UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

GISELE FÁTIMA SOARES DE CASTRO

EFEITO ANTIFÚNGICO DA VITROCERÂMICA DERIVADA DO BIOVIDRO 45S5 DOPADA COM PRATA PARA MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE RESINA ACRÍLICA DE USO ODONTOLÓGICO

2024

GISELE FÁTIMA SOARES DE CASTRO

EFEITO ANTIFÚNGICO DA VITROCERÂMICA DERIVADA DO BIOVIDRO 45S5 DOPADA COM PRATA PARA MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE RESINA ACRÍLICA DE USO ODONTOLÓGICO

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Biomateriais. Linha de pesquisa: Desenvolvimento de biomateriais em saúde bucal.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Yumi Koga Ito

Coorientador: Prof. Dr. Gilmar Patrocínio Thim

São José dos Campos

2024

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2024]. Disponível em http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Castro, Gisele Fátima Soares de
Efeito antifúngico da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 com prata para modificação de superfície de resina acrílica de uso odontológico / Gisele Fátima Soares de Castro. - São José dos Campos : [s.n.], 2024.
60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2024.
Orientador: Cristiane Yumi Koga Ito
Coorientador: Gilmar Patriocínio Thim

1. Resina acrílica. 2. Vitrocerâmica. 3. Biovidro. 4. Candida albicans. I. Ito, Cristiane Yumi Koga, orient. II. Thim, Gilmar Patriocínio, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática, ICMC/USP
com adaptações - STATI, STRAUD e DTI do ICT/UNESP.
Renata Aparecida Couto Martins CRB-8/8376

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A formação de biofilme fúngico na superfície do polimetil metacrilato (PMMA), material mais utilizado para a fabricação de próteses dentárias, é um problema clínico significativo. A vitrocerâmica originada do biovidro 45S5 demonstrou propriedades antifúngicas frente a *Candida albicans*. Contudo, é observou-se que essa propriedade não se mantém quando a vitrocerâmica é incorporada ao verniz selante de superfície. Novos protocolos de incorporação devem ser avaliados no futuro.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The formation of fungal biofilm on the surface of polymethyl methacrylate (PMMA), the most frequently used material for the fabrication of dentures, is a clinically relevant problem. The glass ceramic from 45S5 bio glass showed antifungal properties on *Candida albicans*. However, this property was not observed when the material was incorporated to a glaze. New protocols of incorporation should be evaluated in the future.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Tit. Cristiane Yumi Koga Ito (Orientador)
Universidade Estadual Paulista
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa. Assoc. Marianne Spalding
Universidade Estadual Paulista
Instituição de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Laura Soares Souto Lepesqueur
Universidade Santo Amaro

São José dos Campos, 05 de março de 2024.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, ***Nilson*** *e* ***Lourdes****, irmã* ***Priscila*** *e sobrinho* ***Heitor*** *pelo apoio que sempre me dedicaram. Meu eterno amor e gratidão* ***família****.*

Ao meu marido ***Bruno****, por passar comigo todos os momentos, tanto bons quanto ruins e ter continuado acreditando em mim e me apoiando.*

Aos meus ***amigos*** *que fiz ao longo da vida e que pude contar nos momentos difíceis, em especial a* ***Bruna****.*

AGRADECIMENTOS

*À Professora **Cristiane Koga-Ito**, pela oportunidade em ser sua orientada e por ter acreditado em mim, tornando meu sonho possível.*

*Aos **colegas do laboratório Genoma**, em especial **Lady Daiane**, **Diego Morais** e **Clélia Paiva** por toda ajuda e por compartilhar comigo seus conhecimentos e experiências.*

*Ao meu coorientador Professor **Gilmar Patrocinio Thim**, e toda sua equipe do laboratório de Plasma e Processos do ITA **(Instituto Tecnológico de Aeronáutica)** em especial ao Dr. **Tiago Campos** pelo apoio, disponibilidade, o que possibilitou realização deste trabalho.*

*À equipe do Laboratório de prótese do departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, e Professor **Tarcísio Arruda** pela atenção durante a elaboração do trabalho.*

*O presente trabalho foi realizado com apoio da **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** – Código de Financiamento 88887.713754/2022*

"O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano”. Isaac Newton

RESUMO

Castro GFS. Efeito antifúngico da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 com prata para modificação de superfície de resina acrílica de uso odontológico [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, 2024.

O objetivo do estudo foi sintetizar e caracterizar a resina acrílica de PMMA recoberta com vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado com prata para uso odontológico. A vitrocerâmica foi sintetizada, dopada com prata, incorporada ao glaze e aplicado sobre a superfície de corpos de prova de PMMA com dimensões de 9 mm de diâmetro por 2 mm de espessura. O material foi caracterizado morfologica por Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG) e química por Difratometria de raios X (DRX), Espectroscopia de raios x por Dispersão de energia (EDS), Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e os seus efeitos sobre a formação de biofilmes de Candida albicans foram avaliados, assim como a sua citotoxicidade para células de queratinócitos orais de linhagem NOK. Os resultados foram analisados estatisticamente por testes apropriados (One-way ANOVA e Tukey), adotando-se o nível de significância de 5%. A vitrocerâmica apresentou efeito antifúngico sobre Candida albicans, no entanto, esta propriedade não é mantida quando incorporada ao glaze para modificação de superfície do PMMA.

Palavras-chave: Resina acrílica; Vitrocerâmica; Biovidro; *Candida albicans*.

ABSTRACT

Castro GFS. Antifungal effect of glass-ceramic derived from 45S5 bioglass with silver for surface modification of acrylic resin for dental use [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2024.

The aim of the study was to synthesize and characterize PMMA acrylic resin coated with 45S5 bioactive glass-derived vitroceramic doped with silver for dental use. The vitroceramic was synthesized, silver-doped, incorporated into the glaze, and applied onto the surface of PMMA test specimens measuring 9 mm in diameter by 2 mm in thickness. The material was morphologically characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM-FEG). and chemically characterized by X-ray Diffraction (XRD), Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and. Its effects on Candida albicans biofilm formation were evaluated, as well as its cytotoxicity to oral keratinocyte cells of NOK lineage. The results were statistically analyzed using appropriate tests (One-way ANOVA and Tukey), adopting a significance level of 5%. The vitroceramic showed antifungal effect against Candida albicans; however, this property is not maintained when incorporated into the glaze for PMMA surface modification.

Keywords: Acrylic resi; Ceramic; Bioglass; Candida albicans.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 11
2 REVISÃO DE LITERATURA 14
2.1 Estomatite protética 14
2.1.1 Vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 17
2.1.2 Ação antimicrobiana da prata 18
3 PROPOSIÇÃO 20
4 MATERIAL E MÉTODOS 21
4.1 Síntese da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopada com prata 21
4.1.1 Preparo dos corpos de prova de PMMA 21
4.2 Caracterização da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata 23
4.2.1 Espectroscopia de raios x por dispersão em energia (EDS) 23
4.2.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 23
4.2.3 Difratometria de Raios X (DRX) 24
4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura com *field emission gun* (MEV-FEG) 24
4.3 Avaliação da atividade antifúngica da vitrocerâmica dopada ou não com prata pelo método de difusão em ágar 24
4.3.1 Avaliação do efeito antifúngico da vitrocerâmica por metodologia de contato direto 25
4.3.2 Avaliação da citotoxicidade da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 25
4.3.3 Incorporação da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata no PMMA 26
4.4 Caracterização da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 28
4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura dos corpos de PMMA dopados com a vitrocerâmica 28

4.4.2 Caracterização biológica da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata 29
4.4.3 Efeito do recobrimento de PMMA por vitrocerâmica derivada do biovidro 45s5 sobre a formação de biofilmes monoespécies de *C. albicans* 29
4.5 Analise estatística 30
5 RESULTADOS 31
5.1 Espectroscopia de raios x por dispersão de energia (EDS) 31
5.1.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 32
5.1.3 Difratometria de Raios x (DRX) 34
5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 35
5.2 Avaliação da atividade antifúngica da vitrocerâmica pelo método de difusão em ágar 36
5.2.1 Avaliação do efeito antifúngico da vitrocerâmica por contato direto 37
5.3 Avaliação da citotoxicidade da vitrocerâmica 38
5.3.1 Incorporação da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopada ou não com prata no PMMA 39
5.3.2 Caracterização da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 39
5.3.2.1 Microscopia eletrônica de varredura com *field emission gun* 40
5.3.3 Caracterização biológica da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata 41
6 DISCUSSÃO 44
7 CONCLUSÃO 51
REFERÊNCIAS 52

1 INTRODUÇÃO

Os idosos representam o grupo demográfico que está experimentando o crescimento mais significativo tanto no Brasil quanto globalmente. Esse aumento na longevidade da população é largamente atribuído à implementação de políticas públicas de saúde e avanços na medicina (Souza et al., 2016). O aumento da população idosa é corroborado por diversos estudos. Segundo os dados apresentados no estudo "World Population Prospects 2022" das Nações Unidas, a população global de pessoas com 60 anos ou mais ultrapassou a marca de 1 bilhão em 2018 e é previsto que alcance 2 bilhões até 2047, correspondendo a 21% da população mundial total. Além disso, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em seu levantamento de 2017, relatou que o número de idosos no Brasil já ultrapassou a marca de 30 milhões.

Fatores socioeconômicos, assim como de saúde global, educação e a condição de saúde bucal ao longo da vida influenciam na perda dentária. Assim, esta perda não pode ser considerada apenas uma consequência direta da presença de agravos como a cárie, doenças periodontais e traumas (Patel et al., 2012). Restabelecer não só a estética, mas o equilíbrio nas relações oclusais entre os dentes remanescentes e a função do aparelho estomatognático que são perdidas pela falta dos elementos dentários, são as principais funções das próteses dentárias, melhorando a qualidade de vida do paciente (Shigli et al., 2015). Para alcançar o sucesso no tratamento, é necessário que o paciente seja orientado quanto ao correto uso e higienização dela. A mal adaptação das próteses, a não-retirada por longos períodos e a má higienização afeta o bem-estar e gera acúmulo do biofilme microbiano sobre a superfície, contribuindo para o surgimento de lesões bucais, como a estomatite protética (Moraes et al., 2021). Além disso, a porosidade da superfície das resinas de polimetilmetacrilato (PMMA) contribui para a aderência microbiana à sua superfície (Patel et al., 2012; Shigli et al., 2015; Moraes et al., 2021).

A candidíase oral é uma das doenças mais recorrentes relacionadas às próteses odontológicas. Trata-se de uma infecção fúngica oportunista que resulta do

aumento das contagens de *Candida* spp. e sua patogenicidade aos tecidos do hospedeiro. *Candida albicans* é a espécie mais comumente relacionada à doença devido aos seus fatores de virulência (Simões et al., 2013; Batista, 2014). A etiologia da candidíase bucal é multifatorial, sendo importante fatores predisponentes como: doenças endócrinas, xerostomia, uso de prótese total, tabagismo, entre outros. A queilite angular e a glossite romboide mediana podem estar associadas à estomatite protética por *Candida* spp. (Tsutsumi et al., 2016; Villar et al., 2013; Senna et al., 2018).

Além disso, estudos mostraram que *Streptococcus mutans* pode atuar em combinação com *C. albicans*, gerando a co-adesão dos micro-organismos, facilitando assim a formação de biofilme e podendo agravar os quadros clínicos da doença (Falsetta et al., 2014; Kim et al., 2017; Kim et al., 2021).

Os antifúngicos convencionais podem causar efeitos adversos. A nistatina e o miconazol indicados para candidíase oral e queilite angular, assim como fluconazol indicado para candidíase aguda e crônica, podem causar náuseas vômitos e diarreia (Gheorghe et al., 2021). Além dos efeitos adversos, os tratamentos atuais têm se apresentado ineficazes em algumas situações clínicas devido ao surgimento de cepas resistentes (Vieira, Santos, 2016).

Assim, atualmente, novas formas de prevenir e tratar a candidíase bucal estão sendo exploradas, como a utilização de extratos naturais, óleos essenciais e nanopartículas inorgânicas (Gheorghe et al, 2021).

A resina de PMMA é um material utilizado na odontologia para fabricação de base de próteses dentárias por mais de oito décadas (Alfouzan et al, 2021), visto que reúne características como biocompatibilidade, estabilidade dimensional, boa capacidade de polimento. No entanto, favorece uma rápida colonização microbiana, devido à hidrofobicidade e ao alto teor de energia superficial livre (Suga et al., 2005). Além disso, fatores físicos como a rugosidade da superfície, hidrofobicidade e tensão superficial podem influenciar na retenção de biofilmes microbianos nas superfícies das próteses dentárias (Ferreira et al., 2021).

O teor de energia de superfície e carga positiva das superfícies de resina de PMMA fazem com que glicoproteínas salivares com carga negativa sejam atraídas, formando uma estrutura semelhante à película adquirida que facilita a colonização pelas bactérias colonizadoras iniciais que também têm carga negativa e se

aproximam da película adquirida por meio de forças de Van der Waalls e se unem a ela por meio de adesinas e pontes de hidrogênio (Sesma, Morimoto, 2011). Também ocorre adesão mecânica favorecida pelas irregularidades e porosidades da resina (Silva et al., 2021).

