



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
(REABILITAÇÃO ORAL)



JOÃO VICENTE CALAZANS NETO

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICA
DE DISCOS Ti-6Al-4V: UMA ABORDAGEM DE DIFERENTES TRATAMENTOS
DE SUPERFÍCIE E MÉTODOS DE FABRICAÇÃO**

Ribeirão Preto

2023

JOÃO VICENTE CALAZANS NETO

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICA
DE DISCOS Ti-6Al-4V: UMA ABORDAGEM DE DIFERENTES TRATAMENTOS
DE SUPERFÍCIE E MÉTODOS DE FABRICAÇÃO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Lima da Costa Valente

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto

2023

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

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus da USP – Ribeirão Preto

Calazans Neto, João Vicente

Avaliação das propriedades físicas, químicas e microbiológica de discos Ti-6Al-4V: uma abordagem de diferentes tratamentos de superfície e métodos de fabricação/ João Vicente Calazans Neto; Orientador, Mariana Lima da Costa Valente. – Ribeirão Preto, 2023.

122f.: il.

Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Programa de Pós-graduação em Odontologia (Reabilitação Oral), Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Versão corrigida

1. Implantes Dentários. 2. Titânio. 3. Propriedades de superfície 4. Hidroxiapatita. 5. Propriedades Físicas e Químicas. 6. Microbiologia.

FOLHA DE APROVAÇÃO

CALAZANS NETO, J. V. Avaliação das propriedades físicas, químicas e microbiológica de discos Ti-6Al-4V: uma abordagem de diferentes tratamentos de superfície e métodos de fabricação.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedicatória

DEDICATÓRIA

À **Deus**, por guiar e direcionar minha vida.

Ao meu avô, **João Vicente Calazans** (*in memoriam*), e avó, **Herculana Mendes da Silva Calazans**, que sempre foram porto seguro, calma e amor. Gratidão por tudo que fizeram para que eu pudesse chegar até aqui e me tornar quem sou.

À minha mãe e meu tio, **Eronildes da Silva Calazans** e **Manoel Vicente da Silva Calazans**. Sem vocês eu jamais estaria aqui. Obrigado pelo incansável incentivo, dedicação e por permanecerem ao meu lado dia após dia durante essa jornada. Esse resultado é nosso. A vocês, todo o meu amor!

À toda minha família, **tios, tias, primos e primas**, que são refúgio e alegria. Gratidão por todo apoio e confiança. Amo vocês.

Agradecimento Especial

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora, **Profa. Dra. Mariana Lima da Costa Valente**, agradeço a dedicação e esforço diário ao longo desses 2 anos. Seu empenho foi essencial para me motivar, principalmente à medida que as dificuldades surgiram. Obrigado pela impecabilidade, atenção e paciência que me mantiveram focado durante este caminho.

À **Profa. Dra. Andréa Cândido dos Reis** por ver potencial e me receber de coração aberto em seu grupo. Obrigado pelo otimismo, incansável dedicação na realização desse projeto e pelas propostas realizadas. Seus ensinamentos foram valiosos e permanecerão vivos em mim!

Agradecimentos Gerais

AGRADECIMENTOS GERAIS

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo**, representada pelo Diretor Prof. Dr. Paulo Nelson Filho, pela educação qualificada ofertada.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro**, chefe do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, por seu cuidado e preocupação.

A **Profa. Dra. Andréa Cândido dos Reis**, Coordenadora do curso de Pós-graduação em Odontologia (Reabilitação Oral), pela dedicação ao Programa e cuidado em transformar o pós-graduando em egresso de sucesso.

Aos Professores da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto FORP-USP, pelos ensinamentos transmitidos em conversas, palestras, cursos e aulas na pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Claudemiro Bolfarini, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)**, pela parceria inestimável para a realização deste projeto.

Aos professores **Simon Pauly e Rodolfo Lisboa Batalha**, pela colaboração na obtenção dos discos de Manufatura Aditiva utilizados pelo grupo de pesquisa NINPI.

Aos institutos **IFW Dresden** da Alemanha e **ISQ (Instituto de Soldadura e Qualidade)** de Portugal pela cooperação nas pesquisas desenvolvida com Manufatura Aditiva no grupo de pesquisa.

A **Profa. Dra. Ana Paula Ramos, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto FFCL-USP**, pela colaboração inestimável para a realização desta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Rodrigo Galo, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto FORP-USP**, pelo apoio na realização deste projeto.

A **Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto FORP-USP** por sua colaboração neste projeto.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico**, pela concessão da Bolsa de Mestrado (161857/2021-3).

Aos secretários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, **Fernanda Talita de Freitas, Regiane Tirado Damasceno e Wagner Del Gatto** pela dedicação ao Departamento, Professores e Pós-graduandos.

Ao Secretário do Serviço de Pós-Graduação, **Mauro Henrique Leoni Bernardo**, pela dedicação e disponibilidade de tempo dispensadas.

Ao técnico do **Laboratório Integrado de Pesquisa em Biocompatibilidade de Materiais, Edson Volta**, pelo incansável esforço em ajudar no nosso ambiente de trabalho.

As técnicas de laboratório, **Ana Paula Macedo** do **Laboratório de Metrologia**, **Juliana Jendiroba Faraoni** do **Laboratório de Pesquisa em Dentística** e **Viviane de Cássia Oliveira** do **Laboratório de Pesquisa em Reabilitação Oral**, pela dedicação e ajuda.

Aos técnicos de laboratório, **Lourivado do Santos Pereira** do **Laboratório de Análises Termogravimétricas e de Difração de Raios X** e **José Augusto Maulim** do **Laboratório de Microscopia Eletrônica**

Ao funcionário **Hermano Teixeira Machado** pelas fotografias.

Aos **Alunos de Iniciação Científica** do grupo de pesquisa NINPI pela troca de aprendizados que possibilitaram meu crescimento pessoal e profissional.

Aos pós-graduandos do grupo de pesquisa NINPI, **Ana Beatriz Vilela Teixeira, Beatriz Danieletto Sahn, Cícero Andrade Cigilião Celles, Izabela Ferreira, João Marcos Silva Carvalho, Juliana Dias de Corpa Tardelli, Murilo Rodrigues de Campos e Simone Kreve** pelo companheirismo, apoio e paciência diária nesta trajetória.

Aos meus amigos, **Airan Nicole Vivanco Estela, Alia Oka Al Houch, Ana Clara Silveira do Carmo, Andiamira Cagnoni Balestra, Carla Roberta de Oliveira Maciel,**

Camila Porto Capel, Carlyne Brito Lopes, Gisele Harumi Hotta, Juliane Figueiredo Pequeno Ribeiro, Leonardo de Pádua Andrade Almeida, Letícia Abreu Costa, Lorena Silva Santos, Milla Pimentel Midlej, Olívia Breda Moss, Rebeca Cardoso da Silva e Saulo Machado Piccolo, que com toda preocupação e cuidado tornaram todo o caminho mais leve. Que sorte a minha ter vocês.

A **sociedade brasileira** que contribui para a formação e manutenção das Instituições Públicas de Ensino Superior do Brasil.

Às agências de fomento, **FAPESP e CAPES**, que de forma direta ou indireta estavam envolvidas neste projeto

À **todas as pessoas** que contribuíram para a realização desse trabalho!

EPÍGRAFE

“Ninguém caminha sem aprender a caminhar, sem aprender a fazer o caminho caminhando, refazendo e retocando o sonho pelo qual se pôs a caminhar”.

(Paulo Freire)

Resumo

RESUMO

CALAZANS NETO, J. V. **Avaliação das propriedades físicas, químicas e microbiológica de discos Ti-6Al-4V: uma abordagem de diferentes tratamentos de superfície e métodos de fabricação.** 2023. 122f. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

As características da superfície dos implantes dentários de titânio podem modular vias moleculares específicas para melhorar o desempenho da regeneração óssea e minimizar o risco de infecções associadas ao implante. Diferentes técnicas são empregadas para modificação do titânio, seja por meio de tratamentos de superfície, métodos de fabricação por impressão 3D ou a combinação delas. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a influência de 4 superfícies de Ti-6Al-4V obtidas por usinagem, com e sem tratamento, e manufatura aditiva, em propriedades físicas, químicas e microbiológica. Foram utilizadas amostras no formato de discos, divididos em 4 grupos, de acordo com método de fabricação e tratamento de superfície aplicado: G1 - usinado (DU); G2 - usinado+hidroxiapatita (DUHAp); G3 - usinado+tratamento ácido-alkalino (DUAA) e G4 - manufatura aditiva (DUMA). A avaliação da topografia dos discos foi realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), da composição química por Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) e da estrutura cristalina por Difração de Raios-X (DRX). As propriedades físicas e químicas foram analisadas por molhabilidade e energia livre de superfície, rugosidade, testes eletroquímicos e potencial zeta, além de adesão microbiana frente a *Staphylococcus aureus* por Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Foi aplicada análise de variância one-way ANOVA e teste de comparações múltiplas Tukey para avaliação dos dados, com exceção do UFC, submetido ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). As fotomicrografias de DU demonstraram topografia característica de uma superfície usinada polida, DUHAp e DUAA exibiram padrões correspondentes às modificações de superfície realizadas, revestimento com hidroxiapatita e tratamento ácido (H_3PO_4) seguido de alcalino (NaOH), respectivamente e em DMA observou-se presença de partículas esféricas parcialmente fundidas. O EDS identificou elementos químicos inerentes à composição da liga estudada (Ti-6Al-4V), além da adição de íons provenientes dos tratamentos realizados nos discos DUHAp e DUAA. Os padrões DRX revelaram semelhanças entre DU e DMA, além de picos característicos da hidroxiapatita no disco DUHAp em 32° e do tratamento ácido-alkalino (DUAA) em 35° . Os grupos DUHAp e DUAA apresentaram comportamento mais hidrofílico comparados a DU e DUMA, com menores ângulos de contato e maior energia livre de superfície ($p<0,05$). Quanto à rugosidade, DMA apresentou maior valor médio em todos os parâmetros avaliados (R_a , R_z e S_a), diferente dos demais ($p<0,05$). Em relação aos testes eletroquímicos, diferença significativa entre os grupos foi observada para OCP ($p<0,001$) e i_{cor} ($p=0,028$), já para $E_i=0$ foram semelhantes ($p=0,292$); a superfície DMA demonstrou menor resistência a corrosão ($p<0,05$) e menor média de potencial zeta, semelhante a DU ($p=1,000$). DMA apresentou maior contagem de UFC para *S. aureus* ($p=0,006$), indicativo de maior adesão. Conclui-se que DUHAp e DUAA demonstraram comportamentos semelhantes em relação à molhabilidade, energia livre de superfície, rugosidade, resistência à corrosão, carga elétrica e adesão bacteriana. Por outro lado, entre os grupos sem tratamento, o DMA exibiu maior rugosidade, potencial corrosivo e adesão bacteriana, além de menor molhabilidade e energia livre de superfície.

Palavras-chave: Implantes dentários; Ti-6Al-4V; Manufatura aditiva; Usinagem; Tratamento de superfície.

Abstract

ABSTRACT

CALAZANS NETO, J. V. **Evaluation of physical, chemical, and microbiological properties of Ti-6Al-4V disks: an approach of different surface treatments and fabrication methods.** 2023. 122f. Dissertation (Master's Degree in Oral Rehabilitation). School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo (USP), 2023.

The surface characteristics of titanium dental implants can modulate specific molecular pathways to improve bone regeneration performance and minimize the risk of implant-associated infections. Different techniques are employed to modify titanium, either through surface treatments, 3D printing fabrication methods, or a combination of them. Therefore, the aim of this study was to evaluate in vitro the influence of 4 Ti-6Al-4V surfaces obtained by machining, with and without treatment, and additive manufacturing, on physical, chemical, and microbiological properties. Samples in the form of disks were divided into 4 groups, according to the manufacturing method and surface treatment applied: G1 - machined (DU); G2 - machined + hydroxyapatite (DUHAp); G3 - machined + acid-alkali treatment (DUAA) and G4 - additive manufacturing (DUMA). The topography of the disks was evaluated by Scanning Electron Microscopy (SEM), the chemical composition by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS), and the crystalline structure by X-ray Diffraction (XRD). Physical and chemical properties were analyzed by wettability and surface free energy, roughness, electrochemical tests, and zeta potential, as well as microbial adhesion against *Staphylococcus aureus* by Colony Forming Units (CFU). One-way ANOVA analysis of variance and Tukey's multiple comparisons test were applied to evaluate the data, with the exception of CFU, which was submitted to the non-parametric Kruskal-Wallis test ($\alpha=0.05$). Photomicrographs of DU showed topography characteristic of a polished machined surface, DUHAp and DUAA exhibited patterns corresponding to the surface modifications performed, hydroxyapatite coating and acid treatment (H_3PO_4) followed by alkaline (NaOH), respectively and in DMA the presence of partially fused spherical particles was observed. EDS identified chemical elements inherent to the composition of the alloy studied (Ti-6Al-4V), in addition to the addition of ions from the treatments performed on DUHAp and DUAA disks. The XRD patterns revealed similarities between DU and DMA, as well as characteristic peaks of hydroxyapatite in the DUHAp disk at 32° and the acid-alkali treatment (DUAA) at 35° . The DUHAp and DUAA groups showed more hydrophilic behavior compared to DU and DUMA, with smaller contact angles and higher surface free energy ($p<0.05$). Regarding roughness, DMA showed a higher mean value in all parameters evaluated (R_a , R_z , and S_a), different from the others ($p<0.05$). Regarding the electrochemical tests, a significant difference between the groups was observed for OCP ($p<0.001$) and i_{cor} ($p=0.028$), while for $E_i=0$ they were similar ($p=0.292$); the DMA surface showed lower corrosion resistance ($p<0.05$) and lower mean zeta potential, similar to DU ($p=1.000$). DMA showed a higher CFU count for *S. aureus* ($p=0.006$), indicative of higher adhesion. It is concluded that DUHAp and DUAA showed similar behaviors regarding wettability, surface free energy, roughness, corrosion resistance, electrical charge, and bacterial adhesion. On the other hand, among the untreated groups, DMA exhibited higher roughness, corrosive potential, and bacterial adhesion, as well as lower wettability and surface-free energy.

Keywords: Dental implants; Ti-6Al-4V; Additive manufacturing; Machining; Surface treatment.

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de usinagem.....	6
Figura 2.	Esquema ilustrativo da formação de monocamadas pela técnica LB.....	63
Figura 3.	Calha de Langmuir de 216 cm ² (Insight Brasil)	63
Figura 4.	Esquema da formação do revestimento de hidroxiapatita sobre a superfície dos discos usinados.....	64
Figura 5.	Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de usinagem após tratamento de superfície de hidroxiapatita.....	65
Figura 6.	Esquema ilustrativo da realização do tratamento de superfície ácido-alcalino.....	66
Figura 7.	Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de usinagem após tratamento de superfície ácido-alcalino.	67
Figura 8.	Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de manufatura aditiva.....	67
Figura 9.	Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (ME JEOL JSM6610LV)	68
Figura 10.	Difratômetro D2 Phaser..	69
Figura 11.	Ilustração do ensaio de molhabilidade pelo método de gota séssil.....	69
Figura 12.	Tensiômetro (KSV CAM 200)	70
Figura 13.	Microscópio Confocal a laser 3D.....	70
Figura 14.	Ilustração do ensaio de rugosidade superficial.....	71
Figura 15.	Potenciostato (PGP 201 Radiometer Analytical, Copenhagen, Dinamarca).....	71
Figura 16.	Ilustração da amostra imersa em soro fisiológico.....	72
Figura 17.	Ilustração da inserção dos espécimes no porta amostras para o Potencial Zeta.....	73
Figura 18.	Protótipo Malvern®.....	74
Figura 19.	Esquema ilustrativo da formação do biofilme para UFC.....	75
Figura 20.	Microscopia eletrônica de varredura DU. A) Magnitude de X500; B) Magnitudede X1000.	79
Figura 21.	Microscopia eletrônica de varredura do disco DUHAp. A) Magnitude de X1000; B) Magnitudede X10000.	79
Figura 22.	Microscopia eletrônica de varredura do disco DUAA. A) Magnitude de X1000; B) Magnitudede X10000.	80
Figura 23.	Microscopia eletrônica de varredura do disco DMA. A) Magnitude de X500; B) Magnitude de X1000.....	80
Figura 24.	Ângulo de contato com a água nos grupos A) DU; B) DUHAp; C) DUAA; D) DMA... ..	85
Figura 25.	Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DU.....	86

Figura 26.	Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DUHAp.....	86
Figura 27.	Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DUAA.....	87
Figura 28.	Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DMA.....	87
Figura 29.	Contagem de Unidades Formadoras de Colônia. A) DU; B) DUHAp; C) DUAA; D) DMA.	90
Figura 30.	Ilustração de um implante em contato com uma situação saudável paralelo à uma situação com peri-implantite na presença de biofilme, diferentes pHs e inflamação.....	97

Lista de Gráficos

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Composição química (EDS) do disco DU.....	81
Gráfico 2.	Composição química (EDS) do disco DUHAp.	82
Gráfico 3.	Composição química (EDS) do disco DUAA.	82
Gráfico 4.	Composição química (EDS) do disco DMA.....	83
Gráfico 5.	Padrões DRX das amostras avaliadas.	84
Gráfico 6.	Gráfico de OCP (mV) em relação ao tempo (s) para os grupos avaliados.....	88

Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Descrição dos grupos avaliados.....	61
Tabela 2.	Ordem da composição química da solução SBF.	65
Tabela 3.	Composição química dos discos, porcentagem em peso (Wt%)	81
Tabela 4.	Média e Desvio padrão dos valores dos ângulos de contato (θ) e energia livre de superfície (γ_s), $\gamma_s = \gamma_{Sp}$ (componente polar) + γ_{Sd} (componente dispersiva) dos diferentes grupos.....	84
Tabela 5.	Média e Desvio padrão da rugosidade da superfície (Ra, Rz e Sa) dos diferentes grupos.....	85
Tabela 6.	Média e desvio padrão do ensaio de degradação química dos grupos.....	88
Tabela 7.	Média e desvio padrão dos dados do potencial zeta.....	89
Tabela 8.	Mediana e Intervalo de Confiança de Unidades Formadoras de Colônia.....	89

Sumário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	47
2. PROPOSIÇÃO	55
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	57
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	57
3. MATERIAL E MÉTODOS	59
3.1 Obtenção dos discos Ti-6Al-4V	61
3.1. <i>Usinagem convencional</i>	61
3.1.1. <i>Tratamento de superfície por revestimento de hidroxiapatita</i>	62
3.1.1.2 <i>Filme Langmuir-Blodgett (LB)</i>	62
3.1.1.3 <i>Mineralização dos filmes de hidroxiapatita</i>	64
3.1.1.4 <i>Tratamento de superfície ácido-alcálico</i>	65
3.1.1.4.1 <i>Ataque ácido</i>	66
3.1.1.4.2 <i>Tratamento alcalino</i>	66
3.1.2 <i>Discos obtidos por manufatura aditiva</i>	67
3.2 Caracterização Física e Química.....	68
3.2. <i>Caracterização morfológica e química das superfícies</i>	68
3.2.2 <i>Difração de Raios-x (DRX)</i>	68
3.2.3 <i>Molhabilidade e Energia livre de superfície</i>	69
3.2.4 <i>Rugosidade e Área de superfície</i>	70
3.2. <i>Testes eletroquímicos</i>	71
3.2.6 <i>Potencial Zeta</i>	72
3.3 Análise Microbiológica.....	74
3.3.1 <i>Unidades Formadoras de Colônias (UFC)</i>	74
3.3.1.1 <i>Formação do Biofilme</i>	75
3.3.1.2 <i>Contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro</i>	75
3.4 Análise Estatística	76
4. RESULTADOS.....	77
4.1 Caracterização Física e Química.....	79
4.1.1 <i>Caracterização morfológica das superfícies (MEV)</i>	79
4.1.2 <i>Caracterização química da superfície (EDS)</i>	80
4.1.3 <i>Difração de Raios-X (DRX)</i>	83
4.1.4 <i>Molhabilidade e Energia livre de superfície</i>	84
4.1.5 <i>Rugosidade e Área de superfície</i>	85

<i>4.1.6 Teste eletroquímico</i>	87
<i>4.1.7 Potencial Zeta</i>	89
4.2 Análise Microbiológica	89
<i>4.2.1 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)</i>	89
5. DISCUSSÃO	91
6. CONCLUSÕES	103
REFERÊNCIAS	107

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

O edentulismo é considerado problema de saúde pública que acomete adolescentes (15-19 anos), adultos de meia-idade (35-44 anos) e, em maior proporção, idosos (65-74 anos) (CARDOSO et al., 2016). A reposição dos elementos dentários ausentes é fundamental para restabelecimento das funções do sistema estomatognático, que vão desde mastigação/nutrição, estética, capacidade de comunicação e socialização, até a manutenção da saúde geral e aumento da perspectiva de vida humana (OSMAN et al., 2017; CAMPBELL et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019). Nesse contexto, o campo dos biomateriais envolvidos nas reabilitações bucais, com destaque para os implantes dentários, testemunhou rápida ascensão, particularmente no emprego do titânio e suas ligas.

Na implantodontia, a liga de titânio Grau 5, Ti-6Al-4V, de fase $\alpha + \beta$, é padronizada pela ISO 5832-3 e composta quimicamente por 90% de titânio, 6% de alumínio, 4% de vanádio e, no máximo, 0,25% de ferro e 0,2% de oxigênio. Esta é amplamente utilizada devido suas propriedades como alta relação resistência-peso, resistência à deformação e corrosão, alta tenacidade, baixa densidade, estabilidade mecânica e biocompatibilidade tecidual (OLIVEIRA et al., 2019; TARDELLI et al., 2020; ARJUNAN et al., 2020; HOU et al., 2022; LABIS et al., 2022; CHAVEZ et al., 2022). Seus elementos constituintes influenciam na hidrofiliabilidade da superfície do implante, otimizam interação com fluidos biológicos e proteínas plasmáticas responsáveis por iniciar o processo de osseointegração, fundamental para o sucesso dos tratamentos (OGLE, 2015; CALAZANS NETO et al., 2022).

A usinagem, método convencional empregado na fabricação de implantes de titânio, utiliza ferramenta de corte para obter o dispositivo na geometria desejada, mas é restrito a tamanhos e formatos padronizados disponíveis comercialmente, nem sempre adequados para todos os casos clínicos (CHIU et al., 2018). As diferenças anatômicas e necessidades específicas dos pacientes estimulam o desenvolvimento de implantes dentários personalizados em design e superfície, com objetivo de melhorar suas propriedades, potencializar osseointegração e durabilidade do tratamento (ZHOU et al., 2020; LI et al., 2020). A possibilidade de fabricar implantes anatomicamente compatíveis, customizados com base em exames de imagens garante maior precisão aos biomateriais e perspectiva de reduzir significativamente taxas de falhas associadas ao uso de implantes comercializados em grande escala (BROGINI et al., 2021).

A Manufatura Aditiva (MA) tem emergido como alternativa na fabricação de implantes dentários de titânio para promover tratamentos de alta resolutividade e conferir maior

comodidade aos profissionais e pacientes (DONG et al., 2020; BROGINI et al., 2021). Além de reduzir o desperdício de material, tempo e dinheiro associado à produção por usinagem (RANS et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019; DONG et al., 2020; BROGINI et al., 2021), a MA permite a criação de estruturas complexas, com características específicas como distribuição de densidade uniforme e controle da quantidade de poros na superfície, que favorecem atividade celular e otimizam crescimento tecidual (WANG et al., 2018; DUAN et al., 2020; VALENTE et al., 2021; BROGINI et al., 2021; CALAZANS NETO et al., 2023).

