



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

NATÁLIA RIVOLI ROSSI

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO ANTIMICROBIANO
DE UM GLAZE E REEMBASADOR MODIFICADOS POR
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA COM PRATA**

2021

NATÁLIA RIVOLI ROSSI

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO ANTIMICROBIANO DE UM
GLAZE E REEMBASADOR MODIFICADOS POR
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA COM PRATA**

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: Prótese Dentária. Linha de pesquisa: Desenvolvimento de materiais e novas tecnologias em Odontologia.

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

Coorientador: Prof. Dr. Gilmar Patrocínio Thim

São José dos Campos

2021

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2021]. 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).

Rossi, Natália Rivoli

Avaliação do comportamento antimicrobiano de um glaze e reembasador modificados por nanopartículas de sílica com prata / Natália Rivoli Rossi. - São José dos Campos : [s.n.], 2021.
88 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, 2021.

Orientador: Tarcisio José de Arruda Paes Júnior

Coorientador: Gilmar Patrocínio Thim

1. Nanopartículas. 2. Prata. 3. Polímeros. 4. Biofilme. 5. Candida albicans. I. Paes Júnior, Tarcisio José de Arruda, orient. II. Thim, Gilmar Patrocínio, 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. Dr. Tarcisio José de Arruda Paes Junior (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Rodrigo Furtado de Carvalho

Universidade Federal de Juiz de Fora (Ufjf)

Departamento de Odontologia

Campus de Governador Valadares

São José dos Campos, 26 de julho de 2021.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me iluminar, conduzir e dar forças. Aos meus pais, Sílvia Regina Rivoli e Carlos Roberto Rossi, pelo apoio incondicional durante todos esses anos, permitindo que eu me desenvolva e evolua como profissional e ser humano. Ao meu parceiro, namorado e amigo, Caio José da Silva Cherubin, por seu apoio, cuidado e zelo, e também por estar a meu lado nos dias bons e nos dias desafiadores. Aos meus irmãos Henrique Rivoli Rossi e Patrícia Rivoli Rossi, por valorizarem o conhecimento acadêmico e por me apoiarem nesta empreitada. A minha tia Maria Aparecida Lopes de Brito, pelo amor incondicional. A meus padrinhos, Ana Naldi Rivoli Kiyohara e Edson Kiyohara e a minha prima Camila Rivoli Kiyohara pelo incentivo e apoio. A minhas amigas Mariana Pádua do Amaral e Camila Schmidt Romeiro Guimarães pelo incentivo, encorajamento, pelas risadas e por fazer esses anos mais leves. A minha amiga Carolina Martins Ribeiro, por ter sido umas das primeiras pessoas a me encorajar a fazer o mestrado. A meus amigos Michelle de Sá dos Santos Gomes, Manassés Tércio Vieira Granjeiro, Pamela Ricco, Juliana de Freitas Gouveia, Christiane Mayumi Inagati, Sabrina Elise Moecke, Murilo Rocha Rodrigues, Yasmin Abrahão Peixoto, Aríssia Varonil, Ana Luiza Barbosa Jurema, Carolina Wolff, Bruna Costa Giroto, Camilla Abud, Lucca Damilano, Marcela Lingiarde, Raphaela de Moraes Santos Piorino, Beatriz Rossi Canuto de Menezes, Aline da Graça Sampaio, Diego Moraes da Silva, Thais Larissa do Amaral Montanheiro, Glauber William Coelho, Manuelle Haasjes, Caroline Patrício, Delanney Di Maio Neto, Igor José da Silva Cherubin. A Manoel Goulart e Bruno Arantes Monteiro, pelos “insights” e por todo suporte ao longo desses anos. Ao meu querido orientador dessa jornada, incentivador mor e encorajador, Tarcisio José de Arruda Paes Júnior. Ao meu primeiro orientador e motivador do meu interesse pela ciência, Estevão Tomomitsu Kimpara e a minha primeira coorientadora “mãe-científica” Caroline Cotes Marinho. Aos queridos professores Gilmar Patrocínio Thim e Cristiane Yumi Koga-Ito por todo suporte e apoio para o andamento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A meu orientador professor Doutor Tarcisio José de Arruda Paes Júnior por idealizar este projeto e por me fornecer todas as condições para o seu devido andamento. Por se preocupar com o impacto social que a ciência tem sobre as populações mais vulneráveis e que necessitam do olhar de nós, pesquisadores. E também pela ajuda na realização, escrita e interpretação dos resultados desse trabalho. A meu coorientador professor Doutor Gilmar Patrício Thim, por viabilizar toda a estrutura do ITA para realização deste trabalho, e por me auxiliar na escrita do projeto de pesquisa de parte química de síntese do material, além de possibilitar a realização da síntese do material. A professora Doutora Cristiane Yumi Koga-Ito, por viabilizar a estrutura do laboratório Genoma, bem como por auxiliar na escrita do projeto de pesquisa da parte microbiológica, além de possibilitar a realização dos ensaios biológicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – pela concessão da bolsa de Mestrado, através do Processo nº 88882.434245/2019-01, no período de 01/09/2019 a 31/07/2021. Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos (UNESP), ao Instituto Tecnológico e Aeronáutico (ITA) e ao Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), pela infraestrutura necessária para a realização deste trabalho. Ao Laboratório de Pesquisa em Materiais Dentários, ao Laboratório Integrado de Pesquisa em Odontologia Restauradora, ao Laboratório Genoma, ao Laboratório de Bioengenharia da UNESP, ao Laboratório de Plasmas e Processos do ITA e ao Laboratório Associado de Sensores e Materiais (INPE). A biblioteca da Odontologia do ICT-UNESP bem como todos os funcionários, em especial ao Rafael Lopes da Cunha, por toda paciência em me ensinar a utilizar o Mendeley e disponibilizar as normas das referências utilizadas neste trabalho. Ao Pubmed, Scielo, Elsevier e demais bases pelo acesso aos artigos científicos citados neste trabalho.