Assim, o aprimoramento das resinas de PMMA para que possam reduzir a aderência microbiana e prevenir a ocorrência de candidíases bucais é uma das estratégias exploradas na atualidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As irregularidades e porosidade da resina acrílica das próteses levam ao acúmulo de biofilme microbiano que podem desencadear infecções, afetando assim todo o tecido de suporte. *Candida albicans* é uma espécie fúngica que tem grande afinidade para se aderir em superfícies poliméricas (Gauch et al., 2020). Após a instalação da prótese dentária na cavidade bucal há formação de película adquirida formada por proteínas salivares. Após duas horas, imunoglobulinas, mucinas, alfa-amilase, cistatinas, proteínas ricas em prolina, lisoziima, glucosiltranferrase, albumina, fibrinogênio podem ser encontradas nessa película (Yin et al., 2020; Bajunaid et al., 2021). Com isso, surge a necessidade de novos biomateriais com o objetivo de inibir ou controlar as infecções bucais relacionadas a próteses, em particular as causadas pelas espécies do gênero *Candida*.

2.1 Estomatite protética

Os idosos constituem o grupo demográfico que registra o mais notável crescimento tanto no Brasil, assim como em todo o mundo. Esse aumento na expectativa de vida da população é amplamente creditado à eficácia das políticas públicas de saúde (Souza et al., 2016). Tendências recentes indicam que a perda dentária está ocorrendo mais tardiamente na vida dos indivíduos. No entanto, é importante notar que a capacidade de mastigação prejudicada continua a ser uma das principais preocupações na saúde bucal. Isso é evidenciado por vários estudos que destacam um notável aumento no número de dentes perdidos à medida que a idade avança (Borg-Bartolo et al., 2022).

O êxito da reabilitação não depende apenas da eficácia da técnica utilizada, mas também do processo de adaptação individual que contribui para a aceitação da prótese pelo paciente. Os desafios na confecção das próteses estão intimamente ligados à harmonização da estética, funcionalidade e conforto, aspectos que,

quando combinados, resultam em uma notável melhoria na qualidade de vida do paciente (Costa et al., 2013).

Na reabilitação do edentulismo, existem dois tipos de prótese dentária: a removível e a fixa. Na prótese removível, o paciente pode facilmente remover a estrutura sempre que desejar, podendo ser parcial ou *overdenture*. Por outro lado, a prótese fixa possui um sistema de retenção permanente, que se fixa aos dentes naturais ou aos implantes dentários. Para a escolha é primordial a avaliação da situação dos tecidos periodontais, perdas ósseas, mobilidade dentárias e resseções gengivais. Embora haja avanços consideráveis na área da odontologia, as próteses parciais removíveis (PPRs) continuam sendo indispensáveis em muitos casos de reconstrução oral, pelo seu baixo custo, facilidade no reembasamento, particularmente quando o rebordo desdentado posterior precisa ser restaurado (Filho et al., 2021).

Os implantes dentários também são uma opção de reabilitação oral, apesar de atualmente serem mais seguros, o procedimento cirúrgico para a colocação e reabertura do implante são razões pelos quais o paciente relata insatisfação no decorrer do tratamento além de contra indicações em alguns casos de saúde e não estar disponível no serviço público CEO (Centro de Especialidades Odontológicas) (Bambara et al., 2003).

A principal causa da estomatite protética está relacionada à presença prolongada e contínua das próteses dentais na cavidade bucal, sem a devida remoção e higienização adequada, o que cria um ambiente favorável para o crescimento excessivo de micro-organismos, como *Candida albicans* (Bajunaid, Baras, Xu, 2018).

À medida que *Candida* spp. se multiplicam, podem invadir a mucosa oral adjacente, penetrando nas camadas superficiais do tecido epitelial por sua estrutura filamentosa. A penetração fúngica leva à irritação da mucosa, causando danos às células epiteliais e induzem resposta inflamatória local. Adicionalmente, também há resposta às toxinas, como ácido láctico, acetaldeído e enzimas fosfolipases proteinases e hialuronidases. Além das enzimas, *Candida albicans* produz vários tipos de adesinas, como as proteínas *Als* (*Agglutinin-like sequence*), que desempenham um papel crucial na aderência do fungo a diversas superfícies, incluindo as células epiteliais da mucosa oral e materiais das próteses. Cada subtipo

de *Als* possui especificidade para diferentes receptores nas células epiteliais da mucosa oral e nas próteses se fixando de maneira seletiva e eficaz devido a sua estrutura molecular que inclui domínios de ligação ao substrato e domínios de ligação ao receptor. As adesinas desempenham um papel fundamental na virulência da *Candida* spp*.,* já que facilitam a colonização de tecidos e a formação de biofilmes (Suchodolski., 2020; Shiradhone., 2018).

A estomatite protética é caracterizada pela presença de lesões com eritema difuso, representadas por pontos ou áreas focais avermelhadas. Essa lesão se localiza sob a base da prótese total, principalmente na maxila, e apresenta variadas alterações na textura e superfície da mucosa palatina levando grande desconforto ao paciente (Filho et al., 2021).

Diversos agentes antifúngicos orais têm sido indicados para o tratamento da estomatite protética, tais como fluconazol, nistatina, anfotericina B, miconazol, cetoconazol, itraconazol e clotrimazol. Embora esses tratamentos sejam eficazes na maior parte dos casos, é importante observar que apresentam desvantagens significativas, incluindo efeitos colaterais tóxicos e o potencial desenvolvimento de cepas resistentes (Bakhshi et al., 2012). Além disso, a recorrência da lesão ocorre frequentemente. Portanto, após a conclusão do tratamento antifúngico, é fundamental manter as medidas de prevenção, como a desinfecção das próteses. A aplicação tópica de agentes antifúngicos tem se mostrado eficaz por um período limitado de tempo e, adicionalmente, esses agentes podem ser negativamente afetados pelo fluxo constante de saliva (Bakhshi et al., 2012; Martins, Lacerda., 2019).

Biomateriais alternativos para confecção das próteses dentárias podem ser alternativas promissoras para a prevenção da estomatite protética. Eles podem ser modificados para que tenham propriedades antimicrobianas, tornando as superfícies das próteses menos propensas à colonização de micro-organismos. Isso pode incluir a incorporação de substâncias antimicrobianas, como prata ou nanopartículas de cobre, nas resinas usadas na confecção das próteses. Alguns biomateriais podem ser projetados para liberar de forma controlada substâncias antimicrobianas ou agentes antifúngicos, ajudando a manter a cavidade oral em um ambiente menos favorável para o crescimento de *Candida* e outros micro-organismos (Araújo et al, 2018).

Atualmente, alternativas naturais também têm sido sugeridas, como a própolis (que inibe o dimorfismo), o extrato etanólico das folhas de *Streblus* sp. (que altera as paredes celulares de *Candida albicans*) e *Ricinus communis* (que reduz a formação de biofilme). No entanto, é importante notar que esses antifúngicos naturais também podem apresentar toxicidade ou causar intolerância por parte do paciente (Gad et al., 2020).

2.1.1 Vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5

A biocerâmica é um material de baixo custo e alta biocompatibilidade, na qual a hidroxiapatita tem semelhança química com os ossos e dentes (Salviano et al., 2021). O primeiro relato do desenvolvimento de vidro bioativos começou por volta de 1970, desde então surgiram diversas versões com formulações químicas distintas (Zaroni., 2023). O mais conhecido é o vidro de silicato 45S5. Também há biovidros com notável atividade antimicrobiana, tais como S53P4 ou a base de borato como 13-93B3 (Hench, 2015).

O 45S5 é o mais utilizado em aplicações médicas para tratamento de defeitos ósseos periodontais, reconstruções cranianas e maxilo-facial, fusão espinhal e fabricação de próteses ortopédicas e odontológicas (Hench, 2015). A base da formulação química do 45S5 é fundamental para formulações subsequentes. Modificações como adição ou remoção de íons criam composições com diferentes finalidades, que se associam à boa bioatividade e osteocondutividade (Cannio et al., 2021; Silva, Oréfice, 2001). Quando o 45S5 se dissolve libera cálcio, sílica, sódio e fosfato formando a hidroxiapatita carbonatada (HCA), que estabelece conexões com osso circundante. Sua biocompatibilidade está relacionada à quantidade de concentração de silicato, tendo que estar entre 45-52%. O biovidro tem sido amplamente estudado no campo médico para substituto potenciais na engenharia tecidual para regeneração de tecido ósseo e, mais recentemente, no tratamento de infecções (Cannio et al., 2021).

Através da cristalização controlada de vidros, é possível obter vitrocerâmicas. Estudos realizados indicaram forte atividade antimicrobiana da

vitrocerâmica, efeito que provavelmente está associado às alterações de pH do microambiente geradas a partir da solubilização parcial do material e da ação de determinados íons liberados, como o Ca^{2+} associado à baixa citotoxicidade (Siqueira, 2023; Spirandeli et al., 2020). Além disso, a cristalização de estruturas amorfas em hidroxiapatita parece ativar os osteoblastos para neoformação óssea (Cannio et al., 2021).

Desta forma, estudos utilizando a vitrocerâmica para modificação de resina de PMMA de uso odontológico para controle antifúngico ainda não havia sido investigado.

2.1.2 Ação antimicrobiana da prata

Partículas de prata vem sendo adicionadas ao polimetilmetacrilato (PMMA) como uma forma de inibir a aderência microbiana. A prata tem efeitos sobre as enzimas do metabolismo de *C. albicans*, impedindo também a replicação do DNA, uma vez que a prata tende a se ligar ao enxofre ou ao fósforo presentes na membrana ou ácidos nucleicos. Esses efeitos reduzem a viabilidade fúngica e reduzem a capacidade de se aderir e colonizar as próteses dentárias (Victor, Lemos, 2021).

Estudos anteriores reportaram que AgNPs apresentam atividade inibitória sobre *C. albicans* maior que o fluconazol, medicamento comumente prescrito para o tratamento de doenças fúngicas (De Matteis et al., 2019; Kim, 2009).

Feng et al. (2000) produziram filmes de hidroxiapatita contendo prata para aplicações em implantes e comprovaram que concentrações a partir de 20 ppm foram bactericidas contra *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis e Pseudomonas aeruginosa.*

A atividade antimicrobiana de partículas de 90-710 µm de um biovidro dopado com óxido de prata foi comparada à atividade de partículas de mesmo diâmetro do 45S5. O biovidro com prata demonstrou uma eficiente inibição microbiana, porém o 45S5 nessa granulometria não apresentou resultado (Bellantone et al., 2002).

Campanini (2015) adicionou 1% em peso de prata ao biovidro F18 e observou aumento da atividade bactericida em *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli e Pseudomonas aeruginosa*, sendo que o efeito desse íon metálico foi eficiente na eliminação de micro-organismos em curtos períodos de contato.

No tratamento ortodôntico, as regiões em torno dos bráquetes sofrem desmineralização pelo acúmulo de biofilme. Objetivando prevenir a ocorrência da desmineralização, partículas de prata foram adicionadas à resina ortodôntica com vistas à inibição da formação do biofilme. Os resultados mostraram que o uso da resina experimental AgNPs para colagem de bráquetes afetou a cor do esmalte após seis meses de armazenamento, deixando-o com aspecto acinzentado (Sánchez, Tay, 2022).

A introdução de concentrações mais elevadas de AgNPs resulta em uma mudança de cor no material, conferindo-lhe um tom de cinza escuro, o que impacta negativamente suas propriedades estéticas. Concentrações acima de 1% podem agravar ainda mais os problemas estéticos apesar de apresentar efeitos antibacterianos (Yassaei et al., 2020; Abdulsahib, 2021).

A incorporação de nanopartículas de prata de 5 e 10 nm em resina acrílica em concentrações de 0,05 e 0,5% diminuíram significativamente o número de células cultiváveis no biofilme de *C. albicans* em comparação ao controle (Takamiya et al., 2020).

Nanopartículas de prata podem ter seu potencial limitado como agentes biocidas em sistemas líquidos. Isso se deve à sua baixa estabilidade e trata-se de um fenômeno frequentemente observado na área odontológica. Isso ocorre porque a prata precisa ser liberada do material restaurador para ter efeito sobre os micro-organismos presentes em ambiente líquido, como a saliva (Monteiro et al., 2009).

3 PROPOSIÇÃO

Este projeto visa sintetizar, caracterizar e avaliar o efeito antifúngico do glaze (verniz selante de superfície) incorporado com vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5, dopado ou não com prata, sobre resina acrílica de polimetil metacrilato (PMMA).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopada com prata

Neste trabalho, foram sintetizadas duas vitrocerâmicas utilizando o método sol-gel coloidal no Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA). Ambas foram baseadas na composição do biovidro 45S5, sendo que a primeira, chamada vitrocerâmica (A), possui a composição do 45S5 (%mol: 46,1 SiO_2, 26,9 Na_2O, 24,4 CaO, e 6 P_2O_5). Já a vitrocerâmica (B) possui a mesma composição que a (A), porém com a adição de 5% em massa de prata metálica. As vitrocerâmicas foram obtidas utilizando ácido silícico como precursor de sílica, seguindo as mesmas metodologias utilizadas por Spirandeli e colaboradores (Spirandeli, 2020). O ácido silícico foi sintetizado pela passagem de uma solução aquosa de metassilicato de sódio por uma resina de troca iônica. Em seguida, nitrato de cálcio, nitrato de sódio, fosfato de amônio monobásico e nitrato de prata foram adicionados a essa solução, respeitando as composições das vitrocerâmicas A e B. Posteriormente, essas soluções foram gelificadas e secas em estufa a 100 °C por 48 horas. Após esse processo, elas foram calcinadas a 850 °C por 5 horas, e em seguida, moídas utilizando um almofariz de alumina e peneiradas em uma peneira de 200 mesh.