As técnicas de MA, Fusão por Feixe de Elétrons (EBM) e Fusão Seletiva a Laser (SLM) são as mais consolidadas para produção de implantes dentários metálicos (GINESTRA et al., 2020). Na EBM, a fundição das partículas ocorre em câmara fechada com altos níveis de vácuo, sob manutenção de altas temperaturas que protegem o material de tensões residuais e oxidação. Na SLM, utiliza-se laser de alta potência, em temperatura que causa derretimento e fundição do pó da liga, camada por camada, que resulta em dispositivo compacto customizado, com menor tempo de trabalho e desperdício do material (RAMAKRISHNAIAH et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019; VALENTE et al., 2021; SZYMCZYK-ZIOŁKOWSKA et al., 2022; HU et al., 2022; CALAZANS NETO et al., 2023). Como desvantagens relacionadas à essas técnicas estão alto custo da impressora, dificuldade na determinação dos parâmetros, anisotropias estruturais, caracterizadas por variações nas propriedades físicas em função das diferentes direções e eixos de impressão, rachaduras resultantes da velocidade de derretimento do metal e estresse térmico durante a solidificação (XU et al., 2019; KANG et al., 2020; BATALHA et al., 2020; LIN et al., 2020; BATALHA et al., 2021; VALENTE et al., 2021). Além disso, outros fatores devem ser considerados em relação a MA, como o entendimento dos fenômenos físicos, químicos e microestruturais envolvidos nos mecanismos de integração óssea, formação de biofilme e contaminação microbiana (COSTA et al., 2022).

A primeira estrutura do implante a entrar em contato com o ambiente biológico é a superfície, assim, como forma de melhorar resistência, propriedades físicas, químicas e funções celulares do titânio, foco considerável é dado a aplicação de diferentes técnicas de modificação superficial (BARTOLOMEU et al., 2017; BANDYOPADHYAY et al., 2019; LABIS et al., 2022), como ataque ácido, jateamento de partículas, ajuste da química da superfície para alterar a molhabilidade, bem como a deposição de nanoestruturas ou compostos bioativos (YUAN et al., 2017; PISZCZEK et al., 2020; CRUZ et al., 2022). De acordo com YUAN et al., 2017, essas estratégias visam converter a superfície biologicamente inerte do titânio em bioativa.

A criação de estrutura micro-nano-texturizada potencializa a hidrofiliabilidade da superfície, melhora contato osso-implante (XIU et al., 2016), impulsiona as propriedades

ostecondutoras e acelera a adesão de células ósseas e proteínas envolvidas no processo de osseointegração (CLAROS et al., 2016; CALAZANS NETO et al., 2022). Além disso, os tratamentos podem dificultar a adesão e formação de biofilme, como estratégia para reduzir reações inflamatórias pós-cirúrgicas e facilitar crescimento ósseo rápido e uniforme (WANG et al., 2018). Independente das variações nas técnicas de modificação da superfície, o objetivo comum é favorecer os fenômenos biológicos e microbiológicos, proteger os implantes metálicos da corrosão para viabilizar maior sobrevida da reabilitação implantossuportada (CALAZANS NETO et al., 2023).

A engenharia de superfície tem explorado amplamente tratamentos para modular vias moleculares, melhorar a integração óssea e reduzir a proliferação de microrganismos, mas esses métodos não são capazes de direcionar especificamente condições sistêmicas que afetam negativamente a qualidade óssea ou sua cinética de formação e remodelação (FERRARIS et al., 2019). Essas estratégias de modificações são baseadas no conhecimento que a topografia, composição química e carga potencial de superfície em nanoescala são os principais fatores que afetam as interações biológicas, como absorção de proteínas e diferenciação celular (FERRARIS et al., 2019; LIN et al., 2020). No entanto, alguns tratamentos resultam na impregnação de elementos químicos diferentes da composição química do titânio e suas ligas, que se acumulam nos tecidos ou causam citotoxicidade celular (LIN et al., 2020; CALAZANS NETO et al., 2023).

O revestimento com hidroxiapatita (HAp) ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), substância biocerâmica funcional, quando depositado na superfície do implante de titânio (NOBRE et al., 2020; KIM et al., 2021) libera íons indutores da osseointegração, como cálcio e fósforo, a partir da dissolução do revestimento em meio fisiológico, como sangue e líquido crevicular (GUEHENNEC et al., 2007; KATTIMANI et al., 2016), e assemelha-se à fase inorgânica da matriz óssea (YUAN et al., 2018; SUWANPRATEEB et al., 2018; ALMEIDA et al., 2023). Além disso, possui coeficiente de expansão térmica semelhante ao osso e permite melhor distribuição de células cicatriciais, como fibroblastos e osteoblastos (CAVALCANTI et al., 2019; KULKARNI et al., 2017; YUAN et al., 2018; NOBRE et al., 2020), sendo indicado na reabilitação de pacientes que receberam enxerto ósseo ou possuem osso cortical fino com baixa densidade, como o tipo IV (OHTSU et al., 2017; HO-SHUI-LING et al., 2018; KLIGMAN et al., 2021).

Um dos desafios no uso da HA na superfície do titânio é superar as falhas adesivas que ocorrem devido à quebra molecular durante deposição, a fim de estabelecer forte ligação entre revestimento e implante. Durante este processo, variações de temperatura e diferentes coeficientes de expansão térmica geram tensões residuais e esforços mecânicos, que podem

resultar em falhas por estresse no revestimento (ONG et al., 2017; ROCHA et al., 2018; LIU et al., 2020; KRAVANJA et al., 2022). Além disso, a falta de adequação nos parâmetros do processo, como pressão e tempo, também levam à formação de revestimentos não uniformes e com tensões residuais (ADELEKE et al., 2015; ONG et al., 2017; LU et al., 2020; SINGH et al., 2022; NOURI et al., 2023).

Estudos têm explorado modificações avançadas de superfície no titânio e suas ligas, e demonstram engenharia estrutural bem-sucedida com micro e nanoestruturas variadas, como esferas, partículas, tubos, hastes, pilares, espigões e fios (CALAZANS NETO et al., 2023), capazes de tornar o titânio bioativo, promover características superficiais antimicrobianas e melhorar a fixação mecânica (GUEHENNEC et al., 2007; CLAROS et al., 2016). Decapagem com ácidos fortes, como HCl, H₂SO₄, HNO₃ e HF, aumenta a rugosidade dos implantes dentários de titânio, com formação de cavidades microsuperficiais de 0,5 a 2 µm de diâmetro (MASSARO et al., 2002; GUEHENNEC et al., 2007). A realização de tratamento químico com a combinação do ataque ácido seguido de tratamento alcalino promove biofuncionalização da superfície com características micro e nanométricas que otimizam propriedades físicas, químicas e biológicas do implante dentário, onde o ácido é responsável pela criação de porosidade, com característica micro e submicrométrica, e o tratamento alcalino por formar estruturas semelhantes a uma “esponja” com grande área superficial e distribuição de porosidade controlada na faixa de submicrometros a nanômetros (BSAT et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; CLAROS et al., 2016).

A colonização de bactérias e formação do biofilme em superfícies de implantes induzem reações inflamatórias nos tecidos peri-implantares que podem afetar o suporte ósseo e causar sua falha (PATIANNA et al., 2018; ROSEN et al., 2018, COSTA et al., 2022), como a peri-implantite, complicação biológica que surge do desequilíbrio entre carga bacteriana e defesas do hospedeiro, e resulta em sangramento à sondagem, supuração e perda progressiva do osso de suporte em níveis além do esperado no processo de remodelação óssea (QUINTERO et al., 2017; ROSEN et al., 2018; WAKIM et al., 2018; ZHOU et al., 2020). O biofilme formado é determinado pela composição química, rugosidade e molhabilidade do implante, as quais influenciam na adesão de proteínas plasmáticas que mediarão a adesão bacteriana (BÜRGERS et al., 2018; SANCHEZ et al., 2021; SOUZA et al., 2021) e representa uma comunidade organizada envolta de uma matriz extracelular que contém substâncias poliméricas extracelulares (EPS) autoproduzidas que formam uma barreira protetora à comunidade microbiana e dificulta a remoção do biofilme na macrogeometria do implante (SALVI et al., 2017; BERGLUNDH et al., 2018; COSTA et al., 2022). O *Staphylococcus aureus*, por

exemplo, é uma bactéria Gram positiva que apresenta afinidade pelas superfícies de titânio, capaz de formar biofilmes resistentes às defesas do paciente e à tratamentos com antibióticos (AGUAYO et al., 2015; BELTRÁN- PARTIDA et al., 2015; GONZALEZ et al., 2020), além disso, se associado a outro microrganismo, forma um biofilme com potencial piogênico (HARRIOTT et al., 2001; SALVI et al., 2008; PETERS et al., 2012).

Os implantes dentários de titânio estão sujeitos ao processo de envelhecimento natural que afeta sua resistência à corrosão e demais propriedades físicas, químicas e biológicas, relacionadas a interação do material com proteínas e células responsáveis pela formação óssea (HAMEED et al., 2021; ASHTIANI et al., 2021). A corrosão é definida pela liberação de elementos constituintes dos materiais para o meio bucal e, no caso dos implantes de titânio, a resistência à corrosão é dada pela formação espontânea de camada de óxido de titânio (TiO_2) sobre a sua superfície que se configura como uma película fina de 5-6 nm compacta e aderente de óxidos atuante como barreira protetora entre o implante e as condições ambientais, à prevenir liberação de seus elementos constituintes. Esta camada também promove a biocompatibilidade do implante e contribui para sua longevidade e desempenho clínico (LÓPEZ et al., 2011; BRONZE-UHLE et al., 2019; DELGADO-RUIZ e ROMANOS, 2019; VILHENA et al., 2020).

A caracterização dos materiais permite a correlação entre microestrutura, composição e propriedades, sejam elas químicas, físicas, elétricas ou microbiológicas. A avaliação destas propriedades objetiva investigar o desempenho do material e minimizar danos na sua fabricação e utilização. Assim, o presente projeto propõe avaliar *in vitro* a influência de quatro diferentes superfícies (usinada, usinada com tratamento de hidroxiapatita, usinada com tratamento ácido-alcalino e manufatura aditiva) nas propriedades físicas, químicas e microbiológica de discos de Ti-6Al-4V.

2. Proposição

2. PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência de quatro diferentes superfícies Ti-6Al-4V, obtidas por usinagem, com e sem tratamento, e manufatura aditiva nas propriedades físicas, químicas e microbiológica.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar a análise morfológica e das propriedades físicas e químicas de discos Ti-6Al-4V por:
 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
 - Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS);
 - Difração de Raios-X (DRX);
 - Molhabilidade e energia livre de superfície;
 - Rugosidade e área de superfície;
 - Testes eletroquímicos de polarização anódica (i_{corr}) e potencial em circuito aberto (E_{corr});
 - Potencial Zeta.

- ✓ Avaliar a adesão microbiana frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus* por:
 - Contagem de Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC).

3. Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram avaliados discos de titânio Ti-6Al-4V obtidos pelo método de usinagem convencional, com e sem tratamento de superfície, e discos fabricados pelo processo de manufatura aditiva, técnica de Fusão Seletiva a Laser (SLM), sem tratamento adicional da superfície (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos grupos avaliados.

	G1 (DU)	G2 (DUHAp)	G3 (DUAA)	G4 (DMA)
Método de Processamento	Usinagem Convencional	Usinagem Convencional	Usinagem Convencional	Fusão Seletiva a Laser
Tratamento de Superfície	Sem tratamento	Hidroxiapatita (HA)	H ₃ PO ₄ +NaOH (Tratamento ácido-alcalino)	Sem tratamento
Dimensões dos Discos	Ø 8mm x 3mm	Ø 8mm x 3mm	Ø 8mm x 3mm	Ø 5mm x 1mm
Material	Liga Ti-6Al-4V	Liga Ti-6Al-4V	Liga Ti-6Al-4V	Pó de Liga Ti-6Al-4V (<63 µm)

Legenda. DU (Disco usinado); DUHAp (Disco usinado+hidroxiapatita); DUAA (disco usinado+tratamento ácido-alcalino); DMA (Disco manufaturado).

3.1 Obtenção dos discos Ti-6Al-4V

3.1.1 Usinagem convencional

Discos usinados foram obtidos a partir da secção transversal de barras cilíndricas da composição química estudada (Ti-6Al-4V) nas dimensões de Ø 8 mm × 3 mm de espessura na Oficina de Precisão da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto. O polimento foi realizado com lixas d'água na sequência de granulação: #320 por 1 minuto, #400 por 1 minuto e 30 segundos e #600 por 2 minutos (Figura 1)

Figura 1. Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de usinagem.



Fonte: Hermano Teixeira Machado, 2023

3.1.1.1 Tratamento de superfície por revestimento de hidroxiapatita

O revestimento de hidroxiapatita sobre os discos foi realizado em parceria com o Laboratório de Físico-Química de Superfícies e Colóides no Departamento de Química da FCLRP-USP, de acordo com protocolo descrito por SOUZA et al (2014). Todas as soluções aquosas utilizadas foram preparadas com água Milli Q® ($\gamma = 72.8 \text{ mN m}^{-1}$ e resistividade $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) ultrapura e livre de poeira. Inicialmente, os discos foram imersos por 15 min em ultrassom, em três diferentes líquidos de limpeza: água com detergente, etanol e acetona. Após primeira etapa, os discos de Ti-6Al-4V foram submersos em solução $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ pH 7,5 contendo o tensoativo não-iônico Span 20 na concentração $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, também em ultrassom por 5 min, para garantir limpeza. Em seguida os suportes foram enxaguados com água Milli-Q.

3.1.1.2 Filme Langmuir-Blodgett (LB)

Após completa limpeza dos discos, quatro camadas de fosfolipídeos foram depositadas sobre a superfície do titânio pela técnica LB, na qual monocamadas de Langmuir são formadas na interface água-ar. Os filmes foram construídos a partir de ciclos de emersão/imersão de suporte sólido por meio das monocamadas formadas sobre subfases, com soluções em π constante de 30 mN m^{-1} . A primeira transferência foi sempre realizada a partir da imersão, com posteriores ciclos de emersão/imersão, de forma a produzir filmes LB do tipo Y. As razões de transferências foram calculadas por meio do quociente entre a área do suporte sólido e a área da interface comprimida durante a deposição da transferência ao suporte.

$$R_{transf.} = \frac{\Delta A_{sup}}{\Delta A_{interf}}$$

Um cristal de quartzo redondo (diâmetro e área total de $1,37 \text{ cm}$ e $2,96 \text{ cm}^2$, respectivamente) recoberto com ouro (ICM Crystals; área recoberta com Au equivalente a $0,662 \text{ cm}^2$) foi utilizado na confecção e caracterização micro gravimétrica de filmes LB dos lipídios puros. Antes da transferência dos filmes, a limpeza destes suportes foi realizada por ultrassonicação em água Mili-Q, posteriormente friccionando-os levemente contra lenços de papel com clorofórmio.

As monocamadas foram transferidas para discos de titânio pela técnica LB em $\pi = 30 \text{ mN m}^{-1}$ (pressão das biomembranas) (Figura 2) em $25,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em uma calha de Langmuir de 216 cm^2 (Insight Brasil) (Figura 3). Filmes LB do tipo Y foram preparados por

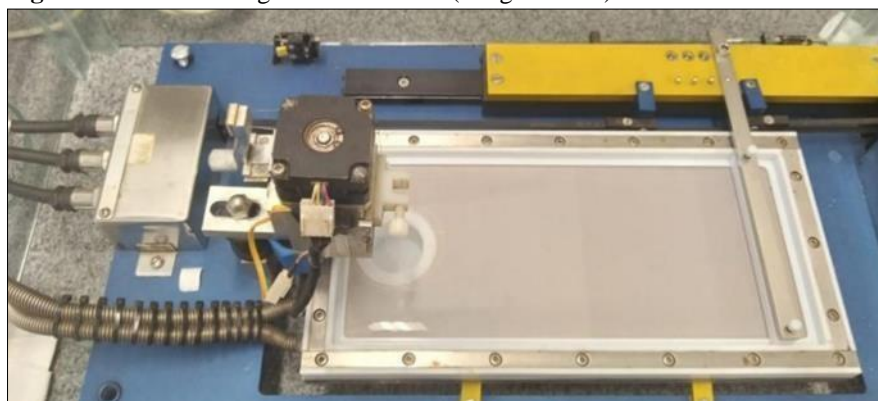
imersão inicial do suporte sólido na subfase, contendo solução de CaCl_2 $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ antes de espalhar a solução de fosfolipídios. As monocamadas de DHP foram transferidas para suportes metálicos seguindo a sequência de retirada e imersão a uma velocidade contante em $0,038 \text{ mm s}^{-1}$. Este procedimento foi repetido até alcançar o número desejado de 4 camadas depositadas. Como a última camada apresenta uma extremidade hidrofílica, os filmes foram mantidos em um recipiente de água pura, para evitar o “flipflop” das moléculas de fosfolipídios antes da exposição às soluções precursoras de fosfato de cálcio.

Figura 2. Esquema ilustrativo da formação de monocamadas pela técnica LB.



Fonte: A autoria própria

Figura 3. Calha de Langmuir de 216 cm^2 (Insight Brasil)



Fonte: A autoria própria.

A massa de DHP depositada nos filmes LB foi medida com uso de uma microbalança de cristais de quartzo recobertos com ouro (ICM Crystal, área ativa $0,662 \text{ cm}^2$). As medidas nanogravimétricas por microgravimetria de cristal de quartzo (QCM) determina a

variação das frequências de oscilação (ICM Oscilator 35366) antes e após a deposição do filme LB, calculando a massa depositada por meio da equação:

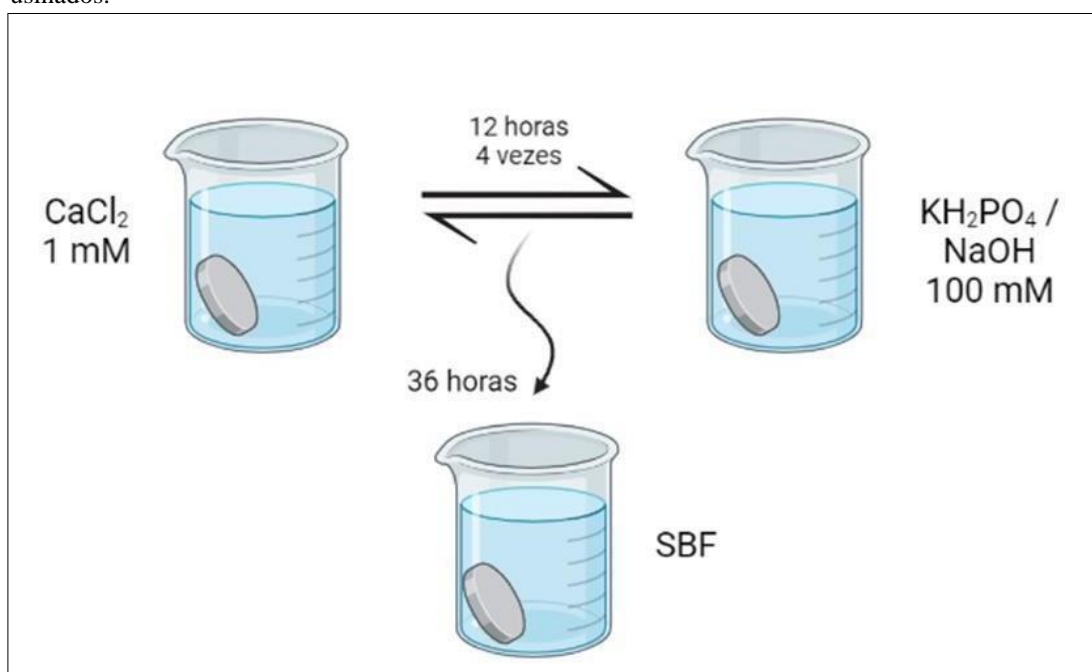
$$\Delta m = - \frac{\Delta f \cdot A \cdot (\mu \cdot \rho_q)^{\frac{1}{2}}}{2 \cdot f_0^2} \left(\frac{\text{Hz} \cdot \text{cm}^2 \cdot (\text{dyn} \cdot \text{g} \cdot \text{cm}^{-5})^{\frac{1}{2}}}{\text{Hz}^2} \right)$$

Onde, A representa a área ativa, ρ_q é a densidade, μ o módulo de cisalhamento e f_0 representa a frequência de oscilação inicial.

3.1.1.3 Mineralização dos filmes de hidroxiapatita

As superfícies dos discos Ti-6Al-4V foram revestidas com minerais por meio de 2 etapas. A primeira refere-se ao ciclo de exposição do tampão Ca^{2+} /Fosfato, onde foram imersos os discos em solução aquosa de 1,0 mmol de Ca^{2+} por 12hrs e em tampão fosfato $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$ (pH 7,50) por mais 12hrs. Esse procedimento foi realizado quatro vezes consecutivas, para garantir a máxima ligação dos íons cálcio às cargas negativas do fosfolípido nos filmes de LB e aumentar a supersaturação local na interface. Na segunda etapa, as superfícies metálicas foram imersas na solução Fluido Corporal Simulado (SBF) (Figura 4), que é um procedimento conhecido para avaliar a bioatividade superficial, devido a capacidade de reproduzir, in vivo, a formação de camadas de apatita em várias superfícies de materiais após a implantação. A figura 5 representa o disco após formação da camada bioativa de HA.

Figura 4. Esquema da formação do revestimento de hidroxiapatita sobre a superfície dos discos usinados.



Fonte: Autoria própria.

Figura 5. Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de usinagem após tratamento de superfície de hidroxiapatita.



Fonte: Hermano Teixeira Machado, 2023.

O SBF foi preparado a partir da dissolução de NaCl grau Merck (99,5%), NaHCO₃ (99,5%), KCl (99,0%), Na₂HPO₄ · 2H₂O (99,5 %), MgCl₂ · 6H₂O (99,0 %), Na₂SO₄, (CH₂OH)₃CNH₂ (99,5%), CaCl₂ · 2H₂O (99,0%) e HCl (37 vol%, Carlo-Erba, Roma, Itália) em água deionizada. Os reagentes foram adicionados, um a um, após cada reagente estar completamente dissolvido em 700 ml de água, na ordem indicada na Tabela 2. O pH de 7,4 a 37°C. Durante o processo de titulação, a solução também foi diluída continuamente com adições de água deionizada para tornar o volume final igual a 1L. Após a preparação, a solução de SBF foi armazenada a 5°C.

Tabela 2. Ordem da composição química da solução SBF.

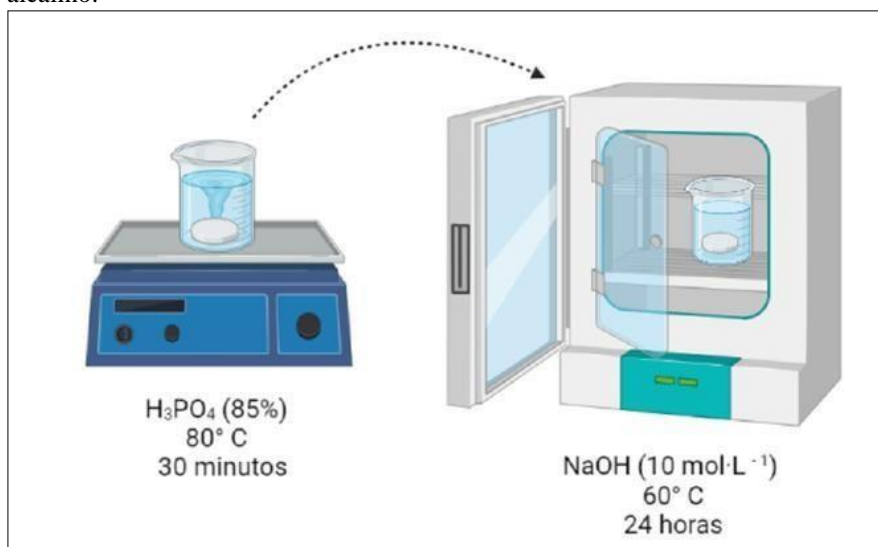
ORDEM	REAGENTE	VALOR (gpl)
1°	NaCl	6.547
2°	NaHCO ₃	2.268
3°	KCl	0.373
4°	Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	0.178
5°	MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.305
6°	CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.368
7°	Na ₂ SO ₄	0.071
8°	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6.057

3.1.1.4 Tratamento de superfície ácido-alcálico

Antes da aplicação do tratamento de superfície os discos foram lavados em cuba

ultrassônica Bio Wash - Bio-Art, durante 7 minutos com água deionizada, seguidos de mais 7 minutos com acetona, secos com jato de ar e armazenados em recipiente inerte. A modificação superficial foi realizada no Laboratório de Físico-Química de Superfícies e Colóides do Departamento de Química FCLRP-USP e consistiu em ataque ácido, seguido de tratamento alcalino (OLIVEIRA, 2015). De acordo com o protocolo, os discos foram imersos em solução concentrada de H_3PO_4 (85%) e mantidos a 80°C durante 30 minutos e em sequência imersos em solução de NaOH ($10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) a 60°C durante 24 h (Figura 6) (OLIVEIRA et al., 2015).

