



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

**BRUNA CORRÊA LUCATTO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E EFEITO MICROBIOLÓGICO  
DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA REVESTIDAS POR PRATA  
QUANDO ASSOCIADAS A RESINA ACRÍLICA QUIMICAMENTE  
ATIVADA, REEMBASADOR MACIO E AO GLAZE**

2017

**BRUNA CORRÊA LUCATTO**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E EFEITO MICROBIOLÓGICO DE  
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA REVESTIDAS POR PRATA QUANDO  
ASSOCIADAS A RESINA ACRÍLICA QUIMICAMENTE ATIVADA,  
REEMBASADOR MACIO E AO GLAZE**

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 ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de PRÓTESE DENTÁRIA.

Orientador: Prof. Adj. Tarcisio José de Arruda Paes Junior

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Cristovan

São José dos Campos

2017

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2018]. 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).

Lucatto, Bruna Corrêa

Síntese, caracterização e efeito microbiológico de nanopartículas de sílica revestidas por prata quando associadas a resina acrílica quimicamente ativada, reembasador macio e ao glaze / Bruna Corrêa Lucatto. - São José dos Campos : [s.n.], 2017.  
69 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2017.

Orientador: Tarcisio José de Arruda Paes-junior

Coorientador: Fernando Cristovan

1. Nanopartículas de prata. 2. Resinas acrílicas. 3. Antifúngico. 4. Antimicrobiano. I. Paes-junior, Tarcisio José de Arruda, orient. II. Cristovan, Fernando, 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.

## **BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Adj. Tarcisio José de Arruda Paes Junior** (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Lafayette Nogueira Júnior**

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**João Paulo Barros Machado**

Instituto Nacional de Pesquisas (Inpe)

São José dos Campos

São José dos Campos, 06 de dezembro de 2017.

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.*

*A minha família, por tudo que representam em minha vida, por todo apoio e amor que me deram e pelos valores passados. Vocês são meu porto seguro.*

*Aos meus pais Hamilton Fernando Lucatto e Rita de Cássia Corrêa Lucatto que com muito amor, sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado, sendo sempre exemplos de honestidade e caráter a serem seguidos.*

*Ao meu irmão Lucas Corrêa Lucatto pelo carinho e amor sempre oferecidos.*

*Aos meus avós, que mesmo ausentes fisicamente iluminaram o meu pensamento, e me deram forças para que meus sonhos fossem realizados.*

*Agradeço ao meu namorado, Igor Siqueira de La Paz, por todos os momentos que estamos juntos, pelo companheirismo e amor, se cheguei até aqui foi porque você estava ao meu lado, te amo muito!*

*A minha família em São José dos Campos, Jéssica Dias e Camila Girondi, minhas amigas que sempre estão presentes e tornaram esta jornada muito mais leve. Obrigada por todo apoio!*

*A professora Sâmia Sacorague, por todo conhecimento compartilhado e paciência. Obrigada por toda ajuda sempre!*

*Ao meu querido orientador Tarcísio José de Arruda Paes Junior, por todo conhecimento adquirido e toda paciência no decorrer do curso. Obrigada por acreditar em mim!*

*Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.*

*Ao Departamento de Materiais Dentários e Prótese do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – UNESP.*

*A todos amigos do curso de pós-graduação, pelos momentos de descontração e pelo constante apoio e incentivo.*

*Aos funcionários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese pela ajuda na execução das tarefas.*

***MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS!***

“Por isso, a tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que  
ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”

*Arthur Schopenhauer*

## SUMÁRIO

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| LISTA DE FIGURAS .....                                            | 6  |
| RESUMO .....                                                      | 9  |
| ABSTRACT .....                                                    | 10 |
| 1 INTRODUÇÃO .....                                                | 11 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA.....                                      | 14 |
| 2.1 Resina acrílica- polimetilmetacrilato.....                    | 14 |
| 2.2 Materiais reembasadores.....                                  | 18 |
| 2.3 <i>Candida albicans</i> e <i>Streptococcus mutans</i> .....   | 20 |
| 2.4 Nanopartículas antimicrobianas.....                           | 23 |
| 3 PROPOSIÇÃO .....                                                | 27 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS .....                                        | 28 |
| 4.1 Síntese das nanopartículas de sílica .....                    | 29 |
| 4.2 Adição de nanopartículas de prata .....                       | 32 |
| 4.3 Caracterização das nanopartículas .....                       | 34 |
| 4.4 Concentração inibitória mínima .....                          | 35 |
| 4.5 Concentração inibitória mínima com amostras cilíndricas ..... | 36 |
| 4.6 Confeção das amostras para ensaio de flexão .....             | 40 |
| 5 RESULTADO .....                                                 | 43 |
| 5.1 Caracterização.....                                           | 43 |
| 5.2 Energia dispersiva de raios-X integrado (EDS) .....           | 47 |
| 5.3 Concentração inibitoria mínima.....                           | 50 |
| 5.4 Concentração inibitória mínima com amostras cilíndricas ..... | 54 |
| 5.5 Resistência a flexão de 3 pontos.....                         | 56 |
| 6 DISCUSSÃO .....                                                 | 57 |
| 7 CONCLUSÃO .....                                                 | 60 |
| REFERÊNCIAS.....                                                  | 62 |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 01- Sílica silanizada em formato de pó com coloração branca.....                                                                                   | 30 |
| Figura 02- Frascos das soluções de Álcool Etílico Absoluto 99,5% à esquerda, e à direita Hidróxido de Amônia.....                                         | 31 |
| Figura 03- Solução de sílica em agitação.....                                                                                                             | 31 |
| Figura 04- Frascos de Nitrato de Prata P.A e Dextrose Anidra USP.....                                                                                     | 32 |
| Figura 05- Solução de Carbonato de sódio sendo adicionada gota a gota com o auxílio de um conta-gotas sobre a solução de sílica com nitrato de prata..... | 33 |
| Figura 06- Almofariz de Ágata.....                                                                                                                        | 34 |
| Figura 07- Confeção das amostras em resina acrílica para ensaios microbiológicos.....                                                                     | 37 |
| Figura 08- Confeção das amostras em reembasador macio para ensaios biológicos.....                                                                        | 38 |
| Figura 09- Frascos com as diferentes porcentagens e molaridades do glaze, com agitador magnético.....                                                     | 39 |
| Figura 10- Glaze incorporando as nanopartículas de sílica revestidas por prata no agitador magnético.....                                                 | 39 |
| Figura 11- Confeção das amostras para o teste de flexão.....                                                                                              | 41 |
| Figura 12- Gráfico com o tamanho das nanopartículas de sílica.....                                                                                        | 43 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 13- Imagem Macroscópica da sílica anteriormente a sua caracterização.....                                                                                                                                                                                                           | 43 |
| Figura 14- Partículas de sílica incorporadas com nitrato de prata.....                                                                                                                                                                                                                     | 44 |
| Figura 15- Gráfico do EDS, da amostra de 30 mM, mostrando picos de silício e prata.....                                                                                                                                                                                                    | 45 |
| Figura 16- Gráfico do EDS, da amostra de 10 mM, mostrando picos de silício e prata .....                                                                                                                                                                                                   | 46 |
| Figura 17- Imagem obtida através de Microscopia Eletrônica de Varredura, aumento de 200x. Amostra com 30 mM de Nitrato de prata.....                                                                                                                                                       | 47 |
| Figura 18- Imagem obtida através de Microscopia Eletrônica de Varredura, aumento de 200x. Amostra com 10 mM de Nitrato de prata.....                                                                                                                                                       | 47 |
| Figura 19- Placa com os poços nas duas diferentes concentrações de prata e contra os dois agentes microbianos.....                                                                                                                                                                         | 48 |
| Figura 20- Placa com poços após 24 horas de incubação.....                                                                                                                                                                                                                                 | 49 |
| Figura 21- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 10mM contra <i>Streptococcus mutans</i> . Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2 e 3.....    | 49 |
| Figura 22- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 30mM contra <i>Streptococcus mutans</i> . Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2, 3 e 4..... | 50 |

Figura 23- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 10mM contra *C. albicans*. Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2, e 3.....50

Figura 24- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 30mM contra *C. albicans*. Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2, 3 e 4.....51

Figura 25- Placas de petri semeadas com as amostras de reembasador macio, nas duas molaridades e nas duas diferentes concentrações, contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Demonstrando efeito antimicrobica em todas as amostras contra *C. albicans* e nenhum efeito antimicrobiano contra *S. mutans*.....52

Figura 26- Placas de petri semeadas com as amostras de Glaze nas duas molaridades e nas duas diferentes concentrações, contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Eficácia antimicrobiana comprovada em todas as amostras contra *S. mutans*, e nas porcentagens de 5% contra *C. albicans*.....53

Figura 27- Placas de petri semeadas com as amostras de Glaze e Reembasador macio nas duas molaridades e nas duas diferentes concentrações, contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Eficácia antimicrobiana comprovada para o reembasador macio nas duas molaridades e concentrações contra *S. mutans*.....53

Figura 28- Amostras do grupo controle e do grupo de 30 mMol com concentração de 5% preparadas para o ensaio de flexão.....54

Lucatto BC. Síntese, caracterização e efeito microbiológico de nanopartículas de sílica revestidas por prata quando associadas a resina acrílica quimicamente ativada, reembasador macio e ao glaze [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista, Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar nanopartículas de sílica recobertas por prata, e avaliar a influência quando incorporadas à resina acrílica quimicamente ativada, ao reembasador macio, e a um glaze, em suas características microbiológicas, microestruturais e mecânicas. Foi confeccionada, pelo método de hidrólise e condensação controlada (método de Stober), uma solução contendo nanopartículas de sílica revestidas por nanopartículas de prata em duas proporções, 10 milimols e 30 milimols, onde as mesmas foram caracterizadas. As nanopartículas de sílica incorporadas com a prata foram analisadas por energia dispersiva de raios-X integrado (EDS), microscopia eletrônica de varredura (MEV), e espalhamento de luz dinâmico (DLS). Para análise microbiológica foram confeccionadas 10 amostras cilíndricas (2mmx10mm), em resina acrílica quimicamente ativada onde as partículas foram incorporadas em duas concentrações: 2.5% e 5% com as duas molaridades diferentes 10 mM e 30 mM. Em outra situação foram confeccionadas 10 amostras cilíndricas (2mmx10mm) de reembasador macio, com concentrações de 2,5% e 5% com as duas molaridades diferentes 10 mM e 30 mM, no terceiro caso as partículas foram acrescentadas a um glaze nas duas concentrações e molaridades e aplicada sob uma amostra de reembasador macio SoftConfort (Dencril) a base de resina acrílica. Uma suspensão de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* foi utilizada para análise de concentração inibitória mínima. Amostras retangulares em resina acrílica (n=6) de 30x10x3mm, foram confeccionadas para realização do teste de resistência a flexão de três pontos de ensaios mecânicos EMIC (Modelo DL-1000, EMIC Equipamentos e Sistemas LTDA., São José dos Pinhais - PR – Brasil), com velocidade de 1mm/min. Amostras sem a presença de nanopartículas foram confeccionadas como grupo controle. A sílica inicialmente apresentava-se como um pó de coloração branca e fina, após a sua caracterização com as partículas de Nitrato de Prata, houve alteração da coloração para um tom amarelado, aumento da sua densidade e do tamanho de suas nanopartículas. Os resultados de ação antimicrobiana foram positivos para as amostras de reembasador macio e glaze com 5% e 30 mMol de nanopartículas, já no ensaio mecânico não houve diferença significativa estatisticamente entre os grupos.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata. Resinas acrílicas. Antifúngico. Antimicrobiano.

Lucatto BC. Synthesis, characterization and microbiological effect of silver-coated silica nanoparticles when associated with chemically activated acrylic resin, soft reliner and glaze [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2017.

## **ABSTRACT**

The aim of this work was to synthesize and characterize silver - coated silica nanoparticles, and to evaluate the influence when incorporated into chemically activated acrylic resin, soft reliner, and glaze, in their microbiological, microstructural and mechanical characteristics. A solution containing silica nanoparticles coated by silver nanoparticles in two proportions, 10 millimols and 30 millimols, where they were characterized, was prepared by the hydrolysis and controlled condensation method (Stober method). Silica nanoparticles incorporated with silver were analyzed by integrated X-ray dispersive energy (EDS), scanning electron microscopy (SEM), and dynamic light scattering (DLS). For the microbiological analysis, 10 cylindrical samples (2mmx10mm) were made in chemically activated acrylic resin where the particles were incorporated in two concentrations: 2.5% and 5% with two different molarities of 10 mM and 30 mM. In another situation, 10 cylindrical samples (2mmx10mm) of soft reliner were made, with concentrations of 2.5% and 5% with the two different molarities 10 mM and 30 mM, in the third case the particles were added to a glaze in the two concentrations and molarities and applied under a sample of soft reliner Soft Confort (Dencril). A suspension of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* was used for analysis of minimal inhibitory concentration. The samples were made in acrylic resin (n = 6) of 30x10x3mm and were made to perform the three-point flexural strength test of EMIC (Model DL-1000, EMIC Equipamentos e Sistemas Ltda., São José dos Pinhais - PR - Brazil), with a speed of 1mm / min. Samples without the presence of nanoparticles were made as a control group. The silica initially presented as a fine white powder after its characterization with the Silver Nitrate particles, there was a change of coloration to a yellowish tone, increase of its density and the size of its nanoparticles. The results of antimicrobial action were positive for the soft reliner and glaze samples with 5% and 30 mMol of nanoparticles, whereas in the mechanical assay there was no statistically significant difference between the groups.

**Keywords:** Silver nanoparticles. Acrylic resins. Antifungal. Antimicrobial.

## 1 INTRODUÇÃO

As pesquisas e o progresso tecnológico fizeram com que a resina à base de polimetilmetacrilato (PMMA), também conhecida como resina acrílica surgisse, entre os anos de 1937 e 1940, como uma excelente alternativa não somente para confecção de próteses odontológicas, mas também para uso em outras áreas (Peyton et al., 1975). A sua larga aplicabilidade ao longo de anos deve-se a características como: biocompatibilidade, ausência de sabor e odor, propriedades térmicas satisfatórias, estabilidade dimensional, boa capacidade de polimento, aparência agradável e simplicidade técnica. Com a evolução, as resinas acrílicas tornaram-se mais fáceis tecnicamente de se trabalhar, tiveram suas propriedades físicas e mecânicas melhoradas e ainda se compatibilizaram biologicamente (Anusavice, 2005; Craig, 2004).

As resinas acrílicas à base de polimetilmetacrilato (PMMA) são produzidas sinteticamente e a sua química baseia-se no carbono, hidrogênio e em outros elementos não metálicos. Após serem manipuladas e polimerizadas, podem apresentar características fibrosas, borrachóides, resinosas e rígidas, que são determinadas pela sua morfologia molecular (Callister et al., 2000).

As próteses totais mucosuportadas sempre foram amplamente utilizadas no meio odontológico, ao restaurarem a função dental, a aparência facial, e por manter a saúde geral do indivíduo. Uma prótese instalada em ambiente oral propicia alterações à microbiota bucal, já que, conforme relatado anteriormente, são compostas por polimetilmetacrilato (PMMA), material que pode apresentar certa porosidade, o que pode promover o acúmulo de microrganismos, e formação de biofilme agregado a mucosa adjacente a prótese. Além do maior acúmulo de biofilme, a manutenção do ambiente bucal é prejudicada devido à falta de limpeza mecânica de áreas internas à prótese proporcionada na área externa pela língua e pela saliva, o que torna o indivíduo ainda mais suscetível ao desenvolvimento de estomatite protética. A infecção tecidual ainda pode ser agravada pela presença de fatores locais como a falta de higiene do paciente, trauma local e perda da integridade tecidual, ou por situações sistêmicas como a diabetes mellitus, xerostomia e desnutrição (Acosta-Torres et al., 2012).