4.1.1 Preparo dos corpos de prova de PMMA

As dimensões do corpo de prova que foram utilizados foram adaptados de acordo com especificações das normas ISO 20795-1:2008. Para os ensaios microbiológicos, foram adaptadas as dimensões de 2 mm de altura x 9 mm de diâmetro. Foram utilizados padrões metálicos em aço inoxidável com dimensões maiores do que exigidas para que possa ser realizado o acabamento e polimento correto das peças, segundo a metodologia proposta por Rodrigues (2020).

A mufla metálica odontológica foi utilizada para confecção de moldes com intuito de manter o procedimento realizado na fabricação da base de próteses totais.

Os padrões metálicos foram colocados base da mufla. Para tal, o gesso comum Tipo II (Asfer®), proporcionado em 55 mL de água filtrada para 100 g de pó, foi espatulado manualmente em gral de borracha e levado a um vibrador de gesso para eliminação das bolhas de ar, ficando assim com aspecto homogêneo. A base da mufla foi totalmente preenchida pelo gesso, deixando a superfície do gesso lisa. Após completar a presa do gesso (cerca de 30 min), os padrões metálicos foram posicionados de maneira equidistantes e paralelos entre si, onde apenas um dos lados de maior área ficou em íntimo contato com a superfície do gesso.

Foi aplicada uma camada de isolante Isocril (Dencril®) na superfície do gesso afim de evitar adesão da resina acrílica nas áreas sem interesse. Os padrões de aço inoxidável foram recobertos com o silicone de condensação Zetalabor (Zhermack®), para a moldagem. Então, a contra-mufla foi posicionada sobre a mufla e preenchida com gesso comum Tipo II, proporcionado em 100 mL de água filtrada e 200 g de pó.

A parte superior da contra-mufla foi, então, fechada e a mufla posicionada em uma prensa hidráulica (Techno Máquinas®) com 1,5 ton de pressão a fim de se remover o excesso de gesso e garantir sua presa de forma homogênea. Após cerca de 30 min, tempo necessário para a presa do gesso, as partes da mufla foram abertas e os padrões metálicos removidos. O uso do silicone permitiu que esse procedimento fosse realizado sem danificação do molde de gesso e de forma facilitada. Com as partes da mufla abertas e separadas, foi aplicado novamente uma fina camada de isolante para resina acrílica com um pincel, sobre toda a área de superfície que expunha o gesso. Então, a resina acrílica foi acomodada na mufla nos espaços deixados pelos padrões quando atingiu a fase plástica. Em seguida, a mufla foi fechada e posicionada em prensa hidráulica para que se desse a prensagem lenta e gradual, até estabelecer a pressão final em 1,5 ton, estabilizada quando não houver mais o escoamento da resina. A pressão foi mantida durante 30 min e, então, a mufla metálica foi transferida para uma prensa auxiliar a fim de se manter a pressão e o íntimo contato entre as partes do aparelho

A resina foi então polimerizada pelo método convencional em banho d'água por meio de um banho termostático SL 158 (Solab®), mantendo a mufla durante o aquecimento da água até 70 ºC e, então, mantendo nessa temperatura por 30 min. Em seguida, a temperatura foi aumentada até 100 ºC e mantida nessa temperatura

durante 90 min. Ao final do ciclo, a mufla foi mantida no banho até resfriamento a temperatura ambiente para posterior desmolde.

Após o desmolde, os excessos dos corpos de prova foram removidos com lixa d'água 400, 800 e 1500. As dimensões foram avaliadas por meio de um paquímetro digital (Digimess®). Por fim, foi realizado o polimento final com pano de polimento (Fortel®) e alumina líquida 1 µm (Fortel®) para garantir que não haja nenhum defeito superficial que comprometesse o resultado dos ensaios. Após o acabamento, os corpos de prova foram armazenados em água destilada por 24 h a 37 ºC.

4.2 Caracterização da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata

4.2.1 Espectroscopia de raios x por dispersão em energia (EDS)

Para a caracterização de análise qualitativa da composição química dos elementos químicos da vitrocerâmica, foi realizado um espectrômetro por dispersão de energia (EDS) (Tescan Veja®).

4.2.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A composição química da vitrocerâmica foi analisada utilizando o espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) (Parkin- Elmer, modelo Spectrum Frontier) no modo UATR na região do médio 400-4000 cm^{-1}, 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} através do programa Spectrom Saurch Plus.

4.2.3 Difratometria de Raios X (DRX)

As vitrocerâmicas foram analisadas por difratometria de Raios X para determinar as fases cristalizadas. A análise de DRX foi realizada utilizando-se um equipamento PANalytical Philips X'Pert, equipado com radiação CuKα e filtro de níquel, operando a 40 kV e 40 mA, no intervalo de 10 º ≤ 2θ ≤ 50 º, Δθ = 0,02 º e tempo por Δθ de 30 s.

4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura com *field emission gun* (MEV-FEG)

As amostras foram analisadas utilizando um MEV (Tescan Veja®). As amostras foram recobertas com uma fina de camada de ouro tornando a superfície condutora. As análises foram realizadas no Instituto Tecnológico de aeronáutica (ITA).

4.3 Avaliação da atividade antifúngica da vitrocerâmica dopada ou não com prata pelo método de difusão em ágar

Para a verificação da atividade antimicrobiana da vitrocerâmica dopada com diferentes concentrações de prata foi utilizado o método de difusão em ágar. O método consiste em posicionar o pó da vitrocerâmica dopado com diferentes concentrações de prata: 1%, 3% e 5% sobre a superfície do ágar Sabouraud semeado com uma suspensão padronizada de *Candida albicans* ATCC 18804, com 100 ul concentração de $1x10^6$células/mL. Após incubação das placas por 24 horas a 37 ºC, a formação de halos de inibição foi avaliada. Os testes foram realizados em triplicata.

4.3.1 Avaliação do efeito antifúngico da vitrocerâmica por metodologia de contato direto

Suspensões padronizadas contendo 10^6 células/ml de *Candida albicans* ATCC 18804 foram preparadas em 10 ml de caldo de Sabouraud dextrose e colocadas em contato direto com a vitrocerâmica nas quantidades de 0,1 g e 0,05 g levando em consideração as concentrações avaliadas no teste de citotoxicidade. Para o controle negativo, não foi adicionada vitrocerâmica. Os tubos foram agitados e incubados a 37 °C por 24 h a 120 rpm. Após 24 horas de incubação, a suspensão foi diluída em série (até 10^{-4}) e inoculada em ágar Sabouraud. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. Foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) e os resultados foram expressos como porcentual de redução. Os testes foram realizados em triplicata.

4.3.2 Avaliação da citotoxicidade da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5

A cerâmica Vitro (VC) e a cerâmica Vitro dopada com prata (VC/Ag) foram previamente esterilizadas por exposição à luz UV durante 10 minutos de cada lado, superior e inferior e mantidas em condições estéreis até o experimento.

A análise de citotoxicidade foi realizada de acordo com a norma ISO 10993-5/2009 1. Queratinócitos orais da linhagem NOK foram utilizados nesta análise. As células foram incubadas em DMEM (meio de Eagle modificado por Dulbecco), suplementado com 10% de FBS (soro fetal bovino), penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL) e mantidas incubadas a 37°C e 5% de CO_2 até atingir a confluência de cerca de 70%.

Em uma placa de 96 poços, foram plaqueadas 8 x 10^3 células em cada poço 2. As amostras VC e VC-Ag foram dispersas em DMEM, obtendo-se soluções na concentração de 1% (massa/volume). Placas de 96 poços contendo as células e as soluções amostrais foram mantidas a 37 °C por 24 h. Após 24 horas, o meio foi retirado. As células foram lavadas com PBS estéril (solução salina tamponada com fosfato) e depois expostas às soluções das amostras previamente filtradas utilizando

uma membrana de poliéter sulfona (0,22 µm). Como controle, foi utilizado o meio DMEM. Após 24 h de contato, o conteúdo dos poços foi retirado e o reagente MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2il) -2,5-difenil-tetrazólio, Sigma, St. Louis, MI, EUA) foi adicionado a cada poço e mantido em contato com as células por duas horas.

Após, o reagente foi removido e foi adicionado dimetil sulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, EUA) e mantido por 15 min sob agitação. A densidade óptica de cada poço foi medida em espectrofotômetro a 570 nm. Os dados de absorbância obtidos foram normalizados pelo grupo controle (=100%). A citotoxicidade foi classificada com base no percentual de viabilidade celular (%), onde valores acima de 70% considerados foram interpretados como ausência de toxicidade.

4.3.3 Incorporação da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata no PMMA

Para a incorporação da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata ao PMMA foram testados dois métodos distintos. O primeiro método avaliado foi a incorporação por peneiramento. Foi aplicado uma fina camada de glaze Palaseal Kulzer® sob a superfície dos corpos de prova e uma quantidade padronizada da vitrocerâmica foi peneirada sobre estes utilizado uma peneira 200 mesh Abronzinox®. Logo após, as peças foram fotopolimerizadas por 90 segundos em ambos os lados utilizando o fotopolimerizador microdont Blue Star® com comprimento de onda de 500 nanômetros e potência de 15000 mW/mm^2. Os corpos de prova foram colocados em um becker com capacidade de 50 ml de álcool isopropílico (para que não ocorresse a liberação do efeito da vitrocerâmica e meio aquoso diminuindo sua eficácia) e adicionado a lavadora ultrassônica por 8 segundos, para que todo o pó que não foi incorporado a estrutura fosse liberado (Figuras 2 e 3).

Figura 2: Superfície dos corpos de prova após o peneiramento da vitrocerâmica.

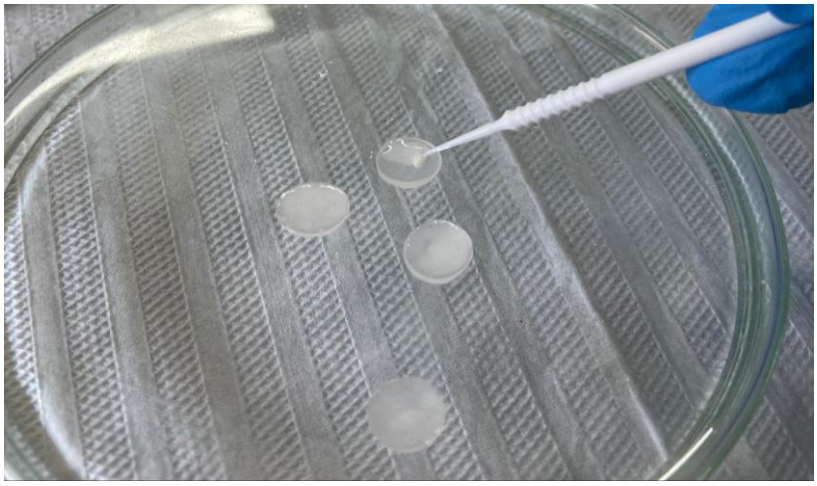
Fonte: Elaborada pela autora

Figura 3: Superfície dos corpos de prova após a fotopolimerização e lavagem na cuba ultrassônica.

Fonte: Elaborada pela autora

O outro método avaliado foi incorporar a vitrocerâmica diretamente ao glaze. Para isto, foram utilizados 2 glazes de marcas e tipos distintos, Palaseal Kulzer® fotopolimerizavél e o glaze da TDV® autopolimerizável, denominados de glaze 1 e 2, respectivamente. Para ambos os produtos, 0,05 gramas de pó da vitrocerâmica (0,5%) foi pesado em balança analítica e incorporado a 4 gotas de glaze. A mistura foi distribuída de forma homogênea na superfície de 6 corpos de prova, com auxílio de microbrush (All Prime®) (Figura 4).

Figura 4: Aplicação dos glazes dopados com vitrocerâmica sobre os corpos de prova, utilizando microbrush.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.4 Caracterização da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5

4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura dos corpos de PMMA dopados com a vitrocerâmica

Os corpos de prova de PMMA recobertos com vitrocerâmica foram fraturados em nitrogênio líquido e a superfície de fratura foi analisada utilizando um MEV (Tescan Veja®). As amostras foram recobertas com uma fina de camada de ouro tornando a superfície condutora.

4.4.2 Caracterização biológica da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata

Para caracterização biológica, foram realizados ensaios *in vitro*. Para avaliação *in vitro*, foram avaliados os efeitos da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 sobre PMMA na formação de biofilme monoespécie por *Candida albicans* e sobre a toxicidade para células de mamíferos.