Figura 6. Esquema ilustrativo da realização do tratamento de superfície ácido-alcalino.



Fonte. Autoria própria

3.1.1.4.1 Ataque ácido

O ataque ácido foi realizado com ácido fosfórico-orto concentrado (H_3PO_4 conc.) a 85%. A solução foi mantida à uma temperatura de 80°C ($\pm 5^\circ\text{C}$), controlada com auxílio de termômetro e mantida em placa de aquecimento MA085 Marconi. Após a estabilização da temperatura, os discos foram imersos na solução ácida e o béquer recoberto para reduzir a volatilização do reagente durante o procedimento. Na sequência, as amostras foram submetidas ao tratamento alcalino.

3.1.1.4.2 Tratamento alcalino

Realizou-se com preparo de 50 mL de solução de NaOH que foi transferida para um frasco de polietileno com tampa. Cada uma das amostras atacadas anteriormente com ácido foi mergulhada na solução de NaOH . Uma estufa para secagem e esterilização MA033 Marconi com ajuste de temperatura digital foi estabilizada a 60°C , os frascos com as amostras foram alocados no interior da mesma durante 24 horas e, ao final deste período, a superfície encontrou-se modificada (Figura 7)

Figura 7. Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de usinagem após tratamento de superfície ácido-alcalino.



Fonte: Hermano Teixeira Machado, 2023.

3.1.2 Discos obtidos por manufatura aditiva

Os discos obtidos por Manufatura Aditiva (MA), pela técnica de Fusão Seletiva a Laser (SLM), foram confeccionados na Alemanha, em uma máquina REALIZER GMBH SLM 50® (Instituto IFW Dresden, Dresden – Alemanha) (Figura 8), com laser de fibra de 129 W em modo contínuo ($\lambda = 1070$ nm, posição foco F: 9,55 mm, tamanho spot $\approx 60 \mu\text{m}$), com velocidade de varredura de 0.33-4.00m/s e espessura da camada do pó de $40\mu\text{m}$.

Figura 8. Disco Ti-6Al-4V obtido pelo processo de manufatura aditiva.



Fonte: Hermano Teixeira Machado, 2023.

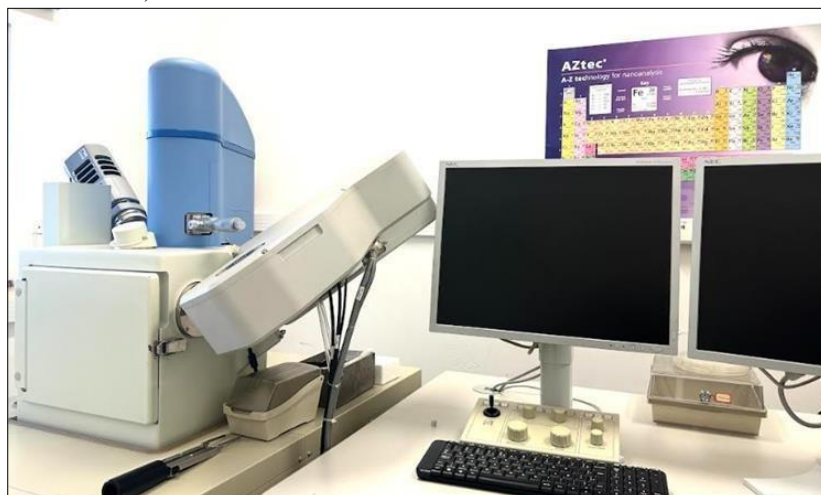
3.2 Caracterização Física e Química

3.2.1 Caracterização morfológica e química das superfícies

A morfologia superficial das amostras de cada grupo (n=1) foi avaliada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura a partir de imagens de baixa e alta ampliação das superfícies dos discos. As fotomicrografias foram obtidas em tensão de aceleração de 20 kV, com abertura objetiva de 20 μm e distância de trabalho de 5 mm. Foi realizada a metalização nos discos usinados com hidroxiapatita em um aparelho Bal-Tec SCD 050 Sample Sputter Coater. Para tal, a superfície da amostra foi recoberta com uma fina camada de carbono, seguida de uma fina camada de ouro.

A análise da composição química das superfícies (n=1) foi determinada pelo equipamento EDS, acoplado ao MEV (Figura 9), no Laboratório de Microscopia Eletrônica no Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos na FMRP/USP, à uma voltagem de aceleração de 20 kV e uma distância de trabalho de 8,5 mm. Foram identificados os constituintes químicos da amostra e a porcentagem atômica dos elementos encontrados.

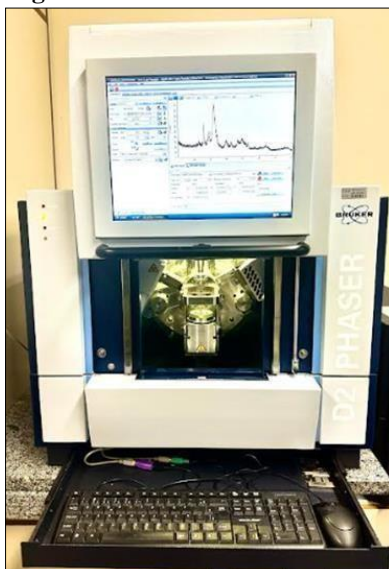
Figura 9. Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (ME JEOL JSM6610LV).



Fonte: Autoria própria

3.2.2 Difração de Raios-x (DRX)

A análise de DRX (n=1) foi realizada à temperatura ambiente por meio de um difratômetro D2 Phaser (Figura 10) no Laboratório de Análises Termogravimétricas e de Difração de Raios X do Departamento de Química da FCLRP-USP, sob radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), 40kV e 30 mA. Os dados foram coletados em modo contínuo entre $10^\circ < 2\theta < 60^\circ$ com velocidade de 2° por minuto a identificar alterações na superfície e volume da liga.

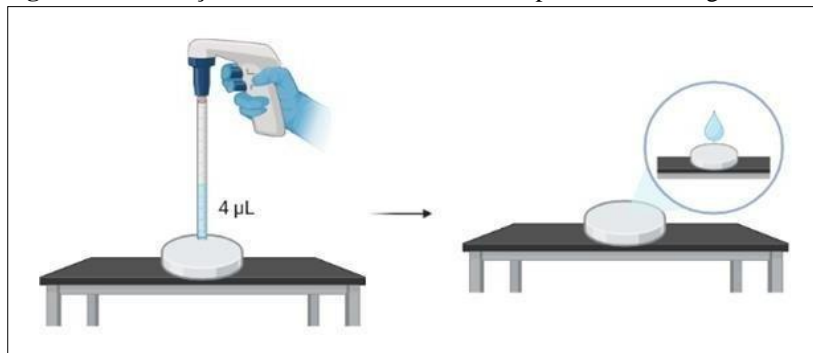
Figura 10. Difratorômetro D2 Phaser.

Fonte: Autoria própria

3.2.3 Molhabilidade e Energia livre de superfície

A molhabilidade e energia livre de superfície de cada grupo foram avaliadas pelo método de gota séssil ($n=10$) (Figura 11) com a medição dos ângulos de contato aparentes das amostras, em tensiômetro (KSV CAM 200) e software (CAM 200 Contact Angle Measurement System) no Laboratório de Físico-Química de Superfícies e Colóides do Departamento de Química da FCLRP-USP (Figura 12).

Na análise da molhabilidade foi utilizada água destilada e para energia livre de superfície, além da água destilada, os líquidos formamida e diiodometano. Foi depositada uma gota de $4 \mu\text{L}$ em cada superfície, sob temperatura ambiente controlada. Aguardou-se o tempo de 60 segundos para a estabilização parcial da gota de água antes da obtenção da medida do ângulo (Θ). Três gotas foram analisadas por amostra; entre as medições, os discos foram secos com fluxo de nitrogênio por 1 min. As medições realizadas corresponderam à média dos ângulos de contato esquerdo e direito. A energia livre de superfície foi calculada por meio da equação modelo Owens-Wendt-Kaeble.

Figura 11. Ilustração do ensaio de molhabilidade pelo método de gota séssil.

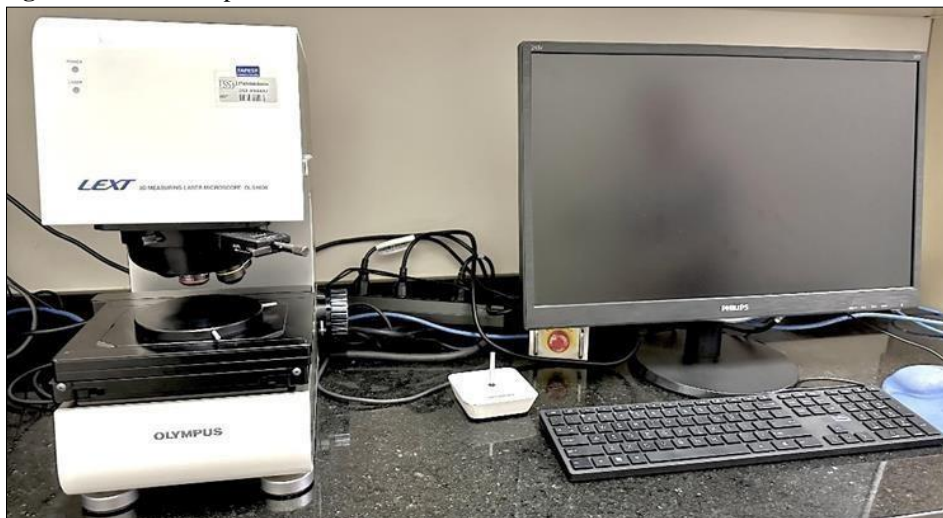
Fonte: Autoria própria.

Figura 12. Tensiômetro (KSV CAM 200).

Fonte: Autoria própria.

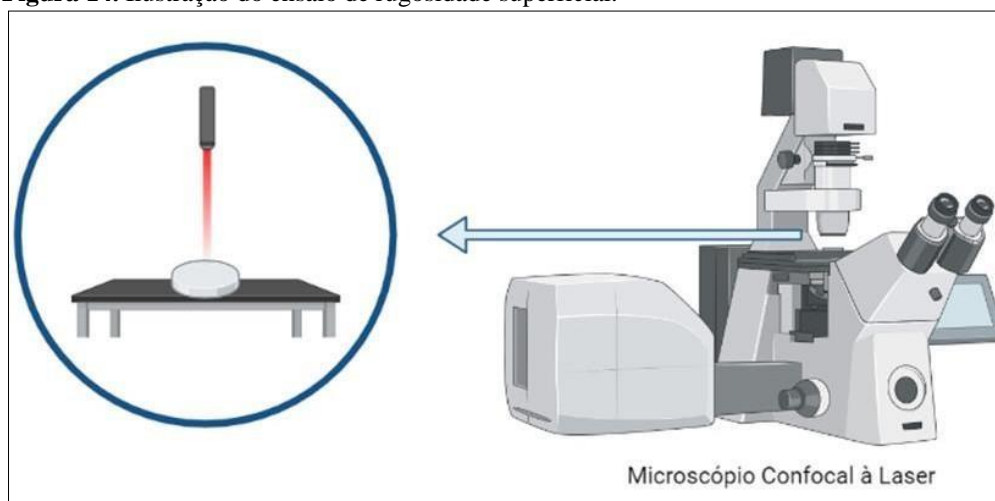
3.2.4 Rugosidade e Área de superfície

A análise da rugosidade e área de superfície dos discos (n=10) foi feita pela utilização de um microscópio confocal a laser 3D (LEXT 4000; Olympus, Hamburgo, Alemanha) no Laboratório de Pesquisa em Dentística do Departamento de Odontologia Restauradora- DOR, FORP-USP (Figura 13 e 14), com lentes objetivas (MPLAPON) de 20x e zoom de 1x, por meio de parâmetros de rugosidade média de Ra e Rz (μm), bem como medidas da área de superfície total Sa (μm). Com esse equipamento foram obtidas imagens com resolução de 1024×1024 pixels e as reconstruções das superfícies estudadas no formato 3D.

Figura 13. Microscópio Confocal a laser 3D.

Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 14. Ilustração do ensaio de rugosidade superficial.

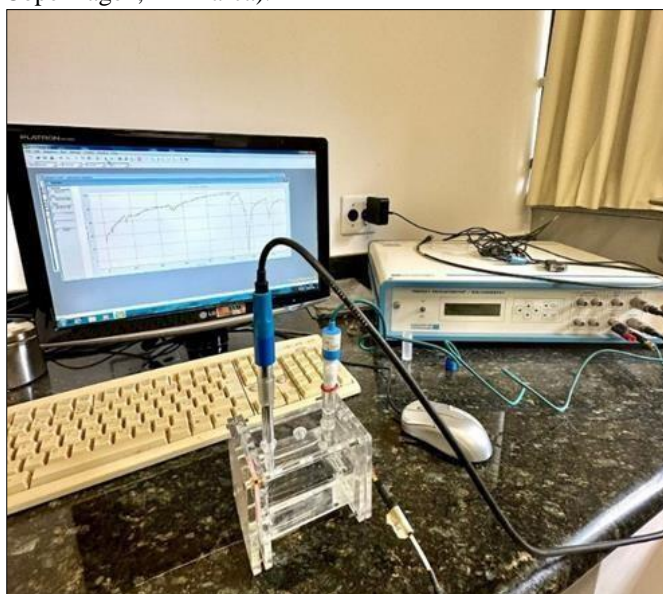


Fonte: Autoria própria.

3.2.5 Testes eletroquímicos

Os testes eletroquímicos foram realizados por meio da organização de três eletrodos: eletrodo de calomelano, como eletrodo de referência (SCE-B20B110; Radiometer Analytical, Copenhagen, Dinamarca), titânio, como eletrodo de trabalho e platina, como o eletrodo auxiliar (wire B35M110; Radiometer Analytical, Copenhagen, Dinamarca) (Figura 15).

Figura 15. Potenciostato (PGP 201 Radiometer Analytical, Copenhagen, Dinamarca).



Fonte: Autoria própria.

A primeira análise de degradação foi realizada por meio da medida do Potencial de Circuito Aberto (OCP), que é o potencial de equilíbrio do metal no ambiente (eletrólito), com soro fisiológico, que permite analisar o efeito da corrosão em um intervalo de tempo para obter

o potencial de corrosão em relação ao eletrodo de referência. O tempo para atingir o equilíbrio depende da composição do metal e do acabamento superficial, dessa forma não existe técnica para estabelecer o tempo de ensaio. Para este estudo, após testes preliminares, foi adotada uma hora.

As medidas eletroquímicas foram realizadas por meio de um potenciostato (PGP 201 Radiometer Analytical, Copenhagen, Dinamarca) controlado por computador, Voltmaster-4 software (Voltmaster, Radiometer Analytical, Copenhagen, Dinamarca), no Laboratório de Pesquisa de Metrologia no Departamento de Materiais Dentários e Prótese da FORP-USP.

As amostras foram imersas na solução de soro fisiológico (cloreto de sódio – NaCl - a 0,9% em 500 ml) durante uma (01) hora (Figura 16) e o potencial em circuito aberto (OCP) foi calculado antes de cada teste eletroquímico potenciodinâmico de polarização. Em seguida, realizou-se o teste potenciodinâmico iniciado nos valores de potencial pré-determinados entre -500 mV a +2000 mV com taxa de varredura de 2 mVs^{-1} , a partir da densidade de corrente de corrosão ($i_{\text{corr}} - \mu\text{A/cm}^2$) e pelo potencial de corrosão ($E_{\text{corr}} - \text{mV}$), valor que a densidade de corrente muda de catódica para anódica. O teste foi repetido nas amostras ($n=5$) em cada condição experimental.

Figura 16. Ilustração da amostra imersa em soro fisiológico.



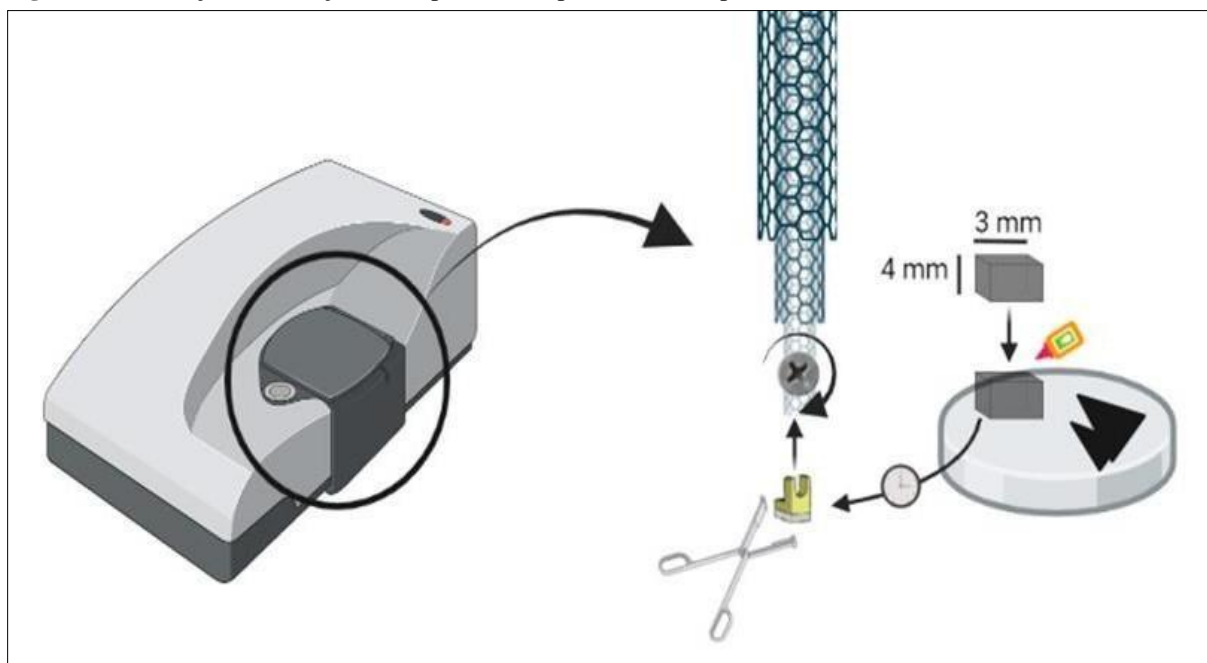
Fonte: Autoria própria.

3.2.6 Potencial Zeta

As caracterizações foram realizadas por meio de DLS (do inglês, Dynamic Light Scattering – Dispersão Dinâmica da Luz) com o instrumento ZetaSizer-nanoseries (Malvern, Worcestershire, UK), que determina a carga da superfície, na Central de Análise de

Biomateriais: Caracterização de Superfícies e Nanopartículas em Solução do Departamento de Química da FFCLRP-USP. Cada grupo (n=3) foi composto por amostras nas dimensões de 3 mm de largura por 4 mm de comprimento que foram analisadas em 5 posições diferentes e, em cada posição, a carga superficial foi medida 5 vezes. Inicialmente lavou-se a cela utilizada para medição com água deionizada, em seguida os espécimes foram colados no porta amostra (Figura 17), com uso de Super Bonder®, e este foi preso à cela. Após isso o sistema cela + amostra foi posicionado numa ferramenta de alinhamento de altura próprio para a cela, para ajuste manual da altura da amostra com relação ao laser do equipamento. Em seguida, foi colocado em uma cubeta 1 mL de solução padrão diluída em água deionizada e o sistema cela + amostra foi encaixado com cuidado para que não houvesse formação de bolha e que a solução não transbordasse. Este novo sistema cubeta + cela + amostra foi colocado no equipamento protótipo da Malvern® (Figura 18) para o início das análises. Terminada, desencaixou-se a cubeta e lavou-se o interior com água deionizada; o sistema cela + amostra também foi lavado com água deionizada. Após as lavagens, o porta amostra foi retirado da cela e a amostra colada foi raspada com uma espátula – neste momento tentou-se retirar o máximo de Super Bonder® seco que estava no porta amostra, para diminuir as chances de contaminação.

Figura 17. Ilustração da inserção dos espécimes no porta amostras para o Potencial Zeta.



Fonte: Autoria própria.

Figura 18. Protótipo Malvern®.

Fonte: Autoria própria.

A solução supracitada é concentrada de nanoesferas de látex inertes em água, cujas dimensões são habilmente controladas pela Malvern®. Para a diluição, coletou-se uma gota da solução concentrada num eppendorf de 3 mL que foi completado com água deionizada; coletou-se deste 0,5 mL que foram adicionadas a outro eppendorf de 3 mL, completado com água deionizada, resultando na solução diluída que é usada para preparar a cubeta.

3.3 Análise Microbiológica

3.3.1 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

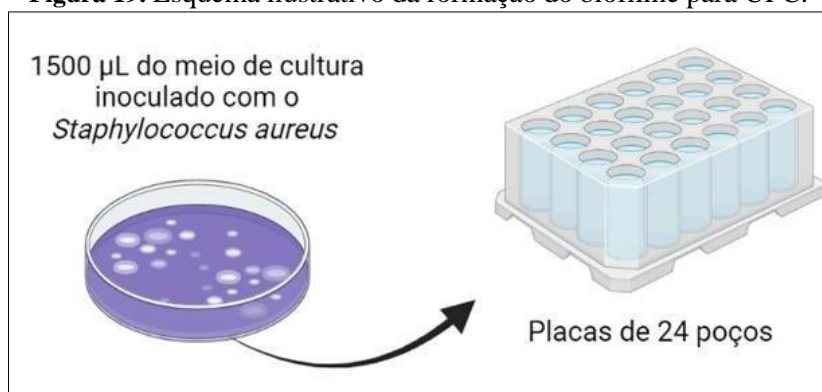
Os discos foram esterilizados por plasma de peróxido de hidrogênio - Sterrad - equipamento que emprega tecnologia de esterilização a baixa temperatura (50°C) (MultiLav Esterilizações Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e, portanto, não altera as propriedades do material.

Foi utilizada a cepa isolada de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), cultivada a partir do descongelamento e cultivo à 37° C por 24h em estufa microbiológica (DeLeo, B2DG, Bento Gonçalves, RS, Brasil). A cultura foi centrifugada a 6.000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante descartado e o pellet lavado duas vezes com 10 mL de solução PBS (Phosphate Buffered Saline, com os sais: NaCl, KCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄). A confirmação da concentração do inócuo foi realizada por meio da densidade óptica em Espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), com leitura de absorbância de 0,8 para *S. aureus*, em comprimento de onda de 625nm, o que corresponde a 108 UFC/mL. A suspensão bacteriana foi padronizada 106 UFC/mL. Foi utilizado o meio de cultura Mueller Hinton Broth (Difco, Sparks, MD, USA) para *S. aureus*.

3.3.1.1 Formação do Biofilme

Antes da análise foi verificada a esterilidade do meio de cultura utilizado. As 10 amostras de cada grupo foram colocadas em placas de 24 poços, com 1500 μL do meio de cultura inoculado com o micro-organismo e incubadas a 37°C por 1 h e 30 minutos, sob agitação constante de 75 rpm em estufa bacteriológica (Incubadora Shaker, Mod. – CE-320, Cienlab, Campinas, SP, Brasil) para aderência do biofilme (Figura 19). Após esse período, o meio de cultura contaminado foi removido, os corpos de prova foram lavados 2 vezes com PBS, e 1500 μL de meio de cultura estéril foram adicionados aos poços. As placas foram novamente incubadas sob as mesmas condições, durante 48h para crescimento e maturação do biofilme.