Segundo dados da literatura, cerca de 50 a 70% dos pacientes usuários de prótese total apresentam estomatite causada por *Candida albicans* (Daniluk et al., 2006; Budtz-Jorgensen et al., 1996; Lotfi-Kamran et al., 2009). Apesar de ser um microrganismo comum ao ambiente bucal, a *Candida albicans* pode comportar-se como um patógeno oportunista colonizando o material acrílico, o que pode ocasionar a infecção. Alguns estudos têm mostrado que a aderência de *Candida ssp* na superfície do polimetilmetacrilato (PMMA) é associada à *hidrofobicidade* apresentada tanto pelos microrganismos como pelas unidades monoméricas expostas na superfície, que interagem com os domínios hidrofóbicos de proteínas o que gera fortes interações desta natureza (Park et al., 2003; Nikawa et al., 1992,1992).

Além da presença da *Candida ssp*, outro patógeno em potencial é o *Streptococcus*. Ao avaliar o biofilme presente nas próteses dentárias grandes contagens e proporções de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *S. mutans* podem ser encontradas. Diante disto, o estudo de produtos e mecanismos de ação antimicrobiana para materiais poliméricos torna-se importante para inibir a adesão bacteriana e fúngica.

Nanopartículas de prata tem sido amplamente utilizada na biomedicina como agente antimicrobiano, além de ser biocompatível e muito eficaz contra bactérias, vírus e outros microrganismos eucariotas em concentrações muito baixas. Na medicina, estudos sugerem que as nanopartículas de prata têm um potente efeito anti-inflamatório e aceleram a cicatrização de feridas (Nadworny et al., 2008; Tian et al., 2007), principalmente no tratamento de queimaduras, onde a sulfadiazina de prata é utilizada como padrão ouro. Ainda não é conhecido o mecanismo de ação correto da prata sobre os microrganismos, mas é certo que a prata em meio aquoso é biologicamente reativa e age sobre as bactérias, tendo efeito bactericida e bacteriostático (Kiriya et al., 2013).

Devido a esta propriedade, íons de prata e nanopartículas de prata foram introduzidos e estão sendo utilizados nos materiais dentários (Bürgers et al., 2009; Yang et al., 2014). No entanto, quando incorporadas diretamente ao material odontológico, como em resinas acrílicas, ocorre um inconveniente estético, devido a sua coloração escura e dificuldade em sua estabilização (Holtz et al., 2012) (Sacourague, 2015). As partículas de prata também tendem a se aglomerar, o que

influência negativamente o seu efeito antimicrobiano, reduzindo a área de contato da superfície (Shameli et al., 2011).

A adição de nanopartículas de prata em resina acrílica para base de próteses totais, em concentrações de 0.05%, 0.5%, e 5%, apresentou bons resultados, indicando não haver perda em suas propriedades mecânicas. Além disso, sugere-se que partículas em menores concentrações geram uma melhor dispersão destas no interior da massa de resina, além de apresentarem-se na superfície do polímero (Monteiro et al., 2012).

Também foi avaliada a adição de nanopartículas de prata em resinas acrílicas quimicamente ativadas (RAAT) e compósitos à base de metacrilatos e siloranos (Kiriya et al., 2013; Kasraei, Azarsina, 2012). A pulverização de um composto inorgânico a base de prata em 3 concentrações (0,5%, 1,0% e 1,5%) sobre o polimetilmetacrilato mostrou-se eficaz frente ao *S. mutans*, *S. oralis*, *S. gorgonii*, *A. naeslundii* e *C. albicans*. A redução do número de células bacterianas e fúngicas parecem estar diretamente ligadas com a quantidade de íons/partículas de prata dispersas em meio aquoso. (Kiriya et al., 2013)

Partículas de sílica revestidas por prata foram avaliadas em suas propriedades mecânicas quando adicionadas a reembasadores de próteses e resinas acrílicas, não alterando negativamente as mesmas em baixas concentrações, porém as mesmas concentrações mostraram-se não eficazes contra a formação de biofilme de *C. albicans*. (Sacorague et al., 2015)

Desta forma, face aos escassos trabalhos que relacionam a ação das partículas de prata quando associadas a resinas acrílicas, reembasadores e glaze sobre microrganismos é que entendesse estudar as variáveis que possam determinar indicativos para melhores resultados em suas aplicabilidades.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Resina acrílica- polimetilmetacrilato

O aumento contínuo do número de pacientes idosos desdentados, totais ou parciais, permite estimar que todas as modalidades de prótese, principalmente as próteses totais, terão sua demanda consideravelmente aumentada nas próximas décadas (Douglas et al., 2002). O material de escolha comumente utilizado para a confecção de bases de próteses removíveis, totais ou parciais, é o polimetilmetacrilato (PMMA) termicamente ativado. Isso se deve ao seu baixo custo, facilidade de manipulação e praticidade quanto ao método de processamento (Boone et al., 1983).

A resina acrílica utilizada rotineiramente em odontologia é um polímero a base de polimetilmetacrilato (PMMA), apresentada em forma de pó e líquido. O pó contém esferas pré polimerizadas de PMMA e uma pequena quantidade de peróxido de benzoíla, que atua como iniciador do processo de polimerização; o líquido é constituído por metacrilato de metila não polimerizada e hidroquinona, que atua inibindo a reação, prevenindo a polimerização do líquido durante o armazenamento. A reação de polimerização inicia-se a partir de um radical livre, normalmente o peróxido de benzoíla, que quando aquecido entre 50° C e 100° C quebra-se e dá origem a dois radicais livres que possuem em sua estrutura um elétron livre não emparelhado. Para as resinas de ativação química, uma amina terciária é adicionada ao líquido que serve como ativador da reação de polimerização. Quando este radical livre se aproxima de uma molécula de metacrilato, acaba por atrair o elétron de uma dupla ligação existente entre carbono e oxigênio, tornando uma ligação simples e deixando livre outro elétron que continuará o crescimento da cadeia. É usual a adição de agentes de ligação cruzada, como o glicol dimetacrilato de metila, com intuito de aumentar a resistência à deformação. A reação de polimerização pode ser desencadeada após a manipulação do material por ativação térmica - RAAT (calor seco, vapor, ou energia de micro-ondas), ativação química- RAAQ, ou luz visível (Anusavice, 2005; Paes-Junior et al., 2014).

A resina acrílica é utilizada desde sua introdução no mercado odontológico em 1937, pelo dentista Walter Wright, para confecção de próteses dentais totais e parciais, fixas unitárias e múltiplas provisórias, próteses oculares, dentre outros (John et al., 2001). Esta popularidade se consolidou devido a resina ser um material transparente e rígido, passível de pigmentação, com propriedades mecânicas, como dureza, solubilidade, biocompatibilidade e resistência à fratura, extremamente satisfatória, estáveis em ambiente bucal (Paes Junior et al., 1999; Anusavice, 2005).

Para a confecção de próteses totais mucossuportadas utilizamos a resina acrílica ativada termicamente, pois esta apresenta propriedades biomecânicas e ópticas superiores às resinas de ativação química. Segundo Winkler (1984) ao comparar as resinas polimerizadas por ativação química (RAAQ) com aquelas polimerizadas por ativação térmica (RAAT) destaca-se uma perceptível diminuição da resistência a flexão nas RAAQ em relação às RAAT. A principal diferença entre estas é o método de polimerização e o fato das RAAQ necessitarem de um ativador (amina terciária) para desencadear o processo de polimerização à temperatura ambiente, o que acaba por ter uma menor conversão do monômero em polímero, além de promover a oxidação da resina polimerizada a longo prazo, causando uma alteração na sua coloração. Bonnati et al. (2006) avaliou o efeito da polimerização na estabilidade de cor de resina para base de prótese. Segundo os autores, a mudança de cor pode ser causada por diversos fatores, como o grau de conversão e o monômero residual, assim como por excesso de porosidade por pressão insuficiente durante a prensagem. A presença de monômero residual está relacionada também com a porosidade, conforme levantado por Kimpara et al. (2009). Neste estudo foi avaliado o efeito de diferentes ciclos de polimerização nas propriedades da resina ativada termicamente, através da presença de porosidade e da variação da quantidade de monômero superficial. As amostras de resina acrílica foram submetidas a 4 ciclos diferentes, onde os espécimes submetidos à um ciclo mais curto (72 °C por 9h) apresentaram grande porosidade e uma quantidade de monômero superficial superior aos ciclos onde a temperatura foi elevada no final. Em outro estudo Paes-Junior et al. (1999) estudaram em resinas ativadas termicamente a presença de porosidades em corpos de prova processados de modo convencional e por energia de micro-ondas. As resinas utilizadas foram: de ativação térmica e uma resina para micro-ondas. Foram confeccionados cubos de 8cm<sup>3</sup> e foi

realizada a polimerização das mesmas observando-se variáveis, como por exemplo, a fase em que o material se encontrava no ato da prensagem e tempo de espera, anteriormente ao início do ciclo de polimerização. Foi comprovado nos resultados que o ciclo convencional em banho de água quente, em corpos de prova prensados na fase plástica e borrachóide, com período de descanso de 24 horas apresentavam-se isentos de porosidades, já os corpos de prova polimerizados em micro-ondas para o ciclo estabelecido pelo fabricante mostraram porosidades independentemente da fase de prensagem da resina. O ciclo de polimerização da resina também influencia diretamente a quantidade de monômero residual e consequentemente a resistência a flexão (Paes-Junior et al., 2006). O autor avaliou a resistência a flexão e quantificou o monômero residual superficial de diversas resinas, variando os protocolos de polimerização. Foram utilizados dois tipos de resina de ativação por energia de micro-ondas, dois de resinas de ativação térmica convencional em banho de água aquecida no ciclo longo, uma resina de ativação térmica em ciclo rápido, e dois grupos cuja resina era a mesma de ativação química, processada em duas condições diferentes: à temperatura ambiente e, por aquecimento adicional em banho de água. Foi elucidado que as resinas quimicamente ativadas e as que foram submetidas ao banho térmico curto apresentaram os piores valores de resistência a flexão, assim como os maiores valores de monômero residual. O aquecimento adicional em banho de água da resina de ativação química gerou uma diminuição considerável dos níveis de monômero residual e determinou o aumento da resistência a flexão do material.

Entretanto, as resinas acrílicas quimicamente ativadas também possuem vantagens, como melhor adaptação. Isto se deve ao fato da mesma não sofrer o stress promovido durante o ciclo de polimerização em água aquecida. Takamata e Setcos, (1989) estudaram a estabilidade dimensional de algumas resinas quanto ao tipo de polimerização e método de prensagem, buscando aquele onde houvesse uma menor distorção durante o processamento, concluindo que mesmo com novos materiais no mercado e técnicas, o melhor modo de processamento e prensagem ainda era o convencional com a presença de calor.

Apesar de não ser uma boa opção como um material restaurador direto, devido suas propriedades físico-químicas desfavoráveis para este fim, como elevado grau de contração de polimerização, alto coeficiente de expansão térmica e

propriedades ópticas desfavoráveis, apresentando manchamentos, a resina acrílica quimicamente ativada é um material muito versátil, tendo uma utilização bem variada dentro da odontologia (Anusavise, 2013). Os maiores problemas existentes com o uso das resinas acrílicas estão relacionados à instabilidade dimensional devido à contração de polimerização que acaba por influenciar a adaptação marginal das próteses provisórias. As outras desvantagens são baixa resistência ao desgaste, à abrasão, ao impacto e a alteração de cor (Badra et al., 2005; Assunção et al., 2006; Silva Filho et al., 2006). Outro fator importante que também pode alterar as resinas acrílicas é o meio bucal, com as mudanças de pH que ocorrem com frequência devido a alimentação e consumo de bebidas ácidas. Essa alteração do meio bucal pode provocar uma degradação química nas cadeias da resina alterando as propriedades mecânicas/físicas dos polímeros (Sarrett et al., 2000; Prakki et al., 2005; Reis, 2005).

Dentro das reabilitações orais o uso da resina acrílica para confecção de coroas provisórias é muito frequente. As resinas acrílicas são muito utilizadas na confecção de restaurações provisórias, as quais têm por objetivo devolver função, conforto e estética ao dente preparado. Além de serem empregadas para o diagnóstico e correção de planos oclusais irregulares, restabelecimento da dimensão vertical, ou planejamento de modificação do contorno gengival, são também indispensáveis para o planejamento da forma, tamanho e cor da restauração final. Em reabilitações orais, as restaurações provisórias fazem parte de uma etapa muito importante do tratamento e devem manter sua integridade durante toda a fase provisória, que normalmente possui curta duração (Diaz-Arnold et al., 1999; Haselton et al., 2004).

Esta prótese provisória deve ser prática e rápida de ser executada, uma vez que o paciente se encontra em uma situação pós-operatória com estética e mastigação prejudicada, deve garantir uma função adequada e preparar os tecidos moles circunjacentes, acomodando o tecido gengival de modo que propicie um correto perfil de emergência. O perfil de emergência é o contorno axial que se estende desde a base do sulco gengival até a gengiva marginal livre. Este perfil de emergência irá ajudar, entre outras, a manter a saúde, harmonia e a estética da restauração (Croll, 1989). Portanto, materiais que garantam um bom acabamento,

com uma lisura superficial, para evitar o acúmulo de placa bacteriana, a fim de preservar um bom perfil de emergência e correta higienização, são essenciais.

## **2.2 Materiais Reembasadores**

Apesar de possuir vantagens como boa reprodutibilidade, adaptação aos tecidos moles e estabilidade dimensional, alguns casos de próteses totais mucossuportadas podem apresentar desajustes devido à contínua reabsorção do osso alveolar ou alterações em tecido mole, prejudicando a estabilidade do aparelho (Sacorague, 2015). A reabsorção óssea alveolar é contínua ao longo da vida dos pacientes edêntulos, podendo gerar desadaptação das próteses durante a fala e mastigação (Goiato et al., 2013). A fim de minimizar danos aos tecidos de suporte, foram desenvolvidas técnicas e materiais para reembasamento das próteses. Estes restabelecem a retenção e a estabilidade da prótese e permitem ajustes e correções na área do selado periférico. Segundo McCabe e Walls (2006), os materiais reembasadores podem ser divididos em 3 categorias: materiais rígidos, condicionadores e resilientes.

Os materiais rígidos são resinas acrílicas, a base de monômeros de metacrilato de metila (MMA) com agentes plastificadores, ou monômeros de metacrilato maiores como a etila e butila. Estes agentes levam à diminuição da temperatura de transição vítrea, gerando possível aumento na instabilidade dimensional. Os condicionadores de tecido são materiais extremamente resilientes, que não possuem monômeros acrílicos no líquido permitindo assim sua utilização após cirurgias ou em áreas traumatizadas, levando à recuperação dos tecidos moles sem irritação. Entretanto, sua durabilidade é curta sendo recomendada sua troca a em curto espaço de tempo. Os reembasadores resilientes não são tão flexíveis como os condicionadores, mas mantém esta propriedade por aproximadamente 2 meses, até enrijecerem. Estes materiais podem ser à base de acrílicos ou de elastômeros de silicone, que possuem uma composição similar aos silicones para moldagens, sendo basicamente polímeros de dimetilsiloxano (polidimetilsiloxano).

Este é um líquido viscoso, que ao interagir com a borracha, por um agente de união, resulta em um material com boas propriedades elásticas (McCabe e Walls. 2006).

Os sistemas de reembasamento quimicamente ativados (para uso direto) são uma excelente alternativa visto que não é necessária a retenção da prótese para envio ao laboratório, tornando a execução rápida (Cerveira Netto, 1987; Telles, 2011). Chladek et al. (2014) apresentam em sua revisão sobre reembasadores resilientes de longa duração que estes materiais garantem um aumento significativo no conforto dos pacientes, aliado a suas propriedades mecânicas e de desempenho favoráveis. Entretanto, a durabilidade destes materiais sob condições clínicas é limitada, principalmente devido à sua baixa resistência à colonização por *C. albicans*. Alguns estudos mostram que estes materiais são mais propensos à adesão microbiana do que a resina acrílica, e isto, provavelmente, deve-se a sua maior porosidade e rugosidade de superfície (Nevzatoglu et al., 2007; Pereira-Cenci et al., 2008). Além disso, eles têm demonstrado capacidade de interagir com microrganismos bucais (Nikawa et al., 1992; Okita et al., 1991). Portanto, uma alternativa para impedir as interações desfavoráveis entre os microrganismos e a superfície de biomateriais deve ser considerada.

