásticos dos tipos látex (A, B, C) e não látex (D, E, F) em aumentos de 20x (A, D) e 100x (B, C, E, F), após 72 horas de deformação. Nos elástico látex, observou-se uma morfologia irregular rugosa, com porosidades e depressões (seta). Os elásticos do tipo não latex apresentaram sulcos com múltiplas estruturas cristalóides na superfície.



4.3. Avaliação da rugosidade superficial

De acordo com a Figura 9, pode-se observar que o elástico do tipo látex apresentou uma diminuição significativa da rugosidade ($p < 0,01$) no período inicial de 24 horas, seguido de um aumento não significativo ($p > 0,05$) entre 24 e 72 horas. Por outro lado, o elástico de tipo não látex apresentou um aumento significativo da rugosidade ($p < 0,001$) no período inicial 24 horas, permanecendo quase no mesmo nível ($p > 0,05$) até o final do experimento (72 horas).

Figura 9- Representação gráfica dos dados de rugosidade superficial obtidos dos elásticos ortodônticos dos tipos látex e não látex, em microscopia confocal, nos períodos de avaliação de 0, 24 e 72 horas.

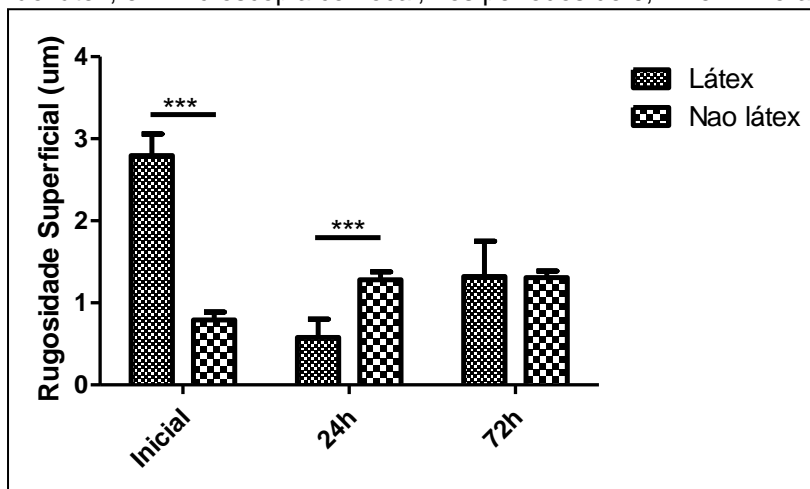


Comparando-se o período de 72 horas com o tempo inicial de 0 horas, observou-se que o elástico do tipo látex apresentou uma diminuição significativa da rugosidade ($p < 0,01$), enquanto o elástico não látex mostrou um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de rugosidade.

Quando se comparou os dados obtidos de ambos os elásticos ortodônticos (Figura 10), pôde-se observar que, na avaliação inicial, o elástico do tipo látex apresentou uma rugosidade superficial maior ($p < 0,001$) que o elástico não látex ($2,794 \pm 0,26$; e $0,793 \pm 0,29$, respectivamente). No entanto, após 24h, enquanto ocorreu uma diminuição significativa na rugosidade superficial dos elásticos do tipo látex observou-se também um aumento na rugosidade no elástico não látex, com diferença estatística entre os dois materiais ($p < 0,001$) ($0,578 \pm 0,22$ e $1,283 \pm 0,29$, respectivamente). Após 72 horas, a comparação entre os valores de rugosidade superficial dos elásticos intermaxilares do tipo látex e não látex não apresentaram diferença significativa ($1,323 \pm 0,42$; e $1,308 \pm 0,25$, respectivamente) ($p > 0,05$).

De uma maneira geral, os resultados da avaliação de rugosidade superficial permitiram observar que, embora ambos os tipos de elásticos intermaxilares tenham apresentado valores similares após 72 horas, o elástico do tipo látex apresentou uma diminuição da rugosidade ao longo do tempo, enquanto que o elástico do tipo não látex apresentou um comportamento mais uniforme, sofrendo um aumento de menor magnitude em relação ao período inicial.

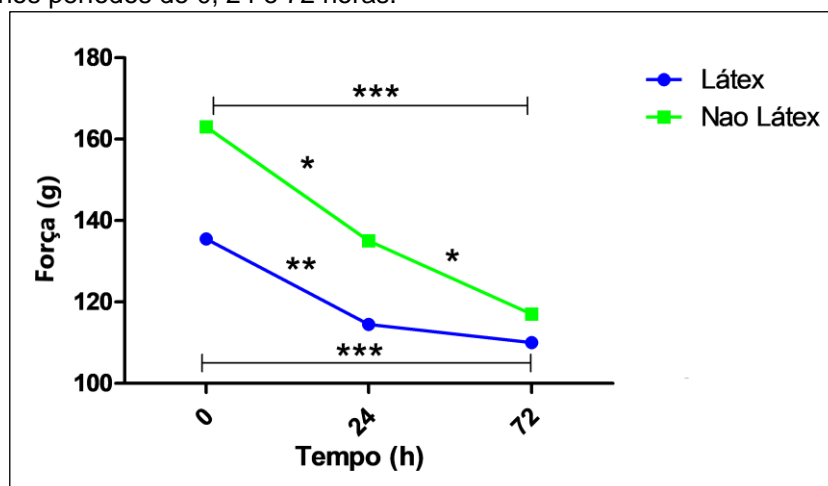
Figura 10- Representação gráfica da avaliação comparativa da rugosidade superficial dos elásticos dos tipos látex e não látex, em microscopia confocal, nos períodos de 0, 24 e 72 horas.



4.4 Avaliação da degradação da força

A Figura 11 demonstra que os elásticos dos tipos látex e não látex mostraram uma redução significativa da força ($p < 0,01$ e $< 0,05$, respectivamente), após 24 horas de deformação. No período de 72 horas, a força no elástico do tipo não látex diminuiu significativamente ($p < 0,05$). No entanto, no elástico do tipo látex, a degradação se manteve quase a mesma, com uma ligeira redução, sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Figura 11- Representação gráfica da avaliação da degradação da força dos elásticos ortodônticos dos tipos látex e não látex, nos períodos de 0, 24 e 72 horas.

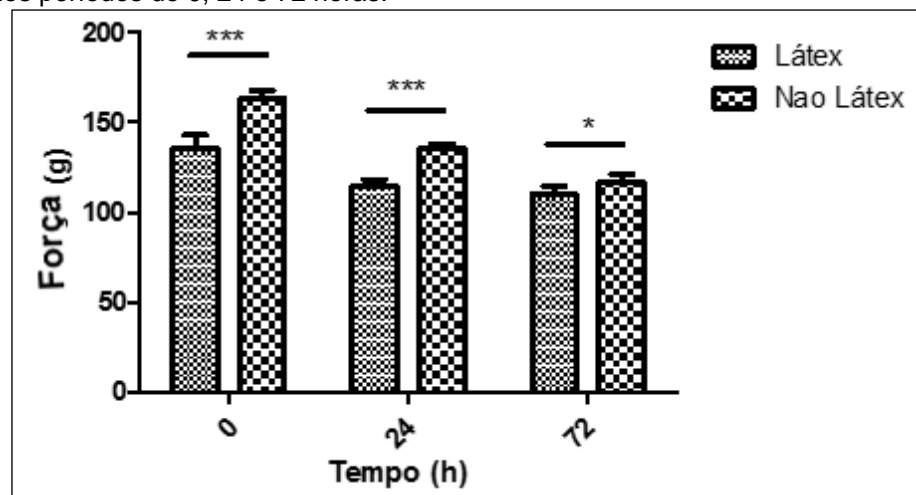


Comparando-se os períodos de 0 e 72 horas, observou-se que ambos os elásticos apresentaram uma degradação significativa da força ($p < 0,001$), sendo de 18,82% para o elástico do tipo látex e de 28,22% para o elástico do tipo não látex.