Figura 19. Esquema ilustrativo da formação do biofilme para UFC.



Fonte: Autoria própria.

3.3.1.2 Contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

Após as 48h os corpos de prova foram lavados com PBS e colocados em microtubos contendo 1 mL de PBS. Em seguida, estes foram colocados em cuba ultrassônica (Altsonic Clean 9CA, Ribeirão Preto- SP, Brasil), durante 20 min, a uma vibração de 40 Hz e potência de 200 Watts, para o desprendimento das células. Foram retirados 25 μL de cada microtubo para a determinação do número de unidades formadoras de colônias por mililitro.

O número de células viáveis foi quantificado por Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL), por meio da semeadura em placas de Petri contendo meio de cultura Trypticase Soy Agar (TSA, Difco, Sparks, MD, USA). Foram realizadas 4 diluições em série, transferindo-se 25 μL da suspensão bacteriana para um microtubo com 225 μL de PBS. As diluições foram agitadas em agitador de tubos (Phoenix, AP 56, Araraquara, Brasil) e uma alíquota de 25 μL de cada diluição foi colocada nos respectivos quadrantes da placa de Petri e espalhada com auxílio de uma alça Drigalsky.

Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas em estufa microbiológica

(DeLeo, B2DG, Bento Gonçalves, RS, Brasil). Após o período de incubação foi realizada a contagem do número de UFC, para o cálculo foi considerada a diluição em que o número de UFC variou entre 1 e 300 colônias, com a seguinte fórmula: $UFC/mL = (n^{\circ} \text{ de colônias} \times 10^n)/V$

Onde n equivale ao valor absoluto da diluição (1, 2, 3 ou 4), e V o volume em mL pipetado para cada diluição nas placas. Foram utilizados 25 μ L para cada diluição, assim $V=0,025$. Os valores de contagem de UFC/mL obtidos foram normalizados em LOG na base 10.

Devido à diferença de tamanho entre os discos avaliados foi realizado o cálculo da área de superfície de cada um deles e ajuste do número de colônias proporcionalmente à dimensão.

3.4 Análise Estatística

Os dados quantitativos foram analisados no software SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL). Verificada a distribuição dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, aplicou-se análise de variância one-way ANOVA e teste de comparações múltiplas Tukey. Os resultados de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram avaliados pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi adotado nível de significância de 5%.

4. Resultados

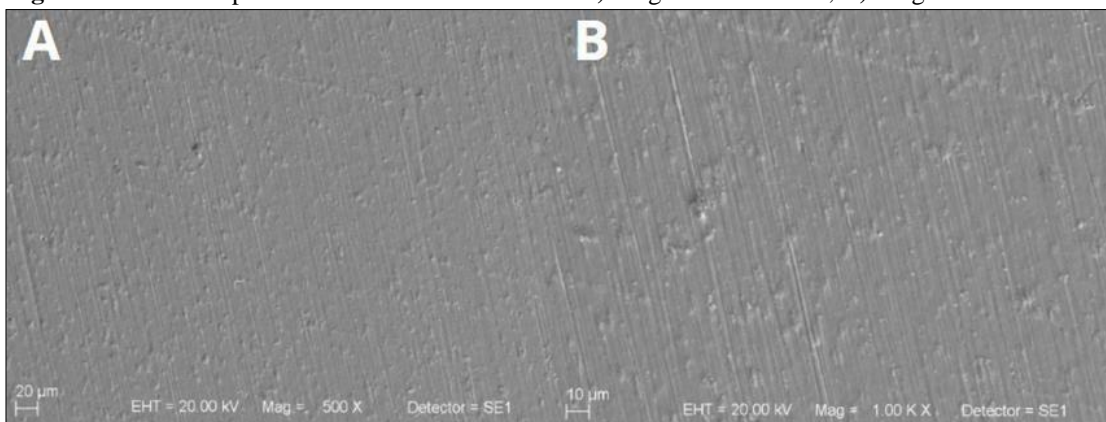
4. RESULTADOS

4.1 Caracterização Física e Química

4.1.1 Caracterização morfológica das superfícies (MEV)

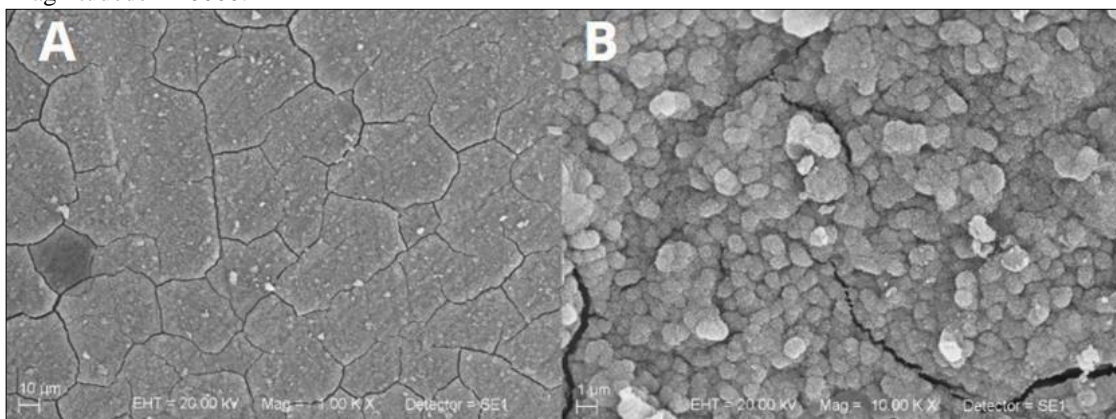
A topografia da superfície dos discos está representada nas Figuras 20, 21, 22 e 23 sob diferentes aumentos. A Figura 20 refere-se a topografia de superfície dos discos DU sob aumentos de 500x (Figura 20A) e 1000x (Figura 20B). As imagens obtidas demonstram características próprias do processo de usinagem, superfície plana, regular e com presença de riscos provenientes da etapa de polimento.

Figura 20. Microscopia eletrônica de varredura DU. **A)** Magnitude de X500; **B)** Magnitudede X1000.



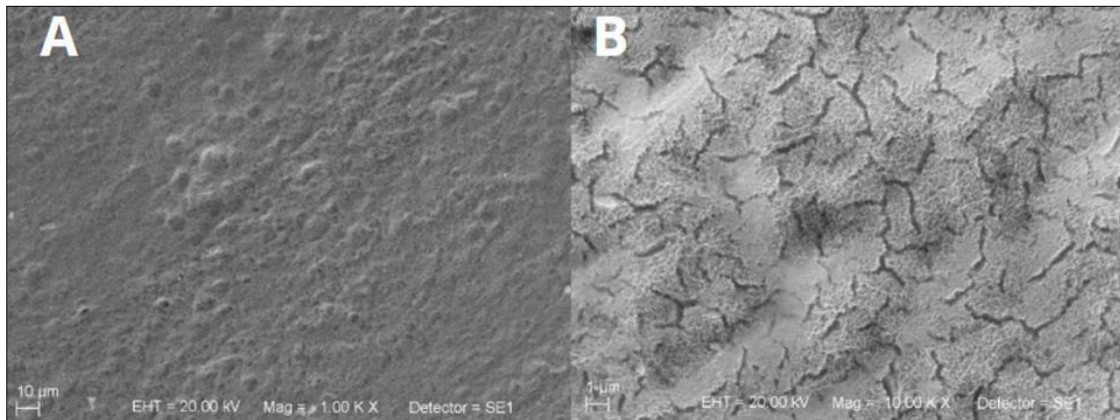
A figura 21 apresenta a superfície dos discos DUHAp sob aumentos de 1000x (Figura 21A) e 10000x (Figura 21B). Em menor aumento observa-se a presença de trincas e partículas com tamanhos diferentes que correspondem, provavelmente, ao desprendimento do revestimento. Já em maior aumento, foi possível observar a presença de estruturas compatíveis com a formação dos aglomerados de cristais de hidroxiapatita sobre a superfície.

Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura do disco DUHAp. **A)** Magnitude de X1000; **B)** Magnitudede X10000.



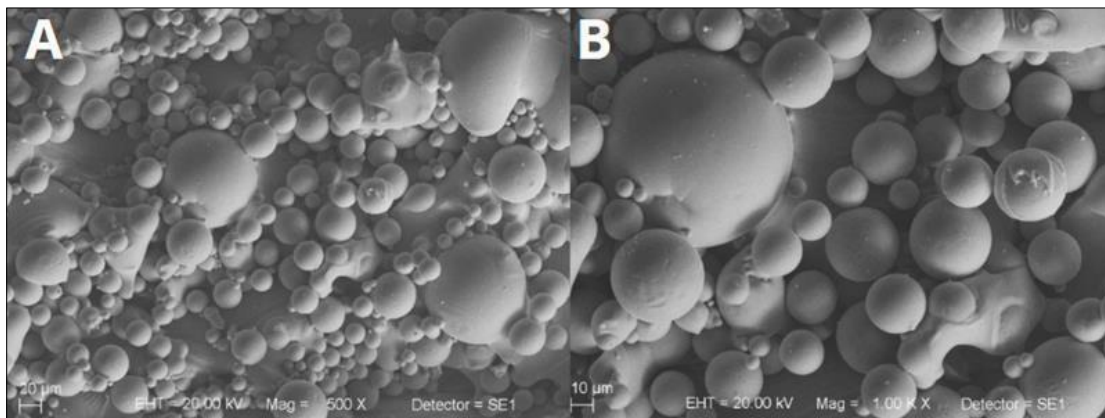
A figura 22 representa a superfície dos discos DUAA sob aumentos de 1000x (Figura 22A) e 10000x (Figura 22B). Observou-se morfologia superficial complexa desordenada, com combinação de grandes e pequenas estruturas microporosas. Em maior amplitude, percebeu-se semelhança das estruturas com “corais” e “esponjas”.

Figura 22. Microscopia eletrônica de varredura do disco DUAA. **A)** Magnitude de X1000; **B)** Magnitude de X10000.



A figura 23 demonstra a superfície dos discos DMA sob aumentos de 500x (Figura 23A) e 1000x (Figura 23B). Observou-se a presença de partículas esféricas, distribuídas aleatoriamente, que atribuem aparência rugosa. Na maior amplitude, foram visualizadas partículas irregulares de formato circular não fundidas, parcialmente fundidas ou fracamente aderidas umas às outras com espaços vazios entre si.

Figura 23. Microscopia eletrônica de varredura do disco DMA. **A)** Magnitude de X500; **B)** Magnitude de X1000.



4.1.2 Caracterização química da superfície (EDS)

A Tabela 3 e os Gráficos de 1 a 4 demonstram distribuição compatível com elementos químicos intrínsecos às superfícies estudadas. Nos grupos que receberam tratamento de

superfície, DUHAp e DUAA, foram encontrados outros elementos como Ca, P, O, Na, C e F, provenientes dos tratamentos de superfície, além dos elementos constituintes da liga, Ti, Al e V, em maiores porcentagens, com exceção do DUAA onde o O apareceu com a segunda maior porcentagem em peso (32,40%).

Tabela 3. Composição química dos discos, porcentagem em peso (Wt%).

Porcentagem em peso (Wt%)									
Amostras	Ti	Al	V	Ca	P	O	Na	C	F
DU	89,82	6,21	3,96	-	-	-	-	-	-
DUHAp	69,50	7,80	3,00	0,30	0,40	14,70	-	4,0	0,4
DUAA	61,86	2,47	2,78	-	0,13	32,40	0,36	-	-
DMA	90,14	5,80	4,06	-	-	-	-	-	-

Gráfico 1. Composição química (EDS) do disco DU.

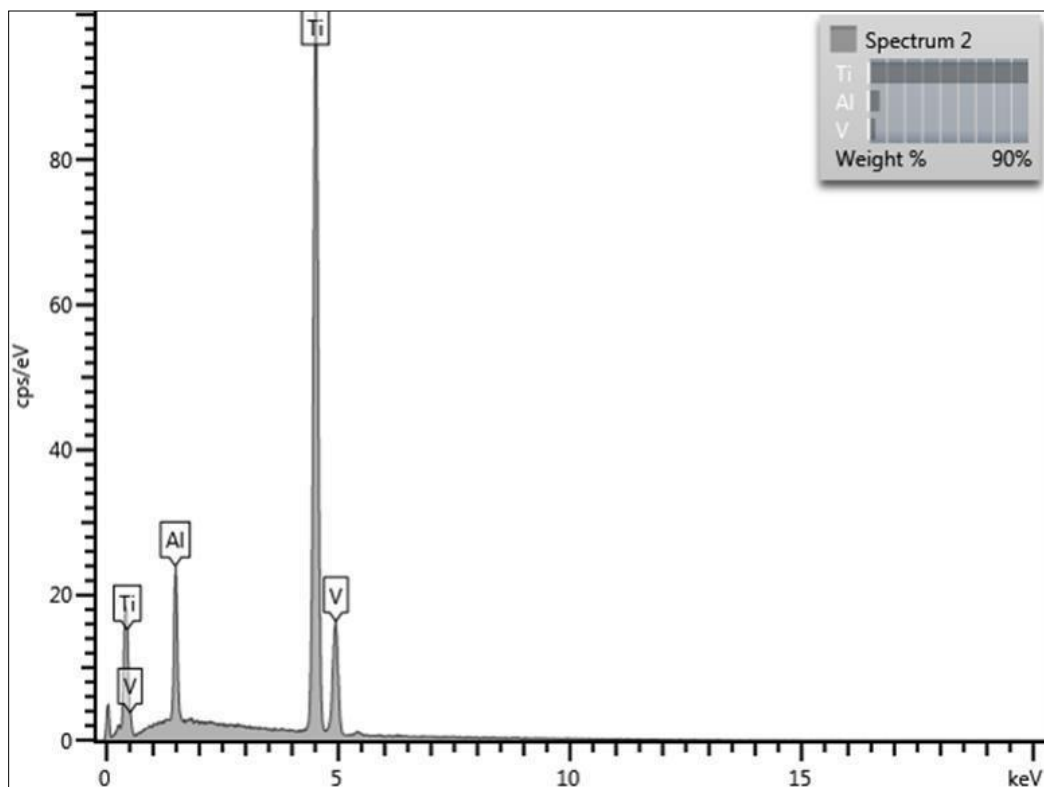


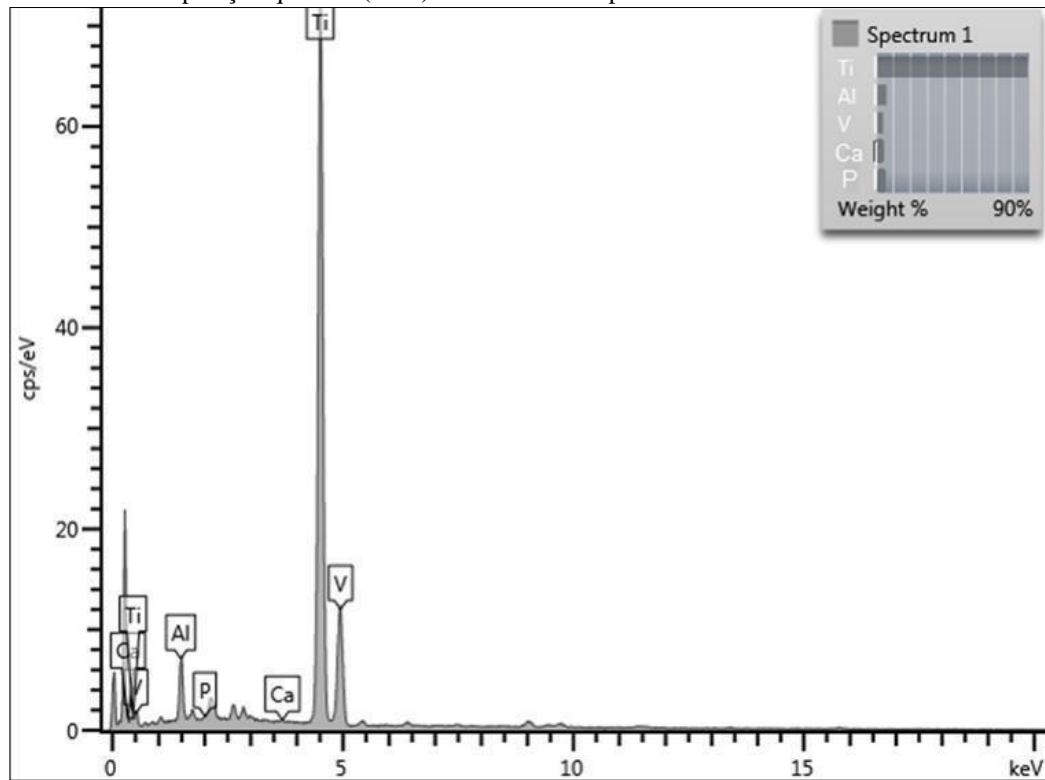
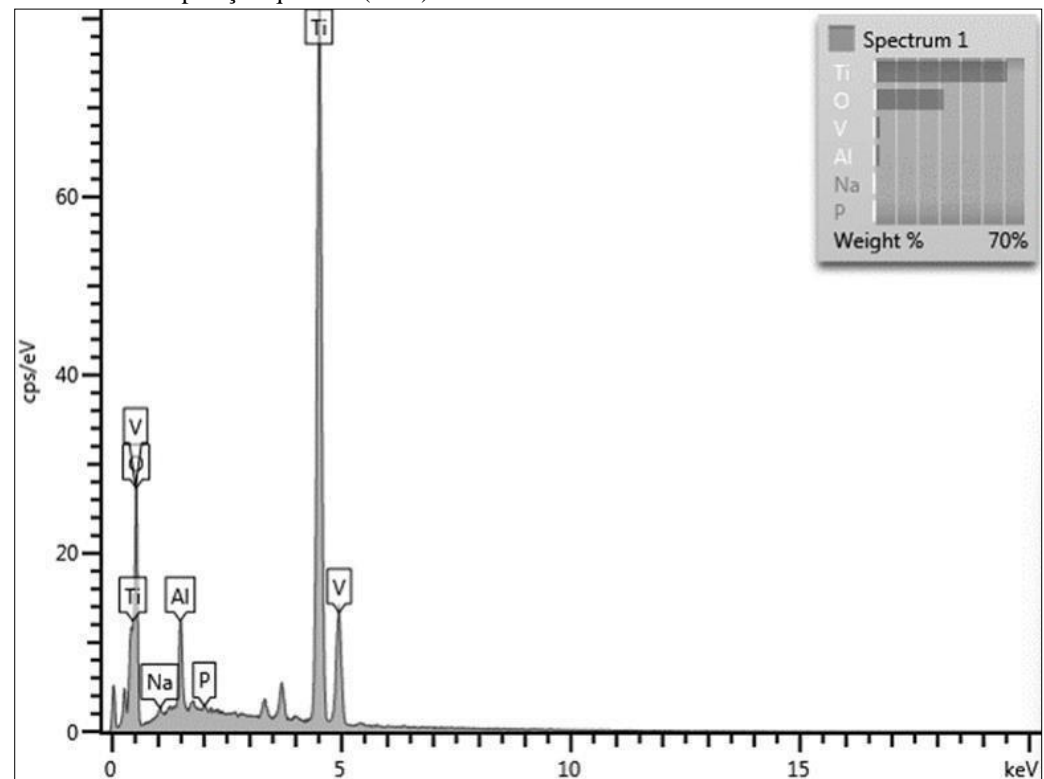
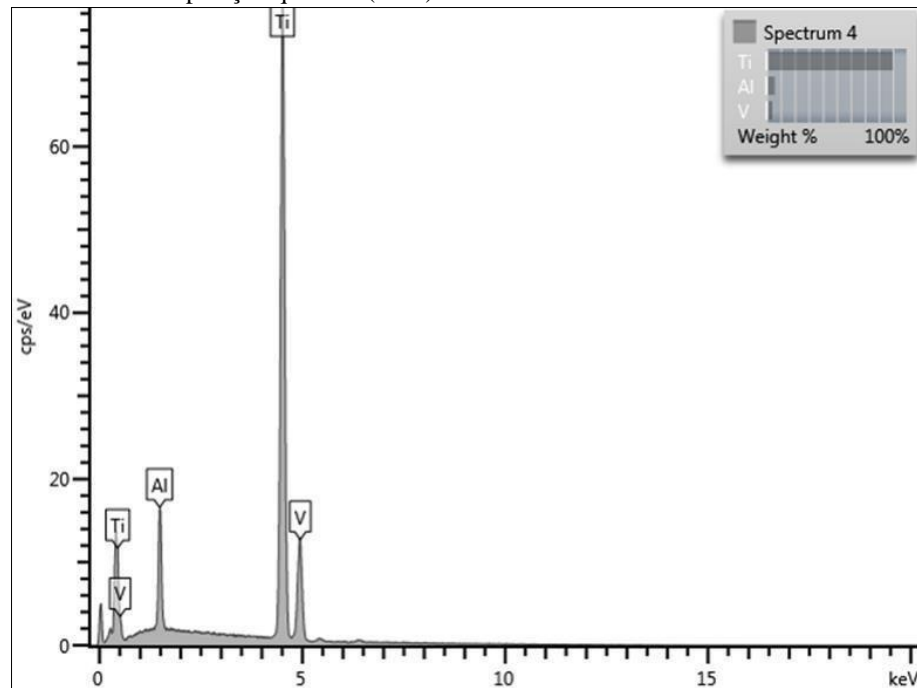
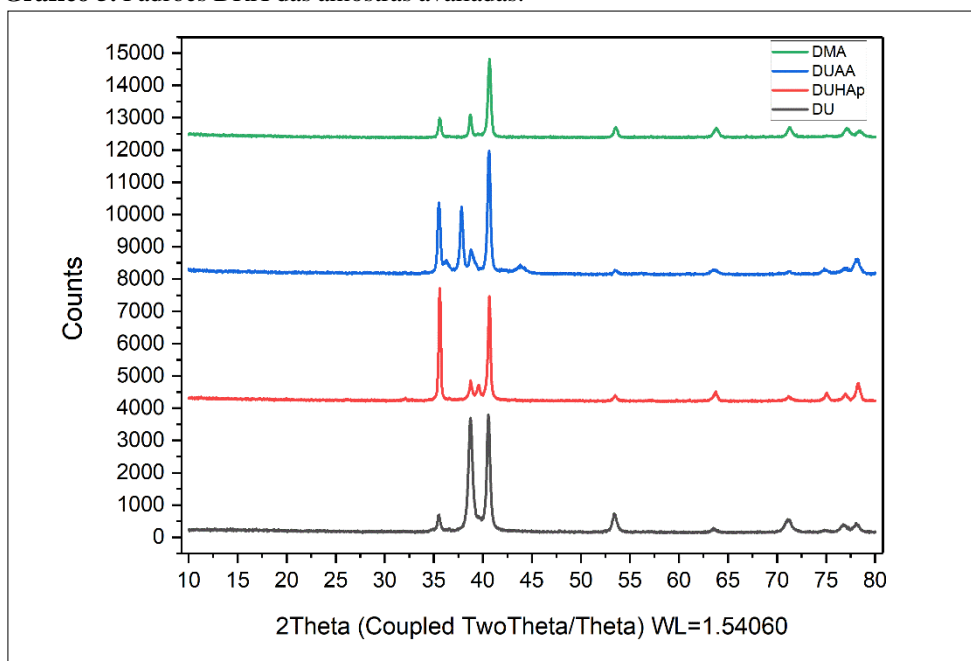
Gráfico 2. Composição química (EDS) do disco DUHAp.**Gráfico 3.** Composição química (EDS) do disco DUAA.

Gráfico 4. Composição química (EDS) do disco DMA.