4.4.3 Efeito do recobrimento de PMMA por vitrocerâmica derivada do biovidro 45s5 sobre a formação de biofilmes monoespécies de *C. albicans*

Para os ensaios de formação de biofilme foram avaliados os grupos experimentais (n=12, por grupo):

- Grupo 1 – PMMA sem recobrimento,
- Grupo 2 - PMMA recoberto com glaze,
- Grupo 3- PMMA recoberto com vitrocerâmica,

A metodologia utilizada foi baseada em Rodrigues (2021) e Seneviratne et al. (2016). Antes das realizações dos testes, foi feita a esterilização corpos de prova utilizando radiação ultravioleta em um fluxo laminar. As amostras foram distribuídas sobre placas de Petri e mantidas sob incidência da radiação ultravioleta durante 10 min. Após os 10 minutos de exposição em uma face do corpo de prova, a face oposta foi exposta por 10 minutos, para que ambas as superfícies das amostras sejam esterilizadas.

Para o ensaio de aderência fúngica foi utilizada a cepa *C. albicans* ATCC 18804. Previamente aos experimentos, a amostra de *C. albicans* foi semeada em ágar Sabouraud dextrose (Difco®) e incubada por 24 horas a 37ºC. Após este período, foi obtida suspensão padronizada contendo 10^6 células mL^{-1} em solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%, pH 7,0), com auxílio de um espectrofotômetro (λ: 550; DO: 0,380).

Após o período de aderência inicial de 120 minutos, os corpos de prova

foram lavados com solução fisiológica estéril para remoção de células não aderentes. A seguir, os espécimes foram transferidos novamente para placas de 24 poços e foi adicionado 200 µL de RPMI suplementado com 2% de glicose. Após 24 horas de incubação a 37 ºC, o meio de cultura foi renovado. O conjunto foi incubado pelo tempo total de 48 horas a 37ºC, em aerobiose.

Após este período, os espécimes foram transferidos para tubos contendo 1 mL de solução fisiológica. Para a recuperação do biofilme, os tubos foram agitados por 60 segundo em vórtex e depois sonicados (2 pulsos de 15 segundos com vinte segundos de intervalo, amplitude 40, 15 W no gelo). A suspensão resultante foi diluída em série (até 10^{-4}) e inoculada em ágar Sabouraud dextrose. As placas foram incubadas por 48 horas a 37 °C em aerobiose e o número de colônias foi obtido. Os valores de UFC/espécime foram calculados.

Além disso, foram preparados 2 espécimes nas condições descritas para os grupos experimentais para análise por microscopia eletrônica de varredura segundo a metodologia proposta por Gomes e Mergulhão (2017). Os biofilmes foram submetidos ao processo de fixação por glutaraldeído 2,0% durante 24 horas. Após enxague em solução fisiológica, foi realizada a desidratação em diferentes concentrações de etanol (70 % e 95 % durante 10 minutos e 100 % 5 durante 20 minutos). A seguir, os biofilmes foram secos em estufa (28 °C) durante 4 dias. Os biofilmes foram metalizados e observados em microscópio eletrônico de varredura. As imagens foram capturadas e registradas.

4.5 Analise estatística

Após realizar a análise de distribuição dos dados por meio do teste de normalidade de Shapiro-Wilk, os resultados das contagens de colônias, expressos em média ± desvio padrão, foram submetidos a uma análise estatística utilizando o software GraphPad Prism® 7.0 (GraphPad Software Inc.). Para comparações entre grupos, foram empregados o teste One-way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey como pós-teste. O nível de significância adotado foi de 5%.

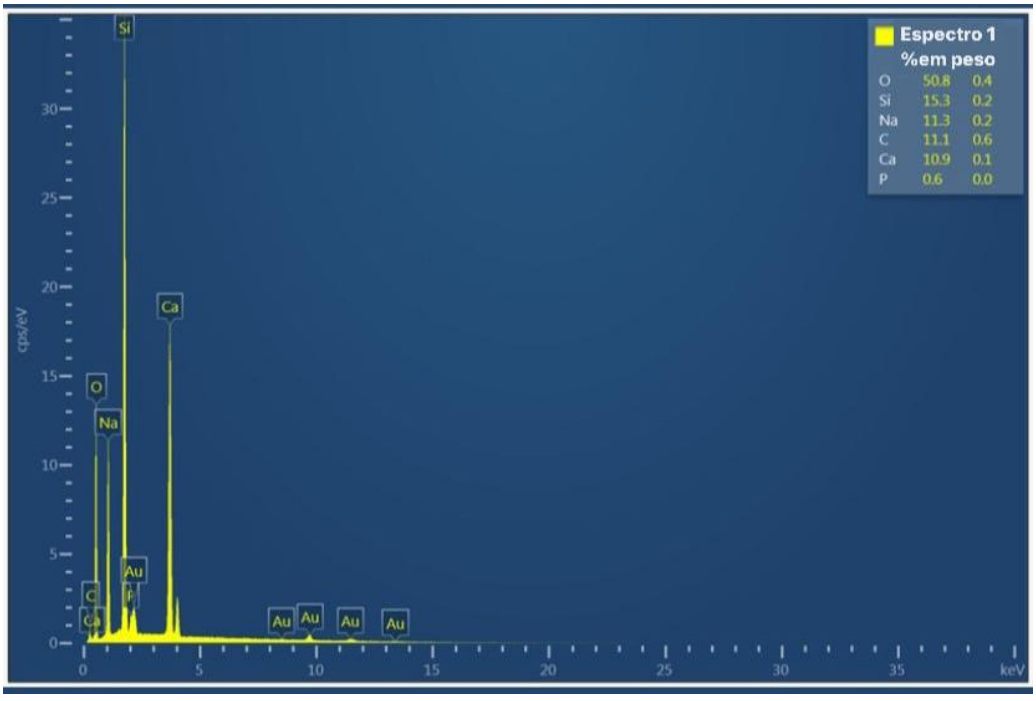
5 RESULTADOS

5.1 Espectroscopia de raios x por dispersão de energia (EDS)

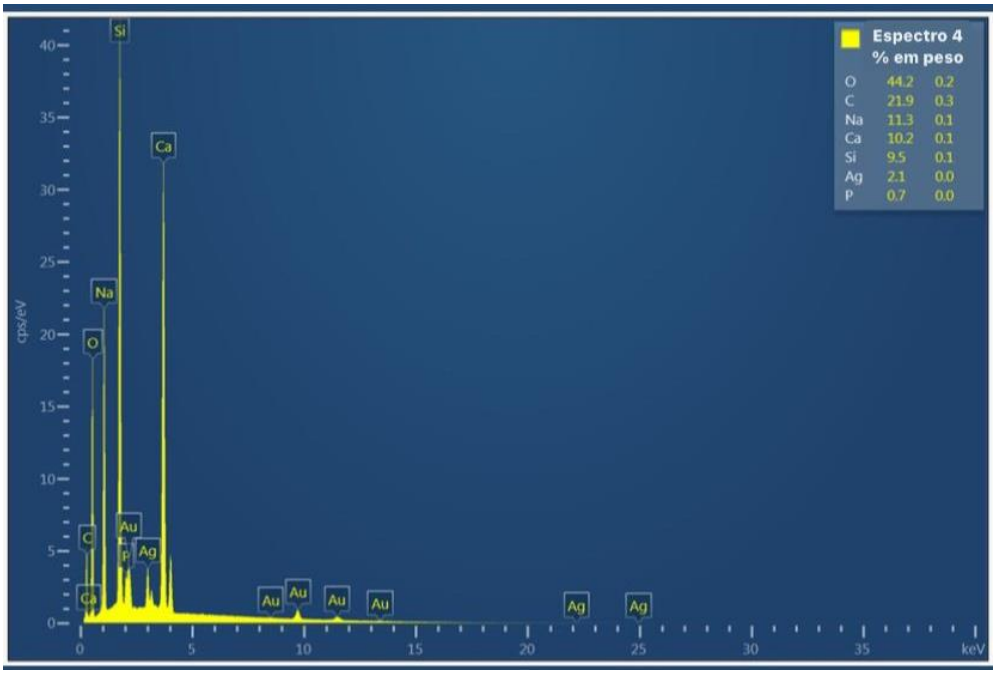
A análise de EDS revelou a presença de 11,1% de carbono (C) no material, que é correspondente da fita utilizada para as análises. Este resultado confirma que não houve contaminação do material, garantido a sua pureza. Além disso, podemos observar 50,8% de oxigênio (O), 15,3% de silício (Si), 11,3% de sódio (Na), 10,9% cálcio (Ca) e 0,6% de Fósforo (P) na imagem (A) e 44,2% de oxigênio (O), 21,9% de carbono (C),11,3% de sódio (Na), 10,2 % de cálcio (Ca), 9,5% de Silício (Si), 2,1% de prata (Au) e 0,7% de Fósforo (P) na imagem (B). Ambos possuem picos de Sílica e cálcio passando dos 30(eV) (Figura 5).

Figura 5: Espectroscopia de raios x por dispersão de energia.

(A)



(B)



Legenda: Espectros de espectroscopia de raios x por dispersão de energia das amostras de vitrocerâmica (A) e vitrocerâmica com prata (B).

Fonte: Elaborada pela autora.

5.1.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

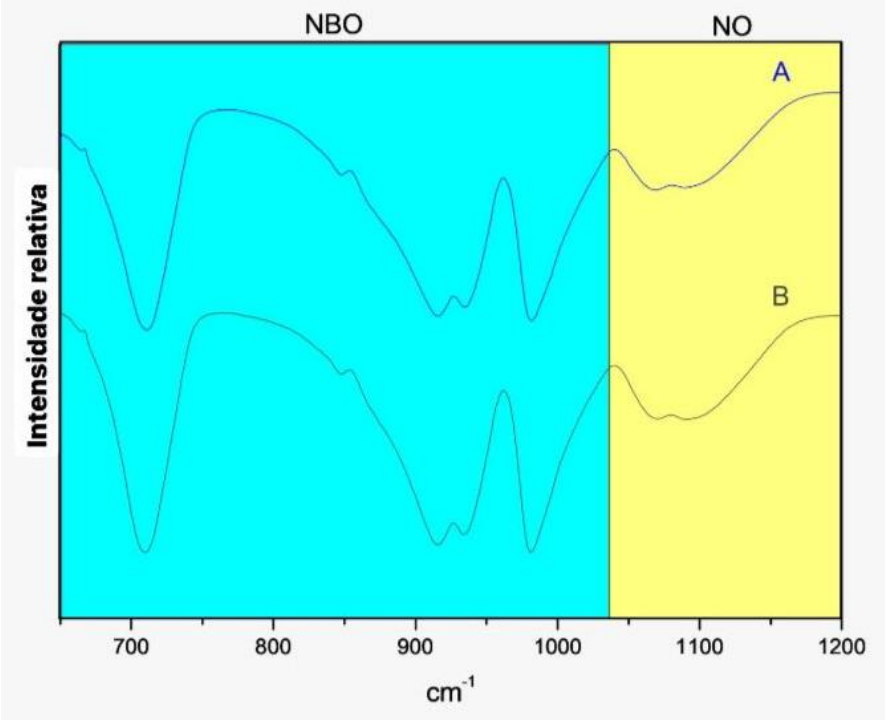
Após realizar uma análise elementar das vitrocerâmicas por espectroscopia de dispersão de energia (EDS), foi possível observar que a prata estava presente na vitrocerâmica B, conforme desejado. Essa prata foi adicionada durante a síntese do material e pode estar incorporada à estrutura vítrea ou presente como uma fase cristalina. Com base nessa observação, foi realizada uma análise de espectroscopia no infravermelho para avaliar as ligações presentes nesses materiais. As ligações químicas presentes em silicatos são predominantemente divididas em dois tipos: ligações tipo ponte (BO) e não ponte (NBO) (Spirandeli, 2020). As ligações tipo ponte correspondem às ligações siloxanas (Si-O-Si), sendo estáveis e não sofrendo hidrólise em pH fisiológicos. Já as ligações não ponte são ligações químicas com características iônicas da sílica com heteroátomos (Si-O-X+), sendo menos estáveis que as ligações tipo ponte. A avaliação das ligações NBO pode indicar a incorporação de heteroátomos na rede de sílica, sendo útil para identificar a formação de silicatos de prata vítreos ou cristalinos.

Essas ligações são capazes de sofrer hidrólise em meio aquoso, liberando íons que podem elevar o pH, gerando efeitos biológicos desejados, como a formação de hidroxiapatita em fluido corporal simulado e também inibindo o crescimento de microrganismos (Spirandeli, 2020).

A Figura 6 apresenta os espectros de FTIR das vitrocerâmicas (A) e (B), correspondendo ao material controle e ao dopado com prata, respectivamente. Ao analisar os espectros, é possível notar que ambos apresentam grande semelhança, podendo-se observar duas bandas por volta de 1100 cm^{-1} correspondentes às ligações BO, uma banda em 970 cm^{-1}, duas em 940 cm^{-1} e uma em 700 cm^{-1} correspondentes às ligações NBO (Spirandeli, 2020).

Como não houve mudança nas intensidades relativas das bandas NBO do material com prata em comparação com o controle, é possível concluir que a prata não está presente na rede de sílica. A formação de um silicato de prata levaria à presença de ligações NBO, e não foi observada nenhuma alteração significativa nos espectros.

Figura 6: Análise de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier da vitrocerâmica (A) e da vitrocerâmica com prata (B).