Na Figura 12, comparando-se ambos elásticos ortodônticos em cada período de avaliação, observou-se que na ausência de distensão (0h), o elástico do tipo látex apresentou um menor valor inicial de força, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$) em relação ao elástico do tipo não látex (135g e 163g, respectivamente). À semelhança do que foi observado no período inicial, após a distensão dos elásticos, o elástico do tipo látex apresentou valores inferiores de força, em comparação aos elásticos do tipo não látex nos períodos de 24 horas (114g e 135g, respectivamente; $p < 0,001$) e 72 horas (110g e 117g, respectivamente, $p < 0,05$).

Esses resultados indicam que os elásticos do tipo látex apresentaram valores menores de força e uma redução gradual e mais uniforme da mesma, atingindo valores próximos aos obtidos pelos elásticos do tipo não látex, após 72 horas de deformação.

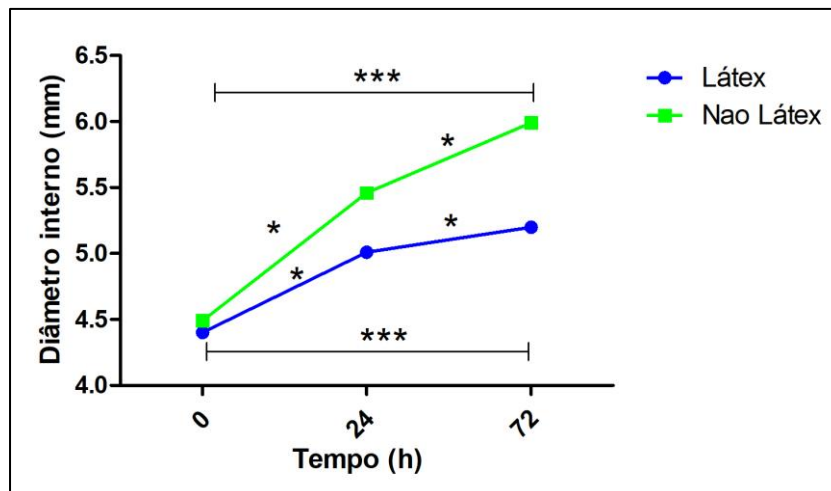
Figura 12- Representação gráfica da avaliação comparativa da força dos elásticos dos tipos látex e não látex, nos períodos de 0, 24 e 72 horas.



4.4. Análise do diâmetro interno

A partir da Figura 13, pôde-se observar que os elásticos dos tipos látex e não látex apresentaram um aumento significativo no diâmetro interno ($p < 0,05$), após 24 e 72 horas de deformação.

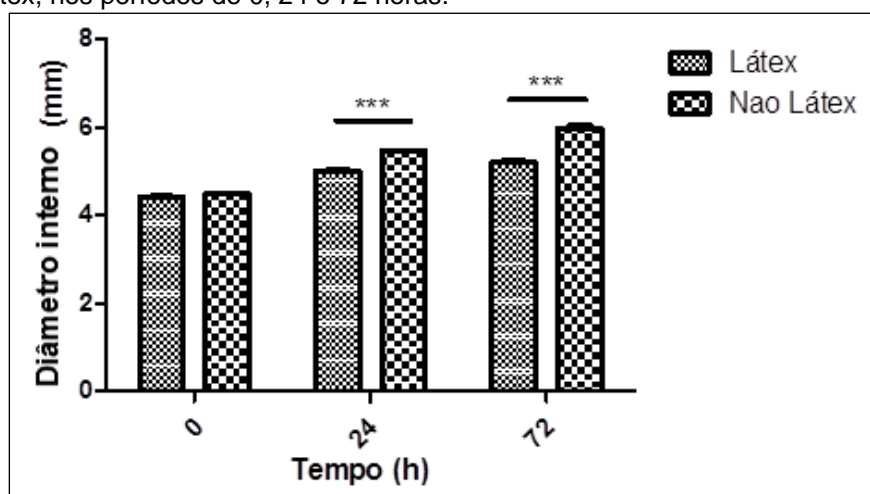
Figura 13- Representação gráfica do aumento do diâmetro interno dos elásticos ortodônticos dos tipos látex e não látex, nos períodos de 0, 24 e 72 horas.



Comparando-se os períodos de 0 e 72 horas, foi observado que ambos os tipos de elásticos apresentaram um aumento significativo ($p < 0,001$) no diâmetro dos elásticos, sendo de 18,18% para o elástico do tipo látex e de 33,41% para o elástico do tipo não látex.

Na comparação dos valores médios obtidos de diâmetro interno (Figura 14), pode-se observar que, na ausência de distensão (0 horas), ambos os tipos de elásticos apresentaram diâmetros internos similares (látex: 4,4mm; não látex: 4,49mm; $p > 0,05$). Após os períodos de 24 e 72 horas, o diâmetro interno foi significativamente maior nos elásticos do tipo não látex ($p < 0,001$), em comparação aos elásticos do tipo látex.

Figura 14- Representação gráfica da avaliação comparativa do diâmetro interno dos elásticos dos tipos látex e não látex, nos períodos de 0, 24 e 72 horas.



5. Discussão

5. DISCUSSÃO

Os elásticos são amplamente utilizados durante o tratamento ortodôntico (Topouzelis e Palaska, 2009; Nitrini et al., 2019, El-Boke e Abbas, 2020). O conhecimento detalhado da sua morfologia estrutural de superfície é importante para sua correta indicação e desempenho durante esse tratamento. Paralelamente, a sua permanência na cavidade bucal pode ocasionar rápida degradação, uma vez que esses elásticos estão expostos à saliva, às forças mastigatórias e variações de temperatura e pH. Outro fator importante é a formação de biofilme bacteriano sobre a superfície dos elásticos, que irão sofrer a ação dos produtos e subprodutos bacterianos, incluindo o LPS. Além disso, a distensão realizada para a utilização de elásticos intermaxilares e, conseqüentemente, aplicação de forças, pode influenciar em suas propriedades físicas e mecânicas, podendo interferir diretamente na efetividade do tratamento ortodôntico. Assim, o objetivo do presente estudo foi quantificar, *in vitro*, a endotoxina bacteriana (LPS) aderida, além de avaliar a rugosidade superficial, micromorfologia estrutural, degradação de força e diâmetro interno de elásticos ortodônticos intermaxilares dos tipos látex e não látex.

Com relação à quantificação de LPS, diferentes estudos na literatura odontológica têm utilizado o teste LAL (*Limulus Amebocyte Lysate*) para avaliação dessa contaminação, assim como para avaliar a efetividade de diferentes estratégias terapêuticas direcionadas à redução ou eliminação das moléculas de endotoxina (Martinho et al., 2011; Silva et al., 2017; Martinho et al., 2018; Rovai et al., 2019; Aveiro et al., 2020). Além disso, estudos do nosso grupo de pesquisa demonstraram a alta afinidade do LPS bacteriano, avaliada pelo teste LAL, a diferentes aparatos utilizados durante o tratamento ortodôntico, como bráquetes metálicos, adesivos ortodônticos e ligaduras elastoméricas (Nelson-Filho et al., 2011c; Romualdo et al., 2017; Pinto et al., 2020). À semelhança do que se observou nesses estudos, os presentes resultados demonstraram a alta afinidade da endotoxina bacteriana por elásticos intermaxilares dos tipos látex e não látex, uma vez que ambos foram altamente contaminados pela endotoxina liofilizada, sem diferença estatisticamente significativa entre os dois tipos de elásticos.