A Beatriz Rossi Canuto de Menezes pela paciência e por me dar todo o suporte dentro do ITA, me ajudando a sintetizar a nanopartícula, a caracterizá-la, e por me ajudar na interpretação dos resultados. Aprendi muito com você e sou eternamente grata por sua parceria e amizade. A Aline da Graça Sampaio pelo suporte dentro do laboratório Genoma, me ajudando a realizar os testes biológicos com a nanopartícula e com o nanocompósito, bem como pela ajuda na escrita deste trabalho. Obrigada pela paciência e por me ensinar tanto quanto ensinou. A Diego Moraes da Silva por me ajudar a centrifugar e peneirar as nanopartículas e pelo apoio ao falar várias vezes que “vai dar tudo certo!”. A Thais Larissa do Amaral Montanheiro por realizar as microscopias finais deste trabalho. A meus amigos, Michelle de Sá dos Santos Gomes, Manassés Tércio Vieira Granjeiro, Juliana de Freitas Gouveia, por me incentivarem e darem forças ao longo do desenvolvimento deste trabalho. A Igor José da Silva Cherubin, pelo incentivo a desenvolver este trabalho nesta linha de pesquisa.

"Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós
mesmos". Friedrich Nietzsche

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	13
RESUMO	14
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Sobre os polímeros	19
2.2 <i>Candida albicans</i>	22
2.3 Nanopartículas em Odontologia	25
2.3.1 Nanopartículas de sílica	26
2.3.2 Recobrimento das nanopartículas com prata.....	26
3 PROPOSIÇÃO	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Materiais.....	30
4.2 Síntese das nanopartículas de SiO ₂	31
4.3 Recobrimento das nanopartículas de SiO ₂ com prata	32
4.4 Funcionalização das nanopartículas de SiO ₂ -Ag utilizando MPS....	33
4.5 Caracterização microestrutural das nanopartículas	34
4.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura – Field Emission Gun (MEV-FEG)	34
4.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com EDS (MEV-EDS)	35
4.5.3 Difratometria de Raios X (DRX)	36
4.5.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).....	36
4.6 Concentração inibitória mínima da solução de nanopartículas	36