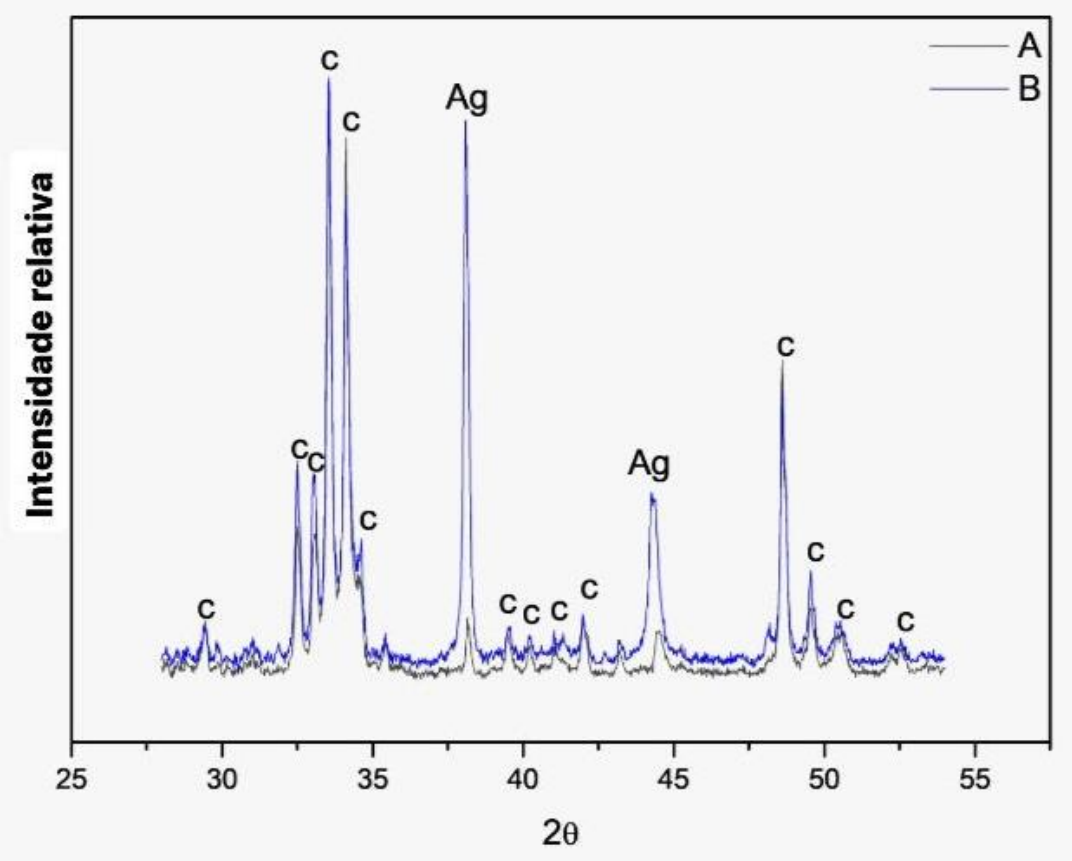
Legenda: Espectro de infravermelho das amostras de vitrocerâmica (A) e da vitrocerâmica com prata (B) e seus respectivos comprimentos de onda.

Fonte: Elaborada pela autora.

5.1.3 Difratometria de Raios x (DRX)

Como não foi possível analisar a incorporação da prata por espectroscopia no infravermelho e concluiu-se que a prata não foi incorporada à rede de sílica, foi realizada uma análise de difração de Raios X para examinar as fases cristalinas desse material e caracterizar a estrutura em que a prata está presente, bem como as fases cristalizadas nas vitrocerâmicas.

Figura 7: Difratograma de Raios X da amostra da vitrocerâmica cristalizada que (A) e vitrocerâmica cristalizada com prata (B), c = condeíta e Ag= prata.



Fonte: Elaborada pela autora.

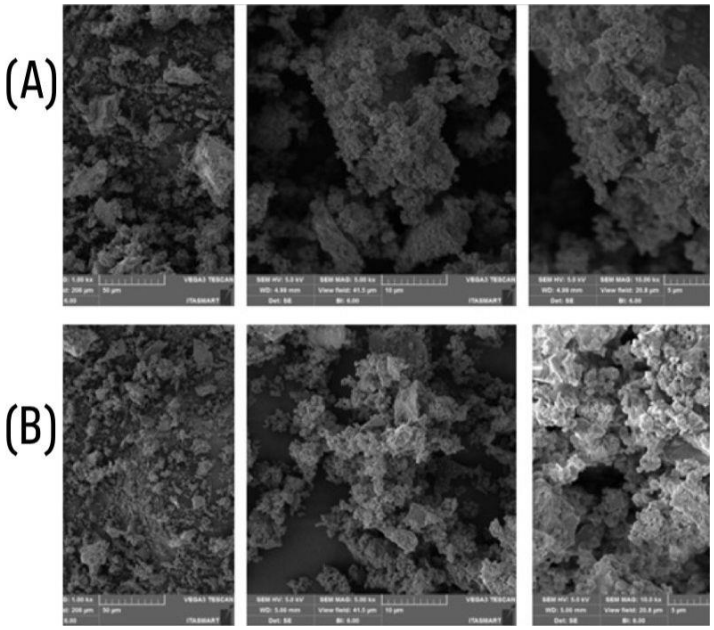
A Figura 7 apresenta os difratogramas de Raios X das 35itrocerâmica (A) e (B). Nos difratogramas, é possível observar que o tratamento térmico levou à cristalização desses materiais, sendo que a vitrocerâmica (A) cristalizou apenas combeíta, enquanto a (B) cristalizou combeíta e prata metálica. Esse resultado é confirmado pelo EDS, que mostra a presença de prata na amostra (B), e pela análise de FTIR, que demonstra que não ocorreu a formação de silicato de prata, uma vez que a prata está na forma metálica e, portanto, não apresenta bandas no infravermelho.

5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Figura 8 apresenta as micrografias das Vitrocerâmica com e sem prata. A análise das imagens revela que a adição de prata não afetou a morfologia

das partículas das vitrocerâmica, uma vez que ambas apresentam uma microestrutura semelhante, composta por partículas irregulares com tamanhos variando de 0,5 a 5 µm.

Figura 8: Microscopia eletrônica de varredura da vitrocerâmica (A) e vitrocerâmica com prata (B).



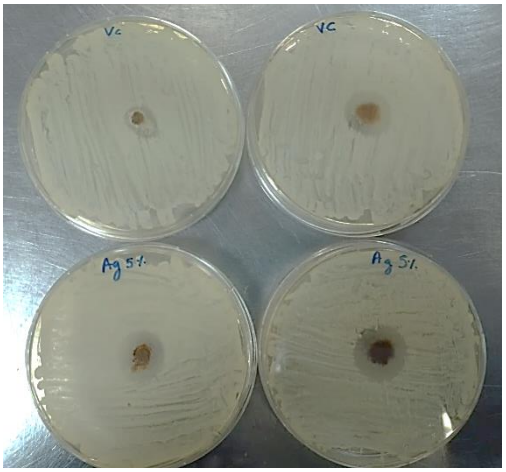
Fonte: Elaborada pela autora.

5.2 Avaliação da atividade antifúngica da vitrocerâmica pelo método de difusão em ágar

Observou-se a formação de halos de inibição tanto para a vitrocerâmica pura (diâmetro de 1,9 cm) quanto para a vitrocerâmica dopada com 5% de nitrato de prata (diâmetro de 1,8 cm), comprovando a inibição do crescimento de *Candida albicans* (Figura 9).

Com relação ao pH, observou-se que a vitrocerâmica dopada com 5% de nitrato de prata apresentou pH de 11,40 e a vitrocerâmica pura de 11,32, sendo ambas alcalinas.

Figura 9: Resultado da avaliação do efeito antifúngico da vitrocerâmica pura e da vitrocerâmica dopada com 5% de nitrato de prata sobre *Candida albicans*.



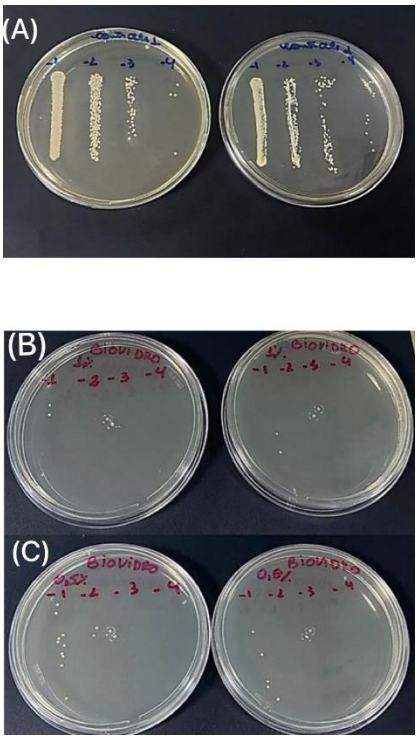
Fonte: Elaborada pela autora.

5.2.1 Avaliação do efeito antifúngico da vitrocerâmica por contato direto

Com base nos resultados obtidos nos ensaios de contato direto, observou-se que ambas as concentrações da vitrocerâmica avaliadas apresentaram atividade inibitória frente a *C. albicans* quando comparadas com o grupo controle.

Na Figura 10, podemos observar que no grupo controle foi observado grande crescimento de unidades formadoras de colônias (A). Em 10 (B) e (C), observa-se que houve redução do número de colônias após contato com 1% e 0,5% de vitrocerâmica, respectivamente. O percentual de redução do número de unidades formadoras de colônias foi de 90% para concentração de 1% e 74,73 % para a concentração de 0,5%.

Figura 10: Imagens representativas das colônias crescidas em ágar após a avaliação do efeito antifúngico sobre *Candida albicans* da vitrocerâmica pura com 0,5% (C)e 1% por contato direto(B).

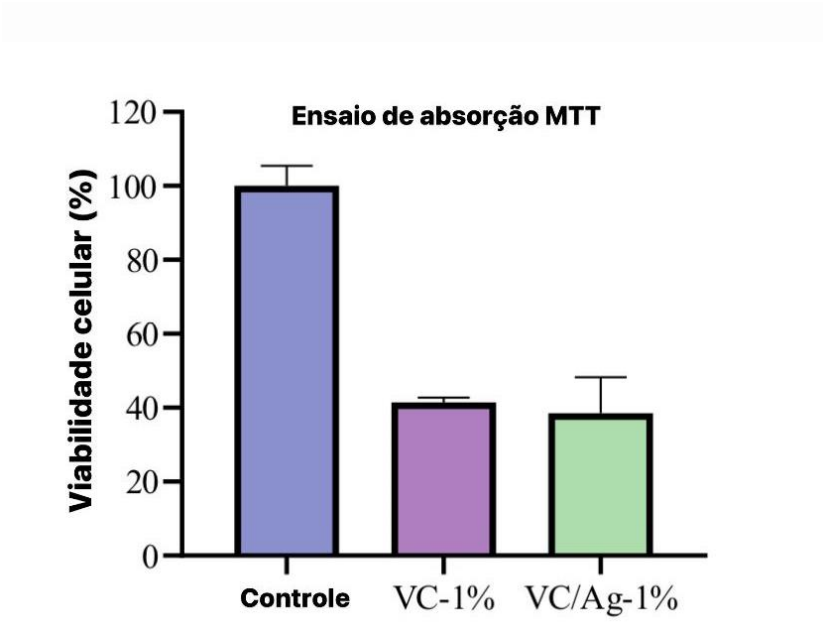


Fonte: Elaborada pela autora.

5.3 Avaliação da citotoxicidade da vitrocerâmica

Observou-se que as amostras de ambas contendo 1% de vitrocerâmica tanto vitrocerâmica pura e dopada com nitrato de prata mostraram-se citotóxicas para células NOK, com base nas viabilidades celulares finais entre 30 e 59 % (41,5 % e 38,5 %, respectivamente).

Figura 11: Resultados obtidos para análise de citotoxicidade de amostras de Vitrocerâmica (VC) e Vitrocerâmica dopada com prata (VC/Ag) frente a queratinócitos orais da linhagem NOK.



Legenda: Resultados obtidos para análise de citotoxicidade de amostras de Vitrocerâmica (VC) e vitrocerâmica dopada com prata (VC/Ag) frente a queratinócitos

Fonte: Elaborada pela autora.