O LPS pode atuar como contaminante durante o processo de fabricação de produtos à base de látex, como luvas e cateteres (Haishima et al., 2001; Howell et al., 2004). No entanto, os resultados do presente estudo evidenciaram que os elásticos

intermaxilares não sofreram contaminação por LPS durante o processo de fabricação, uma vez que não foi possível observar sua presença nos elásticos dos tipos látex e não látex, após serem retirados de sua embalagem original.

Como já salientado, a endotoxina bacteriana é liberada da parede celular dos micro-organismos anaeróbios Gram-negativos, após sua morte ou sua multiplicação. Essa molécula liberada conduz a uma série de efeitos biológicos (Rietschel e Brade, 1992; Leonardo et al., 2004; Lucisano et al., 2014), incluindo indução de reação inflamatória e reabsorção óssea (Rietschel e Brade, 1992; Nelson-Filho et al., 2002; Silva et al., 2002; Jiang et al., 2003; Kanno et al., 2016; Guimarães-Stabili et al., 2020). Sabe-se que a endotoxina apresenta alta afinidade por metais (Lieder et al., 2013), incluindo bráquetes (Knoernschild et al., 1999; Nelson-Filho et al., 2011b) e mini-implantes (Andrucioli et al., 2018). Essa afinidade foi comprovada no presente estudo, uma vez que o grupo controle positivo, composto por réplicas metálicas dos elásticos intermaxilares, apresentaram grande contaminação pela endotoxina (apenas valores acima de 1.0 EU/mL).

Sabendo-se da alta afinidade da endotoxina por materiais metálicos como bráquetes e mini-implantes, no presente estudo foi efetuada a quantificação de endotoxina em elásticos intermaxilares, a fim de verificar se havia diferença entre os tipos látex e não látex. Esse conhecimento apresenta aplicabilidade clínica, pois esses elásticos entram em contato com os tecidos moles e, se estiverem altamente contaminados, poderiam ocasionar ou exacerbar processos inflamatórios nesses tecidos, justificando a necessidade de trocas mais frequentes dos elásticos. De acordo com os nossos resultados, a endotoxina apresentou afinidade pelos elásticos de látex e não látex, indistintamente, sem diferença significativa entre os dois tipos. Esse fato evidencia que o tipo de material utilizado para a confecção dos elásticos intermaxilares não interferiu significativamente na sua contaminação por LPS bacteriano, sem vantagem para um tipo ou outro (látex ou não látex). Levando-se em consideração que o nível aceitável de endotoxina para produtos médico-hospitalares é menor do que 0,5 EU (FDA, 2012), verifica-se que a quantidade de endotoxina que permaneceu aderida à superfície dos elásticos de látex e não látex (valores acima de 1,0 EU/mL) foi elevada. Em 2020, nosso grupo de pesquisa realizou um estudo *in vitro* (Pinto et al., 2020) onde foi realizada a quantificação de endotoxina em ligaduras elastoméricas estéticas de silicone e de poliuretano, evidenciando adesão em todos os materiais testados com níveis variando de 1,15 a 1,22 EU/mL. Esses resultados não podem ser

comparados aos obtidos no presente estudo, em função da diferença nas dimensões (ligaduras elastoméricas são menores que elásticos intermaxilares) e na composição dos materiais avaliados.

Pelo exposto, com relação à quantificação da endotoxina bacteriana, os resultados do presente estudo demonstraram que os elásticos de ambas as composições (látex e não látex) se comportaram de maneira semelhante, evidenciando alta afinidade do LPS, sem diferenças entre eles, e em quantidades semelhantes às detectadas nas réplicas metálicas empregadas como controle positivo.

Por outro lado, em 2011, Nelson-Filho et al. verificaram, em estudo clínico, que o uso de bochechos com solução de gluconato de clorexidina a 0,12% ocasionou morte bacteriana e maior liberação de endotoxina, que se aderiu aos bráquetes. Assim, o controle dos níveis de endotoxina não é obtido, após bochecho com essa solução. Esse fato ressalta a importância do desenvolvimento de procedimentos clínicos ou de novos agentes antimicrobianos, que apresentem ação sobre a endotoxina bacteriana. Uma opção mais imediata seria a substituição mais frequente dos elásticos intermaxilares, em situações clínicas.

Com relação à microestrutura superficial, apesar das diferenças metodológicas, os resultados do presente estudo em microscopia confocal foram concordantes com os obtidos por Martínez-Colomer et al. (2016). Esses autores compararam elásticos intermaxilares de látex e não látex, após implantação no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos e avaliação microscópica e quantificação de extravasamento de plasma e de análise da estrutura de superfície por microscopia eletrônica de varredura. Concluíram que os elásticos de látex foram mais irritantes quando em contato com o tecido conjuntivo, em comparação aos não látex, nos períodos iniciais. Em microscopia eletrônica de varredura, os elásticos de látex apresentaram uma superfície mais porosa, com microesferas, provavelmente decorrentes do processo de fabricação. Os elásticos não látex apresentaram estruturas cristaloides, também decorrentes do processo de fabricação, e superfície sem porosidades.

Ressalta-se que Martínez-Colomer et al. (2016) realizaram a avaliação microscópica dos elásticos intermaxilares em um único período de tempo, ou seja, após remoção dos mesmos de suas embalagens originais. Assim, a comparação

direta com os diferentes períodos de tempo (24 e 72 horas após deformação) utilizados no presente estudo, torna-se impossibilitada.

No presente estudo, decorridas 24 e 72 horas da deformação, ambos os tipos de elásticos se comportaram de forma semelhante, apresentando superfície irregular, rugosa e com porosidades. Ressalta-se que essas irregularidades, presentes em ambos os tipos de elásticos, podem atuar como sítios de retenção de microorganismos, como já salientado por Magno et al. (2008), reforçando a afirmativa de Martínez-Colomer et al. (2016) de que a compatibilidade dos elásticos intermaxilares não depende apenas de sua composição química, mas também de sua estrutura física, pois essas imperfeições superficiais podem afetar sua resposta biológica quando em contato com os tecidos moles da cavidade bucal.

Na prática clínica, recomenda-se que os elásticos intermaxilares sejam substituídos várias vezes ao dia, uma vez ao dia, ou até mesmo a cada 3 dias (Dos Santos et al., 2012; Vieira et al., 2013; Alavi et al., 2014; Qodcieh et al., 2017; Ardani et al., 2018; Nitrini et al., 2019). De acordo com dos Santos et al. (2010) e Martínez-Colomer et al. (2016), a reação inflamatória em modelo animal ou em cultura de células ocorre com maior intensidade nos períodos iniciais, decrescendo com o decorrer do tempo. Assim, do ponto de vista biológico, esses resultados sugerem que os elásticos intermaxilares devam ser mantidos por períodos mais longos.