4.7 Preparação dos nanocompósitos com a incorporação do SiO ₂ -Ag MPS ao glaze e ao reembasador macio	38
4.8 Caracterização microestrutural dos nanocompósitos	41
4.8.1 Análise da superfície do nanocompósito por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)	41
4.8.2 Análise de ângulo de contato e energia de superfície por Goniômetro	41
4.9 Caracterização microbiológica dos nanocompósitos – avaliação da atividade anti-biofilme de <i>Candida albicans</i>	42
4.10 Análise estatística	44
5 RESULTADO	46
5.1 Caracterização das nanopartículas	46
5.1.1 MEV-FEG	46
5.1.2 MEV-EDS.....	48
5.1.3 DRX	50
5.1.4 FT-IR	51
5.2 Concentração inibitória mínima para <i>Candida albicans</i> (SC 5314). 55	
5.3 Caracterização microestrutural dos nanocompósitos.....	58
5.3.1 Análise da superfície do nanocompósito por MEV-EDS.....	58
5.3.2 Análise de ângulo de contato e energia de superfície por Goniômetro	59
5.4 Caracterização microbiológica dos nanocompósitos – avaliação da atividade anti-biofilme de <i>Candida albicans</i>	62
6 DISCUSSÃO	67
7 CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Nanopartículas de SiO ₂	31
Figura 2 - Nanopartículas de SiO ₂ -Ag.....	32
Figura 3 - Fluxograma esquemático da funcionalização das nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS utilizando MPS.....	33
Figura 4 - Nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS.....	34
Figura 5 - Nanocompósitos de glaze.....	40
Figura 6 - Nanocompósitos de reembasador.....	41
Figura 7 - Gráfico de homoscedasticidade para o ângulo de contato, glaze e reembasador.....	44
Figura 8 - Gráfico de homoscedasticidade para o biofilme, glaze e reembasador.....	45
Figura 9 - Imagens obtidas por MEV-FEG das amostras (200 kx).....	47
Figura 10 - Espectros de EDS das nanopartículas de SiO ₂ puro, SiO ₂ -Ag não funcionalizado e SiO ₂ -Ag funcionalizado por MPS.....	49
Figura 11 - Análise do DRX das nanopartículas de SiO ₂ , SiO ₂ -Ag e SiO ₂ -Ag MPS.....	50

Figura 12 - Espectros de FT-IR das amostras de nanopartículas de SiO ₂ , SiO ₂ -Ag e SiO ₂ -Ag MPS de 2000 a 500 cm ⁻¹	52
Figura 13 - Determinação da concentração inibitória mínima da nanopartícula de SiO ₂ demonstrando crescimento fúngico em todos os poços, exceto no poço 12 (controle de esterilidade do meio de cultura).....	56
Figura 14 - Concentração inibitória mínima das nanopartículas de SiO ₂ - Ag...	56
Figura 15 - Concentração inibitória mínima das nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS.....	57
Figura 16 - Imagens obtidas por MEV-EDS da superfície dos nanocompósitos dos grupos experimentais relativos ao glaze (1kx).....	58
Figura 17 - Imagens obtidas por MEV-EDS da superfície dos nanocompósitos dos grupos experimentais relativos ao reembasador (1kx).....	59
Figura 18 - Imagens obtidas por MEV-FEG do biofilme formado na superfície dos nanocompósitos de glaze (5x).....	64
Figura 19 - Imagens obtidas por MEV-FEG do biofilme formado na superfície dos nanocompósitos de reembasador (5kx).....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Materiais utilizados.....	30
Tabela 2 - Divisão dos grupos experimentais de acordo com a concentração de nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS para o glaze.....	38
Tabela 3 - Divisão dos grupos experimentais de acordo com a concentração de nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS para o reembasador.....	39
Tabela 4 - Médias de valores de percentual em massa (wt %) e de percentual atômico (at %) das nanopartículas de SiO ₂ , SiO ₂ -Ag e SiO ₂ -Ag MPS pela análise em MEV-EDS.....	48
Tabela 5 - Atribuição de bandas de FT-IR para as amostras SiO ₂ , SiO ₂ -Ag e SiO ₂ -Ag MPS.....	54
Tabela 6 - Média e desvio padrão para o ângulo de contato com teste de Tukey ($\alpha=0,05$) para o glaze.....	59
Tabela 7 - Tabela ANOVA um-fator demonstrando haver diferença estatística significativa quanto a presença e ausência de nanopartículas no glaze ($p=0,001$).....	60
Tabela 8 - Média e desvio padrão para o ângulo de contato com teste de Tukey ($\alpha=0,05$) para o reembasador.....	60