Alguns autores relataram problemas relacionados aos materiais utilizados na confecção e no reembasamento de próteses removíveis, sendo o mais freqüente a colonização desses materiais, especialmente dos reembasadores, por várias espécies de *Candida*. Os resultados sugerem que próteses reembasadas com estes materiais são mais passíveis de colonização por fungos, mesmo que estes possuam antifúngicos em sua composição (Kulak; Kazazoglu, 1998; Pereira-Cenci et al., 2007; Wright et al., 1985), uma vez que os produtos comercialmente disponíveis, possivelmente tem o agente antifúngico removido pela ação da saliva (Pereira-Cenci et al., 2007; Verran; Maryan, 1997).

Após a utilização dos reembasadores, os fabricantes recomendam o uso de um glaze. Do ponto de vista biológico e cosmético, os procedimentos de acabamento e polimento são considerados fundamentais para a estética e obtenção de restaurações protéticas lisas e polidas (Covey et al., 1992). O Glaze é indicado para impermeabilizar, dar brilho e proteger o acrílico contra pigmentação e impregnação de bactérias. O mesmo é responsável por selar a prótese e aumentar a sua lisura superficial, diminuindo assim a colonização por bactérias e fungos e

formação de biofilme, porém não apresentam agentes antimicrobianos incorporados em sua mistura. Minimizar o acúmulo de microorganismos orais sob as bases das próteses utilizando-se materiais reembasadores com baixo padrão de rugosidade superficial tem relação direta com menor índice de instalação de doenças bucais (Oliveira et al., 2007),(Goiato et al., 2007). Landa et al (2009) estudaram o efeito do glaze sobre a rugosidade de três materiais reembasadores, simulando uma situação clínica de maior lisura de superfície dos materiais. Observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados com e sem a aplicação do glaze. A aplicação do glaze promoveu uma maior lisura de superfície permitindo uma utilização clínica dos materiais reembasadores com maior longevidade (Brown et al., 1998), (Dootz et al., 1992).

### **2.3 *Candida albicans* e *Streptococcus mutans***

Mesmo com propriedades mecânicas adequadas, tanto a resina acrílica para base de prótese como para reembasamento, apresentam como uma de sua principal limitação a ausência de atividade antimicrobiana ou antifúngica (Samaranayake et al.1994). Os resultados preliminares de vários estudos sugerem que o uso de agentes antimicrobianos pode melhorar as propriedades microbiológicas dos reembasadores.

A *C. albicans* é um fungo que está presente na cavidade bucal de cerca de 50% da população. Em pacientes portadores de prótese total, após sua adesão sobre a superfície da resina, ela é a iniciadora da estomatite protética (Arendorf e Walker, 1987). A estomatite protética (EP) é uma inflamação da mucosa clinicamente caracterizada por pontos hiperêmicos, principalmente nas áreas que mantêm contato íntimo com a superfície interna da prótese (Wilson,1998).

A adesão dos micro-organismos às superfícies das próteses é um pré-requisito para formação de biofilme, importante fator relacionado ao desenvolvimento de patologias (Gendreau, Loewy, 2011). A resina acrílica apresenta carga positiva e alta energia de superfície o que acaba por atrair as glicoproteínas salivares que possuem carga negativa, essa atração resulta em forte adesão

química. O microrganismo, que possui carga negativa, acaba se aproximando dessa película por meio de forças de Van der Waals e se unem por meio de pontes de hidrogênio (Jorge,1998).

A etiologia da estomatite protética é considerada multifatorial e está associada a irritação mecânica por uso contínuo da prótese, higiene bucal inadequada, reações alérgicas ao acrílico, alterações imunológicas sistêmicas, diabetes e, a colonização pelo fungo (Arendorf, Walker, 1987, Rodriguez Acosta et al., 2015). A EP pode apresentar sintomas como: prurido, ardência, dor, sabor desagradável, desconforto, hemorragia na mucosa bucal, alteração no paladar e halitose (Olsen, Stenderup, 1990; Wilson,1998).

Além dos fatores sistêmicos e locais que predispõem a estomatite fúngica a característica da superfície da prótese assim como do material, podem influenciar e facilitar a aderência do microrganismo na superfície. Segundo Park et al. (2003) a adesão inicial da *C. albicans* pode estar associada a hidrofobicidade do microrganismo que acaba interagindo com unidades monoméricas do PMMA que estão expostas na superfície. Os autores adicionaram ácidos metacrílico em diferentes concentrações na resina acrílica, com o intuito de modificar a carga na superfície da resina, diminuindo assim a interação com *C. albicans*. Os resultados mostraram que a medida que concentração de ácido metacrílico aumentava, houve diminuição na área de superfície com *C. albicans* aderida. Houve também diminuição significativa no ângulo de contato à medida que a proporção de ácido metacrílico aumentou. Os autores concluíram que é importante o papel da interação eletrostática na adesão, assim como introduziram um método eficaz para reduzir a adesão de *C. albicans* à superfície de PMMA através da modificação da carga da superfície dos biomateriais poliméricos. Os tratamentos antifúngicos, tópico ou sistêmico, podem ser indicados para o tratamento da EP, entretanto, as próteses devem ser desinfetadas e mantidas limpas, pois esta pode servir como um foco de reinfecção. Caso o paciente não realize a higienização adequada há uma tendência à recidiva da EP quanto o tratamento antifúngico é interrompido (Muzyka, 2005; Mima et al., 2008; Gendreau, Loewy, 2011).

Skupien et al. (2013) buscavam determinar a viabilidade de um protocolo de prevenção de colonização por *Candida ssp* em reembasadores de prótese e um tratamento eficaz após a colonização por fungos. Após a avaliação de 38 artigos, os

autores relatam que a incorporação de agentes fungicidas nos materiais de reembasamento e nos condicionadores de tecido, ou a imersão da prótese em soluções contendo esses materiais de limpeza foi executada frequentemente para atingir os objetivos. A incorporação de nistatina foi avaliada em 8 estudos, assim como a adição de agentes antimicrobianos a base de prata estava presente em 4 estudos. Os autores concluíram que a adição de agentes antifúngicos em reembasadores e condicionadores de tecidos parece evitar a colonização por *Candida ssp*, mas a concentração adequada ainda não é um consenso. A limpeza com hipoclorito de sódio 0,5% pode ser útil para desinfecção. Mas os dados analisados são insuficientes para estabelecer um protocolo de adição de antifúngicos.

Além da Estomatite protética, outro propagador de doenças bucais é o *Streptococcus mutans* presente no biofilme bacteriano. A adesão de microrganismos em superfícies de biomateriais depende da estrutura e composição de sua superfície e das propriedades físico-químicas da superfície das células microbianas (Bellon-Fontaine et al., 1990; Busscher et al., 1992).

O biofilme bacteriano foi definido por Council on Dental Therapeutics (1986) como uma entidade altamente variável que resulta da colonização e crescimento de microrganismos nas superfícies dos dentes e dos tecidos orais moles, consistindo de um número de espécies e cepas microbianas embutidas em uma matriz extracelular. A colonização do biofilme bacteriano ocorre nas primeiras oito horas, de forma rápida e seletiva à película adquirida, sendo as bactérias Gram-positivas, especialmente os *Streptococcus mutans* e *sanguis* os mais encontrados. (Newbrum.1988).

A associação do *S. mutans* com lesões dentais de cáries foi primeiramente reportada por Clarke (1924), que isolou o microrganismo do fundo de lesões de cárie em culturas puras. Muitos estudos têm sido efetuados com a intenção de descobrir a maneira mais eficiente para controlar o biofilme bacteriano, fator primordial na prevenção, e deve ser considerada a base da promoção da saúde bucal. No entanto, apesar dos esforços dos pesquisadores nessa busca, a limpeza mecânica através da escovação dentária, continua sendo o método mais eficiente e universalmente aceito (Lindhe, 1983).

Dois fatores são normalmente relacionados com a facilidade de adesão bacteriana: energia livre de superfície e rugosidade superficial (Christersson et al., 1989),(Borchers et al., 1999).

Quirynen & Bollen (1995) analisaram esses dois fatores e concluíram que a energia livre de superfície é menos importante do que a rugosidade de superfície no processo de adesão. Entretanto, Van Pelt et al. (1985) analisando a influência da energia livre de superfície não encontrou relação deste fator com a adesão bacteriana, concluindo que não há como explicar esta relação no presente momento. Uma vez aderida nas irregularidades das superfícies e em outros sítios de estagnação, a bactéria pode sobreviver por mais tempo, pois estão protegidas contra forças naturais de remoção e também contra métodos de higiene bucal.

Então, se a rugosidade das superfícies facilita o acúmulo de placa bacteriana, as superfícies de uma prótese devem ser as mais lisas possíveis (Quirynen et al., 1995). Face a isto, agentes microbianos incluídos como nanopartículas na superfície de prótese e reembasadores poderiam levar a um resultado eficaz contra o acúmulo de fungos e bactérias em ambiente bucal.

## **2.4 Nanopartículas Antimicrobianas**

As nanopartículas são materiais com estrutura variando de 1-100 nm. Um nanômetro é definido como um bilionésimo de metro. Estas apresentam propriedades físicas e químicas (óptica, magnética, catalítica, termodinâmica e eletroquímica) diretamente dependentes de seu tamanho, assim como sua composição química e formatos influenciam nestas propriedades específicas. Elas podem ser preparadas com polímeros orgânicos (nanopartículas orgânicas) e / ou elementos inorgânicos (nanopartículas inorgânicas) (Sanvicens e Marco, 2008).

Dentre as nanopartículas que apresentam algum efeito antimicrobiano podem ser citados os íons ou sais de prata, que são amplamente utilizados na medicina e seu uso é relatado desde o ano de 1800 no tratamento de doenças venéreas, úlceras na perna, feridas cirúrgicas, melhorando a cicatrização pós-operatória e reduzindo infecções. Além disso, existem uma variedade de produtos

contendo prata comercialmente disponíveis, como cateter de poliuretano ventricular, cateter para medicação, curativos para feridas e cavidades, e géis. (Chaloupka et al., 2010). O exato mecanismo de como a prata exerce sua atividade antimicrobiana ainda não é totalmente esclarecido e, também, depende do tamanho e forma da partícula. Uma possível explicação para a atividade bactericida das partículas de prata é que a transferência direta de íons de prata, a partir de nanopartículas oxidadas para sítios biológicos como proteínas ou a membrana celular. (Knetsch, Koole, 2011). Na odontologia, as nanopartículas de prata foram aplicadas em diversos materiais odontológicos, com a intenção de prevenir e/ou reduzir a formação de biofilme em compósitos e superfície de implantes, no tratamento de estomatites protéticas, agente antimicrobiano em materiais endodônticos obturadores, entre outros (Correa et al., 2015).

Segundo Kim et al. (2008 b) e Panáček et al. (2009) as nanopartículas de prata apresentaram efeito inibitório no crescimento de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. Krusei*, *C.tropicalis* e *Trichophyton mentagrophytes* em concentrações a partir de 0,21 µg/mL, dependendo do micro-organismo, com resultados semelhantes a anfotericina B.

A incorporação de nanopartículas de prata na resina acrílica têm apresentado interessantes resultados quanto a sua atividade antibacteriana e antifúngica. Segundo Kassaei et al. (2008) a adição de 0,5% de nanopartículas de prata a uma resina acrílica apresentou forte atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, não tendo formado nenhuma colônia após 24 horas contato com a resina experimental.

A atividade antimicrobiana da AgNp em condicionadores de tecidos foi avaliada por Nam (2011). Segundo o autor estes materiais se degeneram rapidamente o que os torna porosos e susceptíveis a colonização por microrganismo. As nanopartículas de prata foram preparadas a partir de uma solução aquosa de prata com 10 mM, que foram adicionadas ao líquido em concentrações variadas: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 e 3.0% volume prata/ volume líquido. Avaliou-se a adesão de *S.aureus*, *S. mutans*, e *C. albicans*. Os resultados indicaram que para *S. aureus* e *S. mutans*, mostrou-se o mínimo de efeito bactericida (MBC) na dose de 0,1%, e acima dela não foram detectadas células viáveis (nenhuma unidade formadora de colônia- UFC) a partir das condições de 1,0% acima. E para

*C. albicans*, a concentração fungicida mínima foi na dose de 0,5%, e não foi detectada em nenhuma UFC acima de 2,0%. Não houve diferença estatística do efeito antimicrobiano entre 24 e 72 horas do tempo de incubação ( $P > 0,05$ ).

Quando a partícula de prata apresenta um tamanho muito reduzido, menor que 10 nm, ela é capaz de penetrar no interior da célula e alterar seu metabolismo, levando a bactéria ou fungo a morte. (Morones et al. 2005).

Apesar de as nanopartículas metálicas, como a prata, possuírem ótimas características antimicrobianas, estas tem como desvantagens sua baixa estabilidade coloidal, reatividade química e térmica, e toxicidade para os sistemas vivos, em algumas concentrações. Uma abordagem que vem sendo estudada é a utilização de estruturas em camadas, também conhecida como sistema núcleo/casca. Onde compósitos representam uma classe de materiais com duas ou mais substâncias combinadas passam a exibir propriedades únicas, que não são possíveis de serem obtidas a partir de seus componentes individuais.

A arquitetura em nanoescala de materiais com propriedades facilmente ajustáveis levou ao desenvolvimento de um tipo especial de nanocompósitos conhecidos como core-shell, ou material tipo “casca-carço”, que consiste em um núcleo formado por um material, rodeado por uma “casca” formada por outro material, em escala nanométrica.

A sílica ( $\text{SiO}_2$ ) é um dos materiais mais populares como núcleo, pois possui elevada estabilidade térmica e química, por ser inerte quimicamente, ter grande área superficial e boa compatibilidade com outros materiais. (Nischala et al., 2011; Lismont et al., 2015). Um dos métodos de obtenção das nanoesferas de sílica amplamente utilizado é o método de Stober (Stober et al., 1968). Um sistema de reações químicas que permite o crescimento controlado de partículas de sílica esféricas de tamanho uniforme, por meio de hidrólise do tetraetilortosilano (TEOS) e subsequente condensação soluções alcoólicas, utilizando a amônia como um catalisador. Devido a sua simplicidade e eficácia diversos estudos utilizaram a síntese de Stober para confecção de nanopartículas de sílica, com revestimento de prata, ouro, titânia (Deng et al., 2007; Kim et al., 2008a; Hebalkar et al., 2011; Nischala et al., 2011; Devi et al., 2014; Lismont et al., 2015). Segundo Nischala et al. (2011) ao sintetizar nanopartículas de sílica com prata, em diferentes molaridades, a densidade das nanopartículas de prata como um material de revestimento na

estrutura foi variada, e originou diferentes características de ressonância plasmônica de superfície, influenciando positivamente na coloração obtida. As partículas com núcleo e camadas que continham a menor concentração de nanopartículas não mostraram qualquer mudança de cor perceptível na cor do tecido de algodão branco ao qual foram incluídos.

Estes estudos nos mostram que a possibilidade de inclusão de uma partícula núcleo/casca de sílica com nitrato de prata poderia amenizar ou acabar com o manchamento causado pela prata, além de não alterar as suas características mecânicas e microestruturais, interferindo somente em seu poder antimicrobiano.

A inserção de uma partícula de sílica com prata em materiais odontológicos, principalmente a base de polimetilmetacrilato pode ser extremamente vantajosa principalmente para pacientes portadores de prótese total, que possuem alguma dificuldade no controle e prevenção da estomatite protética e formação de biofilme. Entretanto, não existem dados na literatura que avaliam a influência dessa partícula sobre tais materiais.