4.1.3 Difração de Raios-X (DRX)

O gráfico 5 demonstra o difratograma com os padrões DRX das amostras DU, DUHAp, DUAA e DMA. Nos grupos sem tratamento de superfície, DU e DMA, foram observadas fases metaestáveis com picos de difração agudos cristalinizados, estáveis e definidos em escala nanométrica provenientes do substrato de Ti. Observou-se semelhança na quantidade de picos destes grupos, com valores mais altos encontrados no primeiro pico (que corresponde à maior distância entre os átomos na rede cristalina). Este foi localizado aproximadamente em ângulo de 35° em ambas as amostras, com intensidade de 2,524 Å para DU e 2,520 Å para DMA.

Nos grupos com tratamento de superfície, DUHAp e DUAA, foram observadas composições de fases nos revestimentos formados. Estas amostras apresentaram quantidades semelhantes de picos, com o primeiro mais pronunciado em aproximadamente 32° (2,785 Å) para DUHAp e 35° (2,524 Å) para DUAA. O primeiro pico encontrado em DUHAp está de acordo com o padrão de difração da hidroxiapatita (JCPDS 09-0432), que apresenta seus picos mais intensos em 32° , a indicar formação do revestimento.

Gráfico 5. Padrões DRX das amostras avaliadas.

4.1.4 Molhabilidade e Energia livre de superfície

Os resultados de molhabilidade e energia livre de superfície estão apresentados na Tabela 4 e as imagens dos ângulos de contato com a água na Figura 24.

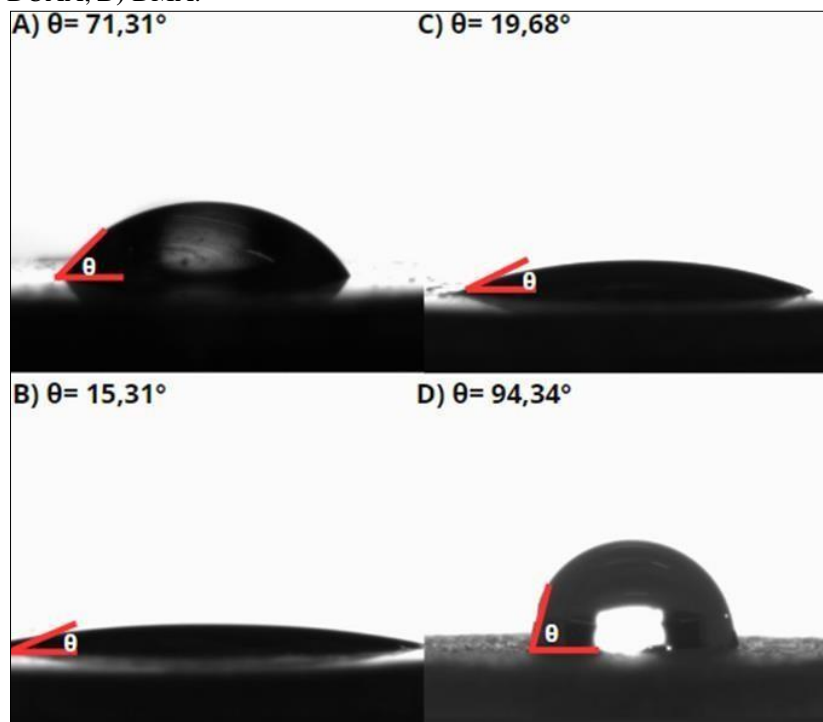
Os grupos DUHAp e DUAA apresentaram semelhança entre si ($p=0,831$) e os menores ângulos de contato comparados aos grupos DU e DMA ($p<0,05$), sendo este último o que apresentou os maiores valores ($p<0,05$). Da mesma forma, as superfícies tratadas ($p=0,384$) promoveram maior energia livre da superfície em relação às demais ($p<0,05$). Para a componente dispersiva não foi observada diferença significativa entre os grupos ($p=0,077$) e para a componente polar, observou-se o mesmo padrão da molhabilidade.

Tabela 4. Média e Desvio padrão dos valores dos ângulos de contato (θ) e energia livre de superfície (γ_s), $\gamma_s = \gamma_{Sp}$ (componente polar) + γ_{Sd} (componente dispersiva) dos diferentes grupos.

Grupos	Ângulo de contato θ (°)	Energia livre de superfície (mJ/m^2)	Componente Dispersiva (mJ/m^2)	Componente Polar (mJ/m^2)
DU	71,31 (5,97) ^A	40,17 (3,64) ^A	31,04 (5,90) ^A	9,12 (2,60) ^A
DUHAp	15,23 (13,17) ^B	70,78 (1,04) ^B	31,14 (0,43) ^A	39,63 (1,34) ^B
DUAA	19,68 (6,22) ^B	67,63 (2,34) ^B	28,02 (1,39) ^A	39,61 (3,33) ^B
DMA	94,34 (14,95) ^C	36,02 (6,82) ^A	34,48 (7,64) ^A	1,54 (1,89) ^C

*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam significância estatística (one-way ANOVA, Tukey; $p<0,05$).

Figura 24. Ângulo de contato com a água nos grupos **A) DU**; **B) DUHAp**; **C) DUAA**; **D) DMA**.



4.1.5 Rugosidade e Área de superfície

Para a rugosidade da superfície, houve diferença significativa entre os grupos em todos os parâmetros avaliados (Ra, Rz e Sa) ($p < 0,001$) (Tabela 5).

O grupo DMA apresentou maior rugosidade em todos os parâmetros ($p < 0,05$), estatisticamente diferente do DU, DUHAp e DUAA. Enquanto os grupos DU, DUHAp e DUAA apresentaram valores semelhantes ($p > 0,05$).

Tabela 5. Média e Desvio padrão da rugosidade da superfície (Ra, Rz e Sa) dos diferentes grupos.

Grupos	Rugosidade (μm)		
	Ra	Rz	Sa
DU	0,14 (0,17) ^A	0,24 (0,05) ^A	0,07 (0,01) ^A
DUHAp	0,15 (0,05) ^A	1,22 (0,59) ^A	0,13 (0,03) ^A
DUAA	0,17 (0,03) ^A	0,88 (0,15) ^A	0,18 (0,04) ^A
DMA	9,09 (1,94) ^B	51,93 (11,59) ^B	11,03 (1,95) ^B

*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam significância estatística (one-way ANOVA, Tukey; $p < 0,05$).

Nas imagens obtidas pelo Microscópio Confocal à Laser (Figuras 25, 26, 27 e 28), observou-se que a topografia dos discos avaliados corroborou com os dados quantitativos apresentados na Tabela 5.

Figura 25. Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DU

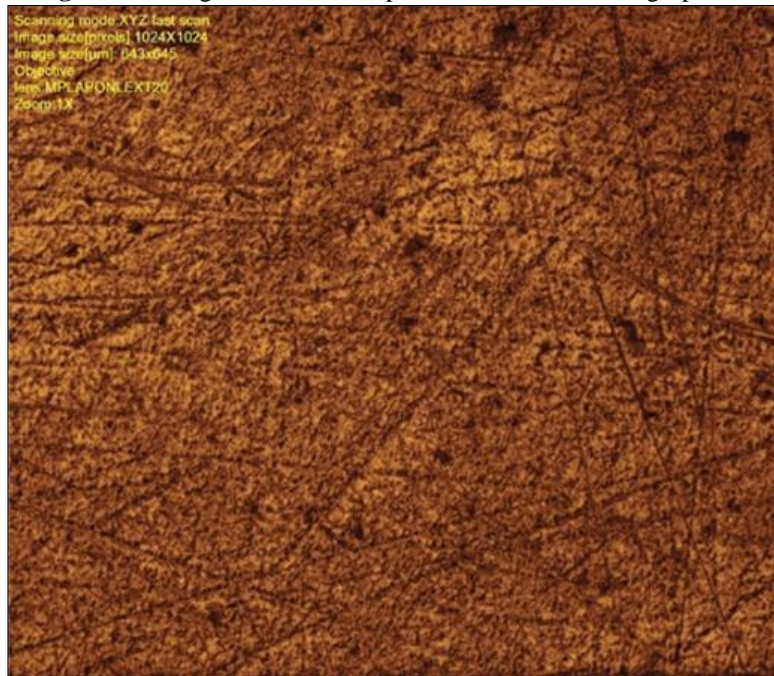


Figura 26. Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DUHAp.

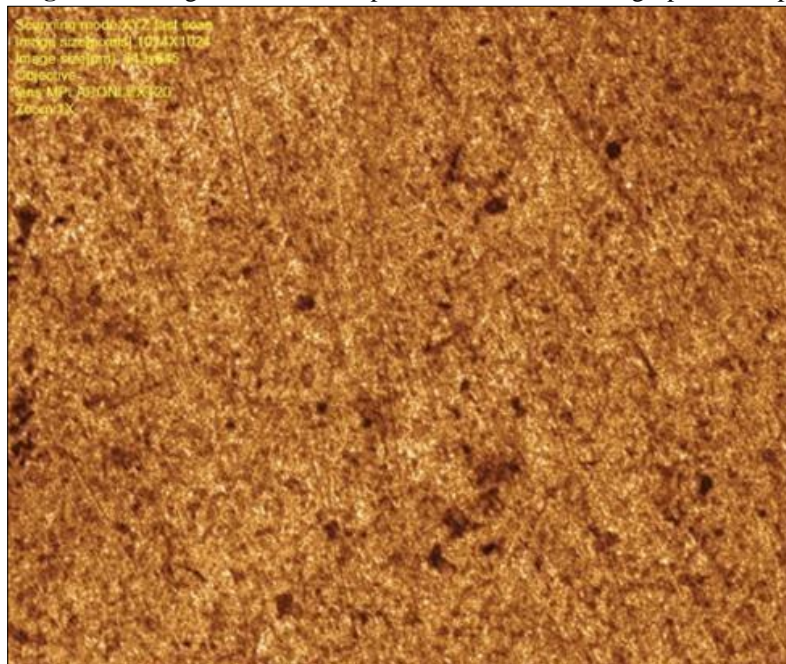


Figura 27. Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DUAA.

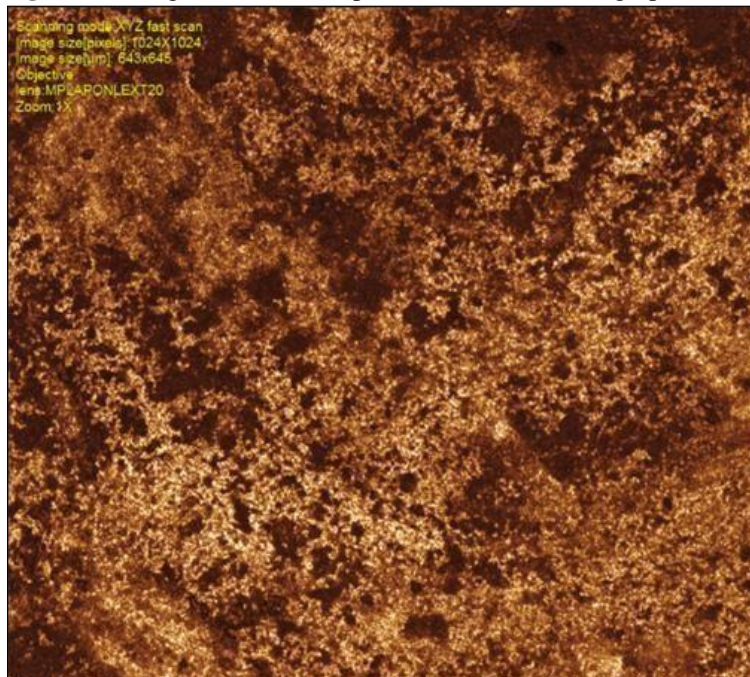
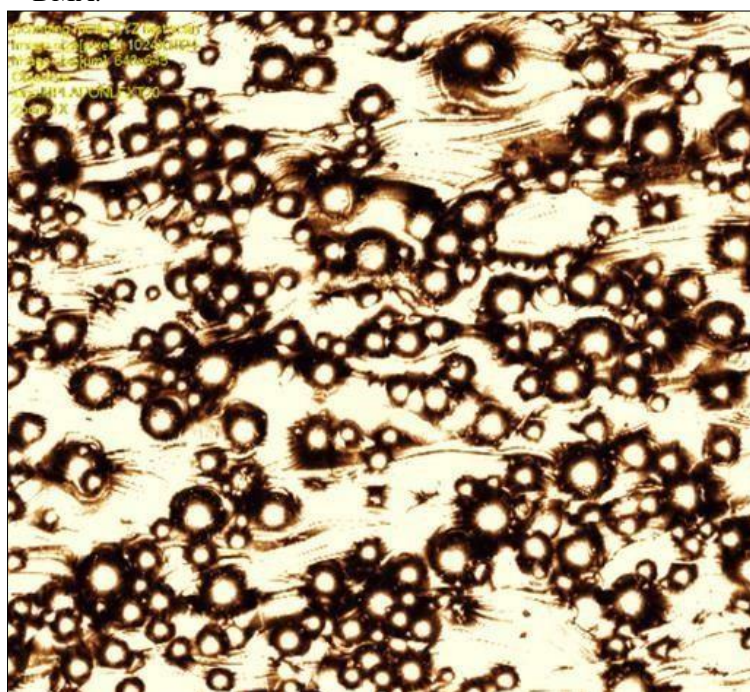


Figura 28. Imagem do Microscópio Confocal à Laser do grupo DMA.



4.1.6 Teste eletroquímico

Os valores médios dos dados obtidos por meio do ensaio de degradação química dos discos Ti-6Al-4V estão descritos na tabela 6. Diferença significativa entre os grupos foi observada para OCP ($p < 0,001$) e i_{cor} ($p = 0,028$). Para $E_i = 0$ os resultados foram semelhantes

($p=0,292$).

O grupo DMA apresentou o menor valor médio de OCP, estatisticamente diferente dos demais ($p<0,05$), e o grupo DUAA o maior valor, semelhante apenas a DU ($p=0,077$). Para icorr, maior valor médio foi observado para o grupo DMA, estatisticamente diferente do DUAA ($p=0,032$) (Tabela 6).

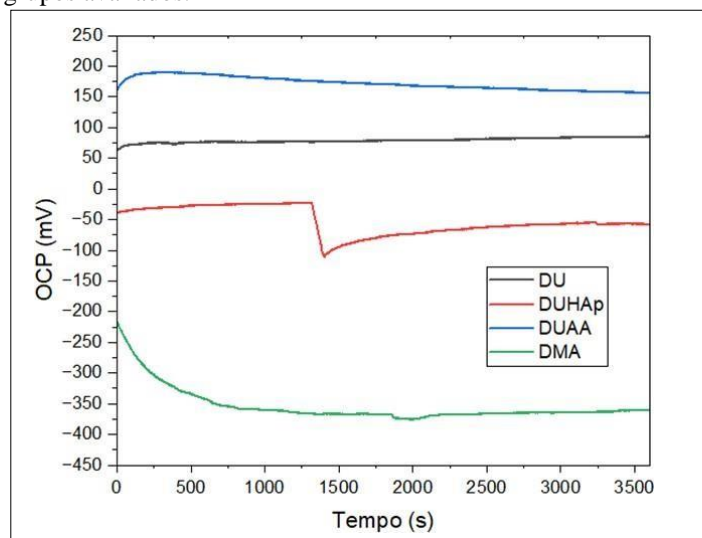
Tabela 6. Média e desvio padrão do ensaio de degradação química dos grupos.

Grupos	OCP (mV)	E (i=0) (mV)	i_{corr} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)
DU	79,20±16,90 ^{AB}	-311,28±84,33 ^A	0,22±0,17 ^{AB}
DUHAp	-54,00±13,80 ^B	-253,68±93,64 ^A	0,14±0,03 ^{AB}
DUAA	160,00±59,53 ^A	-413,38±186,83 ^A	0,12±0,11 ^A
DMA	-264,40±73,35 ^C	-309,24±120,70 ^A	0,41±0,21 ^B

*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam significância estatística (one-way ANOVA, Tukey; $p<0,05$)

O gráfico 6 demonstra a evolução das curvas de OCP de acordo com o tempo. Foi possível observar que o grupo DU (em preto), teve início em potenciais em torno de 50 mV e se manteve constante após 1 hora. A superfície DUAA apresentou maior potencial (positivo) que se manteve até o final da análise, indicando menor tendência à corrosão. O grupo DUHAp (em vermelho) apresentou potenciais de início do contato com o eletrólito próximos do 0, aproximadamente -50 mV, em torno de 1500 s começou a apresentar potenciais negativos e ao longo do tempo voltou a ter potenciais próximos ao seu valor inicial. DMA (em verde) foi o que apresentou maior tendência à corrosão, com início da curva nos valores mais negativos, que se estabilizou apenas em torno de 1000 segundos.

Gráfico 6. Gráfico de OCP (mV) em relação ao tempo (s) para os grupos avaliados.



Fonte: Autoria própria

4.1.7 Potencial Zeta

Os valores médios dos dados obtidos por meio do potencial zeta dos discos Ti-6Al-4V estão descritos na tabela 7. Foi observada diferença significativa entre os grupos ($p=0,001$).

Menores médias de potencial zeta foram observadas para os grupos com tratamento de superfície, DUHAp e DUAA, semelhantes entre si ($p=0,141$) e maiores médias para os grupos sem tratamento, DU e DMA, também semelhantes entre si ($p=1,000$) (Tabela 7).

Tabela 7. Média e desvio padrão dos dados do potencial zeta.

Grupos	Zeta (mV)
DU	-3,85 (1,80) ^A
DUHAp	-27,16 (4,56) ^B
DUAA	-17,50 (8,01) ^B
DMA	-4,07 (1,99) ^A

*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam significância estatística (one-way ANOVA, Tukey; $p<0,05$).

4.2 Análise Microbiológica

4.2.1 Unidades Formadoras de Colônia (UFC)

Para os dados de UFC, diferenças foram observadas entre os grupos ($p=0,006$) (Tabela 8). O DMA apresentou os maiores valores 6,52 UFC/mL [6,32;6,73], estatisticamente diferente do DU 6,08 UFC/mL [5,66;6,33] ($p=0,027$), DUHAp 5,91 UFC/mL [5,47;6,28] ($p=0,043$) e DUAA 6,20 UFC/mL [5,72;6,37] ($p=0,014$).

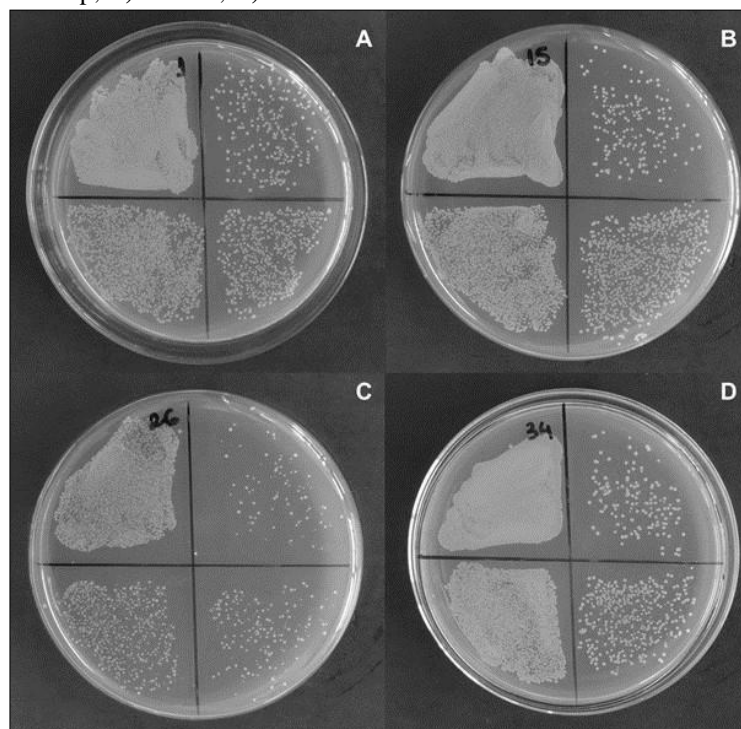
Tabela 8. Mediana e Intervalo de Confiança de Unidades Formadoras de Colônia.

Grupos	UFC/mL
DU	6,08 [5,66;6,33] ^A
DUHAp	5,91 [5,47;6,28] ^A
DUAA	6,20 [5,72;6,37] ^A
DMA	6,52 [6,32;6,73] ^B

*Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam significância estatística (Kruskal-Wallis; $p<0,05$).

A Figura 29 apresenta imagens qualitativas das placas de Petri utilizadas na contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para todos os grupos avaliados.

Figura 29. Contagem de Unidades Formadoras de Colônia. **A)** DU; **B)** DUHAp; **C)** DUAA; **D)** DMA.



Fonte: Autoria própria.

5. Discussão

5. DISCUSSÃO

Nas reabilitações implantossuportadas, o primeiro contato do implante dentário com o ambiente biológico se dá pela interação com a superfície, no momento da instalação cirúrgica. Para melhorar as funções celulares em resposta à superfície do implante (CHEN et al., 2022; CALAZANS NETO et al., 2022), diferentes tratamentos são propostos, seja por meio de métodos aditivos, subtrativos, técnicas de fabricação ou uma combinação deles, a fim de criar condições topográficas, físicas, químicas e biológicas ideais para adesão celular, prevenção da contaminação bacteriana e resistência à corrosão, fatores responsáveis pela sobrevivência dos implantes (GELLRICH et al., 2017; HENNINGSEN et al., 2018; HAMEED et al., 2021).

A topografia, rugosidade e química da superfície desempenham papéis essenciais nas propriedades de adesão ou não de células osteoblásticas e bactérias (FERRARIS et al., 2020; KREVE; REIS, 2021; HU et al., 2022), dependentes de propriedades inerentes ao substrato, como hidrofiliidade, perfil cristalográfico, topografia e carga superficial (HE et al., 2018; KREVE; REIS, 2021), bem como características específicas das bactérias, como células sensoras de sinais, apêndices (pili e curli), produção de polissacarídeos extracelulares, atividade metabólica, viabilidade celular, rigidez da parede celular, ligação receptor-ligante e adesinas (KREVE; REIS, 2021).

A Manufatura Aditiva (MA) se destaca como tecnologia para produção de biomateriais de alta precisão para prática clínica por permitir a fabricação de dispositivos com liberdade de design, geometria complexa, distribuição uniforme de densidade, controle de poros e uso de multimateriais (DUAN et al., 2020; HUANG et al., 2020; BROGINI et al., 2021; YIN et al., 2022). Nas áreas médico-odontológicas, as tecnologias de impressão 3D são empregadas na solução de casos que variam desde os mais simples, finalizados em poucas horas, até casos de grande complexidade e especificidade (BOUET et al., 2019; HAN et al., 2019; YU et al., 2020; REN et al., 2021; BROGINI et al., 2021). Apesar dos avanços, ainda existem desafios a serem superados, especificamente, ao se tratar de dispositivos menores, como os implantes dentários, pois as limitações dos equipamentos disponíveis tornam mais difícil a precisão (BOUET et al., 2019). Além disso, observa-se pouca compreensão sobre a manipulação dos parâmetros de impressão e a necessidade de pós-processamento, que pode melhorar a quantidade de partículas residuais na superfície, dificultar a adesão e a formação de biofilme (BROGINI et al., 2021; CALAZANS NETO et al., 2023).