Tabela 9 - Tabela ANOVA um-fator demonstrando haver diferença estatística significante quanto a presença e ausência de nanopartículas no reembasador ($p=0,000$).....	61
Tabela 10 - Valores de UFC/espécime para o glaze.....	62
Tabela 11 - Estatística não paramétrica para o glaze.....	62
Tabela 12 - Valores de UFC/espécime para o reembasador.....	63
Tabela 13 - Estatística não paramétrica para o reembasador.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TEOS	Tetraetilortosilicato
MPS	γ -metacriloxi-propil-trimetoxissilano
mmol	Milimol
SH	Grupo dissulfeto
Ag ⁺	Íons de prata
SiO ₂	Dióxido de silício
SiO ₂ -Ag	Dióxido de silício e prata
SiO ₂ -Ag MPS	Dióxido de silício e prata funcionalizado
MEV	Microscópio eletrônico de varredura
MEV-FEG	Microscópio eletrônico de varredura – Field Emission Gun
MEV-EDS	Microscópio eletrônico de varredura - Espectroscopia por Energia Dispersiva
DRX	Difratometria de Raios x
FT-IR	Espectroscopia de infravermelho
CIM	Concentração inibitória mínima
UFC	Unidade formadora de colônias

Rossi NR. Avaliação do comportamento antimicrobiano de um glaze e reembasador modificados por nanopartículas de sílica com prata [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2021.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a ação antimicrobiana de um glaze e um reembasador macio com nanopartículas de sílica revestidas por prata. Para isso, foi realizada a síntese e caracterização de nanopartículas de sílica recobertas por prata, que foram avaliadas através do teste de concentração inibitória mínima (CIM) para *C. albicans*. Após isso, foram confeccionadas amostras e divididas em 6 grupos (n=12): CG: glaze e reembasador macio; CR: reembasador macio; G1: glaze com nanopartículas a 1% e reembasador macio; G2: glaze com nanopartículas a 2,5% e reembasador macio; R1: reembasador macio com nanopartículas a 1%; R2: reembasador macio com nanopartículas a 2,5%. Foram realizados testes de ângulo de contato e efeito anti-biofilme nas amostras. De acordo com o resultado da CIM, houve redução das contagens de fungos após adição de ambas as nanopartículas, não funcionalizada (a 1000 µg/mL) e funcionalizada (a 2000 µg/mL). Para o ângulo de contato, houve uma redução significativa da molhabilidade nos grupos G2 (p=0,001) e R2 (p=0,000). Para o ensaio de biofilme, houve uma redução de 64% na contagem de UFC/espécime para o grupo G1, porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa (p=0,244). Já para o reembasador, houve um aumento não significativo (p=0,264) de UFC/espécime com a agregação das nanopartículas. Pode-se concluir que houve redução do crescimento fúngico para o teste de CIM nos poços que receberam as nanopartículas. Houve alteração significativa da energia de superfície e molhabilidade nos grupos G2 e R2. Houve uma redução de 64% de UFC/espécime para o grupo G1 quando comparada ao CG, não sendo estatisticamente significativa. Assim, o desenvolvimento de um glaze, nas condições observadas, pode ter potencial antifúngico promissor.

Palavras-chave: Nanopartículas. Prata. Polímeros. Reembasadores de prótese total. Biofilme. *Candida albicans*.

Rossi NR. Evaluation of the antimicrobial behavior of a glaze and reliner modified by silver-coated silica nanoparticles [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2021.