### 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral deste trabalho é sintetizar e caracterizar nanopartículas de sílica recobertas com nanopartículas de prata, e avaliar a influência quando incorporadas à resina acrílica, reembasadores e ao glaze, em suas características microbiológicas, microestruturais e mecânicas.

Os objetivos específicos foram:

- a) Sintetizar nanopartículas de sílica pelo método de Stober e incorporar nanopartículas de nitrato de prata;
- b) Caracterizar as nanopartículas quanto ao tamanho, concentração, forma e disposição da prata sobre a sílica, através de microscopia eletrônica de varredura, espectrometria de energia dispersiva de raios-X – EDS e Espalhamento de luz dinâmico;
- c) Avaliar a atividade antifúngica de nanopartículas de sílica revestidas por prata contra o biofilme de *C. albicans*;
- d) Avaliar a atividade antibacteriana de nanopartículas de sílica revestidas por prata contra o biofilme do *Streptococcus mutans*;
- e) Avaliar a influência da incorporação das nanopartículas a resinas acrílicas rígida, reembasador macio e a um glaze no quesito ação microbiana;
- f) Avaliar mecanicamente a incorporação das nanopartículas de sílica com nitrato de prata à resina acrílica.

A hipótese nula é de que não haverá diferença estatisticamente significativa quanto a ação ou adesão fúngica e bacteriana entre os grupos testados, independente da presença ou concentração das nanopartículas adicionadas aos polímeros ou não.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

Em uma primeira etapa da pesquisa foi realizada a síntese, a caracterização e os testes microbiológicos das nanopartículas de sílica revestidas por prata. Primeiramente a sílica, que se encontrava em formato de pó, foi adicionada em uma solução e caracterizada com o nitrato de prata em duas concentrações e duas diferentes molaridades. As amostras foram caracterizadas através de microscopia eletrônica de varredura, espectrometria de energia dispersiva de raios-X – EDS e espalhamento dinâmico de luz (DLS). Após a realização dos testes de caracterização, foi realizado o teste de concentração inibitória mínima, que demonstrou a concentração mínima com eficácia antimicrobiana da nanopartícula. Em uma segunda fase a foi realizada a incorporação destas partículas aos polímeros (RAAQ, reembasador macio e glaze), e realizado o teste de formação de biofilme.

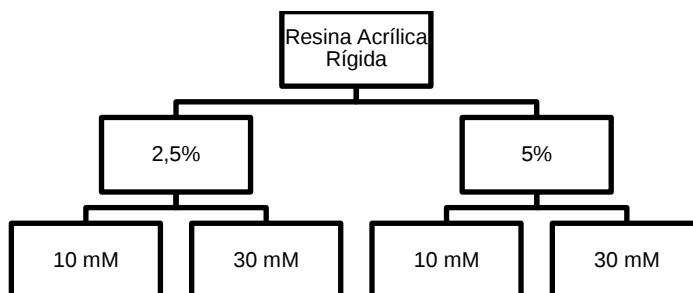
Quadro 1- Subdivisões das concentrações de nanopartículas de sílica revestidas com a prata, e também com as diferentes molaridades de Nitrato de Prata

|                            | Resina Acrílica | Reembasador Soft | Glaze      |
|----------------------------|-----------------|------------------|------------|
| Concentração de Partículas | 2,5% e 5%       | 2,5% e 5%        | 2,5% e 5%  |
| Molaridade da Prata        | 10 e 30 mM      | 10 e 30 mM       | 10 e 30 mM |

Fonte: Elaborado pela autora.

Em uma terceira fase as amostras de resina foram testadas mecanicamente pelo teste de flexão de 3 pontos, para isto corpos de prova em resina acrílica quimicamente ativada foram divididas em grupos de acordo com a molaridade de Nitrato de prata e de acordo com a concentração das partículas já caracterizadas (sílica incorporada com nitrato de prata). Serão utilizadas somente as resinas rígidas quimicamente ativadas para este teste, para verificarmos se as propriedades mecânicas das resinas não são significativamente alteradas com a incorporação de nanopartículas de sílica revestidas com a prata.

Fluxograma 1- Exemplificando a organização dos grupos para a realização do ensaio mecânico de flexão de 3 pontos



Fonte: Elaborado pela autora.

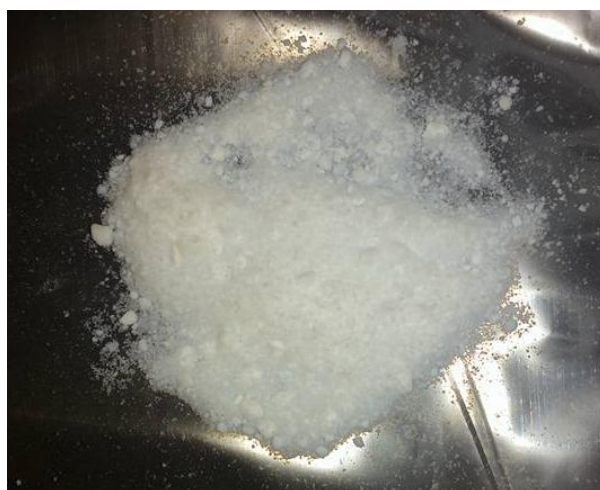
#### 4.1 Síntese das nanopartículas de sílica

As partículas de sílica foram sintetizadas por meio da hidrólise e condensação controlada do TEOS em meio alcoólico, conhecida como método de Stober. Para síntese das partículas foram utilizados os seguintes reagentes e soluções: Tetraetilortosilicato (TEOS) (LS chemical, São Paulo, Brasil - lote MKBP8202), Hidróxido de amônio PA (LS chemical, São Paulo, Brasil - lote 71008), Álcool etílico absoluto 99,5% (Neon comercial, São Paulo, Brasil - lote 20930), Nitrato de prata PA (LS chemical, São Paulo, Brasil - lote 119308/14) Dextrose anidra (LS chemical, São Paulo, Brasil - DA11.13), Carbonato de sódio anidro PA (Labsynth, São Paulo, Brasil - lote186610). Confeccionou-se uma solução misturando 9 ml de TEOS com 55 ml de etanol, que foram mantidos sob agitação constante. Em seguida, uma segunda solução foi elaborada com a mistura de 5 ml de amônia, 55 ml de etanol, e 30 ml de água Mili- Q. A solução 2 foi vertida sob a 1 e, mantida sob agitação constante em agitador magnético por 24 horas.

Após esse processo as nanopartículas de sílica foram centrifugadas (9.000 rpm, a 10° C, por 5 minutos), secas em estufa a 37°C e então refinado em almofariz de ágata. Ela apresentava-se em forma de pó, que foi previamente medido pelo equipamento de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), onde apresentou-se com um grande grupo contendo por volta de 100 nm e um segundo grupo, menor, contendo

300 nm. Além disso, por serem extremamente pequenas, as partículas possuem uma grande área de superfície. Quanto menor a partícula de sílica se apresenta, maior o campo superficial da mesma para a caracterização com a prata, já que o molhamento da superfície mostraria-se melhor, conseguindo assim agregar uma maior quantidade de nanopartículas de nitrato de prata. O nitrato de prata não pode ser adicionado diretamente a resina acrílica quimicamente ativada, já que apresenta grande manchamento e alteração de coloração, deixando assim as próteses, sejam elas totais ou parciais com um a estética prejudicada.

Figura 1- Sílica silanizada em formato de pó com coloração branca



Fonte: Elaborado pela autora.

Para a incorporação das partículas de nitrato de prata a sílica precisava estar em solução, para isto foi realizado todo o processo de hidrólise e condensação do TEOS novamente pelo método de Stober, somente sem o processo de centrifugação e secagem.

Figura 2- Frascos das soluções de Álcool Etílico Absoluto 99,5% à esquerda, e à direita Hidróxido de Amônia



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 3- Solução de sílica em agitação



Fonte: Elaborado pela autora.

## 4.2 Adição de nanopartículas de prata

Para cada 50 ml de solução de sílica foram confeccionados 25 ml de solução de nitrato de prata e dextrose equimolar, (com 10 mM e 30 mM de Nitrato de prata). Para a solução com 10 mM misturou-se 25 ml de água destilada com 0,0423g de  $\text{AgNO}_3$  e 0,0450g de Dextrose Anidra, que funciona como um agente catalisador, e foi adicionada a suspensão contendo as nanopartículas de sílica, e foram mantidas sob agitação por 30 minutos. Para a solução com 30 mM de nitrato de prata misturou-se 25 ml de água destilada, 0,12740g de nitrato de prata e 0,13512g de dextrose anidra, onde a mesma foi mantida em agitação por 30 minutos.

Figura 4- Frascos de Nitrato de Prata P.A e Dextrose Anidra USP



Fonte: Elaborado pela autora.

Quadro 02- Proporção utilizada para a caracterização com o nitrato de prata em diferentes molaridades

| Molaridade | $\text{AgNO}_3$ | Dextrose Anidra |
|------------|-----------------|-----------------|
| 10 mM      | 0,0423 g        | 0,0450 g        |
| 30mM       | 0,12740 g       | 0,13512 g       |

Fonte: Elaborado pela autora.

Após 30 minutos 50 ml de uma solução de carbonato de sódio e água destilada, foi adicionada a solução de sílica com prata, gota a gota, e agitada por mais 1 hora.

Quadro 03- Proporção utilizada para a elaboração da solução de carbonato de sódio

| Molaridade | Quantidade de $\text{Na}^2\text{CO}^3$ | Quantidade de $\text{H}^2\text{O}$ |
|------------|----------------------------------------|------------------------------------|
| 10 mM      | 0,0529 g                               | 50 ml                              |
| 30 mM      | 0,1589 g                               | 50 ml                              |

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 5- Solução de Carbonato de sódio sendo adicionada gota a gota com o auxílio de um conta-gotas sobre a solução de sílica com nitrato de prata



Fonte: Elaborado pela autora.

As partículas foram separadas usando uma centrífuga, (9.000 rpm, a  $10^{\circ}\text{C}$ , por 5 minutos), e lavadas com água destiladas três vezes para remoção das partículas sobrenadantes de prata. O precipitado foi seco em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  e então refinado em almofariz de ágata.

Figura 6- Almofariz de Ágata



Fonte: Elaborado pela autora.

### 4.3 Caracterização das nanopartículas

As amostras foram caracterizadas através de microscopia eletrônica de varredura (equipamento Zeiss, modelo DSM, UNESP- ICT), espectrometria de energia dispersiva de raios-X – EDS (equipamento Zeiss, modelo DSM, UNESP- ICT) e espalhamento de luz dinâmico (Delsa™ Nano Submicron. Particle Size and Zeta Potential. Particle Analyzer. Delsa™ Nano UI Software Version 3.73, UNIFESP).

O microscópio eletrônico de varredura ou microscópio eletrônico de varrimento (MEV) é um tipo de microscópio eletrônico capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície de uma amostra. Devido a maneira com que as imagens são criadas, imagens de MEV tem uma aparência tridimensional característica e são úteis para avaliar a estrutura superficial de uma dada amostra.

A Espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS) tem como objetivo fazer uma análise elementar e caracterização química da amostra. Sua capacidade de caracterização deve-se, em grande parte, ao princípio fundamental de que cada elemento possui uma estrutura atômica única, de modo que os raios-X emitidos em interação com a matéria mostram características desta estrutura, o que acaba identificando os diferentes elementos.

O espalhamento de luz dinâmico (DLS) às vezes chamado de espalhamento de luz quasi elástico (QELS) é uma técnica não invasiva e bem estabelecida de medição do tamanho e da distribuição do tamanho de moléculas e partículas, normalmente na região dos submicrométricos e com a tecnologia mais recente, menores do que 1 nm. Em geral, o espalhamento de luz dinâmico é aplicado na caracterização de partículas, emulsões e moléculas que foram dispersas ou dissolvidas em um líquido. O movimento browniano das partículas ou moléculas em suspensão faz com que a luz laser seja espalhada com intensidades diferentes. A análise dessas flutuações de intensidade resulta na velocidade do movimento browniano e assim, o tamanho de partícula usando a relação Stokes-Einstein.

Estes testes mostram-se importantes para uma vasta caracterização do material, permitindo assim o conhecimento de sua exata composição.

#### **4.4 Concentração inibitória mínima**

Na microbiologia, a concentração inibitória mínima é a concentração mais baixa de um produto químico que impede o crescimento visível de um agente microbiano. Ou seja, ele avalia a característica bacteriostática do produto químico, definindo assim a sensibilidade do agente microbiológico ao produto testado. Este teste mostrou-se importante diante este estudo já que define a quantidade de produto que deverá ser acrescentada a resina acrílica para a mesma apresentar uma atividade antimicrobiana. Para isto a partícula foi testada isoladamente primeiro, sem a sua adição na resina acrílica, reembasador macio ou glaze.

Duas soluções de sílica com prata de 10 e 30 milimols foram preparadas, adicionando-se água Miliq aos pós, com concentração de 4000 ppm.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pelo método da diluição em meio líquido, usando-se uma escala com concentrações crescentes das nanopartículas de prata diluídas em soluções, 2.000, 1.000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81, 3,90 ppm. As amostras de *Streptococcus mutans*, foram cultivadas em caldo nutritivo (BHI) incubadas em estufa a 37°C por 18-20 horas, após este período as linhagens foram subcultivadas, utilizando-se 30 µl do

crescimento bacteriano em 30 ml de caldo Mueller Hinton (DIFCO, 21 g/l), e incubadas novamente a 37°C por 1 hora, obtendo-se um inoculo de 10<sup>5</sup> UFC/ml, por método de contagem padrão. Foram distribuídas 1,8 ml da cultura em tubos de hemólise, em seguida, foram adicionadas 0,2 ml da solução das nanopartículas de sílica com prata. Os tubos serão agitados vigorosamente e incubados por 24 horas a 37°C. Foi considerada como Concentração Inibitória Mínima (CIM) a menor concentração da solução de nanopartículas de sílica com prata que inibiu completamente o crescimento bacteriano, através da observação visual, onde foi constatado que a nanopartícula possui efeito antimicrobiano até a concentração de 2%.

Para a análise da concentração inibitória na *Candida albicans* foi utilizada uma suspensão da cepa de *C. albicans* proveniente da American Type Culture Collection, cultivada em Meio de ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, EUA) e incubada a 37°C durante 48 horas. Os microorganismos foram suspensos em solução salina estéril (NaCl 0,9 %). Foram distribuídas 1,8ml da cultura em tubos de hemólise, em seguida, serão adicionadas 0,2 ml da solução das nanopartículas de sílica com prata. Os tubos serão agitados vigorosamente e incubados por 24 horas a 37° C. Foi considerada como Concentração Inibitória Mínima (CIM) a menor concentração da solução de nanopartículas de sílica com prata que inibiu completamente o crescimento microbiano, através da observação visual.

#### **4.5 Concentração inibitória mínima com amostras cilíndricas**

Biofilmes são comunidades microbiológicas ligadas a superfícies, que podem ser encontrados em ambientes médicos, industrial e natural. Em meio bucal os biofilmes são agregações complexas de bactérias, que segregam uma *matriz adesiva protetora*. Os biofilmes formam-se virtualmente em qualquer situação onde haja contato de sólidos e líquidos ou sólidos e gases. Em pacientes com uma higienização bucal ou da área interna da prótese precária, estas bactérias tendem a se instalar e crescer, já que o ambiente úmido se torna oportuno para as mesmas.

Frente a elucidar qual a capacidade antimicrobiana da sílica revestida com

prata em ambiente bucal, este teste fez-se necessário, já que nos mostra uma previsão do quão bom e eficaz o mesmo será em contato com o material e as bactérias e fungos que estarão presentes em condições bucais.