As características morfológicas das superfícies dos implantes dentários influenciam na adesão de microrganismos, devido à capacidade de reconhecerem propriedades topográficas do

titânio (YEO et al., 2022). O MEV revela detalhes microscópicos da superfície da amostra, como sua morfologia, topografia e estrutura, com elevado nível de ampliação e detalhamento tridimensional que permite maior compreensão do comportamento celular frente às superfícies. As figuras 23A e 23B, que correspondem ao grupo DMA, sem tratamento, confirmaram a presença de partículas esféricas do pó de titânio, parcialmente ou fracamente fundidas, e um perfil irregular e rugoso apoiado pelo maior valor de rugosidade Ra 9,09 μm (1,94) ($p < 0,05$) e imagem obtida pelo microscópio confocal à laser (Figura 28). XIU et al (2016) e REN et al (2021) observaram características semelhantes em implantes fabricados por MA e acrescentaram que, embora a técnica permita regulação macroestrutural, as propriedades superficiais mais finas, responsáveis diretamente pela resposta biológica, não são bem controladas. A fusão incompleta do pó durante o processo de fabricação aditiva também pode ser atribuída à baixa quantidade de energia fornecida pelo feixe de laser, o que impede a completa fundição do titânio (SAMES et al., 2016), assim como observado no presente estudo, em que a potência de 129W não foi suficiente para fundir completamente o pó, que ficou aderido à poça de fusão sem fundir completamente. Nesse contexto, ainda que a modificação dos parâmetros de impressão possa promover modulação das superfícies de titânio, sugere-se realizar a etapa de pós-processamento em implantes de MA, a fim de remover partículas residuais que geram processos inflamatórios e afetam a longevidade da reabilitação (XU et al., 2016; YU et al., 2020).

Nas fotomicrografias do grupo com revestimento de hidroxiapatita (Figuras 21A e 21B) foram observadas características nanotopográficas em formato esférico que aceleram a nucleação de apatita, assim como encontrado por BSAT et al (2015). O tratamento ácido-alcalino (Figuras 22A e 22B) gerou estruturas com aspecto de “esponja” ou “coral” assim como descrito por OLIVEIRA et al (2019), conhecidas por proporcionar maior área de contato com o substrato e favorecer adesão e absorção de células osteogênicas promotoras de crescimento ósseo. No grupo usinado sem tratamento (DU) foi observada superfície plana, regular, com presença de riscos, provenientes do uso de lixas d'água durante a etapa de polimento, também reportada por CLAROS et al (2016), além de menor rugosidade, comprovado pelos dados quantitativos (Tabela 5), com menores médias para superfície DU em todos os parâmetros avaliados (Ra, Rz e Sa) e imagens de Microscopia Confocal à Laser (Figura 25).

A análise de Difração de Raios-X (DRX) revelou semelhança entre os padrões de DU e DMA, o que indica que as técnicas de fabricação, usinagem ou manufatura aditiva, não influenciaram na estrutura cristalina da liga, enquanto qualquer alteração poderia comprometer as propriedades físicas, químicas e mecânicas do titânio, como sua ductilidade, dureza e

resistência à corrosão (CHENG et al., 2014; SALOU et al., 2015; BAEK et al., 2017; LEREBOURS et al., 2019; VALDEZ-SALAS et al., 2021). Essa semelhança também foi relatada por HARADA et al (2020) e os resultados para o grupo DMA são consistentes e compatíveis com os encontrados por ZHENG et al (2022) que exibiram fortes picos de difração a partir de 36° . Os grupos com tratamento de superfície apresentaram picos semelhantes ao perfil de difração dos elementos introduzidos na superfície após os revestimentos, o que indica adequada formação destes, assim como relatado por OLIVEIRA et al (2015). Os resultados de DUHAp foram semelhantes aos de STANGO et al (2018), com picos referentes a apatita na região entre $30,75^\circ$ e $31,02^\circ$ e BAPTISTA et al (2016) que notaram picos de fosfato de cálcio na região entre 30° e 32° , assim como no presente estudo. REN et al. (2021) observaram que os picos de DRX encontrados indicam a formação bem-sucedida da camada do revestimento nos discos, com maior parte composta por hidroxiapatita (HAp) após imersão em SBF.

Escalas micrométricas são utilizadas para descrever a rugosidade da superfície com base nos parâmetros Ra (rugosidade média aritmética), Sa (rugosidade média aritmética 2D) e Rz, que estima a magnitude total entre os 5 picos e vales mais marcantes na superfície e permite sugerir a espessura necessária do revestimento para cobrir completamente e nivelar a superfície (CLAROS et al., 2016; ANDRUKHOV et al., 2016). De acordo com parâmetro linear Ra, classifica-se a topografia de superfície como lisa ($Ra < 0,5 \mu\text{m}$), minimamente áspera ($Ra: 0,5-1,0 \mu\text{m}$), moderadamente áspera ($Ra: 1,0-2,0 \mu\text{m}$) e altamente áspera ($Ra > 2,0 \mu\text{m}$) (NICOLAS-SILVENTE et al., 2020). Neste estudo, os grupos DU, DUHAp e DUAA apresentaram superfícies lisas, enquanto DMA superfície altamente áspera. LI et al (2020) relataram para implantes impressos rugosidade de até $24\mu\text{m}$, a depender da impressora e dos parâmetros utilizados. No entanto, valores de rugosidade de até $0,2\mu\text{m}$ são considerados preferíveis, como os encontrados em DU, DUHAp e DUAA. Essa faixa de rugosidade impede a proliferação de bactérias na superfície do implante, ao mesmo tempo em que promove uma fixação biomecânica adequada (DAMIATI et al., 2018).

Além da topografia, a composição química, molhabilidade e energia livre de superfície modelam as respostas celulares e adesão bacteriana ao implante (LOUARN et al., 2019; KREVE; REIS, 2021). No presente estudo, as superfícies foram avaliadas por meio de EDS com o objetivo de comprovar a formação adequada dos tratamentos de superfície e a presença dos elementos químicos envolvidos nesses processos. De maneira geral, os grupos apresentaram maior porcentagem em peso dos componentes inerentes à liga utilizada, Ti, Al e V. Nos grupos DUHAp e DUAA, elementos adicionais foram identificados. De acordo com REIS et al (2023), a incorporação desses íons é capaz de alterar as características do titânio,

como hidrofiliçidade, fases cristalinas e cargas superficiais, que influenciam no padrão de adesão bacteriana, como observado na contagem de UFC do presente estudo (Figura 29). Os íons de Ca, P, O, C e F detectados nas amostras DUHAp possuem similaridade química com o osso mineral e potencializam a osseointegração (KLIBMAN et al., 2021). Segundo YOKOTA et al (2014), a presença adequada de Ca e P nas superfícies promove interação entre implante e tecido ósseo e favorece sua fixação. Para HARUN et al (2018) e PREDOI et al (2023), o íon O relaciona-se com a estabilidade e solubilidade da hidroxiapatita na superfície e o F que, embora não seja componente intrínseco da HA, pode contribuir para propriedades antimicrobianas e remineralizadoras do material.

No grupo DUAA, a análise de EDS detectou a presença dos íons P, O e Na. De acordo com o estudo de CLAROS et al. (2016), alta quantidade de O pode ser atribuída à formação de HTiO₃- e ao processo de hidratação do disco de titânio após imersão em solução de NaOH. Nesse processo, os grupos carregados negativamente formados na superfície do material reagem com os íons de sódio presentes na solução alcalina e resultam na incorporação desses no revestimento. Essa reação leva à formação de uma camada de hidrogel de titanato alcalino, que facilita a ligação e a integração do implante com o tecido ósseo circundante (MORRIS et al., 2001; BSAT et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015; CLAROS et al., 2016).

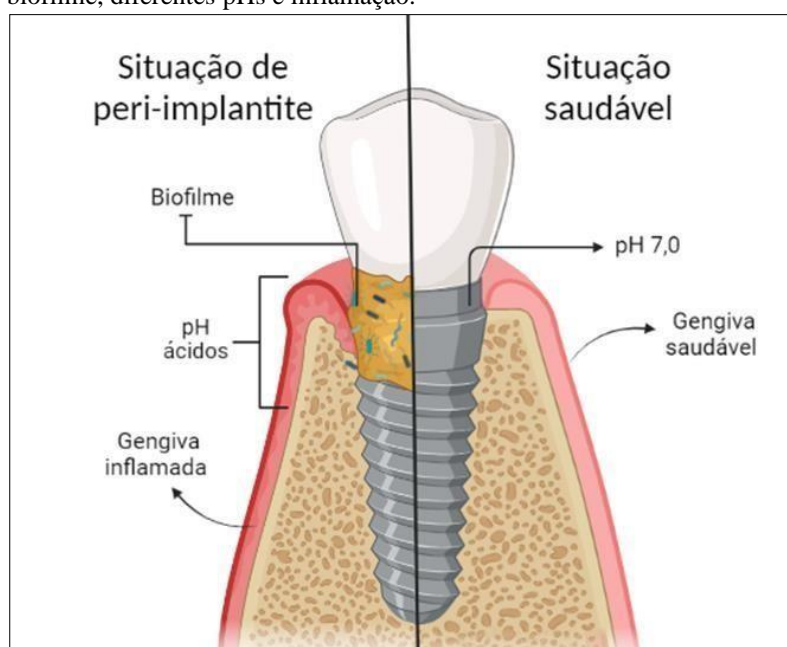
A molhabilidade é uma propriedade influenciada pela topografia e composição química do implante, cujas superfícies hidrofílicas são preferíveis em comparação às hidrofóbicas, por promoverem melhor interação celular, tecidual e com fluidos biológicos (PACHAURI et al., 2014). A energia livre de superfície refere-se à energia na interface entre implante e meio circundante. Quanto maior este valor, maior a bioatividade, por favorecer a adsorção de proteínas e células ósseas, além de reduzir a adesão bacteriana (ZHANG et al., 2018; SHAO et al., 2020).

No presente estudo, os discos usinados com tratamento de superfície, DUHAp e DUAA, apresentaram menor ângulo de contato e maior energia livre de superfície em comparação aos grupos sem tratamento. De acordo com FERREIRA et al (2016) e HENNINGSE et al (2018), superfícies hidrofílicas, com energia livre de superfície adequada, facilitam adesão e proliferação das células ósseas, estabilidade em longo prazo e dificultam adesão de bactérias, o que reduz o risco de inflamação e infecção dos tecidos peri-implantares. DMA apresentou maior ângulo de contato e menor energia livre de superfície, assim como no estudo realizado por SARKER et al (2019) que reportaram comportamento hidrofóbico em dispositivos produzidos por SLM. Segundo DUAN et al (2020), o ângulo de contato mais elevado é atribuído ao resfriamento rápido associado à técnica SLM, que impede a entrada de água nos poros, devido ao aprisionamento de ar. Como resultado, mesmo que a área de superfície seja maior para o molhamento, a presença de ar nos poros impede que isso ocorra

gerando maior ângulo de contato. De acordo com VALVERDE et al (2019), materiais com maior energia livre de superfície demonstraram ser mais eficazes na prevenção da adesão bacteriana, o que reduz risco de complicações associadas ao implante. Alinhado com estes autores, o presente estudo encontrou que os grupos com tratamento de superfície, DUHAp e DUAA, apresentaram os menores valores de energia livre de superfície (Tabela 5) e consequentemente menor UFC (Gráfico 7).

A peri-implantite (Figura 30) é uma das principais complicações associadas aos implantes dentários, que afeta aproximadamente 22% desses dispositivos (CHANGI et al., 2019) e é causada principalmente pela presença de biofilme bacteriano (FRETWURST et al., 2018; SARKER et al., 2019; LIU et al., 2022). Na cavidade oral, encontra-se o segundo maior ecossistema do corpo humano, altamente organizado e composto por aproximadamente 700 espécies bacterianas (IKEDA et al., 2019; COSTA et al., 2022; LIU et al., 2022) envolvidas em uma matriz com substâncias poliméricas extracelulares (EPS) autoproduzidas que apoiam sua sobrevivência por facilitar a comunicação célula-célula (JAKUBOVICZ et al., 2021; KREVE e REIS, 2021; COSTA et al., 2022). Na boca, estas bactérias encontram-se, em sua maioria, fixadas nos dentes, mucosas e nos materiais reabilitadores, mas também na saliva ou fluido crevicular gengival, representando as células microbianas dispersas (COSTA et al., 2022). Nos implantes dentários, os biofilmes são dinâmicos e bem estruturados, com mais componentes do que apenas células microbianas viáveis (DAUBERT e WEINSTEIN, 2019; COSTA et al., 2022).

Figura 30. Ilustração de um implante em contato com uma situação saudável paralelo à uma situação com peri-implantite na presença de biofilme, diferentes pHs e inflamação.



Fonte: Autoria própria.

De acordo com PREETHANATH et al (2017), em dentes e implantes o biofilme é formado rapidamente, cerca de 2 a 6 horas após a colonização bacteriana, e as características da superfície interferem na sua adesão, o que retrata a necessidade de materiais que promovam ação antibacteriana em primeiro estágio e que posteriormente tenham capacidade de osseointegração (ZHOU et al., 2020; SANCHEZ et al., 2021). A literatura aponta que características superficiais em nanoescala induzidas por tratamentos de superfície, como no presente estudo, influenciam em propriedades como molhabilidade, energia livre de superfície, rugosidade e composição química, à apresentar potencial antibacteriano e capacidade de modular seletivamente a resposta de osteoblastos (COELHO et al., 2015; XU et al., 2016; BARTOLOMEU et al., 2017; TENG et al., 2019; HUANG et al., 2020; REN et al., 2021; BROGINI et al., 2021).

Neste estudo, a influência de diferentes superfícies de titânio na adesão bacteriana foi avaliada por contagem de UFC a partir de uma cepa isolada de *Staphylococcus aureus*, bactéria gram-positiva que apresenta alta afinidade por superfícies metálicas de implantes, como a avaliada neste estudo, e com variedade de mecanismos de virulência que permitem sua adesão, colonização e invasão em tecidos, e levam à infecções (CHEN et al., 2022).

WANG et al (2018) que afirmaram que a rugosidade superficial é uma das propriedades que influenciam na adesão bacteriana, no presente estudo, o grupo obtido por manufatura aditiva, DMA, apresentou maiores valores médios de rugosidade e unidades formadoras de colônia. Além deste, FERREIRA-RIBEIRO et al (2016) e ANNUNZIATA et al (2017) destacaram que superfícies rugosas apresentam maior tendência ao acúmulo de bactérias, principalmente as que apresentam valores de Ra maiores que 2 μm , como no grupo de manufatura aqui avaliado (8,68 μm). De acordo com estes autores, superfícies ásperas com depressões definidas possuem locais mais propícios para a colonização bacteriana, são de difícil acesso e dificultam a descontaminação efetiva, o que resulta no crescimento rápido do biofilme devido à multiplicação das espécies bacterianas. (TEUGHELIS et al., 2006; ANNUNZIATA et al., 2017). No entanto, ainda existem lacunas na literatura quanto a relação entre rugosidade e a adesão bacteriana (BRACERAS et al., 2014 e WASSMANN et al., 2017).

Para análise dos resultados obtidos nos grupos com tratamento de superfície, DUHAp e DUAA, foram encontrados menores valores de UFC. Sugere-se que este resultado foi influenciado pela maior molhabilidade e energia livre em comparação com os demais grupos, o que potencializa as interações celulares com o substrato e segundo GITTENS et al (2014) e VERDEGUER et al (2022) dificulta a adesão de bactérias com características hidrofóbicas, como o *S. Aureus*, que preferem superfícies não polares. A hidrofobicidade é uma propriedade

que descreve a repulsão da água ou moléculas polares pela superfície e envolve mecanismo de ação de diferentes elementos de adesão microbiana, como adesinas responsáveis pelo reconhecimento e ligação ao substrato (GITTENS et al., 2014). Portanto, a superfície tratada, que possui maior molhabilidade, inibe a formação inicial do biofilme pelas bactérias hidrofóbicas e reduz o número de unidades formadoras de colônias (UFC), assim como observado neste estudo (KREVE E REIS, 2022).

Segundo HAMEED et al (2021), no ambiente bucal é comum a corrosão eletroquímica, devido a saliva conter sais que permitem sua ação eletrolítica, sua magnitude depende do encontro de diferentes condições que aceleram os processos corrosivos dos implantes dentários, como pH ácido, presença de proteínas e bactérias, alta concentração de íons cloreto, variações de temperatura e, por fim, a combinação do meio fisiológico corrosivo com cargas cíclicas que geram desgaste (MATHEW et al., 2012; REVATHI et al., 2016; APAZA-BEDOYA et al., 2017; DELGADO-RUIZ e ROMANOS, 2019), aumentam a liberação de íons da liga metálica, inflamação ou alergias no tecidos peri-implantares pela presença de mediadores inflamatórios como citocinas, à causar alterações teciduais, influenciar na osseointegração e levar a falhas estruturais do implante (GAO et al., 2018; NOUMBISSI et al., 2019; HAMEED et al., 2021). Em revisão sistemática recente foi abordado que o elemento vanádio apresenta toxicidade em sua forma elementar e pode causar reabsorção óssea pelos osteoclastos, efeitos neurotóxicos e deficiência de vitamina D e cálcio, enquanto o alumínio pode ser relacionado a doenças neurodegenerativas (TARDELLI et al., 2020).

TAKADAMA et al (2001) realizaram o revestimento com hidroxiapatita na superfície da liga Ti-6Al-4V por meio da solução SBF (Fluido Corporal Simulado) que simula o plasma sanguíneo, assim como no presente estudo, e observaram, por meio de XPS e difração de raios X, a presença de titanato de cálcio e fosfato de cálcio amorfo, um filme nobre que reduz a taxa de corrosão (HAMEED et al., 2021). Por sua vez, o tratamento ácido-alcálico da superfície favorece a formação de fosfato de cálcio no titânio o que potencializa sua biocompatibilidade e otimiza o processo de formação óssea. De acordo com WANG et al (2003), o NaOH utilizado no presente estudo é um dos reagentes mais indicados, porque, além de sua capacidade de remover contaminantes e óxidos da superfície do implante, produz uma camada gelatinosa de titanato de sódio que induz a formação de apatia e inicia o desenvolvimento de fosfato de cálcio, que atua como proteção adicional contra a corrosão (TAKADAMA et al., 2001; WANG et al., 2003).

O Potencial de Circuito Aberto (OCP) foi utilizado para avaliar a tendência à corrosão dos diferentes discos Ti-6Al-4V, sendo os valores maiores indicativos de menor tendência à

corrosão. A análise das curvas no gráfico 6, mostrou que DUAA teve o maior potencial inicial, o que implica em menor degradação da superfície, enquanto DMA teve o menor potencial inicial com maior tendência à corrosão.

Os achados deste estudo referente ao comportamento do disco DUHAp vão ao encontro de HAMEED et al (2021), em que o grupo revestido apresentou menor intensidade decorrente e maior resistência à corrosão, devido ao efeito das partículas na barreira protetora entre superfície e solução e pela ligação efetiva revestimento-substrato. Melhores resultados referentes ao grupo DUAA foram reportados por APARICIO et al (2003), devido a melhor passivação da camada pela presença do ácido, que oferece valores nobres pela mudança na espessura e estrutura da camada, capaz de induzir a formação de apatita semelhante à do osso. Por sua vez, os piores resultados foram encontrados no grupo DMA, justificado por DAI et al (2016) e TOPTAM et al (2019) pela microestrutura diferente em visibilidade e fração de volume das fases cristalinas, com menor quantidade de fase β -Ti e maiores de α -Ti, além da presença de poros internos que permite a entrada de produtos corrosivos.

Para compreender a cinética do processo corrosivo que ocorreu nas superfícies dos espécimes foi realizada a mensuração dos valores de densidade de corrente de corrosão (i_{corr}), inversamente proporcionais a resistência da superfície à corrosão. Neste estudo, o tratamento ácido-alcálico apresentou menor valor ($0,12 \text{ uA/cm}^2 \pm 0,11$), o que corrobora com os dados de OCP a respeito da sua maior resistência. Embora os grupos avaliados tenham apresentado semelhança, DMA obteve a maior taxa ($0,41 \text{ uA/cm}^2 \pm 0,21$), o que é justificado por sua menor resistência à corrosão. O $i=0$, demonstrativo da transição do potencial catódico para anódico, demonstrou que todos os grupos apresentaram transição em sua superfície de potenciais no mesmo patamar, o que é comum na presença do mesmo substrato (Ti-6Al-4V).

A adesão das membranas celulares, adsorção de proteínas, morfologia e carga das células aderidas sofrem influência da distribuição das cargas superficiais que controlam a integração do implante ao sistema ósseo. De acordo com REIS et al (2023), quando a superfície do implante entra em contato com microrganismos, a interação resultante pode levar à adesão ou repulsão de bactérias, a depender das forças envolvidas, influenciadas por características como molhabilidade, rugosidade e carga da superfície (interações eletromagnéticas positivas ou negativas). Assim, além de verificar modificações estruturais, comportamento microbiológico e corrosivo entre diferentes superfícies de titânio, realizou-se neste estudo, análise do potencial zeta para avaliar variações na carga superficial que estão envolvidas na adesão e proliferação celular ao redor do biomaterial e dependem de fatores como a composição química e pH (GUO; MATINLINNA; TANG, 2012).

O valor do potencial está diretamente ligado à estabilidade das partículas em suspensão e sua carga pode surgir devido à dissociação de grupos iônicos ou pela adsorção dos íons presentes na solução. Este é determinado por meio da medição de fenômenos eletrocinéticos associados ao movimento entre superfície das partículas, seja ele relativo, induzido por campo elétrico ou mecânico (DOOSTMOHAMMADI et al., 2012). De acordo com SMEETS et al (2009), valores negativos de potencial zeta são preferíveis, tais como apresentados na Tabela 7.

Neste estudo, todos valores de carga foram negativos, mas variaram de acordo com modificações da superfície. O grupo DUHAp apresentou potencial mais negativo (-27,16 mV) em comparação aos demais, devido à modificação química proporcionada pelos elementos intrínsecos ao tratamento. A literatura apresenta valores para HAp entre -11,5 mV a -21,2 mV, maiores que os encontrados, porém, essas discrepâncias são justificadas pelas diferentes metodologias de síntese e pelos tratamentos realizados após formação desses cristais, conforme descrito por SADAT-SHOJAI et al (2010). A modificação observada em DU após realização do tratamento ácido-alcálico (DUAA) é explicada conforme proposto por FERRARIS et al (2018) que atribuíram essa alteração à mudança no ponto isoelétrico da amostra, à indicar intensa atividade ácida durante processo de modificação, o que resultou no enriquecimento da superfície com grupos hidroxila. Os resultados semelhantes e negativos encontrados nos discos DU (-3,85 mV) e DMA (-4,07 mV) são explicados com base na literatura que sugere similaridade nos resultados de potencial entre superfícies manufaturadas e produzidas por usinagem convencional (SPRIANO et al., 2017; WU et al., 2018; PUZAS et al., 2022).

Os resultados obtidos revelaram que as superfícies tratadas, independentemente do tipo, revestimento de hidroxiapatita ou tratamento ácido-alcálico, apresentaram semelhanças nas propriedades de molhabilidade, energia livre de superfície, rugosidade, potencial corrosivo, carga de superfície e adesão bacteriana. Em relação à técnica de fabricação, observou-se que a Manufatura Aditiva, embora não tenha alterado a composição química e cristalina do titânio, promoveu diferenças significativas nas características superficiais em comparação aos discos usinados, como menor molhabilidade e energia livre de superfície, resistência à corrosão, além de maior rugosidade e adesão bacteriana.

As limitações deste estudo estão na utilização de biofilme bacteriano simples e não multiespécie, que mimetizaria de forma mais precisa o ambiente oral, e na ausência de análises de culturas de células ósseas. Além disso, os resultados obtidos não podem ser generalizados para todas as superfícies, pois podem variar a depender das características específicas do material, técnicas de processamento e de realização do tratamento de superfície, além das condições de esterilização utilizadas.

6. Conclusões

6. CONCLUSÕES

Dentre as superfícies usinadas, aquelas que receberam tratamento apresentaram maior capacidade de molhamento e energia livre de superfície, além de rugosidade adequada, resistência ao potencial corrosivo e menor adesão bacteriana. Quanto a técnica de fabricação, a manufatura aditiva demonstrou comportamento diferente, como menor molhabilidade, energia livre de superfície e resistência à corrosão, além de maior rugosidade e adesão bacteriana. Esses resultados sugerem que a escolha da técnica de fabricação e a aplicação de tratamentos de superfície influenciam de forma significativa na obtenção das propriedades desejadas para implantes dentários.