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the antimicrobial action of glaze and soft reline with silver-coated silica nanoparticles. So, silver-coated silica nanoparticles were synthesized and characterized. The test of minimum inhibitory concentration (MIC) for *C. albicans* evaluated the antimicrobial potential of the nanoparticle. After that, samples were made and divided into six groups (n = 12): CG: glaze and soft reline; CR: soft reline; G1: glaze with 1% nanoparticles and soft reline; G2: glaze with 2.5% nanoparticles and soft reline; R1: soft reline with 1% nanoparticles; R2: soft reline with 2.5% nanoparticles. The contact angle test evaluated the wettability of the samples' surface. The anti-biofilm test evaluated the fungal growth. According to the MIC result, there was a reduction in fungal counts after the addition of both nanoparticles, non-functionalized (at 1000 µg / mL) and functionalized (at 2000 µg / mL). In the contact angle test, the wettability significantly decreased for the group G2 (p = 0.001) and group R2 (p = 0.000). In the anti-biofilm test, there was a reduction of 64% of CFU/specimen count in group G1. As for the reline, there was a non-significant increase (p = 0.264) of CFU/specimen with the aggregation of the nanoparticles. Overall, there was a reduction in fungal growth for the MIC test in the microplates that received the nanoparticles. There was a reduction of 64% of CFU/specimen count in group G1 compared to the CG, which not statistically significant. Thus, the development of a glaze, under the conditions observed, may have promising antifungal potential.

Keywords: Nanoparticles. Silver. Polymers. Full denture liners. Biofilms.

1 INTRODUÇÃO

A resina acrílica é um polímero utilizado para a confecção de próteses removíveis, totais ou parciais, a base de polimetilmetacrilato. É um material que passa por um processo de polimerização que apresenta reação exotérmica durante a formação da cadeia polimérica, o que determina sua característica final. Os reembasadores de prótese são um tipo de polímero utilizado em pacientes que usam próteses totais ou parciais. Esses materiais possuem uma gama de indicações clínicas, como condicionamento de tecido, proteção de feridas cirúrgicas, aprimoramento da adaptação das próteses e redução de pressão excessiva nos tecidos. Possui boas características quando adequadamente polimerizada, entretanto, pode apresentar irregularidades e alta energia de superfície sendo susceptíveis a absorção de água quando colocado em ambiente úmido que, ao longo do tempo, é suscetível a formação de biofilme (Anusavice, Shen, 2013). Isso acontece porque apresenta moléculas orgânicas extensas, formadas por cadeias de carbono, que tendem a absorver solventes, e, dessa forma, sua interação com o meio é elevada, estando sujeito a formação de biofilme em sua superfície (Anusavice, Shen, 2013; Hamid et al., 2019).

Sabe-se que a formação de biofilme na superfície de próteses dentais em resina acrílica está relacionada à ocorrência de lesões bucais, em particular a estomatite protética (Gendreau, Loewy, 2011; Hamid et al., 2019). Além disso, reservatórios microbianos podem facilitar a formação de cáries e ocorrência de doenças periodontais nos dentes remanescentes. Tais doenças diminuem a longevidade da reabilitação dentária e constituem um risco de infecções oportunistas, o que reduz a qualidade de vida e gera novos gastos aos pacientes. Para indivíduos de idade avançada e com atividade imunológica comprometida, o acúmulo de bactérias pode favorecer a ocorrência de doenças sistêmicas, as

quais estão entre as maiores causas de morte e morbidade (De Castro et al., 2016a, 2016b). Não há no mercado odontológico um material disponível que consiga inibir a agregação de microrganismos e fungos na superfície da resina acrílica. Assim, há a necessidade do estudo e desenvolvimento de novos materiais com propriedades antimicrobianas com objetivo de formar uma camada protetora capaz de inibir a proliferação bacteriana e ou fúngica na superfície das próteses.

As nanopartículas de prata destacam-se como um dos sistemas mais intensamente investigados. Possuem propriedades únicas, como excelente condutividade elétrica, atividade catalítica, comportamento óptico não-linear e efeitos antimicrobianos, tornando-as candidatas potenciais para aplicações em diferentes áreas, como sensores, têxteis, eletrônicos, catálise, alimentos e terapêutica médica (Abou El-Nour et al., 2010; Welles, 2010). O uso das nanopartículas de prata vem se expandindo cada vez mais na área odontológica por ser um metal que possui atividade bactericida e bacteriostática contra microrganismos, como fungos, bactérias e vírus (Durán et al., 2007; Nischala et al., 2011). O presente mecanismo de inibição do crescimento bacteriano por nanopartículas de prata não é muito claro, mas a ação inibitória delas está relacionada a liberação controlada de íons Ag^+ (Devi et al., 2014).