No entanto, outros aspectos devem ser avaliados pois, caso os elásticos sejam mantidos por períodos maiores, pode haver degradação da força, deformação e aumento da porosidade. A rugosidade superficial pode ser destacada entre as características estruturais dos materiais de uso na Odontologia e Ortodontia, como resinas compostas (Mei et al., 2011; Lee et al., 2018; Park et al., 2019), adesivos (Ahn et al., 2010; An et al., 2017; Liu et al., 2018; Jeón et al., 2020), bráquetes (Ghasemi et al., 2017; Tupinambá et al., 2017), arcos de níquel-titânio (Kim et al., 2014; Taha et al., 2015; Abrahan et al., 2017), sendo uma propriedade que irá influenciar negativamente na adesão bacteriana.

De acordo com os resultados da avaliação da rugosidade superficial, no presente estudo, embora os dois tipos de elásticos tenham apresentado valores similares após 72 horas, o elástico do tipo látex, apesar da maior rugosidade inicial, apresentou melhor comportamento, devido à diminuição da rugosidade ao longo do tempo, notadamente no período de 24 horas.

A rugosidade da superfície está diretamente relacionada às formas de micro-relevos inerentes ao material, sendo que as superfícies rugosas tendem a abrigar bactérias, promover a absorção de pigmentos e aumentar a deterioração da superfície (Migliorati et al., 2015). Diversos métodos já foram utilizados para avaliar a rugosidade de superfície dos materiais dentários. A microscopia confocal é uma ferramenta de alta resolução sendo, atualmente, considerada eficaz em estudos de superfície de materiais, além de possibilitar a obtenção de imagens topográficas sem requer manuseio da amostra (Al-Shammery et al., 2007).

Além de alteração da rugosidade superficial, o uso prolongado de elásticos ortodônticos poderá alterar o seu diâmetro interno assim como a força gerada por esses dispositivos ao longo do tratamento ortodôntico. Assim, a degradação de força é um parâmetro importante para que os elásticos desempenhem adequadamente suas funções. Nesse sentido, Shailaja et al. (2016) investigaram a influência dos níveis de pH na redução da força em três marcas diferentes de elásticos ortodônticos de látex e não látex. Esses autores concluíram que independentemente da marca comercial e composição dos elásticos, os diversos níveis de pH não influenciaram significativamente na degradação da força em relação ao intervalo de tempo.

De acordo com os nossos achados, os elásticos intermaxilares do tipo não látex apresentam maiores valores de força em todos os períodos experimentais (0, 24 e 72 horas), porém maiores níveis de perda com o tempo. Os resultados do presente estudo *in vitro* estão de acordo com os obtidos pelas pesquisas *in vivo* de Qodcieh et al. (2017) e de Nitrini et al. (2019). Qodcieh et al., em 2017, avaliaram, *in vivo*, a degradação de força de elásticos intermaxilares de látex durante 48 horas e demonstraram que 50% da degradação ocorreu nas primeiras 4 a 5 horas, sugerindo a substituição diária desses elásticos. Em 2019, Nitrini et al. compararam a degradação da força, também em elásticos intermaxilares de látex, em pacientes, após uso por diferentes períodos. Observaram que os elásticos usados por 1, 12, e 24 horas tiveram valores de força similares, com diferença significativa com relação aos usados por 48 horas. Assim, indicaram também a substituição desses elásticos a cada 24 horas de uso.

De acordo com Kanchana e Godfrey (2000), elásticos ortodônticos de látex exibiram degradação de força notável, de aproximadamente 30%, após a primeira hora de estiramento e imersão em água, mas com uma média de menos de 7% de perda adicional em até 3 dias. Os nossos resultados corroboram com esses achados,

uma vez que os elásticos de látex apresentaram uma perda de força significativa após 24 horas do ensaio de deformação, e entre 24 e 72 horas, essa perda foi menos intensa, sem significância estatística. Também concordante com os achados do presente estudo, Dos Santos e colaboradores (2012) relataram que elásticos intermaxilares dos tipos látex e não látex apresentaram um comportamento parecido quanto à degradação de força, visto que após as primeiras 24 horas de distensão e submersão em saliva artificial, ocorreu o maior declínio de força, de aproximadamente 11%, sendo que após 48 horas, esse percentual não se alterou significativamente.

Semelhantemente, Alavi et al. (2014) avaliaram a quantidade inicial e a consistência da força após 24 horas de estiramento e imersão em saliva artificial de três marcas comerciais de elásticos do tipo não látex de força média. Os autores demonstraram que 4 a 7,5 % da degradação da força ocorreu após 1 hora e 19 a 38% dessa perda ocorreu após 24 horas, sugerindo a substituição de elásticos intermaxilares do tipo não látex várias vezes ao dia.

Estudos indicaram diferenças nas propriedades mecânicas, como a força inicial e degradação dessa força, entre elásticos dos tipos látex e não látex (Ardani et al., 2018). Concordando parcialmente com os nossos resultados, Notaroberto et al. (2018) demonstraram que os valores de força dos elásticos não látex inicialmente (tempo 0) foram ligeiramente maiores do que dos elásticos de látex, porém, nos tempos subsequentes (1, 3, 12 e 24 horas), as forças geradas pelos elásticos de látex apresentaram valores superiores. Ainda, os autores evidenciaram que a maior perda de força ocorreu após a primeira hora de uso, permanecendo uma perda mais sutil nos demais intervalos de tempo, sendo sempre de maior magnitude para os elásticos não látex. Com base em seus resultados, Notaroberto e colaboradores sugeriram que os elásticos de látex apresentam um comportamento *in vivo* mais estável durante o período avaliado, em comparação aos elásticos não látex, sugerindo que estes devem ser trocados com maior frequência.

Paralelamente, Vieira et al. (2013) analisaram as forças geradas por elásticos látex e não látex *in vitro*, submetidos ao alongamento de até seis vezes o seu diâmetro interno. Esses autores demonstraram que, apesar de terem apresentado valores superiores no tempo inicial, os elásticos sintéticos apresentaram uma redução da força mais abrupta com o tempo, sugerindo clinicamente, que os mesmos devem ser substituídos com maior frequência. De forma semelhante, López et al. (2012) avaliaram a degradação da força de duas marcas comerciais de elásticos ortodônticos

látex e não látex submetidos a alongamento contínuo, demonstrando uma maior degradação da força para os elásticos não látex. Esse comportamento de perda de força acentuada dos elásticos sintéticos foi confirmado no presente estudo.

De acordo com Oliveira e colaboradores (2017), os elásticos sintéticos (não látex) apresentaram maiores valores de força inicialmente (tempo 0), em relação aos elásticos de látex, concordando com os nossos resultados. No entanto, após 72 e 504 horas de distensão a uma distância de 20mm e imersão em saliva artificial, os elásticos do tipo látex da mesma marca comercial (Dentaurum) exibiram valores superiores em relação aos sintéticos, diferentemente dos nossos achados que revelaram valores de força sempre superiores para os elásticos do tipo não látex, em todos os períodos experimentais. Adicionalmente, Segundo Oliveira et al. (2017), a degradação de força dos elásticos não látex foi significativamente maior do que dos elásticos de látex, em todos os intervalos de tempo, apresentando uma variação de menor magnitude entre 24 e 72 horas, concordando com os nossos achados.

Por outro lado, de acordo com os resultados do estudo clínico de Pithon et al. (2016), no período final do experimento (24 horas), não houve diferença significativa entre os elásticos dos tipos látex e não látex, com relação à degradação de força. Essa ausência de diferença na perda de força entre os tipos de elásticos, após 24 horas, foi discordante dos achados do presente estudo *in vitro*, que evidenciou redução significativa dos valores de força após esse período para ambos os elásticos.