Referências

REFERÊNCIAS

- ADELEKE, S.; SOPYAN, I.; BUSHROA, A. R.; ADELEKE, S. A.; SOPYAN, I.; BUSHROA, A. R. Hydroxyapatite layer formation on titanium alloys surface using micro-arc oxidation. **Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 10, p. 10101-10108, 2015.
- AGUAYO, S.; DONOS, N.; SPRATT, D.; BOZEC, L. Nanoadhesion of Staphylococcus aureus onto titanium implant surfaces. **Journal of Dental Research**, v. 94, p. 1078–1084, 25 ago. 2015.
- ALMEIDA, D.; SARTORETTO, S. C.; DE ALBUQUERQUE CALASANS-MAIA, J.; GHIRALDINI, B.; BEZERRA, F. J. B.; GRANJEIRO, J. M.; CALASANS-MAIA, M. D. In vivo osseointegration evaluation of implants coated with nanostructured hydroxyapatite in low density bone. **PLoS ONE**, v. 18, p. 1-18, 2023.
- ANDRUKHOV, O.; HUBER, R.; SHI, B.; BERNER, S.; RAUSCH-FAN, X.; MORITZ, A.; SPENCER, N. D.; SCHEDLE, A. Proliferation, behavior, and differentiation of osteoblasts on surfaces of different microroughness. **Dental Materials**, v. 32, p. 1374–1384, 1 nov. 2016.
- ANNUNZIATA, M.; RIZZO, A.; LEONE, C.; MANGANO, C.; MAZZOLA, N.; NASTRI, L.; PAPALE, F.; RULLO, F.; GUIDA, L. Bacterial adhesion to direct laser metal formed and mildly acid etched implant surfaces. **Surface and Coatings Technology**, v. 328, p. 390–397, 2017.
- APARICIO, C.; GIL, F. J.; FONSECA, C.; BARBOSA, M.; PLANELL, A. Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications. **Biomaterials**, v. 24, p. 263-273, 2003.
- APAZA-BEDOYA, K.; TARCE, M.; BENFATTI, C. A. M.; HENRIQUES, B.; MATHEW, M. T.; TEUGHEL, W.; SOUZA, J. C. M. Synergistic interactions between corrosion and wear at titanium-based dental implant connections: A scoping review. **Journal of Periodontal Research**, v. 52, p. 946-954, 2017.
- ARJUNAN, A.; DEMETRIOU, M.; BAROUTAJI, A.; WANG, C. Mechanical performance of highly permeable laser melted Ti6Al4V bone scaffolds. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 102, p. 1-20, 2020.
- ASHTIANI, R. E.; ALAM, M.; TAVAKOLIZADEH, S.; ABBASI, K. The Role of Biomaterials and Biocompatible Materials in Implant-Supported Dental Prosthesis Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. **Hindawi Limited**, v. 2021, p. 1-9, 2021.
- BAEK, S. M.; SHIN, M. H.; MOON, J.; JUNG, H. S.; LEE, S. A.; HWANG, W.; YEOM, J. T.; HAHN, S. K.; KIM, H. S. Superior pre-osteoblast cell response of etched ultrafine-grained titanium with a controlled crystallographic orientation. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-10, 2017.
- BANDYOPADHYAY, A.; SHIVARAM, A.; MITRA, I.; BOSE, S. Electrically polarized TiO₂ nanotubes on Ti implants to enhance early-stage osseointegration. **Acta Biomaterialia**, v. 96, p. 686–693, 2019.
- BAPTISTA, R.; GADELHA, D.; BANDEIRA, M.; ARTEIRO, D.; DELGADO, M. I.; FERRO, A. C.; GUEDES, M. Characterization of titanium-hydroxyapatite biocomposites processed by dip coating. **Bulletin of Materials Science**, v. 39, p. 263-272, 2016.

BARTOLOMEU, F.; BUCIUMEANU, M.; PINTO, E.; ALVES, N.; SILVA, F. S.; CARVALHO, O.; MIRANDA, G. Wear behavior of Ti6Al4V biomedical alloys processed by selective laser melting, hot pressing and conventional casting. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 27, p. 829–838, 2017.

BATALHA, R. L.; BATALHA, W. C.; DENG, L.; GUSTMANN, T.; PAULY, S.; KIMINAMI, C. S.; GARGARELLA, P. Processing a biocompatible Ti-35Nb-7Zr-5Ta alloy by selective laser melting. **Journal of Materials Research**, v. 35, p. 1143–1153, 2020.

BATALHA, V. C.; BUENO, R. A.; FRONCHETTI JUNIOR, E.; MARIANO, J. R.; SANTIN, G. C.; FREITAS, K. M. S.; ORTIZ, M. A. L.; SALMERON, S. Dental Implants Surface in vitro Decontamination Protocols. **European Journal of Dentistry**, v. 15, p. 407–411, 2021.

BELTRÁN-PARTIDA, E.; VALDEZ-SALAS, B.; ESCAMILLA, A.; MORENO-ULLOA, A.; BURTSEVA, L.; VALDEZ-SALAS, E.; CURIEL ALVAREZ, M.; NEDEV, N. The Promotion of Antibacterial Effects of Ti6Al4V Alloy Modified with TiO₂ Nanotubes Using a Superoxidized Solution. **Journal of Nanomaterials**, v. 2015, p. 1-10, 2015.

BERGLUNDH, T.; ARMITAGE, G.; ARAUJO, M. G.; AVILA-ORTIZ, G.; BLANCO, J.; CAMARGO, P. M.; CHEN, S.; COCHRAN, D.; DERKS, J.; FIGUERO, E.; HÄMMERLE, C. H. F.; HEITZ-MAYFIELD, L. J. A.; HUYNH-BA, G.; IACONO, V.; KOO, K. T.; LAMBERT, F.; MCCAULEY, L.; QUIRYNEN, M.; RENVERT, S.; SALVI, G. E.; SCHWARZ, F.; TARNOW, D.; TOMASI, C.; WANG, H. L.; ZITZMANN, N. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, p. S286–S291, 2018.

BOUET, G.; CABANETTES, F.; BIDRON, G.; GUIGNANDON, A.; PEYROCHE, S.; BERTRAND, P.; VICO, L.; DUMAS, V. Laser-Based Hybrid Manufacturing of Endosseous Implants: Optimized Titanium Surfaces for Enhancing Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 5, p. 4376–4385, 2019.

BRACERAS, I.; PACHA-OLIVENZA, M. A.; CALZADO-MARTÍN, A.; MULTIGNER, M.; VERA, C.; BRONCANO, L. L.; GALLARDO-MORENO, A. M.; GONZÁLEZ-CARRASCO, J. L.; VILABOIA, N.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M. L. Decrease of Staphylococcal adhesion on surgical stainless steel after Si ion implantation. **Applied Surface Science**, v. 310, p. 36–41, 2014.

BROGINI, S.; SARTORI, M.; GIAVARESI, G.; CREMASCOLI, P.; ALEMANI, F.; BELLINI, D.; MARTINI, L.; MAGLIO, M.; PAGANI, S.; FINI, M. Osseointegration of additive manufacturing Ti–6Al–4V and Co–Cr–Mo alloys, with and without surface functionalization with hydroxyapatite and type I collagen. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 115, p. 1-9, 2021.

BRONZE-UHLE, E. S.; DIAS, L. F. G.; TRINO, L. D.; MATOS, A. A.; DE OLIVEIRA, R. C.; LISBOA-FILHO, P. N. Physicochemical characterization of albumin immobilized on different TiO₂ surfaces for use in implant materials. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 564, p. 39–50, 2019.

- BSAT, S.; YAVARI, S. A.; MUNSCH, M.; VALSTAR, E. R.; ZADPOOR, A. A. Effect of alkali-acid-heat chemical surface treatment on electron beam melted porous titanium and its apatite forming ability. **Materials**, v. 8, p. 1612–1625, 2015.
- BÜRGERS, R.; MORSCZECK, C.; FELTHAUS, O.; GOSAU, M.; BECK, H. C.; REICHERT, T. E. Induced surface proteins of Streptococcus epidermidis adhering to titanium implant substrata. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, p. 2663–2668, 2018.
- CALAZANS NETO, J. V.; REIS, A. C.; VALENTE, M. L. C. Osseointegration in additive-manufactured titanium implants: A systematic review of animal studies on the need for surface treatment. **Heliyon**, v. 9, p. 1-10, 2023.
- CALAZANS NETO, J. V.; KREVE, S.; VALENTE, M. L. C.; REIS, A. C.. Protein absorption on titanium surfaces treated with a high-power laser: A systematic review. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 2022, p. 1-8, 2022.
- CALAZANS NETO, J. V.; VALENTE, M. L. C.; REIS, A. C.. Effect of pores on cell adhesion to additively manufactured titanium implants: A systematic review. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 2023, p. 1-8, 2023.
- CAMPBELL, S. D.; COOPER, L.; CRADDOCK, H.; SCI, M. Removable partial dentures: The clinical need for innovation. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 118, p. 273-280, 2017.
- CARDOSO, M.; BALDUCCI, I.; TELLES, D. de M.; LOURENÇO, E. J. V.; NOGUEIRA JÚNIOR, L. Edentulismo no Brasil: Tendências, projeções e expectativas até 2040. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 21, p. 1239–1246, 2016.
- CAVALCANTI, J. H. de L.; MATOS, P. C.; DE GOUVÊA, C. V. D.; CARVALHO, W.; CALVO-GUIRADO, J. L.; ARAGONESES, J. M.; PÉREZ-DÍAZ, L.; GEHRKE, S. A. In vitro assessment of the functional dynamics of titanium with surface coating of hydroxyapatite nanoparticles. **Materials**, v. 12, p. 1-14, 2019.
- CHÁVEZ, J.; JIMÉNEZ, O.; BRAVO-BARCENAS, D.; OLMOS, L.; ALVARADO-HERNÁNDEZ, F.; GONZÁLEZ, M. A.; BEDOLLA-JACUINDE, A.; FLORES, M. Corrosion and tribocorrosion behavior of Ti6Al4V/xTiN composites for biomedical applications. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 32, p. 540–558, 2022.
- CHEN, H.; ZHANG, J.; HE, Y.; LV, Z.; LIANG, Z.; CHEN, J.; LI, P.; LIU, J.; YANG, H.; TAO, A.; LIU, X. Exploring the Role of Staphylococcus aureus in Inflammatory Diseases. **Toxins**, v. 14, p. 1-43, 2022.
- CHENG, A.; HUMAYUN, A.; COHEN, D. J.; BOYAN, B. D.; SCHWARTZ, Z. Additively manufactured 3D porous Ti-6Al-4V constructs mimic trabecular bone structure and regulate osteoblast proliferation, differentiation and local factor production in a porosity and surface roughness dependent manner. **Biofabrication**, v. 6, p. 1-13, 2014.
- CHIU, T. M.; MAHMOUDI, M.; DAI, W.; ELWANY, A.; LIANG, H.; CASTANEDA, H. Corrosion assessment of Ti-6Al-4V fabricated using laser powder-bed fusion additive manufacturing. **Electrochimica Acta**, v. 279, p. 143–151, 2018.

CLAROS, C. A. E.; OLIVEIRA, D. P.; CAMPANELLI, L. C.; PEREIRA DA SILVA, P. S. C.; BOLFARINI, C. Fatigue behavior of Ti-6Al-4V alloy in saline solution with the surface modified at a micro- and nanoscale by chemical treatment. **Materials Science and Engineering C**, v. 67, p. 425–432, 2016.

COELHO, P. G.; JIMBO, R.; TOVAR, N.; BONFANTE, E. A. Osseointegration: Hierarchical designing encompassing the macrometer, micrometer, and nanometer length scales. **Dental Materials**, v. 31, p. 37–52, 2015.

COSTA, R. C.; BERTOLINI, M.; COSTA OLIVEIRA, B. E.; NAGAY, B. E.; DINI, C.; BENSO, B.; KLEIN, M. I.; BARÃO, V. A. R.; SOUZA, J. G. S. Polymicrobial biofilms related to dental implant diseases: unravelling the critical role of extracellular biofilm matrix. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 49, p. 370-390, 2022.

CRUZ, M. B.; MARQUES, J. F.; FERNANDES, B. F.; PINTO, P.; MADEIRA, S.; CARVALHO, Ó.; SILVA, F. S.; CARAMÊS, J. M. M.; DA MATA, A. D. S. P. Laser surface treatment on Yttria-stabilized zirconia dental implants: Influence on cell behavior. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 110, p. 249–258, 2022.

DAI, N.; ZHANG, L. C.; ZHANG, J.; CHEN, Q.; WU, M. Corrosion behavior of selective laser melted Ti-6Al-4 V alloy in NaCl solution. **Corrosion Science**, v. 102, p. 484–489, 2016.

DAMIATI, L.; EALES, M. G.; NOBBS, A. H.; SU, B.; TSIMBOURI, P. M.; SALMERON-SANCHEZ, M.; DALBY, M. J. Impact of surface topography and coating on osteogenesis and bacterial attachment on titanium implants. **Journal of Tissue Engineering**, v. 9, p. 1-16, 2018.

DAUBERT, D. M.; WEINSTEIN, B. F. Biofilm as a risk factor in implant treatment. **Periodontology 2000**, v. 81, p. 29-40, 2019.

DELGADO-RUIZ, R.; ROMANOS, G. Potential causes of titanium particle and ion release in implant dentistry: A systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1-36, 2018.

DONG, Y. P.; TANG, J. C.; WANG, D. W.; WANG, N.; HE, Z. D.; LI, J.; ZHAO, D. P.; YAN, M. Additive manufacturing of pure Ti with superior mechanical performance, low cost, and biocompatibility for potential replacement of Ti-6Al-4V. **Materials and Design**, v. 196, p. 1-14, 2020.

DOOSTMOHAMMADI, A.; MONSHI, A.; SALEHI, R.; FATHI, M. H.; KARBASI, S.; PIELES, U.; DANIELS, A. U. Preparation, chemistry and physical properties of bone-derived hydroxyapatite particles having a negative zeta potential. **Materials Chemistry and Physics**, v. 132, p. 446–452, 2012.

DUAN, Y.; LIU, X.; ZHANG, S.; WANG, L.; DING, F.; SONG, S.; CHEN, X.; DENG, B.; SONG, Y. Selective laser melted titanium implants play a positive role in early osseointegration in type 2 diabetes mellitus rats. **Dental Materials Journal**, v. 39, p. 214–221, 2020.

FERRARIS, S.; CAZZOLA, M.; PERETTI, V.; STELLA, B.; SPRIANO, S. Zeta potential measurements on solid surfaces for in Vitro biomaterials testing: Surface charge, reactivity upon contact with fluids and protein absorption. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 6, p. 1-7, 2018.

- FERRARIS, S.; COCHIS, A.; CAZZOLA, M.; TORTELLO, M.; SCALIA, A.; SPRIANO, S.; RIMONDINI, L. Cytocompatible and Anti-bacterial Adhesion Nanotextured Titanium Oxide Layer on Titanium Surfaces for Dental and Orthopedic Implants. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, p. 1-12, 2019.
- FERRARIS, S.; WARCHOMICKA, F.; IRANSHAHI, F.; RIMONDINI, L.; COCHIS, A.; SPRIANO, S. Electron beam structuring of Ti6Al4V: New insights on the metal surface properties influencing the bacterial adhesion. **Materials**, v. 13, p. 1-11, 2020.
- FRETWURST, T.; NELSON, K.; TARNOW, D. P.; WANG, H. L.; GIANNOBILE, W. V. Is Metal Particle Release Associated with Peri-implant Bone Destruction? An Emerging Concept. **Journal of Dental Research**, v. 97, p. 259–265, 2018.
- GAO, A.; HANG, R.; BAI, L.; TANG, B.; CHU, P. K. Electrochemical surface engineering of titanium-based alloys for biomedical application. **Electrochimica Acta**, v. 271, p. 699-718, 2018.
- GELLRICH, N. C.; RAHLF, B.; ZIMMERER, R.; POTT, P. C.; RANA, M. A new concept for implant-borne dental rehabilitation; how to overcome the biological weak-spot of conventional dental implants?. **Head and Face Medicine**, v. 13, p. 1-5, 2017.
- GINESTRA, P.; FERRARO, R. M.; ZOHAR-HAUBER, K.; ABENI, A.; GILIANI, S.; CERETTI, E. Selective laser melting and electron beam melting of Ti6Al4V for orthopedic applications: A comparative study on the applied building direction. **Materials**, v. 13, p. 1–23, 2020.
- GITTENS, R. A.; SCHEIDELER, L.; RUPP, F.; HYZY, S. L.; GEIS-GERSTORFER, J.; SCHWARTZ, Z.; BOYAN, B. D. A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects. **Acta Biomaterialia**, v. 10, p. 2907-2918, 2014.
- GONZALEZ, A.; MIÑÁN, A. G.; GRILLO, C. A.; PRIETO, E. D.; SCHILARDI, P. L.; FERNÁNDEZ LORENZO DE MELE, M. A. Characterization and antimicrobial effect of a bioinspired thymol coating formed on titanium surface by one-step immersion treatment. **Dental Materials**, v. 36, p. 1495–1507, 2020.
- GUÉHENNEC, L. L.; SOUEIDAN, A.; LAYROLLE, P.; AMOURIQ, Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**, v. 23, p. 244-854, 2007.
- GUO, C. Y.; MATINLINNA, J. P.; TANG, A. T. H. Effects of surface charges on dental implants: Past, present, and future. **International Journal of Biomaterials**, v. 2012, p. 1-5, 2012.
- HAMEED, H. A.; HASAN, H. A.; ALAM, M. K. Evaluation of Corrosion Behavior by Measuring Passivation Current Density of Dental Implant Coated with Bioceramic Materials. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1-6, 2021.
- HAN, X.; SHARMA, N.; XU, Z.; SCHEIDELER, L.; GEIS-GERSTORFER, J.; RUPP, F.; THIERINGER, F. M.; SPINTZYK, S. An in vitro study of osteoblast response on fused-filament fabrication 3D printed PEEK for dental and Cranio-Maxillofacial implants. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, p. 1-16, 2019.

- HARADA, Y.; ISHIDA, Y.; MIURA, D.; WATANABE, S.; AOKI, H.; MIYASAKA, T.; SHINYA, A. Mechanical properties of selective laser sintering pure titanium and ti-6al-4v, and its anisotropy. **Materials**, v. 13, p. 1–18, 2020.
- HARUN, W. S. W.; ASRI, R. I. M.; ALIAS, J.; ZULKIFLI, F. H.; KADIRGAMA, K.; GHANI, S. A. C.; SHARIFFUDDIN, J. H. M. A comprehensive review of hydroxyapatite-based coatings adhesion on metallic biomaterials. **Ceramics International**, v. 44, p. 1250-1268, 2018.
- HE, Y.; ZHANG, Y.; SHEN, X.; TAO, B.; LIU, J.; YUAN, Z.; CAI, K. The fabrication and in vitro properties of antibacterial polydopamine-LL-37-POPC coatings on micro-arc oxidized titanium. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 170, p. 54–63, 2018.
- HENNINGSSEN, A.; SMEETS, R.; HEUBERGER, R.; JUNG, O. T.; HANKEN, H.; HEILAND, M.; CACACI, C.; PRECHT, C. Changes in surface characteristics of titanium and zirconia after surface treatment with ultraviolet light or non-thermal plasma. **European Journal of Oral Sciences**, v. 126, p. 126–134, 2018.
- HO-SHUI-LING, A.; BOLANDER, J.; RUSTOM, L. E.; JOHNSON, A. W.; LUYTEN, F. P.; PICART, C. Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives. **Biomaterials**, v. 180, p. 143-162, 2018.
- HOU, C.; LIU, Y.; XU, W.; LU, X.; GUO, L.; LIU, Y.; TIAN, S.; LIU, B.; ZHANG, J.; WEN, C. Additive manufacturing of functionally graded porous titanium scaffolds for dental applications. **Biomaterials Advances**, v. 139, p. 1-12, 2022.
- HU, Y.; CHEN, H.; LIANG, X.; LEI, J. Titanium fabricated by selective laser melting: microstructure, wear and corrosion behavior in different orientations. **Rapid Prototyping Journal**, v. 28, p. 546–558, 2022.
- HUANG, Y. M.; HUANG, C. C.; TSAI, P. I.; YANG, K. Y.; HUANG, S. I.; SHEN, H. H.; LAI, H. J.; HUANG, S. W.; CHEN, S. Y.; LIN, F. H.; CHEN, C. Y. Three-dimensional printed porous titanium screw with bioactive surface modification for bone–tendon healing: A rabbit animal model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, p. 1-14, 2020.
- IKEDA, E.; SHIBA, T.; IKEDA, Y.; SUDA, W.; NAKASATO, A.; TAKEUCHI, Y.; AZUMA, M.; HATTORI, M.; IZUMI, Y. Deep sequencing reveals specific bacterial signatures in the subgingival microbiota of healthy subjects. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, p. 1489–1493, 2019.
- JAKUBOVICS, N. S.; GOODMAN, S. D.; MASHBURN-WARREN, L.; STAFFORD, G. P.; CIEPLIK, F. The dental plaque biofilm matrix. **Periodontology 2000**, v. 86, p. 32–56, 2021.
- KANG, J.; DONG, E.; LI, D.; DONG, S.; ZHANG, C.; WANG, L. Anisotropy characteristics of microstructures for bone substitutes and porous implants with application of additive manufacturing in orthopaedic. **Materials and Design**, v. 191, p. 1-10, 2020.
- KATTIMANI, V. S.; KONDAKA, S.; LINGAMANENI, K. P. Hydroxyapatite—Past, Present, and Future in Bone Regeneration. **Bone and Tissue Regeneration Insights**, v. 7, p. 1-11, 2016.
- KIM, J.; KANG, I. G.; CHEON, K. H.; LEE, S.; PARK, S.; KIM, H. E.; HAN, C. M. Stable sol–gel hydroxyapatite coating on zirconia dental implant for improved osseointegration. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 32, p. 1-10, 2021.

- KLIGMAN, S.; REN, Z.; CHUNG, C. H.; PERILLO, M. A.; CHANG, Y. C.; KOO, H.; ZHENG, Z.; LI, C. The impact of dental implant surface modifications on osseointegration and biofilm formation. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, p. 1-36, 2021.
- KORDBACHEH CHANGI, K.; FINKELSTEIN, J.; PAPAPANOU, P. N. Peri-implantitis prevalence, incidence rate, and risk factors: A study of electronic health records at a U.S. dental school. **Clinical Oral Implants Research**, v. 30, p. 306–314, 2019.
- KRAVANJA, K. A.; FINŠGAR, M. A review of techniques for the application of bioactive coatings on metal-based implants to achieve controlled release of active ingredients. **Materials and Design**, v. 2017, p. 1-20, 2022.
- KREVE, S.; REIS, A. C. D. Bacterial adhesion to biomaterials: What regulates this attachment? A review. **Japanese Dental Science Review**, v. 57, p. 85-96, 2021.
- KULKARNI ARANYA, A.; PUSHALKAR, S.; ZHAO, M.; LEGEROS, R. Z.; ZHANG, Y.; SAXENA, D. Antibacterial and bioactive coatings on titanium implant surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 105, p. 2218–2227, 2017.
- LABIS, V.; BAZIKYAN, E.; ZHIGALINA, O.; SIZOVA, S.; OLEINIKOV, V.; KHMELENIN, D.; DYACHKOVA, I.; ZOLOTOV, D.; BUZMAKOV, A.; ASADCHIKOV, V.; KHAIDUKOV, S.; KOZLOV, I. Assessment of dental implant surface stability at the nanoscale level. **Dental Materials**, v. 38, p. 924–934, 2022.
- LEREBOURS, A.; VIGNERON, P.; BOUVIER, S.; RASSINEUX, A.; BIGERELLE, M.; EGLES, C. Additive manufacturing process creates local surface roughness modifications leading to variation in cell adhesion on multifaceted TiAl6V4 samples. **Bioprinting**, v. 16, p. 1-11, 2019.
- LI, J.; HU, J.; ZHU, Y.; YU, X.; YU, M.; YANG, H. Surface roughness control of root analogue dental implants fabricated using selective laser melting. **Additive Manufacturing**, v. 34, p. 1-10, 2020.
- LIN, B.; CHEN, W.; YANG, Y.; WU, F.; LI, Z. Anisotropy of microstructure and tensile properties of Ti–48Al–2Cr–2Nb fabricated by electron beam melting. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 830, p. 1-10, 2020.
- LIU, H.; TANG, Y.; ZHANG, S.; LIU, H.; WANG, Z.; LI, Y.; WANG, X.; REN, L.; YANG, K.; QIN, L. Anti-infection mechanism of a novel dental implant made of titanium-copper (TiCu) alloy and its mechanism associated with oral microbiology. **Bioactive Materials**, v. 8, p. 381–395, 2022.
- LIU, Y.; RATH, B.; TINGART, M.; ESCHWEILER, J. Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 108, p. 1-15, 2020.
- LÓPEZ, M. F.; JIMÉNEZ, J. A.; GUTIÉRREZ, A. XPS characterization of surface modified titanium alloys for use as biomaterials. **Vacuum**, v. 85, p. 1076–1079, 2011.
- LOUARN, G.; SALOU, L.; HOORNAERT, A.; LAYROLLE, P. Nanostructured surface coatings for titanium alloy implants. **Journal of Materials Research**, v. 34, p. 1892–1899, 2019.