Com o intuito de controlar essa liberação dos íons Ag^+ desenvolveu-se uma metodologia para sua incorporação ao dióxido de silício (SiO_2), de forma que o SiO_2 formaria o núcleo da partícula e a prata estaria ao seu redor (Abou El-Nour et al., 2010; Lu et al., 2017). O SiO_2 é um material muito importante para a imobilização de nanopartículas em sua superfície devido à sua alta estabilidade química e térmica, inércia química, grande área de superfície e boa compatibilidade com outros materiais (Tang et al., 2007; Xu et al., 2009).

Assim, para aplicabilidade na área odontológica, é necessário desenvolver nanopartículas de SiO_2 -Ag que possuam atividade antimicrobiana, não alterando significativamente as características mecânicas e ópticas dos materiais

odontológicos. Desse modo, o presente estudo visa avaliar a ação antimicrobiana da incorporação de nanopartículas de SiO_2 revestidas por prata incorporadas a um glaze e a um reembasador macio, com o intuito de desenvolver uma camada protetora para materiais resinosos contra a colonização de microrganismos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sobre os polímeros

Como dito anteriormente, a resina acrílica é um polímero utilizado para confecção de próteses totais e parciais, fixas unitárias e múltiplas provisórias, e tem ainda outras aplicações na área odontológica (John et al., 2001). Este fato deve-se as propriedades desse material, sendo transparente, rígido, passível de pigmentação, estável em ambiente bucal e com propriedades mecânicas satisfatórias como, por exemplo, dureza, solubilidade, biocompatibilidade e resistência à fratura (Anusavice, Shen, 2013; Paes Junior et al., 1999).

Os reembasadores de prótese dentária também são utilizados no tratamento de pacientes que fazem uso de próteses totais ou removíveis parciais. Esses materiais podem ser rígidos ou resilientes, sendo denominados de condicionadores de tecidos. São utilizados sobre a superfície de próteses totais enquanto a cicatrização do tecido (Dorocka-Bobkowska et al., 2017). Além de proteger as feridas cirúrgicas, também condicionam a mucosa de suporte danificada pela má-adaptação de próteses gerando conforto ao paciente. São também indicados como tratamento de suporte para estomatite dentária, especialmente quando modificado pela adição de medicamentos (Iqbal, Zafar, 2016). Somado a isso, são também utilizados para melhorar o ajuste das próteses removíveis e evitar pressão excessiva nos tecidos de suporte. Podem ser compostos por polímeros a base de metilmetacrilato ou a base de outros polímeros, como os silicones.

Além dessas indicações, os reembasadores macios são conhecidos por protegerem a mucosa oral, diminuindo a reabsorção óssea resultante da pressão

excessiva do material da prótese dentária de resina acrílica rígida (Maruo et al., 2010). O uso dos reembasadores ajuda a aliviar a dor, melhora a capacidade mastigatória e, por sua vez, facilita o processo de adaptação do paciente (Hayakawa et al., 2000; Kimoto et al., 2010). São também benéficos durante o período de cicatrização após a instalação de implante dentário, pois aliviam a pressão que os tecidos de suporte recebem, auxiliando a osseointegração (Bacchi et al., 2012; dos Santos et al., 2013, 2012; Dos Santos et al., 2011). Assim, o uso dos reembasadores é importante pois melhora a qualidade de vida dos pacientes (Pisani et al., 2012). Esses materiais devem ter qualidades físicas apropriadas em relação à distribuição de estresse homogêneo nos tecidos orais, alta adesão ao polímero da base da prótese, baixa sorção e solubilidade na saliva e em outros fluidos, cor estável e dureza apropriada (Nowakowska-Toporowska et al., 2019).