Adicionalmente, no presente estudo, observou-se uma redução nos valores de força entre os períodos de 24 e 72 horas, para ambos os elásticos, sendo essa perda estatisticamente significativa para os elásticos do tipo não látex, reforçando a indicação de substituição diária desses elásticos.

Salienta-se que é importante definir a quantidade de força ideal necessária para a mecânica intermaxilar, assim como para realizar uma medição da extensão do elástico necessária para atingir tal magnitude. Essa mensuração deve ser realizada com o auxílio do dinamômetro, o que influenciará na escolha do elástico em cada situação clínica (Cabrera et al., 2003).

Pithon et al. (2016) avaliaram também, clinicamente, outras propriedades físicas de elásticos intermaxilares dos tipos látex e não látex de 3,2mm, 6,35mm, e 7,94mm. Os autores demonstraram que ambos os tipos de elásticos apresentaram deformação e aumento no diâmetro interno após 12 e 24 horas, o que está de acordo com o observado no presente estudo.

Com relação ainda ao diâmetro interno, observamos que após os períodos de 24 e 72 horas, os valores foram significativamente maiores nos elásticos do tipo não látex, em comparação aos elásticos do tipo látex. Adicionalmente, o presente estudo demonstrou que o diâmetro interno dos elásticos não látex sofreu um aumento de maior magnitude. Esses resultados são concordantes com os obtidos por Bertoncini et al. (2006), que observaram que os elásticos do tipo não látex mostraram maior deformação do diâmetro interno, após 24 horas de uso clínico. A variação do diâmetro interno de elásticos intermaxilares de diversas marcas comerciais também foi avaliada por Oliveira e colaboradores (2017). Semelhantemente aos nossos resultados, os autores também observaram que os elásticos do tipo não látex exibiram maior grau de deformação em todos os intervalos experimentais, reforçando a indicação para serem substituídos em menor período de uso clínico.

Finalizando, a análise global dos resultados obtidos no presente estudo evidenciou que: a quantificação de endotoxina não sofreu interferência da composição do elástico intermaxilar; os elásticos do tipo não látex apresentaram um aumento na rugosidade após 24 horas, atingindo valores superiores em relação aos elásticos de látex, porém apresentando uma variação mais uniforme; os elásticos não látex exibiram maiores valores de força em todos os períodos (0, 24 e 72 horas), apesar dessa força ter diminuído ao longo do tempo, assim como observado para os elásticos do tipo látex e; os elásticos do tipo não látex apresentaram maior diâmetro interno nos períodos de 24 e 72 horas, em comparação aos de látex, sendo esse aumento significativo ao longo dos períodos.

Os resultados do presente estudo podem oferecer orientação aos ortodontistas na seleção de elásticos e no período mais adequado para sua substituição, além de fornecer uma compreensão da micromorfologia superficial e do comportamento mecânico desses materiais, que irão influenciar diretamente no desempenho clínico durante a mecânica ortodôntica.

6. Conclusão

6. CONCLUSÃO

Com base nas metodologias utilizadas e nos resultados obtidos no presente estudo *in vitro*, pôde-se concluir que:

- A endotoxina foi aderida em ambos os tipos de elásticos, sem diferença significativa entre eles, evidenciando a alta afinidade da endotoxina por esses materiais.
- A microestrutura da superfície de ambos os elásticos apresentou irregularidades e porosidades, inicialmente e nos períodos de 24 e 72 horas após ensaio de deformação.
- Os elásticos não látex apresentaram maiores valores de força, porém a perda ocorreu nos dois tipos de materias.
- A deformação do diâmetro interno foi maior nos elásticos do tipo não látex.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Abraham KS, Jagdish N, Kailasam V, Padmanabhan S. Streptococcus mutans adhesion on nickel titanium (NiTi) and copper-NiTi archwires: A comparative prospective clinical study. *Angle Orthod.* 2017;87(3):448-454.
2. Ahn SJ, Lim BS, Lee SJ. Surface characteristics of orthodontic adhesives and effects on streptococcal adhesion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010;137(4):489-95.
3. Alavi S, Tabatabaie AR, Hajizadeh F, Ardekani AH. An In-vitro Comparison of Force Loss of Orthodontic Non-Latex Elastics. *J Dent (Tehran).* 2014 Jan;11(1):10-6.
4. Albuquerque CG, Correr AB, Venezian GC, Santamaria M Jr, Tubel CA, Vedovello SA. Deflection and Flexural Strength Effects on the Roughness of Aesthetic-Coated Orthodontic Wires. *Braz Dent J.* 2017 Jan-Feb;28(1):40-45.
5. Alexandre LP, Oliveira Júnior G, Dressano D, Paranhos LR, Scanavini MA. An evaluation of the mechanical properties of elastic ligatures and power chains in orthodontics. *Odonto (São Bernardo do Campo).* 2008; 16(32):53-63.
6. Al-Shammery HA, Bubb NL, Youngson CC, Fasbinder DJ, Wood DJ. The use of confocal microscopy to assess surface roughness of two milled CAD-CAM ceramics following two polishing techniques. *Dent Mater.* 2007 Jun;23(6):736-41.
7. Alves Filho AO, Rocha RO, Mascaro MSB, Imparato JCP, Raggio DP. In Vitro Evaluation of the Surface Roughness of Glass Ionomer Cements Used in the Atraumatic Restorative Treatment. *Pesqui Bras Odontopediatria Clín Integr.* 2009;9(2): 229-233.
8. An JS, Kim K, Cho S, Lim BS, Ahn SJ. Compositional differences in multi-species biofilms formed on various orthodontic adhesives. *Eur J Orthod.* 2017;1;39(5):528-533.
9. Andruccioli MCD, Matsumoto MAN, Fukada SY, Saraiva MCP, Bergamo AZN, Romano FL, Silva RABD, Silva LABD, Nelson-Filho P. Quantification of pro-inflammatory cytokines and osteoclastogenesis markers in successful and failed orthodontic mini-implants. *J Appl Oral Sci.* 2019 Oct 7;27:e20180476.
10. Andruccioli MCD, Matsumoto MAN, Saraiva MCP, Feres M, Figueiredo LC, Sorgi CA, Faccioli LH, Silva RABD, Silva LABD, Nelson-Filho P. Successful and failed mini-implants: microbiological evaluation and quantification of bacterial endotoxin. *J Appl Oral Sci.* 2018 Jul 10;26:e20170631.
11. Anhoury P, Nathanson D, Hughes CV, Socransky S, Feres M, Chou LL. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. *Angle Orthod.* 2002 Aug;72(4):338-43.