5.3.1 Incorporação da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopada ou não com prata no PMMA

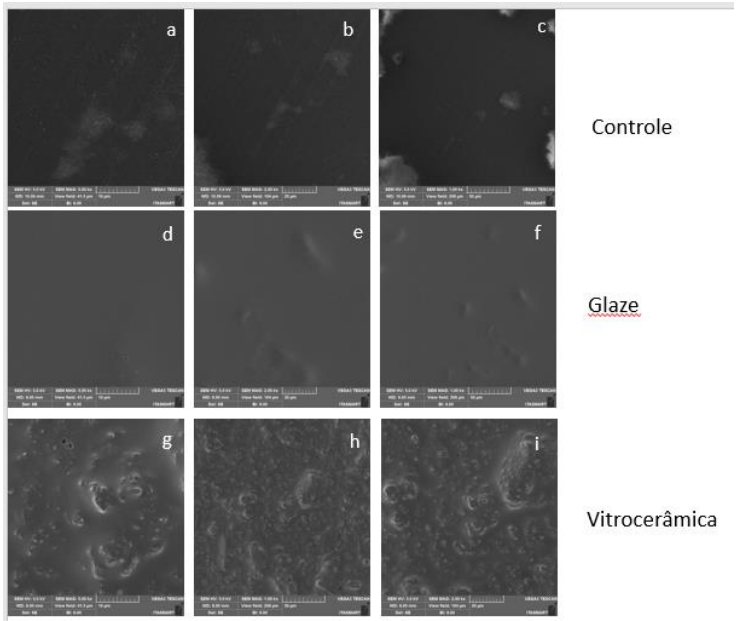
5.3.2 Caracterização da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5

5.3.2.1 Microscopia eletrônica de varredura com *field emission gun*

Para avaliar a superfície dos materiais, foi realizada microscopia eletrônica de varredura, como mostrado na Figura 12, onde são apresentadas as micrografias da resina acrílica polida, com glaze e com a mistura de glaze e vitrocerâmica. Na imagem da amostra polida, é possível observar uma superfície regular, porém com alguns defeitos que foram causados durante o processo de produção das amostras. Já a amostra que recebeu o glaze na superfície apresenta algumas depressões, que podem ter sido causadas pela aplicação do glaze. Por fim, a amostra que recebeu a mistura de glaze com a vitrocerâmica exibe uma superfície irregular, com a presença de estruturas esféricas de diâmetros irregulares variando de 1 a 50 µm.

A comparação dessa superfície com o pó da vitrocerâmica revela que essas estruturas são muito maiores e possuem um perfil arredondado, sugerindo que o glaze interagiu com essas partículas, encapsulando-as. Esse processo resultou em uma superfície mais rugosa do que a do glaze puro e da resina polida.

Figura 12: Microscopia eletrônica de varredura das peças de PMMA polidas (controle negativo), com aplicação de glaze e com glaze incorporado com vitrocerâmica.

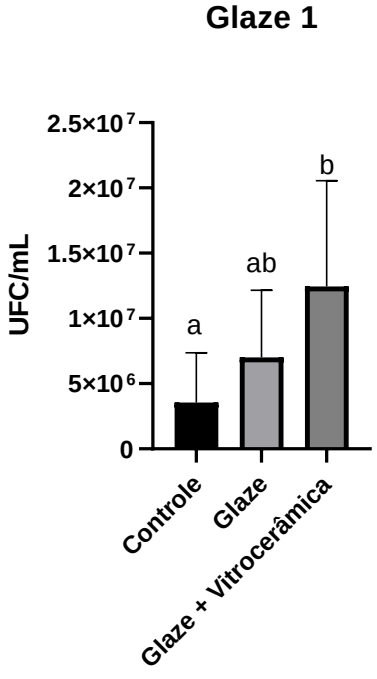


Fonte: Elaborada pela autora.

5.3.3 Caracterização biológica da resina de PMMA com superfície modificada pela vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 dopado ou não com prata

No que se refere aos testes realizados com o glaze 1 Palaseal® (figura 13), não houve diferença significante entre as contagens dos grupos experimentais (glaze puro e glaze com vitrocerâmica) em relação ao grupo controle (PMMA). No entanto, quando os grupos glaze puro e glaze com vitrocerâmica foram comparados entre si, observou-se que a incorporação da vitrocerâmica levou à contagem fúngicas significativamente mais elevadas em relação ao glaze puro (p= 0,0065).

Figura 13: Avaliação da formação de biofilme de *Candida albicans* sobre o glaze 1, com incorporação ou não de vitrocerâmica, sobre corpos de prova de PMMA

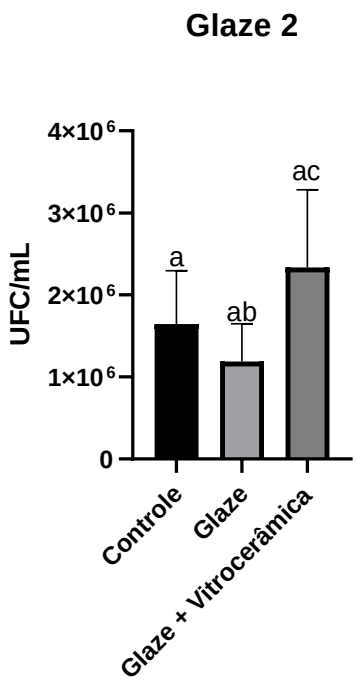


Legenda: UFC/mL – unidades formadoras de colônia por mililitro, controle – sem aplicação de glaze ou vitrocerâmica. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados referentes aos testes realizados com o glaze 2 (Figura 14), mostram que houve aumento significativo de aderência no grupo glaze + vitrocerâmica em relação ao grupo controle (p=0,0114). Não houve diferença significativa entre o grupo glaze puro e o controle (p=0,4506). Quando comparados entre si, os grupos glaze puro e glaze + biovidro não apresentaram diferença estatisticamente significante (p>0,05).

Figura 14: Avaliação da formação de biofilme de *Candida albicans* ao glaze 2, com incorporação ou não de vitrocerâmica, sobre corpos de prova de PMMA.



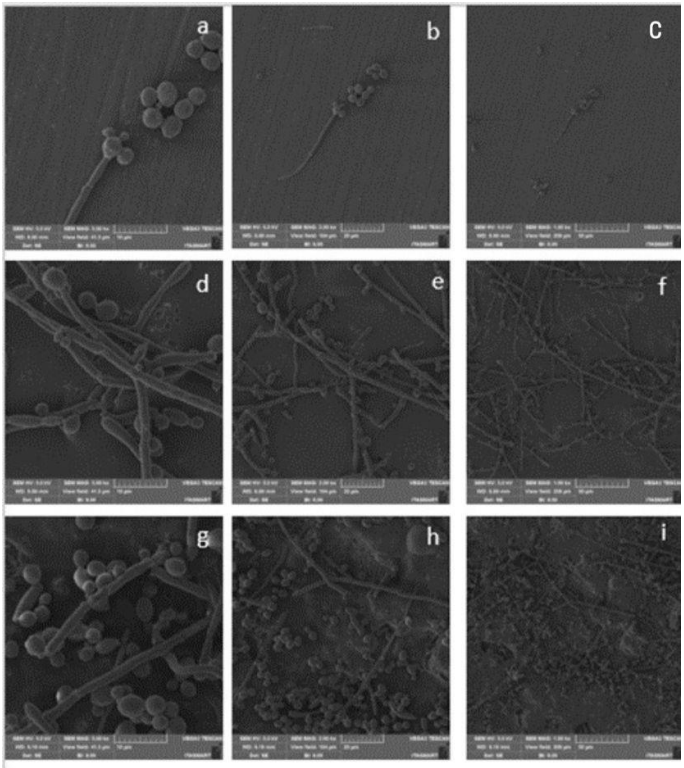
Legenda: UFC/mL – unidades formadoras de colônia por mililitro, controle – sem aplicação de glaze ou vitrocerâmica. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Figura 15, é possível observar que no grupo controle houve menor adesão da *Candida albicans,* apresentando menos filamentação quando comparado aos outros grupos. No grupo glaze houve maior adesão fúngica em relação ao grupo

controle negativo. O grupo glaze + vitrocerâmica apresentou a maior densidade de células fúngicas quando comparado aos demais grupos, corroborando os dados de contagem de células fúngicas.

Figura 15: Microscopia eletrônica de varredura de corpos de prova de PMMA somente polidas, com aplicação de glaze Palaseal Kulzer® e com incorporação de vitrocerâmica ao glaze e submetidas à formação de biofilme por *C. albicans*.



a, b, c – controle negativo; d, e, f – aplicação de glaze; g, h, i – vitrocerâmica incorporada ao glaze.

Fonte: Elaborada pela autora.

6 DISCUSSÃO

A caracterização da vitrocerâmica por espectroscopia de raios X por dispersão de energia mostrou a presença dos elementos oxigênio, cálcio, silício, sódio e prata, com proporções coerentes com o biovidro 45S5. Tais achados são similares a achados de estudos anteriores realizados por (Cañaveral et al., 2019). Além disso, a análise de microscopia eletrônica de varredura demonstrou que a adição de prata não afetou a microestrutura do material, sendo que ambos apresentaram uma microestrutura com partículas irregulares com diâmetros variando de 0,5 a 5 µm.

A análise por FTIR revelou que a vitrocerâmica sintetizada, apresentou bandas características das ligações NO com NBO, de maneira congruente com as observações realizadas por Spirandeli e colaboradores (Spirandeli, 2020). Vale destacar que, mesmo com a adição de prata, as intensidades relativas dessas bandas permaneceram inalteradas em comparação com o material isento de prata, sugerindo que a prata não foi incorporada à estrutura do silicato. Esses resultados indicam que a presença da prata não influenciou significativamente as características vibracionais das ligações químicas presentes na matriz da vitrocerâmica. A manutenção das intensidades relativas sugere que a prata pode estar segregada ou associada de maneira independente na estrutura, sem comprometer a integridade das ligações químicas específicas identificadas pela técnica FTIR. Essa constatação é essencial para compreender o comportamento da vitrocerâmica sintetizada e sua potencial aplicação em diferentes contextos, especialmente considerando as propriedades específicas conferidas pela prata.

Por meio da difratometria de raios X, foi observada a presença de combeíta na vitrocerâmica, resultado que corrobora com os achados de Spirandeli e colaboradores (Spirandeli, 2020). Na amostra que continha prata, além da cristalização da combeíta, também foi observada a cristalização de prata metálica. Esse resultado está de acordo com relatos anteriores de (Kumar., et al, 2018), que sintetizaram biovidros com a adição de prata. No entanto, quando esses materiais foram calcinados em temperaturas superiores a 600 °C, ocorreu a formação de prata

metálica. A formação de combeíta é interessante, uma vez que essa fase apresenta características bioativas, levando à formação de hidroxiapatita, e possui propriedades antimicrobianas, como demonstrado em estudo anterior (Spirandeli, 2021). Spirandeli e colaboradores (Spirandeli, 2021) recobriram arcabouços de fosfato de cálcio com uma vitrocerâmica à base de combeíta, e observaram um efeito antimicrobiano causado por essa fase. Esse efeito antimicrobiano foi atribuído à elevação do pH causada pela hidrólise das ligações NBO presentes na estrutura da combeíta, resultando na inibição do crescimento do biofilme de *Candida albicans*.

No presente estudo, a avaliação da vitrocerâmica dopada com prata foi descartada após os testes piloto, já que além de conferir cor cinza ao pó instantaneamente após sua síntese, observou-se intensificação desta coloração quando foram realizados os testes de difusão em ágar. Desta forma, concluiu-se ser inviável a aplicação da vitrocerâmica dopada com prata, obtida nas condições do presente estudo, em próteses odontológicas. A mudança de coloração afetaria a função das próteses que necessitam reabilitação estética. Além disso, verificou-se que não houve efeito antifúngico adicional com a incorporação da prata quando comparada à vitrocerâmica sem prata.

Este resultado está de acordo com estudos anteriores que também verificaram modificação de cor quando da incorporação de prata. Quando a prata é adicionada a materiais para sua funcionalização, as características óticas podem ser modificadas, conferindo cores acinzentadas. (Sánchez, Tay, 2022) realizou um estudo onde a prata foi adicionada a resinas compostas convencionais com o objetivo de obter efeito antimicrobiano, evitando assim a desmineralização dentária por cárie. No entanto, logo após dopada, houve mudança na cor da resina, de A2 foi para cinza afetando sua estética. Além disso, após 6 meses de estudos, observou-se manchamento do esmalte dentário, similar ao que ocorre com restaurações de amálgama por oxidação. Casos semelhantes foram observados em outros estudos como (Yassaei et al., 2020) onde andaimes (*scaffolds*) de biovidros dopados com prata também mostraram efeitos óticos diferentes do material original. A mudança de cor de branco leitosa para amarelo em andaimes convencionais também foi atribuída à incorporação de prata (Qian G, et al., 2021).

Na análise de pH realizada, observou-se que ambas as vitrocerâmicas avaliadas, independentemente de estarem dopadas com prata ou não, exibiram

natureza alcalina. Esse resultado está em consonância com pesquisas anteriores que associaram a atividade antimicrobiana da vitrocerâmica, semelhante a base do biovidro 45s5 utilizada neste estudo, às variações no pH do microambiente resultantes da solubilização parcial do material (Siqueira, 2023; Spirandeli et al., 2020). O pH mantido em níveis neutros a alcalinos pode induzir um estresse significativo em *Candida albicans* podendo afetar a sua viabilidade, conforme apontado por Reginnato e colaboradores (Reginnato, Mello, 2015).

Essas descobertas realçam a possível contribuição do efeito antimicrobiano das vitrocerâmicas não apenas à presença de prata, mas também às mudanças no ambiente ácido alcalino induzidas pela própria matriz do material. Tal fenômeno pode ter implicações importantes para a inibição do crescimento microbiano. Essa observação ressalta a complexidade dos mecanismos envolvidos na atividade antimicrobiana desses materiais e reforça a relevância de considerar não apenas os componentes adicionados, como a prata, mas também as propriedades intrínsecas da matriz para compreender totalmente seu potencial terapêutico. Mais estudos podem ser direcionados para elucidar a interação entre o pH, a composição e a atividade antimicrobiana das vitrocerâmicas, aprimorando assim a compreensão das características do material e otimizando sua aplicação clínica.