LU, M.; CHEN, H.; YUAN, B.; ZHOU, Y.; MIN, L.; XIAO, Z.; ZHU, X.; TU, C.; ZHANG, X. Electrochemical deposition of nanostructured hydroxyapatite coating on titanium with enhanced early stage osteogenic activity and osseointegration. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 6605–6618, 2020.

LYU, L.; YANG, S.; JING, Y.; ZHANG, C.; WANG, J. Examining trabecular morphology and chemical composition of peri-scaffold osseointegrated bone. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 15, p. 1-9, 2020.

MASSARO, C.; ROTOLO, P.; DE RICCARDIS, F.; MILELLA, E.; NAPOLI, A.; WIELAND, M.; TEXTOR, M.; SPENCER, N. D.; BRUNETTE, D. M. Comparative investigation of the surface properties of commercial titanium dental implants. Part I: Chemical composition. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, p. 535–548, 2002.

MATHEW, M. T.; ABBEY, S.; HALLAB, N. J.; HALL, D. J.; SUKOTJO, C.; WIMMER, M. A. Influence of pH on the tribocorrosion behavior of CpTi in the oral environment: Synergistic interactions of wear and corrosion. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 100 B, p. 1662–1671, 2012.

MORRIS, D.; MAMIDI, S. K.; KAMAT, S.; CHENG, K. yuan; BIJUKUMAR, D.; TSAI, P. I.; WU, M. H.; ORÍAS, A. A. E.; MATHEW, M. T. Mechanical, Electrochemical and Biological Behavior of 3D Printed-Porous Titanium for Biomedical Applications. **Journal of Bio- and Tribo-Corrosion**, v. 7, p. 1-7, 2021.

NICOLAS-SILVENTE, A. I.; VELASCO-ORTEGA, E.; ORTIZ-GARCIA, I.; MONSALVE-GUIL, L.; GIL, J.; JIMENEZ-GUERRA, A. Influence of the titanium implant surface treatment on the surface roughness and chemical composition. **Materials**, v. 13, p. 1-13, 2020.

NOBRE, C. M. G.; PÜTZ, N.; HANNIG, M. Adhesion of Hydroxyapatite Nanoparticles to Dental Materials under Oral Conditions. **Scanning**, v. 2020, p. 1-12, 2020.

NOUMBISSI, S.; SCARANO, A.; GUPTA, S. A literature review study on atomic ions dissolution of titanium and its alloys in implant dentistry. **Materials**, v. 12, p. 1-15, 2019.

NOURI, A.; ROHANI SHIRVAN, A.; LI, Y.; WEN, C. Surface modification of additively manufactured metallic biomaterials with active antipathogenic properties. **Smart Materials in Manufacturing**, v. 1, p. 1-21, 2023.

OGLE, O. E. Implant Surface Material, Design, and Osseointegration. **Dental Clinics of North America**, v. 59, p. 505-520, 2015.

OHTSU, N.; KAKUCHI, Y.; OHTSUKI, T. Antibacterial effect of zinc oxide/hydroxyapatite coatings prepared by chemical solution deposition. **Applied Surface Science**, v. 445, p. 596–600, 2018.

OLIVEIRA, D. P.; PALMIERI, A.; CARINCI, F.; BOLFARINI, C. Gene expression of human osteoblasts cells on chemically treated surfaces of Ti-6Al-4V-ELI. **Materials Science and Engineering C**, v. 51, p. 248–255, 2015.

OLIVEIRA, T. T.; REIS, A. C. Fabrication of dental implants by the additive manufacturing method: A systematic review. **Journal of Prosthetic Dentistry**, p. 1-8, 2019.

- OLIVEIRA, D. P.; TONIATO, T. V.; RICCI, R.; MARCIANO, F. R.; PROKOFIEV, E.; ZVALIEV, R.; LOBO, A. O.; JÚNIOR, A. M. J. Biological response of chemically treated surface of the ultrafine-grained Ti-6Al-7Nb alloy for biomedical applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 1725–1736, 2019.
- ONG, J. L.; CHAN, D. C. N. A Review of Hydroxapatite and Its Use as a Coating in Dental Implants. **Biomedical Engineering**, v. 45, p. 291-319, 2017.
- OSMAN, R. B.; VAN DER VEEN, A. J.; HUIBERTS, D.; WISMEIJER, D.; ALHARBI, N. 3D-printing zirconia implants; a dream or a reality? An in-vitro study evaluating the dimensional accuracy, surface topography and mechanical properties of printed zirconia implant and discs. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 75, p. 521–528, 2017.
- PACHAURI, P.; BATHALA, L. R.; SANGUR, R. Techniques for dental implant nanosurface modifications. **Journal of Advanced Prosthodontics**, v. 6, p. 498–504, 2014.
- PATIANNA, G.; VALENTE, N. A.; D'ADDONA, A.; ANDREANA, S. In vitro evaluation of controlled-release 14% doxycycline gel for decontamination of machined and sandblasted acid-etched implants. **Journal of Periodontology**, v. 89, p. 325–330, 2018.
- PETERS, B. M.; JABRA-RIZK, M. A.; O'MAY, G. A.; WILLIAM COSTERTON, J.; SHIRTLIFF, M. E. Polymicrobial interactions: Impact on pathogenesis and human disease. **Clinical Microbiology Reviews**, p. 1-21, 2012.
- PISZCZEK, P.; RADTKE, A.; EHLERT, M.; JĘDRZEJEWSKI, T.; SZNARKOWSKA, A.; SADOWSKA, B.; BARTMAŃSKI, M.; ERDOĞAN, Y. K.; ERCAN, B.; JEDRZEJCZYK, W. Comprehensive evaluation of the biological properties of surface-modified titanium alloy implants. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, 2020.
- PREDOI, D.; CIOBANU, S. C.; ICONARU, S. L.; PREDOI, M. V. Influence of the Biological Medium on the Properties of Magnesium Doped Hydroxyapatite Composite Coatings. **Coatings**, v. 13, p. 1-20, 2023.
- PREETHANATH, R. S.; ALNAHAS, N. W.; BIN HURAIB, S. M.; AL-BALBEESI, H. O.; ALMALIK, N. K.; DALATI, M. H. N.; DIVAKAR, D. D. Microbiome of dental implants and its clinical aspect. **Microbial Pathogenesis**, v. 106, p. 20-24, 2017.
- QUINTERO, D. G.; TAYLOR, R. B.; MILLER, M. B.; MERCHANT, K. R.; PASIETA, S. A. Air-Abrasive Disinfection of Implant Surfaces in a Simulated Model of Periimplantitis. **Implant Dentistry**, v. 26, p. 423–428, 2017.
- RAMAKRISHNAIAH, R.; AL KHERAIF, A. A.; MOHAMMAD, A.; DIVAKAR, D. D.; KOTHA, S. B.; CELUR, S. L.; HASHEM, M. I.; VALLITTU, P. K.; REHMAN, I. U. Preliminary fabrication and characterization of electron beam melted Ti-6Al-4V customized dental implant. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, p. 787–796, 2017.
- RANS, C. D.; MICHIELSSEN, J.; WALKER, M.; WANG, W.; 'T HOEN-VELTEROP, L. On the influence of specimen build orientation on the fatigue crack growth resistance of selective laser melted Ti-6Al-4V. **AIAA/ASCE/AHS/ASC Structures, Structural Dynamics, and Materials Conference**, v. 2018, p. 1-17, 2018.

REIS, B. A.; DA PONTE LEGUIZAMÓN, N.; DEL REY, Y. C.; FERNANDES, L.; DO NASCIMENTO, C.; VAZ, L. G. Bacterial response to Ti-35Nb-7Zr-5Ta alloy incorporated with calcium, phosphate and magnesium. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 34, p. 1-9, 2023.

REN, B.; WAN, Y.; LIU, C.; WANG, H.; YU, M.; ZHANG, X.; HUANG, Y. Improved osseointegration of 3D printed Ti-6Al-4V implant with a hierarchical micro/nano surface topography: An in vitro and in vivo study. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, p. 1-14, 2021.

REVATHI, A.; MAGESH, S.; BALLA, V. K.; DAS, M.; MANIVASAGAM, G. Current advances in enhancement of wear and corrosion resistance of titanium alloys – a review. **Materials Technology**, v. 31, p. 696–704, 2016.

RIBEIRO, C. F.; COGO-MÜLLER, K.; FRANCO, G. C.; SILVA-CONCÍLIO, L. R.; SAMPAIO CAMPOS, M.; DE MELLO RODE, S.; CLARO NEVES, A. C. Initial oral biofilm formation on titanium implants with different surface treatments: An in vivo study. **Archives of Oral Biology**, v. 69, p. 33–39, 2016.

ROCHA, R. C.; DE SOUSA GALDINO, A. G.; DA SILVA, S. N.; MACHADO, M. L. P. Surface, microstructural, and adhesion strength investigations of a bioactive hydroxyapatite-titanium oxide ceramic coating applied to Ti-6Al-4V alloys by plasma thermal spraying. **Materials Research**, v. 21, p. 1-8, 2018.

ROSEN, P.; QARI, M.; FROUM, S.; DIBART, S.; CHOU, L. A Pilot Study on the Efficacy of a Treatment Algorithm to Detoxify Dental Implant Surfaces Affected by Peri-implantitis. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 38, p. 261–267, 2018.

SADAT-SHOJAI, M.; ATAI, M.; NODEHI, A.; KHANLAR, L. N. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. **Dental Materials**, v. 26, p. 471–482, 2010.

SALOU, L.; HOORNAERT, A.; LOUARN, G.; LAYROLLE, P. Enhanced osseointegration of titanium implants with nanostructured surfaces: An experimental study in rabbits. **Acta Biomaterialia**, v. 11, p. 494–502, 2015.

SALVI, G. E.; COSGAREA, R.; SCULEAN, A. Prevalence and Mechanisms of Peri-implant Diseases. **Journal of Dental Research**, v. 96, p. 31–37, 2017.

SAMES, W. J.; LIST, F. A.; PANNALA, S.; DEHOFF, R. R.; BABU, S. S. The metallurgy and processing science of metal additive manufacturing. **International Materials Reviews**, v. 61, p. 315-360, 2016.

SÁNCHEZ, M. C.; ALONSO-ESPAÑOL, A.; RIBEIRO-VIDAL, H.; ALONSO, B.; HERRERA, D.; SANZ, M. Relevance of biofilm models in periodontal research: From static to dynamic systems. **Microorganisms**, v. 9, p. 1-19, 2021.

SARKER, A.; TRAN, N.; RIFAI, A.; BRANDT, M.; TRAN, P. A.; LEARY, M.; FOX, K.; WILLIAMS, R. Rational design of additively manufactured Ti6Al4V implants to control *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **Materialia**, v. 5, p. 1-13, 2019.

SHAO, S. Y.; CHEN, J. X.; TANG, H. Y.; MING, P. P.; YANG, J.; ZHU, W. Q.; ZHANG, S. M.; QIU, J. A titanium surface modified with zinc-containing nanowires: Enhancing biocompatibility and antibacterial property in vitro. **Applied Surface Science**, v. 515, p. 1-9, 2020.

SINGH, G.; SHARMA, S.; MITTAL, M.; SINGH, G.; SINGH, J.; CHANGHE, L.; KHAN, A. M.; DWIVEDI, S. P.; TAHIR MUSHTAQ, R.; SINGH, S. Impact of post-heat-treatment on the surface-roughness, residual stresses, and micromorphology characteristics of plasma-sprayed pure hydroxyapatite and 7%-Aloxite reinforced hydroxyapatite coatings deposited on titanium alloy-based biomedical implants. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 18, p. 1358–1380, 2022.

SMEETS, R.; KOLK, A.; GERRESSEN, M.; DRIEMEL, O.; MACIEJEWSKI, O.; HERMANN-SACHWEH, B.; RIEDIGER, D.; STEIN, J. M. A new biphasic osteoinductive calcium composite material with a negative Zeta potential for bone augmentation. **Head and Face Medicine**, v. 5, p. 1-8, 2009.

SOUZA, I. D.; CRUZ, M. A. E.; DE FARIA, A. N.; ZANCANELA, D. C.; SIMÃO, A. M. S.; CIANCAGLINI, P.; RAMOS, A. P. Formation of carbonated hydroxyapatite films on metallic surfaces using dihexadecyl phosphate-LB film as template. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 118, p. 31–40, 2014.

SOUZA, J. G. S.; MENDONÇA BERTOLINI, M.; CAVALCANTE COSTA, R.; EGUMI NAGAY, B.; DONGARI-BAGTZOGLU, A.; BARÃO, V. A. R. Targeting implant-associated infections: titanium surface loaded with antimicrobial. **IScience**, v. 24, p. 1-34, 2021.

SPRIANO, S.; SARATH CHANDRA, V.; COCHIS, A.; UBERTI, F.; RIMONDINI, L.; BERTONE, E.; VITALE, A.; SCOLARO, C.; FERRARI, M.; CIRISANO, F.; GAUTIER DI CONFIENGO, G.; FERRARIS, S. How do wettability, zeta potential and hydroxylation degree affect the biological response of biomaterials? **Materials Science and Engineering C**, v. 74, p. 542–555, 2017.

STANGO, S. A. X.; KARTHICK, D.; SWAROOP, S.; MUDALI, U. K.; VIJAYALAKSHMI, U. Development of hydroxyapatite coatings on laser textured 316 LSS and Ti-6Al-4V and its electrochemical behavior in SBF solution for orthopedic applications. **Ceramics International**, v. 44, p. 3149–3160, 2018.

SUWANPRATEEB, J.; SUVANNAPRUK, W.; CHOKEVIVAT, W.; KIERTKRITTIKHOON, S.; JARUWANGSANTI, N.; TIENBOON, P. Bioactivity of a sol-gel-derived hydroxyapatite coating on titanium implants in vitro and in vivo. **Asian Biomedicine**, v. 12, p. 35–44, 2018.

SZYMCZYK-ZIÓŁKOWSKA, P.; HOPPE, V.; RUSIŃSKA, M.; GASIOREK, J.; ZIÓŁKOWSKI, G.; DYDAK, K.; CZĄJKOWSKA, J.; JUNKA, A. The impact of eb-manufactured ti6al4v eli alloy surface modifications on cytotoxicity toward eukaryotic cells and microbial biofilm formation. **Materials**, v. 13, p. 1–21, 2020.

TAKADAMA, H.; KIM, H.-M.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T. XPS study of the process of apatite formation on bioactive Ti±6Al±4V alloy in simulated body fluid. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 2, p. 389-396, 2001.

TARDELLI, J. D. C.; BOLFARINI, C.; CÂNDIDO DOS REIS, A. Comparative analysis of corrosion resistance between beta titanium and Ti-6Al-4V alloys: A systematic review. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 62, p. 1-5, 2020.

TENG, F. Y.; TAI, I. C.; HO, M. L.; WANG, J. W.; WENG, L. W.; WANG, Y. J.; WANG, M. W.; TSENG, C. C. Controlled release of BMP-2 from titanium with electrodeposition modification enhancing critical size bone formation. **Materials Science and Engineering C**, v. 105, p. 1-11, 2019.

TEUGHEL, W.; ASSCHE, N. Van; SLIEPEN, I.; QUIRYNEN, M.; VAN ASSCHE, N. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. **Clinical Oral Implants Research**, v. 17, p. 1-14, 2006

TOPTAN, F.; ALVES, A. C.; CARVALHO, Ó.; BARTOLOMEU, F.; PINTO, A. M. P.; SILVA, F.; MIRANDA, G. Corrosion and tribocorrosion behaviour of Ti6Al4V produced by selective laser melting and hot pressing in comparison with the commercial alloy. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 266, p. 239–245, 2019.

VALDEZ-SALAS, B.; BELTRÁN-PARTIDA, E.; CURIEL-ÁLVAREZ, M.; GUERRA-BALCÁZAR, M.; ARJONA, N. Crystallographic Pattern Mediates Fungal Nanoadhesion Bond Formation on Titanium Nanotubes. **ACS Omega**, v. 6, p. 15625–15636, 2021.

VALENTE, M. L. C.; DE OLIVEIRA, T. T.; KREVE, S.; BATALHA, R. L.; DE OLIVEIRA, D. P.; PAULY, S.; BOLFARINI, C.; BACHMANN, L.; DOS REIS, A. C. Analysis of the mechanical and physicochemical properties of Ti-6Al-4 V discs obtained by selective laser melting and subtractive manufacturing method. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, p. 1-8, 2021.

VALVERDE, A.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; RUIZ-RUBIO, L.; PACHA OLIVENZA, M. A.; GARCÍA BLANCO, M. B.; DÍAZ-FUENTES, M.; VILAS-VILELA, J. L. Antibacterial hyaluronic acid/chitosan multilayers onto smooth and micropatterned titanium surfaces. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 824–833, 2019.

VERDEGUER, P.; GIL, J.; PUNSET, M.; MANERO, J. M.; NART, J.; VILARRASA, J.; RUPEREZ, E. Citric Acid in the Passivation of Titanium Dental Implants: Corrosion Resistance and Bactericide Behavior. **Materials**, v. 15, p. 1-19, 2022.

VILHENA, L. M.; SHUMAYAL, A.; RAMALHO, A.; FERREIRA, J. A. M. Tribocorrosion behaviour of ti6al4v produced by selective laser melting for dental implants. **Lubricants**, v. 8, p. 1-19, 2020.

VILLAPUN PUZAS, V. M.; CARTER, L. N.; SCHRÖDER, C.; COLAVITA, P. E.; HOEY, D. A.; WEBBER, M. A.; ADDISON, O.; SHEPHERD, D. E. T.; ATTALLAH, M. M.; GROVER, L. M.; COX, S. C. Surface Free Energy Dominates the Biological Interactions of Postprocessed Additively Manufactured Ti-6Al-4V. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 8, p. 4311–4326, 2022.

WAKIM, R. N.; NAMOUR, M.; NGUYEN, H. V.; PEREMANS, A.; ZEINOUN, T.; VANHEUSDEN, A.; ROMPEN, E.; NAMMOUR, S. Decontamination of dental implant surfaces by the Er:YAG laser beam: A comparative in vitro study of various protocols. **Dentistry Journal**, v. 6, p. 1-14, 2018.

- WANG, C. X.; WANG, M.; ZHOU, X. Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: An electrochemical impedance spectroscopy study. **Biomaterials**, v. 24, p. 3069–3077, 2003.
- WANG, H.; SU, K.; SU, L.; LIANG, P.; JI, P.; WANG, C. The effect of 3D-printed Ti6Al4V scaffolds with various macropore structures on osteointegration and osteogenesis: A biomechanical evaluation. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 88, p. 488–496, 2018.
- WANG, H.; ZHANG, X.; WANG, H.; ZHANG, J.; LI, J.; RUAN, C.; ZHU, R.; LIN, K. Enhancing the osteogenic differentiation and rapid osseointegration of 3D printed Ti6Al4V implants via nano-topographic modification. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 14, p. 707–715, 2018.
- WASSMANN, T.; KREIS, S.; BEHR, M.; BUERGERS, R. The influence of surface texture and wettability on initial bacterial adhesion on titanium and zirconium oxide dental implants. **International Journal of Implant Dentistry**, v. 3, p. 1-11, 2017.
- WU, S.; ALTENRIED, S.; ZOGG, A.; ZUBER, F.; MANIURA-WEBER, K.; REN, Q. Role of the Surface Nanoscale Roughness of Stainless Steel on Bacterial Adhesion and Microcolony Formation. **ACS Omega**, v. 3, p. 6456–6464, 2018.
- XIU, P.; JIA, Z.; LV, J.; YIN, C.; CHENG, Y.; ZHANG, K.; SONG, C.; LENG, H.; ZHENG, Y.; CAI, H.; LIU, Z. Tailored Surface Treatment of 3D Printed Porous Ti6Al4V by Microarc Oxidation for Enhanced Osseointegration via Optimized Bone In-Growth Patterns and Interlocked Bone/Implant Interface. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 8, p. 17964–17975, 2016.
- XU, J. yun; CHEN, X. shuai; ZHANG, C. yu; LIU, Y.; WANG, J.; DENG, F. long. Improved bioactivity of selective laser melting titanium: Surface modification with micro-/nano-textured hierarchical topography and bone regeneration performance evaluation. **Materials Science and Engineering C**, v. 68, p. 229–240, 2016.
- XU, Z. W.; LIU, A.; WANG, X. S. The influence of building direction on the fatigue crack propagation behavior of Ti6Al4V alloy produced by selective laser melting. **Materials Science and Engineering A**, v. 767, p. 1-12, 2019.
- YEO, I. S. L. Dental Implants: Enhancing Biological Response Through Surface Modifications. **Dental Clinics of North America**, v. 66, p. 627-642, 2022.
- YIN, C.; ZHANG, T.; WEI, Q.; CAI, H.; CHENG, Y.; TIAN, Y.; LENG, H.; WANG, C.; FENG, S.; LIU, Z. Surface treatment of 3D printed porous Ti6Al4V implants by ultraviolet photofunctionalization for improved osseointegration. **Bioactive Materials**, v. 7, p. 26–38, 2022.
- YOKOTA, S.; NISHIWAKI, N.; UEDA, K.; NARUSHIMA, T.; KAWAMURA, H.; TAKAHASHI, T. Evaluation of thin amorphous calcium phosphate coatings on titanium dental implants deposited using magnetron sputtering. **Implant Dentistry**, v. 23, p. 343–350, 2014.
- YU, M.; WAN, Y.; REN, B.; WANG, H.; ZHANG, X.; QIU, C.; LIU, A.; LIU, Z. 3D Printed Ti-6Al-4V Implant with a Micro/Nanostructured Surface and Its Cellular Responses. **ACS Omega**, v. 5, p. 31738–31743, 2020.

YUAN, W.; HE, X.; ZHOU, X.; ZHU, Y. Hydroxyapatite Nanoparticle-Coated 3D-Printed Porous Ti6Al4V and CoCrMo Alloy Scaffolds and Their Biocompatibility to Human Osteoblasts. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 18, p. 4360–4365, 2017.

ZHENG, Z.; JIN, X.; BAI, Y.; YANG, Y.; NI, C.; LU, W. F.; WANG, H. Microstructure and anisotropic mechanical properties of selective laser melted Ti6Al4V alloy under different scanning strategies. **Materials Science and Engineering A**, v. 831, p. 1-19, 2022.

ZHOU, W.; PENG, X.; MA, Y.; HU, Y.; WU, Y.; LAN, F.; WEIR, M. D.; LI, M.; REN, B.; OATES, T. W.; XU, H. H. K.; ZHOU, X.; CHENG, L. Two-staged time-dependent materials for the prevention of implant-related infections. **Acta Biomaterialia**, v. 101, p. 128–140, 1 jan. 2020.