12. Ardani IGAW, Susanti B, Djaharu'ddin I. Force degradation trend of latex and nonlatex orthodontic elastics after 48 hours stretching. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2018 Oct 11;10:211-220.
13. Atack NE, Sandy JR, Addy M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances. A review. *J Periodontol*. 1996 Feb;67(2):78-85.
14. Aveiro E, Chiarelli-Neto VM, de-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Marciano MA, Feres M, Gomes BPF. Efficacy of reciprocating and ultrasonic activation of 6% sodium hypochlorite in the reduction of microbial content and virulence factors in teeth with primary endodontic infection. *Int Endod J*. 2020;53(5):604-618.
15. Bagatin CR, Andruccioli MCD, Ferreira JTL, Matsumoto MAN, da Silva RAB, da Silva LAB, Romano FL, Nelson-Filho P. Biofilm formation in Haas palatal expanders with and without use of an antimicrobial agent: an in situ study. *Microsc Res Tech*. 2017 May;80(5):471-477.
16. Bergamo AZN, de Oliveira KMH, Matsumoto MAN, Nascimento CD, Romano FL, da Silva RAB, da Silva LAB, Nelson-Filho P. Orthodontic appliances did not increase risk of dental caries and periodontal disease under preventive protocol. *Angle Orthod*. 2019a Jan;89(1):25-32.
17. Bergamo AZN, Matsumoto MAN, Nascimento CD, Andruccioli MCD, Romano FL, Silva RAB, Silva LAB, Nelson-Filho P. Microbial species associated with dental caries found in saliva and in situ after use of self-ligating and conventional brackets. *J Appl Oral Sci*. 2019b;27:e20180426.
18. Bergamo AZN, Nelson-Filho P, Andruccioli MCD, do Nascimento C, Pedrazzi V, Matsumoto MAN. Microbial complexes levels in conventional and self-ligating brackets. *Clin Oral Investig*. 2017 May;21(4):1037-1046.
19. Berthelot K, Lecomte S, Estevez Y, Zhendre V, Henry S, Thévenot J, Dufourc EJ, Alves ID, Peruch F. Rubber particle proteins, HbREF and HbSRPP, show different interactions with model membranes. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Jan;1838(1 Pt B):287-99.
20. Bertoncini C, Cioni E, Grampi B, Gandini P. In vitro properties' changes of latex and non-latex orthodontic elastics. *Prog Orthod*. 2006;7(1):76-84.
21. Braun U, Lorenz E, Weimann C, Sturm H, Karimov I, Ettl J, Meier R, Wohlgemuth WA, Berger H, Wildgruber M. Mechanic and surface properties of central-venous port catheters after removal: A comparison of polyurethane and silicon rubber materials. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016 Dec;64:281-91.
22. Cabrera MC, Cabrera CAG, Henriques JFC, Freitas MR, Janson G. Elásticos em Ortodontia: Comportamento e Aplicação Clínica. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial*. 2003; 8(1):115-129.

23. Cronin, E. Rubber. In: E. Cronin (ed.). Contact dermatites. New York: Churchill Livingstone; 1980: pp.714-70.
24. Cury SE, Aliaga-Del Castillo A, Pinzan A, Sakoda KL, Bellini-Pereira SA, Janson G. Orthodontic brackets friction changes after clinical use: A systematic review. *J Clin Exp Dent*. 2019 May 1;11(5):e482-e490.
25. de Almeida Cardoso M, Saraiva PP, Maltagliati LA, Rhoden FK, Costa CCA, Normando D, Capelozza Filho L. Alterations in plaque accumulation and gingival inflammation promoted by treatment with self-ligating and conventional orthodontic brackets. *Dental Press J Orthod*. Mar-Apr 2015;20(2):35-41.
26. Diener V, Polychronis G, Erb J, Zinelis S, Eliades T. Surface, Microstructural, and Mechanical Characterization of Prefabricated Pediatric Zirconia Crowns. *Materials (Basel)*. 2019 Oct 9;12(20):3280.
27. dos Santos RL, Pithon MM, Martins FO, Romanos MT, de Oliveira Ruellas AC. Evaluation of the cytotoxicity of latex and non-latex orthodontic separating elastics. *Orthod Craniofacial Res*. 2010;13:28–33.
28. Dos Santos RL, Pithon MM, Romanos MTV. The influence of pH levels on mechanical and biological properties of nonlatex and latex elastics. *Angle Orthod*. 2012 Jul;82(4):709-14.
29. El-Bokle D, Abbas NH. A novel method for the treatment of Class II malocclusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2020 Oct;158(4):599-611.
30. Eliades T, Bourauel C. Intraoral aging of orthodontic materials: the picture we miss and its clinical relevance. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2005 Apr;127(4):403-12.
31. Faltermeier A, Bürgers R, Rosentritt M. Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to esthetic bracket materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008 Apr;133(4 Suppl):S99-103.
32. Fernandes DJ, Abrahão GM, Elias CN, Mendes AM. Force relaxation characteristics of medium force orthodontic latex elastics: a pilot study. *ISRN Dent*. 2011;2011:536089.
33. Gagnon F, Knoernschild KL, Payant L, Tompkins GR, Litaker MS, Schuster GS. Endotoxin affinity for provisional restorative resins. *J Prosthodont*. 1994 Dec;3(4):228-36.
34. Ghasemi T, Arash V, Rabiee SM, Rajabnia R, Pourzare A, Rakhshan V. Antimicrobial effect, frictional resistance, and surface roughness of stainless steel orthodontic brackets coated with nanofilms of silver and titanium oxide: a preliminary study. *Microsc Res Tech*. 2017;80(6):599-607.

35. Guimarães GS, de Moraes LS, de Souza MM, Elias CN. Superficial morphology and mechanical properties of in vivo aged orthodontic ligatures. *Dental Press J Orthod.* 2013 May-Jun;18(3):107-12.
36. Guimaraes-Stabili MR, de Medeiros MC, Rossi D, Camilli AC, Zanelli CF, Valentini SR, Spolidorio LC, Kirkwood KL, Rossa C Jr. Silencing matrix metalloproteinase-13 (Mmp-13) reduces inflammatory bone resorption associated with LPS-induced periodontal disease in vivo. *Clin Oral Investig.* 2020 Nov 2.
37. Haishima Y, Murai T, Nakagawa Y, Hirata M, Yagami T, Nakamura A. Chemical and biological evaluation of endotoxin contamination on natural rubber latex products. *J Biomed Mater Res.* 2001 Jun 5;55(3):424-32.
38. Hanson M, Lobner D. In vitro neuronal cytotoxicity of latex and nonlatex orthodontic elastics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004 Jul;126(1):65-70.
39. Hobbelink MG, He Y, Xu J, Xie H, Stoll R, Ye Q. Synergistic effect of wire bending and salivary pH on surface properties and mechanical properties of orthodontic stainless steel archwires. *Prog Orthod.* 2015;16:37.
40. Hook WA, Snyderman R, Mergenhagen SE. Histamine-releasing factor generated by the interaction of endotoxin with hamster serum. *Infect Immun.* 1970 Oct;2(4):462-7.
41. Howell MD, Tomazic VJ, Leakakos T, Truscott W, Meade BJ. Immunomodulatory effect of endotoxin on the development of latex allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 May;113(5):916-24.
42. Hwang CJ, Cha JY. Mechanical and biological comparison of latex and silicone rubber bands. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2003 Oct;124(4):379-86.
43. Jenkins WM, Papapanou PN. Epidemiology of periodontal disease in children and adolescents. *Periodontol 2000.* 2001;26:16-32.
44. Jeon DM, An JS, Lim BS, Ahn SJ. Orthodontic bonding procedures significantly influence biofilm composition. *Prog Orthod.* 2020;1;21(1):14.
45. Jiang J, Zuo J, Hurst IR, Holliday LS. The synergistic effect of peptidoglycan and lipopolysaccharide on osteoclast formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 Dec;96(6):738-43.
46. Jung WS, Kim H, Park SY, Cho EJ, Ahn SJ. Quantitative analysis of changes in salivary mutans streptococci after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2014 May;145(5):603-9.
47. Kanchana P, Godfrey K. Calibration of force extension and force degradation characteristics of orthodontic latex elastics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2000 Sep;118(3):280-7.
48. Kanno Y, Ishisaki A, Miyashita M, Matsuo O. The blocking of uPAR suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory osteoclastogenesis and the resultant