Foram confeccionadas amostras em formato cilíndrico, com 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura em resina acrílica rígida e reembasador macio. Para obtermos o formato cilíndrico, utilizou-se um dispositivo metálico com 2 mm de espessura, contendo 12 perfurações, com 10 mm diâmetro cada. Preencheu-se a base da mufla metálica com uma base em silicone para laboratório (Zetalabor (Zhermack, Badia Polesine, Itália) e a mesma foi preenchida com gesso. Após completada a presa do gesso foi aplicada uma fina camada de isolante para resina acrílica, posicionando o dispositivo metálico, e sobre ele uma nova base em silicone.

Depois realizamos o preenchimento da contra mufla. Após a presa do gesso, as muflas foram abertas, e com as partes separadas, fizemos uma nova aplicação de isolante para resinas acrílicas com o uso de um pincel, sobre toda área de superfície exposta do gesso, metal e silicone. A manipulação e inserção da resina acrílica foi realizada, assim como a prensagem e polimerização. Para confecção das amostras de reembasador soft o mesmo dispositivo metálico foi colocado sobre uma placa de vidro, o material foi inserido em seus orifícios com o auxílio de uma seringa para evitar a incorporação de bolhas e posicionada uma nova placa de vidro. Sobre o conjunto foi realizada uma pressão de 350 g.

Figura 7- Confecção das amostras em resina acrílica para ensaios microbiológicos



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 8- Confeção das amostras em reembasador macio Soft Confort e em resina acrílica para ensaios biológicos



Fonte: Elaborado pela autora.

Após a polimerização os mesmos foram removidos com o auxílio de um dispositivo cilíndrico. Todas as amostras receberam acabamento, com lixa d'água com granulação 180, foram limpas em ultrassom com água destilada por 5 minutos, e armazenadas em água destilada por 48 horas.

Para a aplicação do glaze foram confeccionadas 10 amostras em reembasador macio, seguindo a mesma metodologia, e após a sua polimerização, realização do acabamento e limpeza das peças foram aplicadas duas camadas de glaze, com o auxílio de um microbrush, em todas as superfícies das amostras. Para a incorporação das nanopartículas de prata na solução do glaze que acompanha o kit de reembasador, o mesmo foi dividido em 4 frascos com duas porcentagens diferentes 2.5% e 5% e com duas molaridades diferentes. As partículas foram incorporadas e mantidas em agitador magnéticas por 24 horas, e posteriormente aplicadas nas peças de reembasador macio.

Figura 9- Frascos com as diferentes porcentagens e molaridades do glaze, com agitador magnético



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 10- Glaze incorporando as nanopartículas de sílica revestidas por prata no agitador magnético



Fonte: Elaborado pela autora.

Após este período as amostras foram limpas novamente em ultrassom por 5 minutos e secas. As amostras então foram submetidas à esterilização em autoclave, a 126° C por 15 minutos, e submetidas aos testes microbiológicos.

Para a análise os espécimes de resina acrílica estéreis foram inseridos em

placas de 24 poços (Costar Corning, New York, EUA) e em seguida 2 mL de meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) caldo foram inseridos em cada poço com amostra. Um inóculo de 100 µL da suspensão de *C. albicans* e *Streptococcus mutans* foi colocado em cada poço para a formação do biofilme. Após 24 horas, o meio de cultura foi retirado, foram feitas 2 lavagens dos poços com solução salina estéril e 2 mL de meio fresco foi acrescentado. As placas foram incubadas novamente por 24 horas, resultando num biofilme de 48 horas.

Em seguida, os espécimes foram removidos do tubo e lavados em soro fisiológico estéril, para remoção de microorganismos fracamente aderidos à superfície da resina. Na sequência os espécimes serão imersos em 10 mL de solução salina estéril e sonicados por 30 segundos em homogeneizador ultrassônico (Sonopuls HD 2200, 50 W, Bandelin Electronic, Heinrichstraße, Berlin, Germany), com 25% de potência, a fim de desagregar o biofilme aderido à superfície da resina. Uma alíquota de 100 µL dessa suspensão foi então utilizada para a obtenção de 3 diluições (10<sup>-2</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-6</sup>), semeadas em placas com ágar Sabouraud dextrose, em triplicata.

#### **4.6 Confeção das amostras para ensaio de flexão**

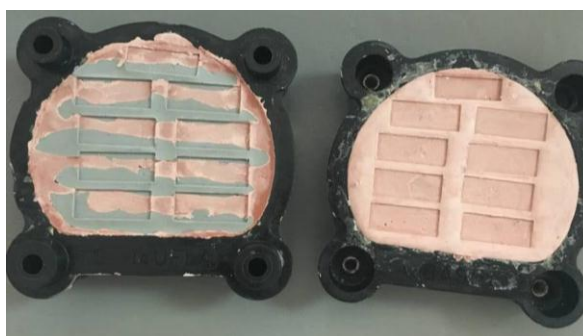
Para os testes de resistência a flexão foram confeccionados corpos de prova em formato retangular 30 mm x 10 mm x 3 mm de resinas acrílicas rígidas. Para a confecção das barras foram utilizados padrões metálicos, com as dimensões de 31 mm x 11 mm x 3.5 mm. Estas medidas foram propositalmente maiores que as exigidas para os corpos de prova, para permitir o correto acabamento das peças sem que se comprometessem os valores finais de dimensionamento. Foram confeccionados 20 corpos de prova, sendo que 04 como controle, 08 com a adição da concentração de 10 mMol de nitrato de prata e outros 08 com 30 mMol de nitrato de prata.

Para a confecção dos espécimes em resina acrílica foram utilizadas muflas metálicas. Iniciou-se a inclusão pela base da mufla, a qual foi totalmente preenchida por gesso tipo II. Logo após a perda de brilho do material, posicionou-se os padrões

metálicos, de modo que apenas o lado de maior área ficasse em íntimo contato com a superfície do gesso. Completada a presa do gesso aplicou-se uma fina camada de isolante para resina acrílica. Na sequência, foi utilizado um silicone de polimerização por condensação Labormass. O silicone, por ser um material elástico, possibilitou a posterior remoção da peça sem maiores dificuldades. Dada a polimerização do silicone, fez-se a deposição do gesso comum na contra-mufla de modo convencional. Após a presa do gesso, procedeu-se a abertura das muflas e a remoção dos padrões metálicos (figura 11). Com as partes da mufla separadas, fez-se uma nova aplicação de isolante para resinas acrílicas com o uso de um pincel, sobre toda área de superfície do gesso exposta.

Foi utilizada a resina acrílica quimicamente ativada VIPI Fast incolor. Para os grupos que continham as nanopartículas, realizou-se a mistura dos pós, de acordo com as duas diferentes concentrações 2,5% e 5%, e então adicionou-se 10 ml de monômero, em um pote de vidro com tampa. Aguardou-se a fase plástica da resina e a mesma fora acomodada nos espaços deixados pelos padrões metálicos. No grupo controle (sem nanopartículas) manteve-se a proporção 21 gramas de pó para 10 ml de monômero. Na sequência, as muflas foram fechadas e posicionadas em prensas hidráulicas, para prensagem lenta e gradual, até que não houvesse escoamento da resina e estabilizada em 1000 Kgf. Essa pressão foi mantida por 1 hora, seguindo-se a transferência das muflas para prensas manuais. Após o tempo de polimerização da resina as amostras receberam acabamento e polimento.

Figura 11- Confeção das amostras para o teste de flexão



Fonte: Prof. Adj. Tarcisio José de Arruda Paes Júnior.

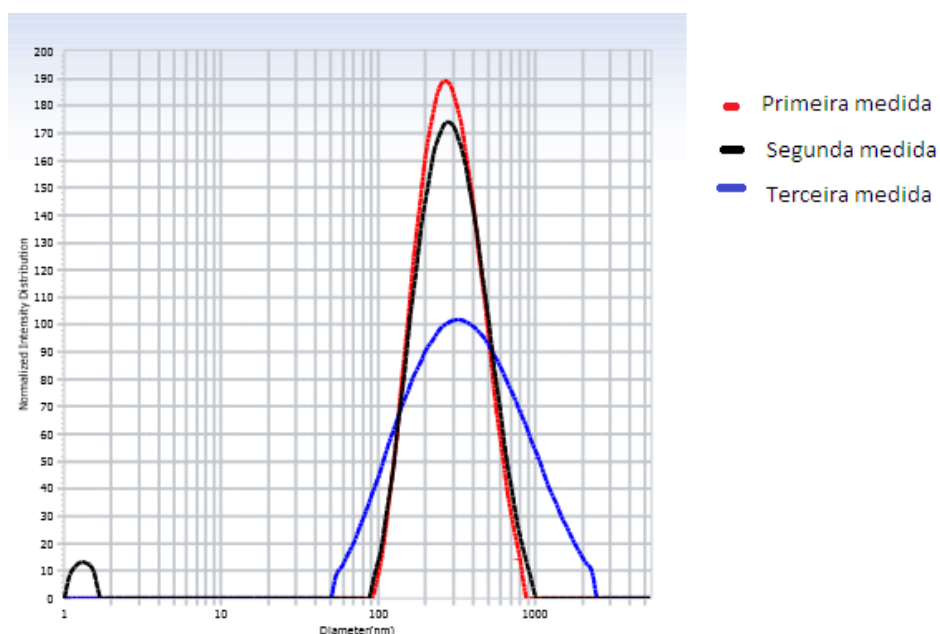
## 5 RESULTADO

Os resultados foram divididos em 3 categorias. Primeiramente com a caracterização do material, onde foi definida a sua estrutura, composição e as suas dimensões. A segunda fase, composta pelos testes microbiológicos, previamente com o resultado do teste de concentração inibitória mínima, que determinou a eficácia antimicrobiana das partículas isoladas, e em um segundo momento o teste de concentração inibitória mínima com a confecção das amostras cilíndricas, que confirmaram a eficácia antimicrobiana das partículas adicionadas a resina acrílica, ao reembasador macio e ao glaze. Os resultados dos testes mecânicos de flexão de 3 pontos determinaram se as partículas interferem de maneira negativa, positiva ou nula na resistência mecânica das resinas acrílicas. Característica de suma importância para o sucesso na elaboração de próteses a base de resina acrílica.

### 5.1 Caracterização

As nanopartículas de sílica foram previamente medidas pelo equipamento de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), que se encontra no laboratório de física da Universidade Federal do Estado de São Paulo (UNIFESP). O aparelho realiza três medições em sequência enquanto as nanopartículas estão dispersas em ambiente aquoso. A primeira linha azul demonstra a primeira medida onde foram encontradas aproximadamente 90 partículas com 500 nanômetros. Já as linhas em coloração preta demonstram que existia um pequeno grupo com menos de 10 nanômetros de diâmetro e um segundo grupo com 170 nanopartículas com aproximadamente 300 nanômetros de diâmetro. E o grupo mais significativo com a maior concentração de nanopartículas está demonstrado pela linha vermelha, onde foram encontradas 190 partículas com aproximadamente 250 nanômetros de diâmetro.

Figura 12- Gráfico com a distribuição dos tamanhos das nanopartículas de sílica



Fonte: Elaborado pela autora.

As partículas de menor diâmetro fornecem resultados de caracterização positivos, já que a incidência de incorporação de nitrato de prata tende a ser maior, devido a energia de superfície da partícula de sílica.

Figura 13- Imagem Macroscópica da sílica anteriormente a sua caracterização



Fonte: Elaborado pela autora

As nanopartículas de sílica apresentavam-se em forma de pó, de coloração branca, com o aspecto afilado e ralo, sem precipitados ou grânulos acinzentados.

Após a sua caracterização com nitrato de prata, as mesmas mostraram-se com uma grande variação em sua coloração, com um aspecto amarelado, onde, a amostra com 10 mM encontrava-se um tom mais claro do que a amostra com 30 mM.

Figura 14- Partículas de sílica incorporadas com nitrato de prata



Fonte: Elaborado pela autora.

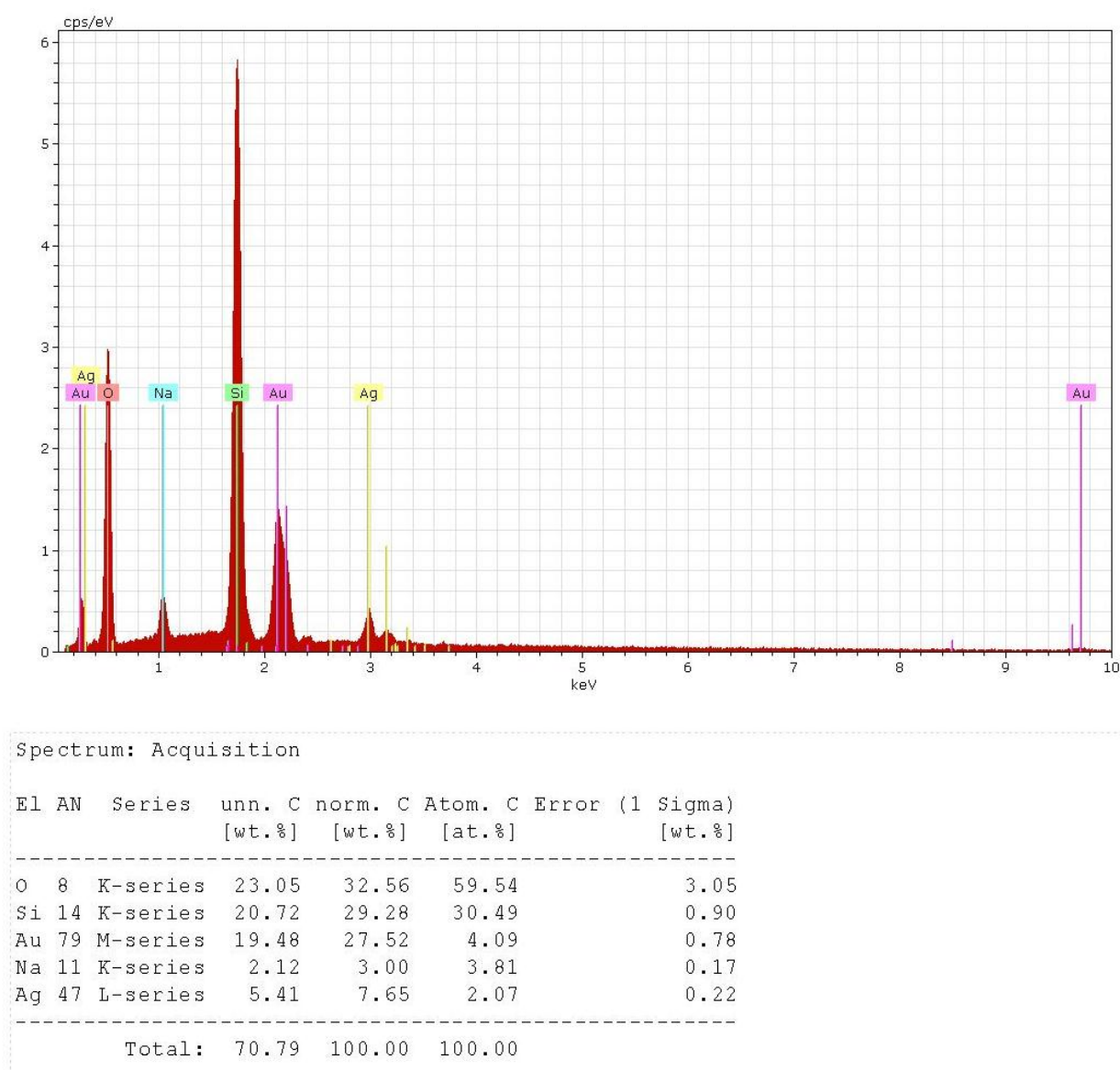
O nitrato de prata apresenta-se como um sal inorgânico e forte agente oxidante.

De acordo com a coloração das amostras, está evidente a presença de nitrato de prata na composição do pó, já que o mesmo se apresentava esbranquiçado e logo após a deposição do mesmo, apresentou-se acinzentado. Esta variação de coloração deve-se ao grande poder de oxidação da prata, principalmente em contato com a luz.