Por outro lado, diversos estudos estabelecem uma relação entre a alcalinidade dos biovidros e sua citotoxicidade. A vitrocerâmica avaliada neste estudo mostrou-se citotóxica para queratinócitos orais. No entanto, é importante salientar que a avaliação de toxicidade neste estudo foi realizada por contato direto entre o material e as células. Estudos anteriores que avaliaram vitrocerâmicas e que observaram baixa toxicidade, avaliaram a vitrocerâmica incorporada ao material (Kukulka., 2021). Assim, estudos futuros utilizando o material incorporado serão importantes.

Biovidros com elevados teores alcalinos têm sido associados à citotoxicidade aos tecidos circundantes. Em uma pesquisa conduzida por Brito e colaboradores (Brito, et al., 2017), a alcalinidade de biovidros foi investigada, destacando-se a comparação entre o Biovidro 45S5, conhecido por sua alta alcalinidade, e outros biovidros menos alcalinos. Os resultados revelaram que, tanto em meios de cultura celular, como o DMEM, quanto em meios de diferenciação de osteogênese, os biovidros isentos de álcalis claramente estimularam a formação de

mais depósitos de cálcio em comparação com o 45S5 Bioglass®. Esse fenômeno indicou uma maior capacidade dos biovidros menos alcalinos em induzir a diferenciação celular. A maior formação de depósitos de cálcio sugere que os biovidros menos alcalinos podem promover um ambiente propício para a diferenciação celular, sem os potenciais efeitos citotóxicos associados aos biovidros mais alcalinos. Essas observações ressaltam a importância de considerar a composição específica dos biovidros ao explorar suas aplicações, indicando que opções alternativas podem oferecer benefícios semelhantes ou até superiores para aplicações clínicas específicas (Brito, et al., 2017).

A síntese da vitrocerâmica, conforme delineado no protocolo apresentado neste estudo, constitui um processo intricado, composto por múltiplas etapas, suscetível a diversas intercorrências. Uma série de experimentos foi conduzida para a síntese, revelando que a ocorrência de contaminações é uma possibilidade que demanda atenção especial. A caracterização minuciosa do material revelou um incidente de contaminação, resultando numa notável alteração de sua cor, transitando de branca para uma tonalidade rosada. Conforme respaldado por estudos prévios sobre biovidros (Hench, 1988; Kokubo et al., 1992), a mudança de cor observada pode estar intrinsecamente associada à presença de alumínio. Tal alteração é indesejável, pois interfere nos mecanismos de bioatividade do material, desempenhando o papel de um modificador da rede. A presença de alumínio na superfície do vidro pode facilitar a precipitação de fases que contêm esse elemento, comprometendo as propriedades desejadas da vitrocerâmica. Uma hipótese plausível é que algum material do forno, contendo alumina, inadvertidamente contaminou a amostra durante o processo de síntese. Essa situação assemelha-se a observações anteriores em estudos conduzidos por Matos (Matos., 2023). Diante desse cenário, a importância de procedimentos rigorosos de controle de qualidade e a necessidade de explorar medidas preventivas durante o processo de síntese da vitrocerâmica são evidenciadas e foram padronizadas no presente estudo. Estas considerações ressaltam a complexidade e a sensibilidade desse processo, enfatizando a importância de aprimorar as técnicas para garantir a pureza e integridade do material produzido.

No presente estudo, quando a vitrocerâmica foi incorporada ao verniz selante de superfície (glaze) fotopolimerizável Palaseal Kulzer®, houve um aumento

na aderência de células fúngicas com relação à presença de apenas glaze e ao controle negativo (PMMA). Estudos anteriores também apontaram para o aumento da aderência microbiana após aplicação do glaze Palaseal Kulzer®. Sesma et al. (2005) em um estudo *in vivo* empregando o glaze Palaseal Kulzer® revelou que as bases de próteses tratadas com o produto apresentaram fissuras ao serem analisadas por microscopia eletrônica de varredura após 3 meses de uso. Essas fissuras propiciaram a formação de áreas de microretenção que resultaram em um aumento no acúmulo de biofilme.

Consequentemente, após a conclusão das avaliações realizadas com o Palaseal Kulzer®, determinou-se a necessidade de sua substituição por outro selante. Nesse contexto, optou-se pelo selante autopolimerizável TDV® como medida para mitigar possíveis intercorrências externas. Após a implementação dessa substituição, os testes foram reiterados e constatou-se uma redução na adesão de células fúngicas após a aplicação do novo selante, em comparação com o controle negativo. Tal resultado proporcionou a oportunidade de avaliar a incorporação da vitrocerâmica de forma mais precisa.

As partículas de sílica revestidas por prata foram submetidas à análise de suas propriedades ao serem incorporadas em reembasadores de próteses e resinas acrílicas. Não apresentaram eficácia contra a formação de biofilme de *C. albicans*, (Sacoragueet al. 2015). Resultado semelhante foi observado no presente estudo onde a vitrocerâmica apresentou efeito antifúngico, mas esse efeito foi reduzido ao ser incorporado ao glaze na superfície do PMMA de próteses acrílicas. Esses resultados apontam para a complexidade das interações entre as partículas do material e os componentes da resina acrílica, evidenciando a necessidade de uma abordagem cautelosa ao considerar as concentrações específicas e as aplicações destas partículas em contextos odontológicos.

Diante dessas descobertas, como o encapsulamento da vitrocerâmica ao ser adicionada ao glaze odontológico reduzindo seus efeitos antifúngicos, fica claro que a otimização dos benefícios desejados dessas partículas requer uma compreensão mais aprofundada de sua interação com os materiais circundantes. Considerações meticulosas quanto à concentração, formulação e características específicas do ambiente bucal são essenciais para a eficácia e aplicabilidade clínica dessas partículas em próteses dentárias, reembasadores e glaze.

A liberação de íons de prata neste contexto é mediada pela difusão de moléculas de água para o interior do material e pela migração dos íons de prata através do polímero para o meio aquoso, conforme destacado por Kong e colaboradores (Kong et al. 2008). Devido à natureza hidrofóbica do PMMA (polimetilmetacrilato), a absorção de água pelo sistema pode ter sido limitada, comprometendo a eficácia da liberação de íons. Essa observação destaca a importância de considerar o impacto das interações entre a vitrocerâmica e o glaze na manutenção das propriedades antifúngicas. A incorporação da vitrocerâmica ao glaze pode modificar a disponibilidade ou a eficácia dos componentes responsáveis pelo efeito antifúngico. Assim, embora a vitrocerâmica em si revele essa capacidade desejada, é necessário otimizar as condições de incorporação para preservar suas propriedades antifúngicas quando combinadas com vernizes selantes. A compreensão dessas condições é essencial para o desenvolvimento e aprimoramento de produtos odontológicos que buscam aproveitar as propriedades benéficas da vitrocerâmica no controle de patógenos, como *Candida albicans.*

Spirandelli e sua equipe (Spirandelli., 2021) conduziram um estudo de teste de halo de inibição utilizando vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 incorporada em andaimes (scaffolds) contra *C. albicans*. Seus resultados indicaram que a adição da vitrocerâmica derivada do biovidro 45S5 nos andaimes desencadeou um efeito antimicrobiano que não está presente no material em sua forma pura, efetivamente inibindo a fixação e a proliferação dos microrganismos testados. A inibição observada tanto para *S. aureus* quanto para *C. albicans* foi estatisticamente superior à do controle positivo), indicando a eficácia do andaime/45S5 como uma barreira antimicrobiana efetiva. No presente estudo, a vitrocerâmica pura e a vitrocerâmica dopada com nitrato de prata quando testada por halo de inibição também apresentou efeito antimicrobiano sendo ambos similares. A hipótese sugerida inicialmente foi que quando essa vitrocerâmica fosse adicionada ao glaze, desencadearia um efeito antifúngico que não está presente no glaze em sua forma pura. A atividade antimicrobiana observada no presente estudo pode ser atribuída à liberação de íons do biovidro no meio de teste, resultando em um aumento local do pH. A mudança no pH pode desencadear alterações na pressão osmótica, comprometer a integridade da membrana citoplasmática e induzir desnaturação de proteínas, interferindo em funções intracelulares cruciais, como a atividade

enzimática, essenciais para o metabolismo microbiano. Esses efeitos podem ter sido inibidos quando o glaze encapsulou a vitrocerâmica. Ao analisar o MEV das partículas de vitrocerâmica, é possível observar que elas possuem dimensões variando entre 5 e 50 micrômetros, apresentando contornos agudos. Por outro lado, ao examinar o MEV da vitrocerâmica incorporada ao glaze, verifica-se a presença de partículas de maiores dimensões, em torno de 100 micrômetros, com contornos arredondados, sugerindo a formação de aglomerados de partículas. Este efeito arredondado é atribuído à cobertura pelo glaze, o que constitui um forte indício de encapsulamento pelo glaze, em consonância com os resultados microbiológicos obtidos.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados alcançados, conclui-se que a vitrocerâmica originada do biovidro 45S5 demonstrou propriedades inibitórias frente a células planctônicas de *Candida albicans*. No entanto, observou-se que essa propriedade não se mantém quando a vitrocerâmica é incorporada ao verniz selante de superfície, não sendo evidenciado efeito antibiofilme. A vitrocerâmica mostrou-se citotóxica para queratinócitos orais em contato direto.

REFERÊNCIAS

Abdulsahib SS. Synthesis, characterization and biomedical applications of silver nanoparticles. Biomed. 2021.41:458–64. doi: 10.51248/.v41i2.1058.

Alfouzan A, Alnouwaisar A, Alazzam N, Al-Otaibi H, Labban N, Alswaidan M, et al. Surface roughness analysis of prepolymerized CAD/CAM dental acrylic resins following combined surface treatments. Mater Sci Pol. 2021.39(2):209–18. doi: 10.2478/msp-2021-0018.

Araujo LKO, Mota AB da SS, Silva S de J, Sarmento V de PC, Lucena MR, Pereira DMS, et al. O uso de biomateriais em odontologia: novas perspectivas e atualizações. Res Soc Dev. 2022.11(12):e343111234480. doi: 10.33448/rsd-v11i12.34480.

Bajunaid SO, Baras BH, Balhaddad AA, Weir MD, Xu HHK. Antibiofilm and protein-repellent polymethylmethacrylate denture base acrylic resin for treatment of denture stomatitis. Materials (Basel). 2021.14(5):1–8. doi: 10.3390/ma14051067.

Bajunaid SO, Baras BH, Weir MD, Xu HHK. Denture Acrylic Resin Material with Antibacterial and Protein-Repelling Properties for the Prevention of Denture Stomatitis. Polymers (Basel). 2022.14(2). doi: 10.3390/polym14020230.

Bakhshi M, Taheri JB, Shabestari SB, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. Gerodontology. 2012;29(2): e680–e684

BAMBARA, G. E. Attachment dentistry a rationale for reflection and treatment planning. N Y State Dent J Albany 2003; 69(1):28-30.

Batista MJ, Lawrence HP, de Sousa M da LR. Tooth loss classification: Factors associated with a new classification in an adult population group. Cienc e Saude Coletiva. 2015.20(9):2825–35. doi: 10.1590/1413-81232015209.17322014.

Borg-Bartolo R, Roccuzzo A, Molinero-Mourelle P, Schimmel M, Gambetta-Tessini K, Chaurasia A, et al. Global prevalence of edentulism and dental caries in middle-aged and elderly persons: A systematic review and meta-analysis. J Dent. 2022.127(August):104335. doi: 10.1016/j.jdent.2022.104335.

Brito AF, Antunes B, dos Santos F, Fernandes HR, Ferreira JMF. Osteogenic capacity of alkali-free bioactive glasses. In vitro studies. J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater. 2017.105(8):2360–5. doi: 10.1002/jbm.b.33771.

Campanini LA, http://lattes.cnpq.br/4808614025312240. Avaliação da atividade

bactericida do biovidro F18 e F18 com prata para aplicações médicas. 2015.

Canaveral S, Morales D, Vargas AF. Synthesis and characterization of a 58S bioglass modified with manganese by a sol-gel route. Mater Lett. 2019; 255:126575. doi: 10.1016/j.matlet.2019.126575.

Cannio M, Bellucci D, Roether JA, Boccaccini DN, Cannillo V. Bioactive glass applications: A literature review of human clinical trials. Materials (Basel). 2021.14(18):1–25. doi: 10.3390/ma14185440.

Chales, G. G. *et al.* Impact of *Moringa oleifera* Seed-Derived Coagulants Processing Steps on Physicochemical, Residual Organic, and Cytotoxicity Properties of Treated Water. *Water (Basel)* **14**, 2058 (2022).

Cortez PP, Brito AF, Kapoor S, Correia AF, Atayde LM, Dias-Pereira P, et al. The in vivo performance of an alkali-free bioactive glass for bone grafting, FastOs®BG, assessed with an ovine model. J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater. 2017.105(1):30–8. doi: 10.1002/jbm.b.33529.