- bone loss through attenuation of integrin β 3/Akt pathway. *Immun Inflamm Dis*. 2016 Aug 2;4(3):338-49.
49. Kersey ML, Glover KE, Heo G, Raboud D, Major PW. A comparison of dynamic and static testing of latex and nonlatex orthodontic elastics. *Angle Orthod*. 2003 Apr;73(2):181-6.
50. Kim IH, Park HS, Kim YK, Kim KH, Kwon TY. Comparative short-term in vitro analysis of mutans streptococci adhesion on esthetic, nickel-titanium, and stainless-steel arch wires. *Angle Orthod*. 2014 Jul;84(4):680-6.
51. Knoernschild KL, Rogers HM, Lefebvre CA, Fortson WM, Schuster GS. Endotoxin affinity for orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1999 Jun;115(6):634-9.
52. Knoernschild KL, Tompkins GR, Lefebvre CA, Griffiths LL, Schuster GS. Effect of pH on *Porphyromonas gingivalis* endotoxin affinity for resins. *Int J Prosthodont*. 1996 May-Jun;9(3):239-47.
53. Knoernschild KL, Tompkins GR, Schuster GS, Lefebvre CA, Russell CM. Effect of treatment concentration on lipopolysaccharide affinity for two alloys. *Dent Mater*. 1997 Mar;13(2):111-7.
54. Lee JH, Jo JK, Kim DA, Patel KD, Kim HW, Lee HH. Nano-graphene oxide incorporated into PMMA resin to prevent microbial adhesion. *Dent Mater*. 2018;34(4):e63-e72.
55. Leonardo MR, Silva RA, Assed S, Nelson-Filho P. Importance of bacterial endotoxin (LPS) in endodontics. *J Appl Oral Sci*. 2004 Jun;12(2):93-8.
56. Lieder R, Petersen PH, Sigurjónsson ÓE. Endotoxins-the invisible companion in biomaterials research. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013 Oct;19(5):391-402.
57. Liu Y, Zhang L, Niu LN, Yu T, Xu HHK, Weir MD, Oates TW, Tay FR, Chen JH. Antibacterial and remineralizing orthodontic adhesive containing quaternary ammonium resin monomer and amorphous calcium phosphate nanoparticles. *J Dent*. 2018;72:53-63.
58. Lo BA, Di Marco R, Milazzo I, Nicolosi D, Calì G, Rossetti B, Blandino G. Microbiological and clinical periodontal effects of fixed orthodontic appliances in pediatric patients. *New Microbiol*. 2008 Apr;31(2):299-302.
59. López N, Vicente A, Bravo LA, Calvo Guirado JL, Canteras M. In vitro study of force decay of latex and non-latex orthodontic elastics. *Eur J Orthod*. 2012 Apr;34(2):202-7.
60. Lucisano MP, Nelson-Filho P, Silva RAB, Silva LAB, De Rossi A. Role of endotoxin in the etiology of periapical lesions: molecular mechanisms involved in endotoxin's recognition and cell activation. *RGO (Porto Alegre)*. 2014; 62(3): 289-298.

61. Magno AFF, Enoki C, Ito IY, Matsumoto MAN, Faria G, Nelson-Filho P. In-vivo evaluation of the contamination of Super Slick elastomeric rings by *Streptococcus mutans* in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008 Apr;133(4 Suppl):S104-9.
62. Maidwell-Smith M, Wilson M, Kieser JB. Lipopolysaccharide (endotoxin) from individual periodontally involved teeth. *J Clin Periodontol.* 1987 Sep;14(8):453-6.
63. Marafon ARS, Soares SF. *Elásticos Ortodônticos.* 1ª Edição - Editora Santos; 2009.
64. Martínez-Colomer S, Gatón-Hernández P, Romano FL, De Rossi A, Fukada SY, Nelson-Filho P, Consolaro A, Silva RA, Silva LA. Latex and nonlatex orthodontic elastics: In vitro and in vivo evaluations of tissue compatibility and surface structure. *Angle Orthod.* 2016 Mar;86(2):278-84.
65. Martinho FC, Chiesa WM, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Comparison of endotoxin levels in previous studies on primary endodontic infections. *J Endod.* 2011;37(2):163-7.
66. Martinho FC, Gomes CC, Nascimento GG, Gomes APM, Leite FRM. Clinical comparison of the effectiveness of 7- and 14-day intracanal medications in root canal disinfection and inflammatory cytokines. *Clin Oral Investig.* 2018;22(1):523-530.
67. Mei L, Busscher HJ, van der Mei HC, Ren Y. Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to composite resins. *Dent Mater.* 2011;27(8):770-8.
68. Migliorati M, Isaia L, Cassaro A, Rivetti A, Silvestrini-Biavati F, Gastaldo L, Piccardo I, Dalessandri D, Silvestrini-Biavati A. Efficacy of professional hygiene and prophylaxis on preventing plaque increase in orthodontic patients with multibracket appliances: a systematic review. *Eur J Orthod.* 2015 Jun;37(3):297-307.
69. Muguruma T, Iijima M, Yuasa T, Kawaguchi K, Mizoguchi I. Characterization of the coatings covering esthetic orthodontic archwires and their influence on the bending and frictional properties. *Angle Orthod.* 2017 Jul;87(4):610-617.
70. Nassar PO, Bombardelli CG, Walker CS, Neves KV, Tonet K, Nishi RN, Bombonatti R, Nassar CA. Periodontal evaluation of different toothbrushing techniques in patients with fixed orthodontic appliances. *Dental Press J Orthod.* 2013 Jan-Feb;18(1):76-80.
71. Nelson SK, Knoernschild KL, Robinson FG, Schuster GS. Lipopolysaccharide affinity for titanium implant biomaterials. *J Prosthet Dent.* 1997 Jan;77(1):76-82.
72. Nelson-Filho p, Argandoña Valdez RM, Andrucioi MCD, Saraiva MCP, Feres M, Sorgi CA, Faccioli LH. Gram-negative periodontal pathogens and bacterial