## 5.2 Energia dispersiva de raios-X integrado (EDS)

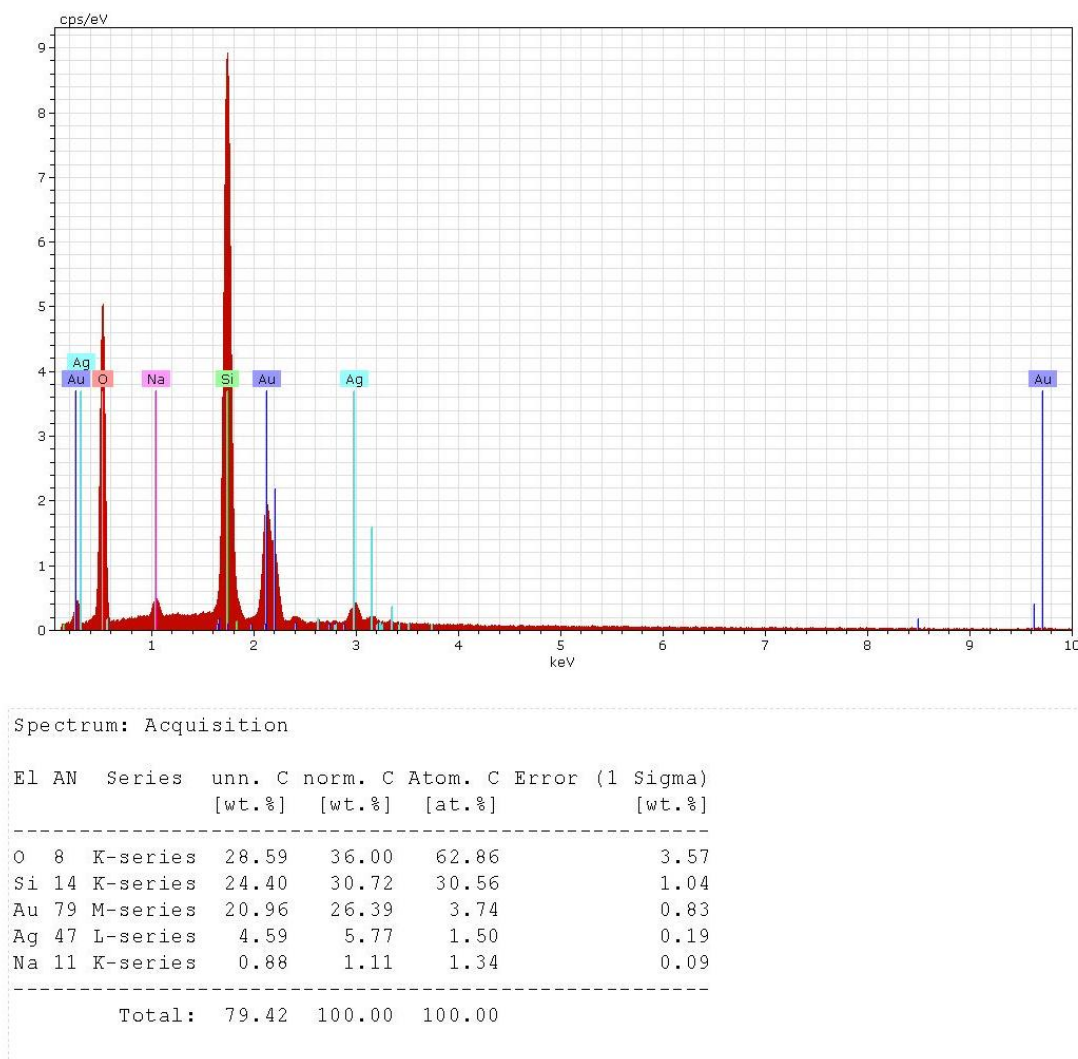
A análise por energia dispersiva de raios- x confirmou a presença do nitrato de prata nas concentrações de 10 e 30 mMols.

Figura 15- Gráfico do EDS, da amostra de 30 mM, mostrando picos de sódio e prata



Fonte: Elaborado pela autora.

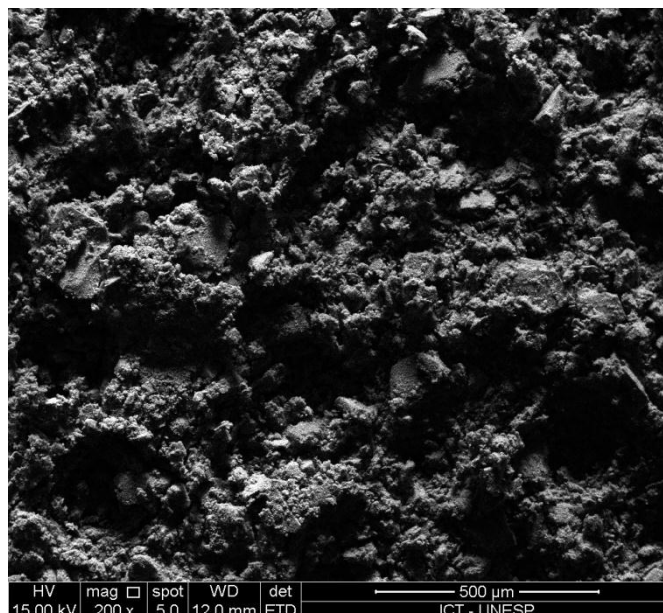
Figura 16- Gráfico do EDS, da amostra de 10 mM, mostrando picos de sódio e prata



Fonte: Elaborado pela autora.

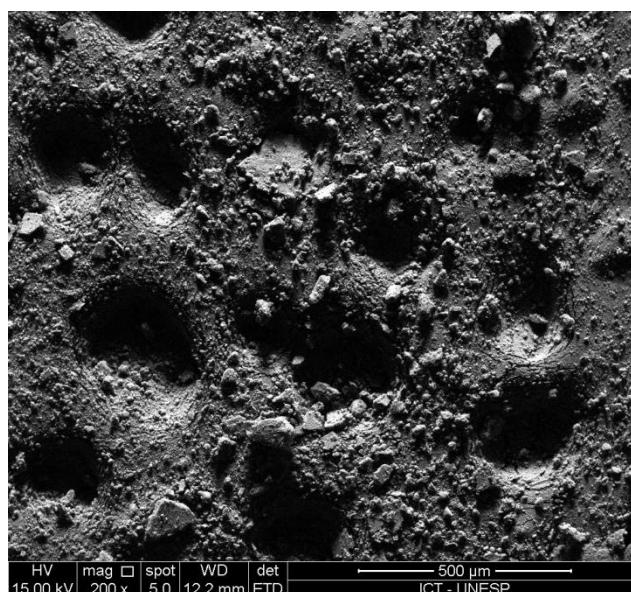
Os resultados mostraram-se compatíveis com as diferentes concentrações de molaridade do nitrato de prata. Na amostra com 30 mMol de nitrato de prata podemos observar uma maior concentração de partículas de prata e uma menor concentração de sódio, já a amostra com 10 mMol de nitrato de prata apresenta uma maior concentração de sódio e uma menor concentração de nitrato de prata. A presença do ouro deve-se à metalização da amostra para a análise em microscópio eletrônico de varredura, já a presença do sódio deve-se a incorporação do carbonato de sódio.

Figura 17- Imagem obtida através de Microscopia Eletrônica de Varredura, aumento de 200x. Amostra de sílica com 30 mM de Nitrato de prata



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 18- Imagem obtida através de Microscopia Eletrônica de Varredura, aumento de 200x. Amostra de sílica com 10 mM de Nitrato de prata



Fonte: Elaborado pela autora.

Na imagem 17 podemos perceber que as partículas encontradas com 30 mMol de nitrato de prata apresentavam-se maiores do que as encontradas na figura 18. Já que na figura 18 é possível ver as rugosidades da fita de carbono adaptando as nanopartículas. As partículas com 10 mMol de nitrato de prata apresentavam-se menos densas.

### 5.3 Concentração Inibitória Mínima

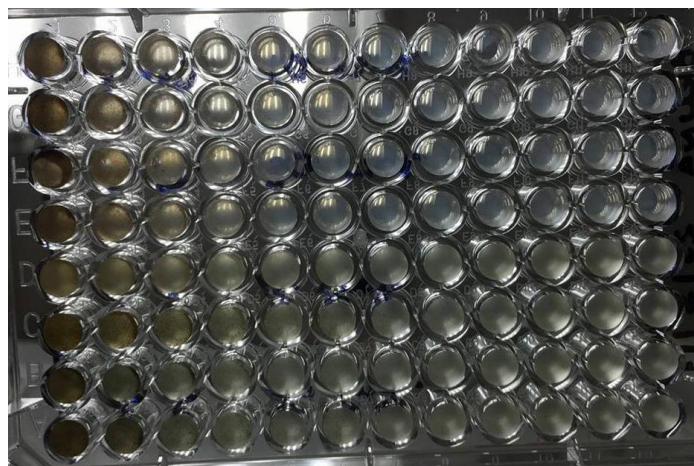
A concentração mínima inibitória da solução de nanopartículas de sílica com prata contra *C. albicans* e *S. mutans* foi determinada avaliando-se primeiramente a turvação do meio.

Figura 19- Placa com os poços nas duas diferentes concentrações de prata e contra os dois agentes microbianos



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 20- Placa com poços após 24 horas de incubação

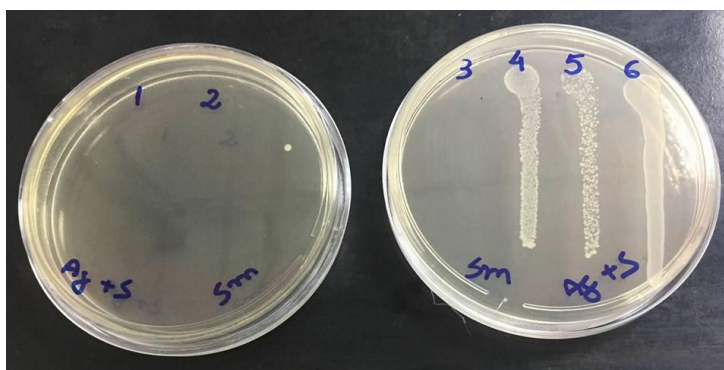


Fonte: Elaborado pela autora.

Após as 24 horas de incubação da placa em estufa, foi verificado que devido a coloração do pó de nanopartículas de sílica com prata todos os poços encontravam-se turvos e para confirmar o poder antimicrobico da solução, as mesmas foram semeadas em placas de Petri por 72 horas.

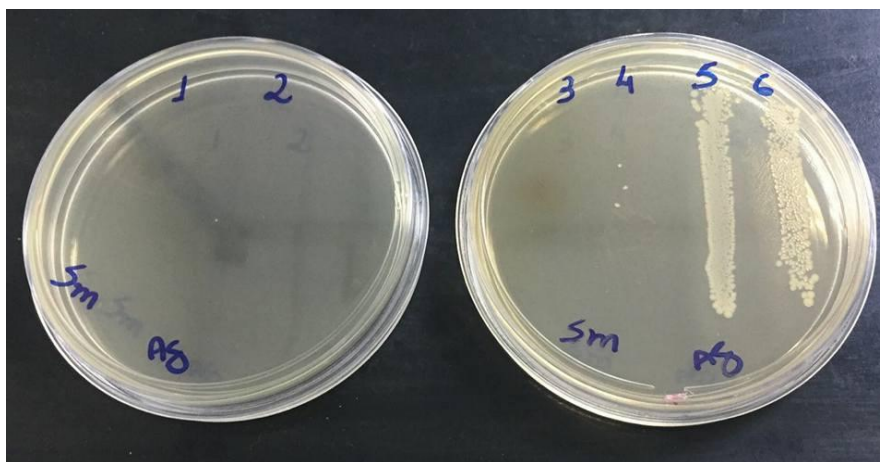
O efeito antimicrobico da solução foi confirmado em diferentes concentrações.

Figura 21- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 10mM contra *Streptococcus mutans*. Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobico ocorreu nas concentrações 1, 2 e 3



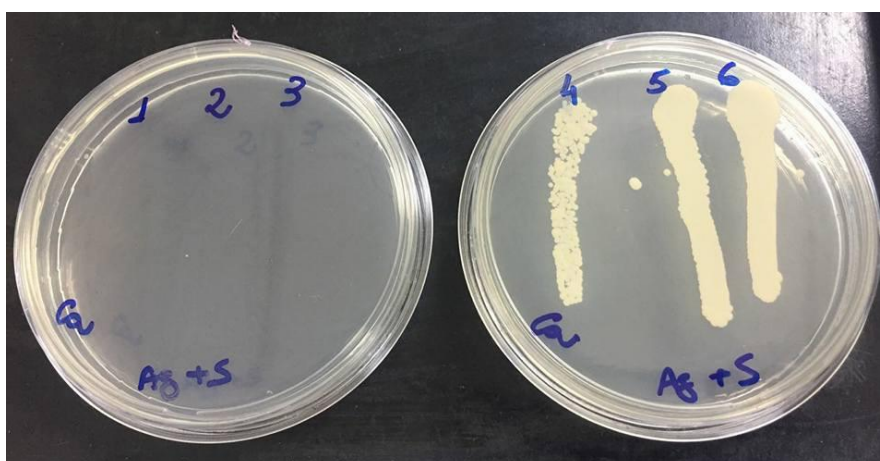
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 22- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 30mM contra *Streptococcus mutans*. Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2, 3 e 4



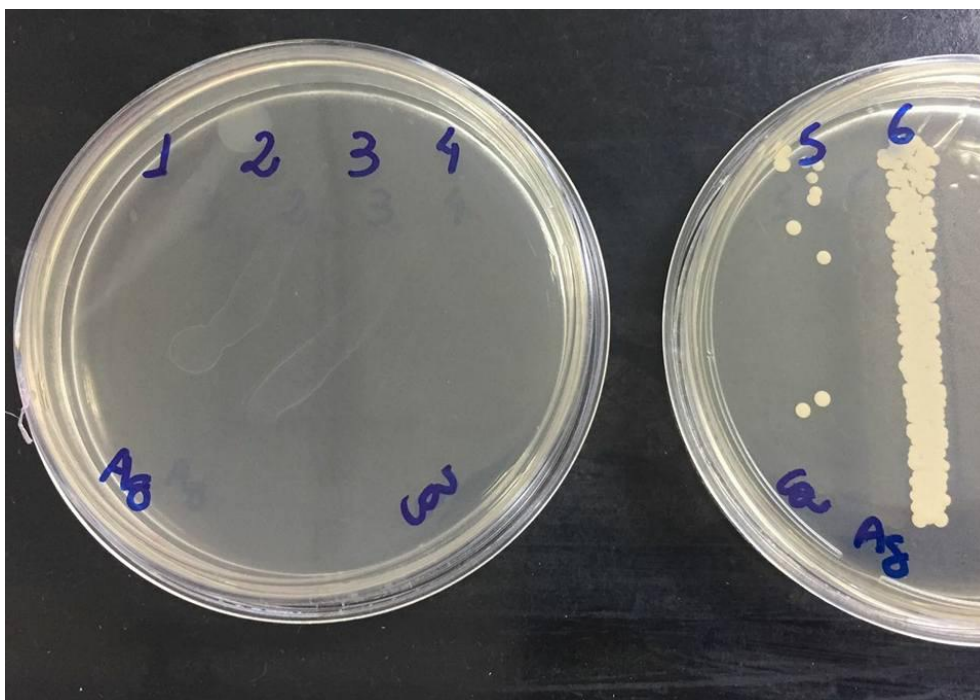
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 23- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 10mM contra *C. albicans*. Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2, e 3



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 24- Placa de Petri com a semeadura de Sílica caracterizada com prata na concentração de 30mM contra *C. albicans*. Nas concentrações de 20% (1), 10% (2), 5% (3), 2,5% (4), 1,25% (5), 0,625% (6). O efeito antimicrobica ocorreu nas concentrações 1, 2, 3 e 4



Fonte: Elaborado pela autora.