De Matteis V, Cascione M, Toma CC, Albanese G, De Giorgi ML, Corsalini M, et al. Silver nanoparticles addition in poly (methyl methacrylate) dental matrix: Topographic and antimycotic studies. Int J Mol Sci. 2019.20(19). doi: 10.3390/ijms20194691.

Falsetta ML, Klein MI, Colonne PM, Scott-Anne K, Gregoire S, Pai CH, et al. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. Infect Immun. 2014;82(5):1968–81. doi: 10.1128/IAI.00087-14/SUPPL_FILE/ZII999090642SO1.PDF. PMID: 24566629.

Feng, Q.L.; Wu, J.; Chen, G.Q.; Cui, F.Z.; Kim, T.N.; Kim, J.O. A mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver Íons on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Journal of Biomedical Materials Research, v. 52, n. 04, p. 662-668, dez. 2000

Ferreira Júnior C, Doutora Maria Helena Guimarães Figueiral da Silva P, Doutora Maria Margarida Ferreira Sampaio Fernandes P. Mestrado em Reabilitação Oral Avaliação da superfície de materiais de base de prótese dentária-estudo in vitro. 2021.

Filho MJSF, Alves DP, Câmara IFR da, Souza Q-H da S, Brasil SPA, Aguiar JL et al. Reabilitação Oral Com Prótese Parcial Removível Dupla: Revisão De Literatura / Oral Rehabilitation With Double Removable Partial Prosthesis: Literature Review. Brazilian J Dev. 2021.7(2):16934–47. doi: 10.34117/bjdv7n2-359.

Filoche SK, Soma KJ, Sissons CH. Caries-related plaque microcosm biofilms developed in microplates. Oral Microbiol Immunol. 2007, 22(2):73-9. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00323. x.

Flemming Colussi C, Scharf Patel F. Artigos originais Uso e Necessidade de Prótese Dentária no Brasil: avanços, perspectivas e desafios Use and Need for Dental Prosthesis in Brazil: Progress, Prospects and Challenges. 2016.(1):41–8.

Gad MM, Fouda SM. Current perspectives, and the future of *candida albicans*-associated denture stomatitis treatment. Dent Med Probl. 2020.57(1):95–102. doi: 10.17219/dmp/112861.

Gheorghe DC, Niculescu AG, Bîrcă AC, Grumezescu AM. Biomaterials for the prevention of oral candidiasis development. Pharmaceutics. 2021.13(6):1–18. doi: 10.3390/pharmaceutics13060803.

Gomes LC, Mergulhão FJ. SEM analysis of surface impact on biofilm antibiotic treatment. Scanning. 2017;2017(c). doi: 10.1155/2017/2960194. PMID: 29109808.

Hench LL, Jones JR. Bioactive glasses: Frontiers and Challenges. Front Bioeng Biotechnol. 2015.3(NOV):1–12. doi: 10.3389/fbioe.2015.00194.

HENCH, L. L. Bioactive Ceramics. Annals of the New York Academy of Science, v. 523, n. 1, p. 5471, 1988.

Iso, I. 10993–5: 2009 Biological evaluation of medical devices—part 5: tests for in vitro cytotoxicity. *International Organization for Standardization, Geneva* (2009).

K Shigli, M Hebbal, S Sajjan NA. The knowledge, attitude and practice of edentulous patients attending a dental institute in India regarding care of their dental prostheses. South African Dent J. 2015.70(7):294–9.

KIDO HW. Biocompatibilidade da vitrocerâmica bioativa (Biosilicato®): análises in vitro e in vivo 2011:73.

Kim HE, Liu Y, Dhall A, Bawazir M, Koo H, Hwang G. Synergism of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* Reinforces Biofilm Maturation and Acidogenicity in Saliva: An In Vitro Study. Front Cell Infect Microbiol. 2021; 10:623980. doi: 10.3389/fcimb.2020.623980. PMID: 33680985.

Kim KJ, Sung WS, Suh BK, Moon SK, Choi JS, Kim JG, et al. Antifungal activity and mode of action of silver nanoparticles on Candida albicans. BioMetals. 2009.22(2):235–42. doi: 10.1007/s10534-008-9159-2.

KIM, D. et al. *Candida albicans* stimulates *Streptococcus mutans* microcolony development via cross-kingdom biofilm-derived metabolites. Sci Rep. 2017; 7:41332.

KOKUBO, T. et al. Chemical reaction of bioactive glass and glassceramic with a simulated body fluid. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v. 3, p. 79 83, 1992.

Kukulka EC. Nanofibras de PCL associadas ao biovidro dopado: um novo biomaterial para engenharia tecidual. 2021.

Kumar A, Mariappan CR, Sarahan BS. Antibacterial and structural properties of mesoporous Ag doped calcium borosilicate glass-ceramics synthesized via a sol-gel route. J Non Cryst Solids. 2019.505(September 2018):431–7. doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2018.11.024.

Martins KV, Lacerda Gontijo SL. Treatment of denture stomatitis: Literature review. Rev Bras Odontol. 2017;74(3):215–220.

Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, Ruvollo-Filho AC, Camargo ER de, Barbosa DB. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. Int J Antimicrob Agents. 2009.34(2):103–10. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.01.017.

Moraes GS, Cachoeira VS, Alves FMC, Kiratcz F, Albach T, Bueno MG, et al. Is there an optimal method to detach *Candida albicans* biofilm from dental materials? J Med Microbiol. 2021.70(10):001436. doi: 10.1099/JMM.0.001436/CITE/REFWORKS.

Nóbrega DR de M, Lucena AG, Medeiros LADM de, Farias TSS de, Meira KRS, Mahon SMOD. Avaliação da utilização e hábitos de higiene em usuários de prótese dentária removível. Rev Bras Odontol. 2016.73(3):193. doi: 10.18363/rbo. v73n3.p.193.

Paradella R. Número de idosos cresce 18% em 5 anos e ultrapassa 30 milhõe sem 2017. Agência de notícias, 2018. Disponível em: https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/20980-numero-de-idosos-cresce-18-em-5-anos-e-ultrapassa-30-milhoes-em-2017. Acesso em: 20 de junho de 2022

Patel IB, Madan G, Patel B, Solanki K, Chavda R. Behaviours and Hygiene Habits of a sample population of complete denture wearers in Ahmedabad. J Int Oral Heal. 2012.4(2):38.

Qian G, Zhang L, Liu X, Wu S, Peng S, Shuai C. Silver-doped bioglass modified scaffolds: A sustained antibacterial efficacy. Mater Sci Eng C. 2021.129(July):112425. doi: 10.1016/j.msec.2021.112425.

Reginattt MM, Melos MG DE. Relação entre a Bifidobacterium breve e a presença de *Candida albicans*. 2015.43:56–65.

Rodrigues, Beatriz Rossi Canuto de Menezes. Nanocompósito $AgVO_3$/PMMA: Efeito da funcionalização com MPS nas propriedades mecânicas e antimicrobianas**.** 2021. 139 f. Tese de doutorado em Ciências – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos, 2021.

Salviano AS, Pinto MA, Castro ML, Milhomem CNR. Aplicação clínica da hidroxiapatita em capeamento pulpar: revisão de Literatura. JNT- Facit Business and Technology Journal. QUALIS B1. 2021. Ed. 26. V. 1. Págs. 3-14.

Sánchez-Tito M, Tay LY. Effect of an orthodontic resin modified with silver-nanoparticles on enamel color change. J Clin Exp Dent. 2022.14(3):241–6. doi: 10.4317/jced.59224.

Seneviratne CJ, Rajan S, Wong SSW, Tsang DNC, Lai CKC, Samaranayake LP, et al. Antifungal Susceptibility in Serum and Virulence Determinants of *Candida* Bloodstream Isolates from Hong Kong. Front Microbiol. 2016 Feb; 7:216. doi: 10.3389/fmicb.2016.00216. PubMed PMCID: 22149075.

Senna AM, Vieira MMF, Machado-de-Sena RM, Bertolin AO Núñez SC, Ribeiro MS. Photodynamic inactivation of *Candida* ssp. on denture stomatitis. A clinical trial involving palatal mucosa and prosthesis disinfection. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2018; 22:212–6. doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.04.008. PMID: 29678677.

Sesma N, Laganá DC, Morimoto S, Gil C. Effect of denture surface glazing on denture plaque formation. Braz Dent J. 2005.16(2):129–34. doi: 10.1590/s0103-64402005000200008.

Sesma N, Morimoto S. Estomatite protética: etiologia, tratamento e aspectos clínicos. J Biodentistry Biomater. 2011.2:24–9.

Shiradhone AB, Ingle SS, Zore AGB. Microenvironment Responsive Modulations in the Fatty Acid Content, Cell Surface Hydrophobicity, and Adhesion of Candida albicans Cells. J Fungi (Basel). 2018 Apr 6;4(2):47. doi: 10.3390/jof4020047. PMID: 29642416; PMCID: PMC6024300.

Silva ILI, Inácio FJD, Morais RF de, Nascimento PLA do, Mota CCB de O. Estratégias de desinfecção de *Candida albicans* e os seus efeitos em resinas acrílicas: Uma revisão integrativa. Res Soc Dev. 2021.10(7):e17210716381. doi: 10.33448/rsd-v10i7.16381.

Silva Junior PE, Oréfice RL. Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli (Metacrilato de Metila). Polímeros. 2001.11(3):109–15. doi: 10.1590/s0104-14282001000300009.

Simões RJ, Fonseca P, Figueiral MH. Infecções por *Candida* spp. na Cavidade Oral Oral infections by *Candida* spp Classificação da Candidose Oral. Odontol Clín-Cient,

Recife. 2013.12(1):19–22.

Siqueira RL, Maurmann N, Gaio PKP, Pereira DP, Pranke P, Cintra LTA, et al. Antibacterial effect and cell metabolic activity of Na2CaSi2O6, β-NaCaPO4, and β-NaCaPO4-SiO2 versus hydroxyapatite. Ceram Int. 2023.49(June):29991–30000. doi: 10.1016/j.ceramint.2023.06.256.

Sletten, G. B. G. & Dahl, J. E. Cytotoxic effects of extracts of compomers. *Acta Odontol Scand* **57**, 316–322 (1999).

Souza JGS, Souza SE, Sampaio AA, Silveira Marise Fagundes MF, e Ferreira EF, Martins AME de BL. Autopercepção da necessidade de prótese dentária total entre idosos brasileiros desdentados. Cienc e Saude Coletiva. 2016.21(11):3407–15. doi: 10.1590/1413-812320152111.14912015.

Spirandeli BR, Campos TMB, Ribas RG, Thim GP, Trichês E de S. Evaluation of colloidal and polymeric routes in sol-gel synthesis of a bioactive glass-ceramic derived from 45S5 bioglass. Ceram Int. 2020.46(12):20264–71. doi: 10.1016/j.ceramint.2020.05.108.

Suchodolski J, Muraszko J, Korba A, Bernat P, Krasowska A. Lipid composition and cell surface hydrophobicity of Candida albicans influence the efficacy of fluconazole-gentamicin treatment. Yeast. 2020 Jan;37(1):117-129. doi: 10.1002/yea.3455. Epub 2020 Jan 10. PMID: 31826306; PMCID: PMC7004182.

Suga SS, Guedes-Pinto AC, Simionato MRL. Avaliação in vitro da influência do polimento superficial de resina acrílica para aparelhos ortodônticos na adesão e remoção de Streptococcus mutans. Rev Dent Press Ortod e Ortop Facial. 2005.10(1):94–107. doi: 10.1590/s1415-54192005000100011.

Takamiya AS, Monteiro DR, Gorup LF, Silva EA, de Camargo ER, Gomes-Filho JE, et al. Biocompatible silver nanoparticles incorporated in acrylic resin for dental application inhibit Candida albicans biofilm. Mater Sci Eng C. 2021.118(July 2020):111341. doi: 10.1016/j.msec.2020.111341.

Tsutsumi C, Takakuda K, Wakabayashi N. Reduction of *Candida* biofilm adhesion by incorporation of prereacted glass ionomer filler in denture base resin. J Dent. 2016; 44:37-43

Victor M, Lemos S. Atividade antimicrobiana da nanopartícula de prata incorporada a resinas compostas na Odontologia Restauradora: revisão integrativa Um sorriso estético se tornou algo almejado, sendo importante para a satisfação e bem-estar, desempenhando papel importa. 2021.10:1444–9.

Vieira AJH, Santos JI. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifungicos anfotericina B, fluconazole e caspofungina. RBAC.2016.

doi:10.21877/2448-3877.201600407

Villar CC, A L Lin, Z Cao, X-R Zhao, L-A Wu, S Chen, Y Sun, C-K Yeh. Anticandidal activity and biocompatibility of a rechargeable antifungal denture material. Oral Dis. 2013;19: 287–295. doi: 10.1111/odi.12000.

World Population Prospects, 2022. Population.un.org, 2022. Disponível em: https://population.un.org/wpp/Download/Probabilistic/Population/. Acesso em: 02 de julho de 2022

Yassaei S, Nasr A, Zandi H, Motallaei MN. Comparison of antibacterial effects of orthodontic composites containing different nanoparticles on streptococcus mutans at different times. Dental Press J Orthod. 2020.25(2):52–60. doi: 10.1590/2177-6709.25.2.052-060.oar.

Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. Int J Nanomedicine. 2020.15:2555–62. doi: 10.2147/IJN.S246764.