- endotoxin in metallic orthodontic brackets with or without an antimicrobial agent: an in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011a Dec;140(6):e281-7.
73. Nelson-Filho P, Carpio-Horta KO, Andrucio MC, Feres M, Bezerra da Silva RA, Garcia Paula-Silva FW, Romano FL. Molecular detection of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* on metallic brackets by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012 Oct;142(4):481-6.
74. Nelson-Filho P, Leonardo MR, Silva LA, Assed S. Radiographic evaluation of the effect of endotoxin (LPS) plus calcium hydroxide on apical and periapical tissues of dogs. *J Endod.* 2002 Oct;28(10):694-6.
75. Nelson-Filho P, Olmedo LYG, Andrucio MCD, Saraiva MCP, Matsumoto MAN, de Queiroz AM, da Silva RAB, da Silva LAB. Use of the checkerboard DNA-DNA hybridisation technique for in vivo detection of cariogenic microorganisms on metallic brackets, with or without use of an antimicrobial agent. *J Dent.* 2011b Jul;39(7):513-7.
76. Nitrini ATL, Chagas AS, Freitas KMS, Valarelli FP, Caçado RH, de Oliveira RCG, de Oliveira RCG. Comparison of the Force Released by Intermaxillary Elastics Used for Different Time Periods. *Turk J Orthod.* 2019;1;32(4):190-194.
77. Notaroberto DFC, Martins MME, Goldner MTA, Mendes AM, Quintão CCA. Force decay evaluation of latex and non-latex orthodontic intraoral elastics: in vivo study. *Dental Press J Orthod.* Nov-Dec 2018;23(6):42-47.
78. Oliveira PLE, Matsumoto MAN, Faria G, Romano FL. Degradation and deformation of latex and non-latex orthodontic elastics. *Aust Orthod J.* 2017; 33:86-94.
79. Ou YY, Jiang Y, Li H, Zhang YY, Lu Y, Chen DF. Polysaccharides from *Arnebia euchroma* Ameliorated Endotoxic Fever and Acute Lung Injury in Rats Through Inhibiting Complement System. *Inflammation.* 2017 Feb;40(1):275-284.
80. Papadopoulou AK, Cantele A, Polychronis G, Zinelis S, Eliades T. Changes in Roughness and Mechanical Properties of Invisalign() Appliances after One- and Two-Weeks Use. *Materials (Basel).* 2019 Jul 28;12(15):2406.
81. Park JW, An JS, Lim WH, Lim BS, Ahn SJ. Microbial changes in biofilms on composite resins with different surface roughness: An in vitro study with a multispecies biofilm model. *J Prosthet Dent.* 2019;122(5):493.e1-493.e8.
82. Peixoto IT, Enoki C, Ito IY, Matsumoto MA, Nelson-Filho P. Evaluation of home disinfection protocols for acrylic baseplates of removable orthodontic appliances: A randomized clinical investigation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Jul;140(1):51-7.
83. Pinto LS, Nelson-Filho P, Matsumoto M, Romano FL, Romualdo PC, Queiroz AM, Silva RAB, Silva LAB. Orthodontic elastomeric aesthetic ligatures: quantification of

- bacterial endotoxin in vitro and in vivo. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2020 Article in press.
84. Pithon MM, Mendes JL, da Silva CA, Lacerda Dos Santos R, Coqueiro RD. Force decay of latex and non-latex intermaxillary elastics: a clinical study. *Eur J Orthod.* 2016;38(1):39-43.
 85. Qodcieh SM, Al-Khateeb SN, Jaradat ZW, Abu Alhaija ES. Force degradation of orthodontic latex elastics: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2017 Mar;151(3):507-512.
 86. Rechmann P, Bekmezian S, Rechmann BMT, Chaffee BW, Featherstone JDB. MI Varnish and MI Paste Plus in a caries prevention and remineralization study: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2018 Jul;22(6):2229-2239.
 87. Ren L, Leung WK, Darveau RP, Jin L. The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2005 Nov;76(11):1950-9.
 88. Rietschel ET, Brade H. Bacterial endotoxins. *Sci Am.* 1992 Aug;267(2):54-61.
 89. Robinson FG, Knoernschild KL, Sterrett JD, Tompkins GR. *Porphyromonas gingivalis* endotoxin affinity for dental ceramics. *J Prosthet Dent.* 1996 Feb;75(2):217-27.
 90. Romualdo PC, Guerra TR, Romano FL, Silva RABD, Brandão IT, Silva CL, Silva LABD, Nelson-Filho P. Bacterial endotoxin adhesion to different types of orthodontic adhesives. *J Appl Oral Sci.* 2017 Jul-Aug;25(4):436-441.
 91. Rovai EDS, Matos FS, Kerbauy WD, Cardoso FGDR, Martinho FC, Oliveira LD, Valera MC, Carvalho CAT. Microbial Profile and Endotoxin Levels in Primary Periodontal Lesions with Secondary Endodontic Involvement. *Braz Dent J.* 2019;22;30(4):356-362.
 92. Russell KA, Milne AD, Khanna RA, Lee JM. In vitro assessment of the mechanical properties of latex and non-latex orthodontic elastics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2001 Jul;120(1):36-44.
 93. Shailaja AM, Santosh R, Vedhavathi HK, Keerthi NV, Kumar SP. Assessment of the force decay and the influence of Ph levels on three different brands of latex and non-latex orthodontic elastics: An in vitro study. *Int J Appl Dent Sci.* 2016; 2(2): 28-34.
 94. Silva EJNL, Ferreira VM, Silva CC, Herrera DR, De-Deus G, Gomes BP. Influence of apical enlargement and complementary canal preparation with the Self-Adjusting File on endotoxin reduction in retreatment cases. *Int Endod J.* 2017;50(7):646-651.
 95. Silva L, Nelson-Filho P, Leonardo MR, Rossi MA, Pansani CA. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin in vivo. *J Endod.* 2002 Feb;28(2):94-8.

96. Singh VP, Pokhrael PR, Pariekh K, Roy DK, Singla A, Biswas KP. Elastics in orthodontics: a review. *Health Renaissance*. 2012;10 (1):49-56.
97. Steinberg D, Eyal S. Initial biofilm formation of *Streptococcus sobrinus* on various orthodontics appliances. *J Oral Rehabil*. 2004 Nov;31(11):1041-5.
98. Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ, Reynolds EC. Prevention of demineralization around orthodontic brackets in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007 Jun;131(6):705.e1-9.
99. Syed M, Chopra R, Sachdev V. Allergic Reactions to Dental Materials-A Systematic Review. *J Clin Diagn Res*. 2015 Oct;9(10):ZE04-9.
100. Taha M, El-Fallal A, Degla H. In vitro and in vivo biofilm adhesion to esthetic coated arch wires and its correlation with surface roughness. *Angle Orthod*. 2016 Mar;86(2):285-91.
101. Tomé Júnior V. Avaliação da degradação da força dos elásticos ortodônticos de látex em função do tempo de ativação. *Dissertação (Mestrado em Ortodontia)*. São Leopoldo Mandic, 2008.
102. Topouzelis N, Palaska KP. A review of the clinical applications of elastic tractions in orthodontics. *World J Orthod*. Fall 2009;10(3):e12-8.
103. Tupinambá RA, Claro CAA, Pereira CA, Nobrega CJP, Claro APRA. Bacterial adhesion on conventional and self-ligating metallic brackets after surface treatment with plasma-polymerized hexamethyldisiloxane. *Dental Press J Orthod*. 2017;22(4):77-85.
104. U.S. Food and Drug Administration (FDA), Department of Health and Human Services. Guidance for industry pyrogen and endotoxins testing: questions and answers [Internet]. Silver Spring: FDA; 2012.
105. Vieira CIV, de Oliveira CB, Ribeiro AA, Caldas SGFR, Martins LP, Gandini Jr LG; dos Santos-Pinto A. In vitro comparison of the force degradation of orthodontic intraoral elastics from different compositions. *RSBO*. 2013 Jan-Mar;10(1):40-8.
106. Williams PB, Halsey JF. Endotoxin as a factor in adverse reactions to latex gloves. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1997 Oct;79(4):303-10.
107. Wong AK. Orthodontic elastic materials. *Angle Orthod*. 1976 Apr;46(2):196-205.
108. Wu M, McIntosh J, Liu J. Current prevalence rate of latex allergy: Why it remains a problem? *J Occup Health*. 2016 May 25;58(2):138-44.
109. Yang L, Lv C, Yan F, Feng J. Force degradation of orthodontic latex elastics analyzed in vivo and in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2020 Mar;157(3):313-319.

110. Yeang HY. Natural rubber latex allergens: new developments. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2004;4(2):99-104
111. Zachrisson S, Zachrisson BU. Gingival condition associated with orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 1972 Jan;42(1):26-34.