Nas duas concentrações (10mM e 30 mM) a prata mostrou-se eficaz até a concentração de 5%, tanto para a *C. albicans* como para o *S. mutans*. Na concentração de 30 mM ela mostrou-se um pouco mais eficaz, chegando até a concentração de 2,5% para os dois agentes microbianos.

Com estes resultados microbiológicos definimos em quais concentrações incorporaremos as nanopartículas de prata na resina acrílica quimicamente ativada, no reembasador macio e ao glaze, para posteriormente realizarmos os testes de formação de biofilme e os testes mecânicos.

#### 5.4 Concentração inibitória mínima com amostras cilíndricas

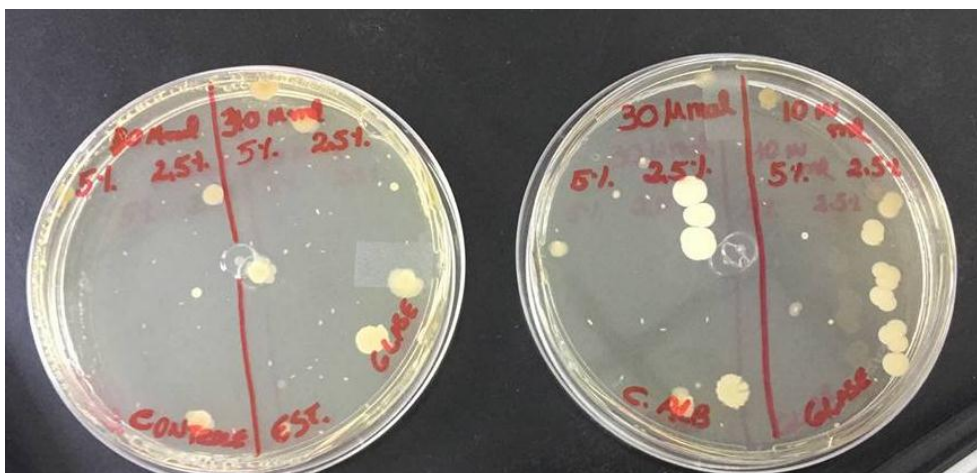
Para confirmar a concentração inibitória mínima e o efeito antimicrobica das partículas incorporadas nas amostras, foi realizado o teste de concentração inibitória mínima com as amostras cilíndricas. Para isto, duas amostras cilíndricas de cada grupo foram selecionadas e adicionadas em uma placa de 24 poços em meio de cultura. Elas foram divididas em dois grandes grupos de microrganismos, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, e posteriormente incubadas por 24 horas. Após esse período foram semeadas em placas de petri, para a constatação de seu efeito antimicrobiano.

Figura 25- Placas de petri semeadas com as amostras de reembasador macio, nas duas molaridades e nas duas diferentes concentrações, contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Demonstrando efeito antimicrobica em todas as amostras contra *C. albicans* e nenhum efeito antimicrobiano contra *S. mutans*



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 26- Placas de petri semeadas com as amostras de Glaze nas duas molaridades e nas duas diferentes concentrações, contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Eficácia antimicrobiana comprovada em todas as amostras contra *S. mutans*, e nas porcentagens de 5% contra *C. albicans*



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 27- Placas de petri semeadas com as amostras de Glaze e Reembasador macio nas duas molaridades e nas duas diferentes concentrações, contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Eficácia antimicrobiana comprovada para o reembasador macio nas duas molaridades e concentrações contra *S. mutans*



Fonte: Elaborada pela autora.

### 5.5 Resistência a flexão de 3 pontos

Figura 28- Amostras do grupo controle e do grupo de 30 mMol com concentração de 5% preparadas para o ensaio de flexão



Fonte: Elaborada pela autora.

As médias do resultado de flexão por 3 pontos estão exemplificados no quadro abaixo, não apresentando diferença estatisticamente significativa na análise de variância ( $p=0,128$ ).

Quadro 4- Médias dos grupos para resistência flexural de 3 pontos.

| Grupos         | Média MPa | Desvio Padrão | Mínimo | Máximo |
|----------------|-----------|---------------|--------|--------|
| Grupo controle | 86,23     | 1,17          | 81,78  | 93,51  |
| 10 mMol 2,5%   | 83,42     | 4,70          | 76,40  | 89,62  |
| 10 mMol 5%     | 84,19     | 2,23          | 82,39  | 88,19  |
| 30 mMol 2,5%   | 82,04     | 6,32          | 79,53  | 91,58  |
| 30 mMol 5%     | 86,49     | 2,57          | 83,21  | 89,07  |

Fonte: Elaborado pela autora

## 6 DISCUSSÃO

Este trabalho foi executado com o intuito de estudar novos materiais que desempenhassem atividade antimicrobiana para pacientes usuários de próteses, sejam estas totais, parciais, removíveis ou temporárias, que em algum período da vida apresentaram um quadro de estomatite protética, tendo em vista a sua alta prevalência e incidência (Webb et al., 1998).

Nos últimos anos foram realizados inúmeros estudos com diversos tipos de materiais antimicrobianos, sendo que os materiais nanométricos trouxeram uma nova perspectiva para a odontologia. Entre eles estão os materiais conhecidos como core-shell, ou núcleo-casca que são amplamente utilizados na indústria farmacêutica e têxtil (Nischala et al. 2011; Lessard-Viger et al. 2009), e que permitem que nanopartículas de prata revistam nanopartículas de sílica. As nanopartículas são materiais com estrutura variando de 1-100 nm. Um nanômetro é definido como um bilionésimo de metro. Estas apresentam propriedades físicas e químicas (óptica, magnética, catalítica, termodinâmica e eletroquímica) diretamente dependentes de seu tamanho, assim como sua composição química e formatos influenciam nestas propriedades específicas. Elas podem ser preparadas com polímeros orgânicos (nanopartículas orgânicas) e / ou elementos inorgânicos (nanopartículas inorgânicas) (Sanvicens e Marco, 2008).

Tendo em vista isso, optou-se neste trabalho por desenvolver nanopartículas de sílica revestidas por nanopartículas de prata, aliando a atividade antimicrobiana do nitrato de prata tentando diminuir o seu manchamento com a adição da sílica, um fator que gera grande prejuízo estético em reabilitações orais.

A síntese das nanopartículas de sílica foi realizada pelo método de Stober (Stober et al., 1968), que utiliza a amônia como um catalizador para a síntese da sílica. Esse método proporcionou obter partículas de tamanhos nanométricos com grande energia superficial, o que melhorou a incorporação das nanopartículas de prata que aderiram logo após a adição das soluções de nitrato de prata, carbonato de sódio e dextrose equimolar à suspensão de sílica coloidal. Os íons de prata formado aderem a sílica por interação eletrostática entre as cargas negativas dos grupos silanois formados. As características finais apresentadas pelas

nanopartículas estão de acordo com os resultados apresentados por Zhang et al. (2017) que analisaram nanopartículas revestidas por prata. As análises por EDS e MEV nos permitiram constatar as diferentes molaridades de nitrato de prata, e o DLS nos permitiu verificar o tamanho das nanopartículas através do espalhamento de luz dinâmica.

Diversos estudo sugerem que a adição de nanopartículas de sílica à materiais odontológicos geram resultados mecânicos positivos, quando a incorporação vai de 0,1% a 1% (da Silva et al. 2012; Mc Nally et al. 2006), já a incorporação de partículas de prata não gera alterações significativas nas propriedades mecânicas dos materiais nas concentrações de 0,05% a 5% segundo Monteiro e colaboradores (2012). Estes resultados condizem parcialmente com os resultados obtidos nesse estudo, já que não houve melhora mecânica nas propriedades dos materiais estudados. Porém, as características mecânicas dos materiais também não foram alteradas negativamente, estes dados sugerem que a incorporação das nanopartículas pode tornar-se- se viável no dia a dia clínico, não influenciando negativamente as propriedades mecânicas dos materiais.

Ao considerar as características estéticas dos materiais, a adição das nanopartículas, principalmente na resina acrílica, gerou uma alteração nas características visuais das amostras. Porém a adição aos reembasadores macios e ao glaze não mostraram grandes alterações na aparência original dos materiais, visto que estes materiais são de uso provisório e aplicados entre a mucosa e a prótese dentária, área onde a estética não é tão priorizada quanto o conforto e bem-estar do paciente.

Em relação aos testes microbiológicos, foco principal deste estudo, o primeiro passo foi determinar a concentração inibitória mínima das nanopartículas de sílica revestidas por prata, para isto a partícula foi testada isoladamente, sem a sua adição na resina acrílica, reembasador macio ou glaze. Isso nos permitiu verificar o poder antimicrobiano das partículas e com isso determinar quais seriam as melhores concentrações a serem testadas incorporadas nas amostras. Após a execução do teste foram estabelecidas duas concentrações 2,5% e 5%, ponderando-se o efeito antimicrobiano e os possíveis danos estéticos. Os estudos de Li et al. (2014), demonstraram que resinas acrílicas modificadas por nanopartículas de prata, só apresentaram atividade antifúngica na concentração de 5%. Entretanto, Chladek et

al. (2011) obtiveram eficácia antifúngica em reembasador modificado por prata em concentrações a partir de 10 ppm (0,001%). Nam (2011) relata ter redução na formação do biofilme de *C. albicans* em resina acrílica com concentrações a partir de 0,5% e Acosta-Torres et al. (2012), a partir de 1µg/ml. Estas diferenças nas concentrações podem ser explicadas pelos diferentes métodos de síntese utilizados, obtendo-se assim partículas com propriedades diferentes.

O mecanismo de ação antimicrobiana da prata ainda não foi totalmente explicado, mas sabe-se que tanto os íons como as nanopartículas podem atuar sobre a membrana plasmática (Knetsch e Koole 2011, Volker et al. 2013). Quando a partícula apresenta um tamanho muito reduzido, menor que 10 nm, ela é capaz de penetrar no interior da célula e alterar seu metabolismo, levando a morte celular. (Morones et al. 2005). Embora a literatura apresente alguns estudos quanto avaliação antimicrobiana de partículas de prata contra *C. albicans* e *S. mutans* em polímeros para base de prótese, não foram encontrados estudos sobre a incorporação de nanopartículas de sílica recobertas com nanopartículas de prata nestes materiais, ou avaliações antimicrobianas sobre eles.

Quanto a atividade antimicrobiana, os reembasadores macios e o glaze apresentaram resultados positivos, já a resina acrílica quimicamente ativada não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana nas duas concentrações e molaridades estudadas. Alguns estudos sugerem que a liberação de íons de prata para o meio seja um dos mecanismos de ação antimicrobiana (Kassaei et al. 2008; Kong et al. 2008). Essa liberação é baseada na difusão de moléculas de água para dentro do material e na migração de íons de prata através do polímero para o meio aquoso (Kong et al. 2008). Como o PMMA é um polímero hidrofóbico, a absorção de água pelo sistema pode ter sido insuficiente para a liberação dos íons. Por este mesmo motivo, obtivemos sucesso nas amostras de reembasador macio e glaze, já que a liberação de íons para o meio tornou-se muito mais viável, de acordo com a estrutura molecular do material.

O trabalho de Sacorague et al. (2015) avaliou a resistência mecânica de resinas acrílicas termicamente ativadas e reembasadores rígidos, quando nanopartículas de sílica revestidas por prata eram adicionadas aos materiais. Os resultados indicaram que para a resistência a flexão o fator concentração foi significativo, onde 2% afetou negativamente a resistência tanto em resina como em

reembasador, porém a adição das nanopartículas não alterou a molhabilidade da superfície dos materiais, nem a rugosidade, exceto do grupo de 30 mM de reembasador, em ambas concentrações. O mesmo trabalho avaliou as características antimicrobianas do material contra *Candida albicans*, porém não foi comprovada eficiência antimicrobiana nas duas concentrações de 0,5% e 2%.

Segundo Monteiro et al. (2011) o método de síntese das nanopartículas pode produzir melhores resultados, principalmente em testes de atividade planctônica. Além disso, a redução do tamanho das partículas de sílica, alterando-se a proporção de reagentes e silanização (Arantes et al. 2012) pode gerar melhor interação com as cadeias poliméricas e produzir uma maior área de superfície para atuação da prata. Devido a essa informação a medição das nanopartículas de sílica no início do trabalho foi de suma importância para que alcançássemos um resultado positivo nesta pesquisa, visto que, o método de obtenção das nanopartículas possui suma importância na aderência das partículas de prata na superfície a sílica.

Propõe-se para estudos futuros a verificação da liberação da prata em ambiente celular, visto que a interação celular pode ser prejudicada, levando a inviabilização da utilização deste material em ambiente bucal. Após esta verificação sugere-se o estudo deste novo material em ambiente bucal, em pacientes que possuam quadros de estomatite protética, e no controle da microbiota nociva aos tecidos isto considerando-se diversos tipos de próteses dentárias que empregam polímeros em sua execução.

## 7 CONCLUSÃO

- a) A síntese de nanopartículas de sílica revestidas por nitrato de prata pelo método proposto mostrou-se eficaz para a obtenção de materiais com características estruturais adequadas.
- b) Com a caracterização das nanopartículas foi possível confirmar a presença do nitrato de prata em ambas molaridades.
- c) O teste de concentração inibitória mínima demonstrou qual a concentração adequada para a incorporação das nanopartículas em materiais odontológicos, sendo esta de 2% a 7%.
- d) Com o teste de formação de biofilme foi constatado que as nanopartículas incorporadas ao glaze e ao reembasador macio obtiveram os melhores resultados antimicrobianos in vitro contra *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* em ambas concentrações e molaridades.
- e) A incorporação das nanopartículas na resina acrílica quimicamente ativada não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana.
- f) A característica mecânica testada da resina acrílica não foi significativamente alterada com a adição das nanopartículas.

## REFERÊNCIAS

- Acosta-Torres LS, Mendieta I, Nuñez-Anita RE, Cajero-Juarez M, Castaño VM. Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:4777-86.
- Anusavice JK, Shen C, Rawls HR. Compósitos de base resinosa (resinas compostas). In: Anusavice JK, Shen C, Rawls HR. *Phillips materiais dentários*. São Paulo: Elsevier; 2013. p 307-39.
- Anusavice JK. *Phillips materiais dentários*. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2005.
- Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil*. 1987;14(3):217-27.
- Assunção WG, Tabata LF, Nicolau EI. Avaliação in vitro da resistência à abrasão de diferentes dentes artificiais de resina armazenados em saliva artificial. *Revista de Odontologia da UNESP* 2006; 35(4): 285-291.
- Badra VV, Faraoni JJ, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Influence of different beverages on the microhardness and surface roughness of resin composites. *Oper Dent* 2005; 30(2): 213-219.
- Barbeau J, Séguin J, Goulet JP, de Koninck L, Avon SL, Lalonde B, et al. Reassessing the presence of candida albicans in denture related stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95(1):51–9.
- Bellon-Fontaine MN; Mozes N; Van Der Mei HC; Sjollem J; Cerf O; Rouxhet PG; Busscher HJ. A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell Biophys* 1990;17:93-106.
- Bonatti MR, Cunha TR, Regis RR, Silva-Lovato CH, Paranhos HF, de Souza RF. The effect of polymerization cycles on color stability of microwave-processed denture base resin. *J Prosthodont*. 2009;18(5):432-7.
- Boone ME. New materials and techniques in prosthodontics. *Dent Clin North Am*. 1983; 27(4):793-803.
- Borchers L, Tavassol F, tschernitschek H. Surface quality achieved by polishing and by varnishing of temporary crown and fixed partial denture resins. *J prosthet dent*. 1999 nov.; 82(5):550-6. 5.
- Brown D. Resilient soft liners and tissue conditioners. *Br Dent J*. 1988; 164(11): 357-60.

Budtz-Jørgensen E. Restoration of the partially edentulous mouth—a comparison of overdentures, removable partial dentures, fixed partial dentures and implant treatment. *Journal of Dentistry*. 1996;24(4):237–244. doi: 10.1016/0300-5712(95)00075-5.

Busscher HJ; Cowan MM; Van Der Mei HC. On the relative importance of specific and non-specific approaches to oral microbial adhesion. *Fems microbiol rev*1992;8:199-209.

Bürgers R, Eidt A, Frankenberger R, Rosentritt M, Schweikl H, Handel G, et al. 2009

Callister, William D. Jr. Ciência e engenharia de materiais: uma introdução. 5ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

Cerveira Netto H. Prótese total imediata. São Paulo: Pancast; 1987.

Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol*. 2010;28(11):580-8.

Christersson Ce, Dunford RG, Glantz PO, Baier RE. Effect of critical surface tension on retention of oral microorganisms. *Scand J Dent Res*. 1989 Jun.; 97(3):247-56.

Chladek G, Barszczewska-Rybarek I, Lukaszczuk J. Developing the procedure of modifying the denture soft liner by silver nanoparticles. *Acta Bioeng Biomech*. 2012;14(1):23-9.

Chladek G, Mertas A, Barszczewska-Rybarek I, Nalewajek T, Zmudzki J, Król W, et al. Antifungal activity of denture soft lining material modified by silver nanoparticles-a pilot study. *Int J Mol Sci*. 2011;12(7):4735-44.

Chladek G, Żmudzki J, Kasperski J. Long-Term Soft Denture Lining Materials. *Materials*. 2014;7(8):5816-42.

Corrêa JM, Mori M, Sanches HL, da Cruz AD, Poiate E Jr, Poiate IA. Silver nanoparticles in dental biomaterials. *Int J Biomater*. 2015;2015:485275.

Council on Dental Therapeutics: Guidelines for the acceptance of chemotherapeutic products for the control of supragingival dental plaque and gingivitis. *Journal of the American Dental Association*. v. 112, p. 529-532, 1986.

Covey DA, Tahaney SR, Devenport JM. Mechanical properties of heat-treated composite resin restorative materials. *J Prosthet Dent*. 1992 Sept.;68(3):458-61.

Craig RG; Powers JM. Materiais dentários restauradores. 11. ed. São Paulo: Ed. Santos, 2004.

Croll BM. Emergence profiles in natural tooth contour. Part I: photographic observations. *J. Prosthet Dent*. 1989; 62(1): 4-10.

da Silva LH, Feitosa SA, Valera MC, de Araujo MA, Tango RN. Effect of the addition of silanated silica on the mechanical properties of microwave heat-cured acrylic resin. *Gerodontology*. 2012 Jun;29(2):1019-23.

Daniluk T, Tokajuk G, Stokowska W, et al. Occurrence rate of oral *Candida albicans* in denture wearer patients. *Adv Med Sci*. 2006;51(Suppl 1):77–80.

Deng Z, Chen M, Wu L. Novel method to fabricate SiO<sub>2</sub> Ag composite spheres and their catalytic, surface-enhanced Raman scattering properties. *J Phys Chem C*. 2007;111(31):11692-8.

Devi P, Patil SD, Jeevanandam P, Navani NK, Singla ML. Synthesis, characterization and bactericidal activity of silica/silver core–shell nanoparticles. *J Mater Sci Mater Med*. 2014;25(5):1267-73.

Diaz-Arnold AM, Dunne JT, Jones AH. Microhardness of provisional fixed prosthodontic materials. *J Prosthet Dent* 1999; 82: 525-528.

Dootz ER, Koran A, Craig RG. Comparison of the physical properties of 11 soft denture liners. *J Prosthet Dent*.1992; 67(5): 707-12.

Douglass CW, Watson AJ. Future needs for fixed and removable partial dentures in the United States. *J Prosthet Dent*. 2002; 87(1):9-14

Douglass CW, Shih A, Ostry L. Will there be a need for complete dentures in the United States in 2020? *J Prosthet Dent*. 2002; 87(1):5-8

Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011;20(4):251-60.doi: 10.1111/j.1532-849X.2011.00698.x.

Goiato, Marcelo Coelho et al. Técnicas de reembasamento para prótese total. *Revista Odontológica de Araçatuba*, v. 34, n. 2, p. 61-66, 2013.

Goiato, M.C., Guiotti, A.M, Ribeiro, P.P, Santos, D.M, Antenucci, R.M.F. Materiais reembasadores: estudo da deformação inicial, permanente e porosidade. *Cienc Odontol Bras* 2007; 10(3): 44-52.

Hahnel S, Rosentritt M, Burges R, Handel G. Adhesion of streptococcus mutans NCTC 10449 to artificial teeth: an in vitro study. *J Prosthet Dent*. 2008;100(10):309-315.

Han Z, Zhu B, Chen R, Huang Z, Zhu C, Zhang X. Effect of silver-supported materials on the mechanical and antibacterial properties of reinforced acrylic resin composites. *Materials & Design*. 2015;(65):1245–52.

Haselton DR, Diaz-Arnold AM, Dawson DV. Effect of Storage Solution on surface roughness of provisional crown and fixed partial denture materials. *J Prosthodont* 2004; 13: 227-232.

Hebalkar NY, Acharya S, Rao TN. Preparation of bi-functional silica particles for antibacterial and self cleaning surfaces. *J Colloid Interface Sci.* 2011;364(1):24-30.

Holtz RD, Lima BA, Souza Filho AG, Brocchi M, Alves OL. Nanostructured silver vanadate as a promising antibacterial additive to water-based paints. *Nanomedicine.* 2012;8(6):935–40.

Kasraei S, Azarsina M. Addition of silver nanoparticles reduces the wettability of methacrylate and silorane-based composites. *Braz Oral Res.* 2012;26(6):505-10.

Kassaee MZ, Akhavan A, Sheikh N, Sodagar A. Antibacterial effects of a new dental acrylic resin containing silver nanoparticles. *J Appl Polym Sci.* 2008;110(3): 1699-1703.

Kim JH, Bryan WW, Randall Lee T. Preparation, characterization, and optical properties of gold, silver, and gold– silver alloy nanoshells having silica cores. *Langmuir.* 2008 a; 24(19): 11147-52.

Kim KJ, Sung WS, Moon SK, Choi JS, Kim JG, Lee DG. Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J Microbial Biotechnol.* 2008 b ; 18: 1482-1484.

Kimpara ET, Silva LH, Costa CB, Borges ALS, Tango RN, Paes Junior TJA . Resinas acrílicas para prótese total: efeito de ciclos de polimerização sobre a quantidade de monômero residual e porosidades. *RFO UPF.* 2009 ;14: 37-41.

Kiriyama T, Kuroki K, Sasaki K, Tomino M, Asakura M, Kominami Y, et al. Antibacterial properties of a self-cured acrylic resin composed of a polymer coated with a silver-containing organic composite antibacterial agent. *Dent Mater J.* 2013;32(5):679-87.

Knetsch, ML, Koole LH. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. *Polymers.* 2011;3(1):340-66.

Kong H, Jang J. Antibacterial properties of novel poly(methyl methacrylate) nanofiber containing silver nanoparticles. *Langmuir.* 2008; 24: 2051-6.

Kulak Y; Kazazoglu E. In vivo and in vitro study of fungal presence and growth on three tissue conditioning materials on implant supported complete denture wearers. *J Oral Rehabil* 1998;25:135-8.

Lessard-Viger M, Rioux M, Rainville L, Boudreau D, FRET enhancement in multilayer core–shell nanoparticles. *Nano Lett.* 2009; 9: 3066–71.

Li Z, Sun J, Lan J, Qi Q. Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Gerodontology.* 2014 Jul 28. doi: 10.1111/ger.12142

Lindhe, J. Tratado de periodontologia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara, 1983. 454p.

Lofti-Kamran MH, Jafari AA, Falah-Tafti A, Tavakoli E, Falahzadeh MH. Candida colonization on the denture of diabetic and non-diabetic patients. Dent Res J. 2009;6:23–7.

McCabe JF, Walls AWG. Materiais dentários diretos. 8. ed. São Paulo: Santos; 2006.

Mc Nally L, O'Sullivan DJ, Jagger DC. An in vitro investigation of the effect of the addition of untreated and surface treated silica on the transverse and impact strength of poly(methyl methacrylate) acrylic resin. Biomed Mater Eng. 2006;16(2):93-100.

Mima EG, Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Vergani CE, Spolidorio DM, Machado AL. Effect of different exposure times on microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside relined resin. J Prosthodont. 2008;17(4):312-7.

Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, de Camargo ER, Filho AC, Barbosa DB. Silver distribution and release from an antimicrobial denture base resin containing silver colloidal nanoparticles. J Prosthodont. 2012;21(1):7-15.

Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT et al. The bacterial effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005; 10: 2346-53.

Muzyka BC. Oral fungal infections. Dent Clin North Am. 2005;49(1):49-65.

Nam, KY. In vitro antimicrobial effect of the tissue conditioner containing silver nanoparticles. J Adv Prosthodont. 2011; 3(1): 20- 4.

Nadworny P.L., Wang J., Tredget E.E., Burrell R.E. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med. 2008;4:241–251.

Nevzatoglu EU; Ozcan M; Kulak-Ozkan Y; Kadir T. Adherence of Candida Albicans to denture base acrylics and silicone-based resilient liner materials with different surface finishes. Clin Oral Investig. 2007;11:231-6.

Nikawa H, Iwanaga H, Kameda M, Hamada T. In vitro evaluation of Candida albicans adherence to soft denture-lining materials. J Prosthet Dent. 1992a;68 (5):804-8.

Nikawa H, Sadamori S, Hamada T, Okuda K. Factors involved in the adherence of Candida albicans and Candida tropicalis to protein-adsorbed surfaces. An in vitro study using immobilized protein. Mycopathologia. 1992 b Jun;118(3):139-45.

Nischala K, Rao TN, Hebalkar N. Silica-silver core-shell particles for antibacterial textile application. Colloids Surf B Biointerfaces. 2011;82(1):203-8.

Oliveira R, Brum SC, Oliveira RS, Goyatá FR. Aspectos Clínicos Relacionados à Estomatite Protética. IJD. 2007; 6(2): 51-4.

Olsen I, Stenderup A. Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta OdontolScand*. 1990;48(1):11-8.

Paes Junior TJA, Carvalho PCK, Sacorague SCMC, Gonçalves FCP, Martinelli CSM. Indagações sobre as resinas acrílicas. In: Miyashita E. Reabilitação oral contemporânea baseada em evidências científicas. Nova Odessa: Napoleão; 2014. p. 494-518.

Paes Junior TJA, Kiausinis V, Kimpara ET, Luchini LC . Estudo das resinas acrílicas para bases de próteses totais com relação a resistência flexural e à quantidade de monômero residual superficial. *RPG USP*. 2006;13 (3): 229-35.

Paes Júnior TJA, Marchini L, Kimpara ET. Estudo in vitro da porosidade da resina acrílica ativada termicamente através de ciclo longo e por energia de microondas. *Braz Dent Sci*. 1999;2(2):36-42.

Panáček A, Kolár M, Vecerová R, Pucek R, Soukupová J, Krystof V, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*. 2009; 30: 6333-40.

Park SE, Periathamby AR, Loza JC. Effect of surface-charged poly methyl methacrylate on the adhesion of *Candida albicans*. *J Prosthodont*. 2003;12(4):249-54.

Pereira-Cenci T; Deng DM; Kraneveld EA; Manders EM; Del Bel Cury AA; Ten Cate JM; Crielaard W. The effect of *Streptococcus mutans* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* biofilms formed on different surfaces. *Arch Oral Biol* 2007;53:755-64.

Peyton FA. History of resins in dentistry. *Dent Clin North Am*. 1975;19 (2):211-22.

Prakki A, Cilli R, Mondelli RFL, Kalachandra S, Pereira JC. Influence of pH environment on polymer based dental material properties. *Journal of Dentistry* 2005; 33: 91–98.

Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol*. 1995 Jan.; 22(1):1-14.

Reis KR. Análise da microdureza superficial knoop e da resistência ao desgaste de dentes artificiais de resinas acrílicas. [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2005. 130 p.

Rodríguez Acosta EJ, da Silva PM, Jacobina M, Lara VS, Neppelenbroek KH, Porto VC. *Candida albicans* adherence to denture base material: chemical disinfection and the effect of acquired salivary pellicle formation. *J Prosthodont*. 2015;24(3):200-6.

Sacorague SCMC. Avaliação mecânica e microbiológica de resinas acrílicas reforçadas com partículas de sílica revestidas com prata [tese]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2016.

Samaranayake YH, Wu PC, Samaranayake LP, So M, Yuen KY. Adhesion and colonisation of *Candida Krusei* on host surfaces. *J Med Microbiol.* 1994; 41: 250-8.

Sanvicens N, Marco MP. Multifunctional nanoparticles--properties and prospects for their use in human medicine. *Trends Biotechnol.* 2008 Aug;26(8):425-33.

Sarrett DC, Coletti DP, Peluso AR. The effects of alcoholic beverages on composite wear. *Dental Materials* 2000; 16: 62–67.

Shameli K, Ahmad MB, Zargar M, Yunus WM, Rustaiyan A, Ibrahim NA. Synthesis of silver nanoparticles in montmorillonite and their antibacterial behavior. *Int J Nanomedicine.* 2011;6:581-90.

Silva Filho CE, Martins EMS. Avaliação da rugosidade superficial de resinas acrílicas submetidas à ciclagem térmica. *Revista Odontológica de Araçatuba* 2006; 27(1): 28-33.

Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-Cenci T. Prevention and treatment of candida colonization on denture liners: a systematic review. *J Prosthet Dent.* 2013;110(5):356-62.

Stöber W, Fink A, Bohn E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J Colloid Interface Sci.* 1968;26(1):62-9.

Takamata T, Setcos JC. Resin denture bases: review of accuracy and methods of polymerization. *Int J Prosthodont.* 1989;2(6):555-62

Telles DM. Prótese total. São Paulo: Santos; 2011.

The anti-adherence activity and bactericidal effect of microparticulate silver additives in composite resin materials. *Arch Oral Biol.* 2009; 54(6):595–601.

Tian C, Kasuga T, Sachs MS, Glass NL. Transcriptional profiling of cross pathway control in *Neurospora crassa* and comparative analysis of the Gcn4 and CPC1 regulons. *Eukaryot Cell.* 2007; 6:1018–29.

Van Pelt AW, Weerkamp AH, Uyen MH, Busscher HJ, De Jong HP, Arends J. Adhesion of *Streptococcus sanguis* CH3 to polymers with different surface free energies. *App Environ Microbiol.* 1985 May; 49(5):1270-75.

Verran J; Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent.* 1997;77:535-9.

Völker C, Oetken M, Oehlmann J. The biological effects and possible modes of action of nanosilver. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2013;223:81-106.

Webb BC, Thomas CJ, Willcox MDP, Harty DWS, Knox KW. Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 3. Treatment of oral candidosis. *Aust Dent J.* 1998;43(4):244-9.

Winkler S. Denture base resins. *Dent Clin North Amer.* 1984;28(2):287-97.

Wilson J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J.* 1998;185(8):380-4. doi:10.1038/sj.bdj.4809821.

Wright PS; Clark P; Hardie JM. The prevalence and significance of yeasts in persons wearing complete dentures with soft-lining materials. *J Dent Res* 1985;64:122-5.

Yang SX, Zhang YH, Yu JM, Zhen ZC, Huang TZ. Antibacterial and mechanical properties of honeycomb ceramic materials incorporated with silver and zinc. *Materials & Design.* 2014;(59):461–5.

Zhang J, Zhao X, Wang Y, Zhu L, Yang L, Li G, Sha Z. Preparation and Structural Analysis of Nano-Silver Loaded Poly(styrene-co-acrylic acid) Core-Shell Nanospheres with Defined Shape and Composition. *Nanomaterials (Basel).* 2017; 23;7(9). pii: E234.