Em uma situação ideal, os reembasadores devem conter componentes insolúveis e apresentar baixa absorção de água (El-Hadary, Drummond, 2000; Kazanji, Watkinson, 1988). No entanto, durante a vida útil desses materiais, eles estão expostos à saliva, alimentos, água e produtos de limpeza (Huh et al., 2014; Kazanji, Watkinson, 1988; Leite et al., 2010), que podem causar absorção de água e alterações de suas propriedades (Graham et al., 1991; Jones et al., 1988). Consequentemente, a longevidade desses polímeros é prejudicada devido à perda de sua resiliência e capacidade de absorção de impacto, o que reduz o conforto que proporcionam (Dorocka-Bobkowska et al., 2017; Qudah et al., 1991).

Os materiais reembasadores são facilmente contaminados no ambiente oral e não é possível higienizá-los efetivamente (Atar-Froyman et al., 2015), porém a manutenção da sua higienização é de extrema importância (Chladek et al., 2011). Agentes desinfetantes de próteses, como gluconato de clorexidina, hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio e outros, podem causar alterações desfavoráveis nas propriedades físicas e químicas dos materiais reembasadores (Broek et al., 2011; Huddar et al., 2012). Há estudos que relataram que os fungos e as espécies

bacterianas podem entrar em espaços porosos dos materiais reembasadores e que sua colonização pode reduzir a vida intra-oral do material (Krishnamurthy, Hallikerimath, 2016; Wright et al., 1998).

Com o intuito de reduzir essa permeabilidade do material, algumas marcas de reembasadores desenvolveram um glaze a ser aplicado em sua superfície, porém, a eficácia de sua proteção ainda é incerta. Há estudos que afirmaram que para minimizar eficientemente a formação de biofilme na superfície desses materiais, pode ser incorporado a eles agentes com potencial de inibição de crescimento bacteriano. A atividade anti-biofilme dos materiais reembasadores é um recurso eficiente na prevenção de infecções por microrganismos orais residentes em pacientes que utilizam próteses (Zender et al., 2012).

A propriedade antimicrobiana dos reembasadores para próteses dentárias é alcançada com a incorporação de agentes antimicrobianos. A incorporação de cetoconazol, clorexidina, nistatina e miconazol demonstrou causar aumento significativo na dureza do material (Urban et al., 2015). A inibição de *C. albicans* e redução da rugosidade da superfície foram observadas com a incorporação de óleos essenciais antimicrobianos (Muttagi, Subramanya, 2017).

Outro agente que pode ser adicionado ao reembasador para aumentar sua propriedade antimicrobiana é a prata. O uso de nanopartículas de prata causou a diminuição da adesão de biofilme à prótese, porém modificou o tipo de falha adesiva e diminuiu a dureza do material com concentrações crescentes de agente antimicrobiano (Chladek et al., 2011). A adição de nanopartículas de prata a um condicionador de tecido em concentrações variando entre 0,1 e 3,0% mostrou efeito inibitório contra *S. aureus*, *S. mutans* (a 0,1%) e *C. albicans* (a 0,5%) após um período de 24 e 72 h (Nam, 2011). Dessa forma, a atividade antimicrobiana de resinas acrílicas pode ser relacionada às propriedades antimicrobianas dos íons prata (Ficklin et al., 2016; Kurt et al., 2017).

2.2 *Candida albicans*

Os biofilmes microbianos são comunidades de células que se aderem a superfícies sólidas ou podem estar em interfaces líquido-ar, sendo consideradas o estado de crescimento mais comum para muitas espécies microbianas (Davey, O'Toole, 2000; Kolter, Greenberg, 2006; Nobile, Johnson, 2015). São encontrados em ambientes aquáticos, em estruturas industriais artificiais, em dispositivos médicos implantados e em tecidos vegetais e animais (Nobile, Johnson, 2015). Além deles, as comunidades microbianas também podem se aderir a superfície dos dentes e mucosas e podem ser responsáveis pelo desenvolvimento de uma série de doenças na cavidade oral (Digel et al., 2020).

Candida spp. é o tipo de fungo mais encontrado em biofilmes polimicrobianos de interesse médico (Hacioglu et al., 2020). Estudos afirmam que são predominantemente encontrados em aparelhos médicos e representam cerca de 15% dos casos de septicemia adquirida em hospitais (Esher et al., 2019; Nobile, Johnson, 2015; Rodrigues et al., 2017). *Candida albicans* é uma das principais causas de infecções hospitalares.

C. albicans é geralmente inócua e faz parte da microbiota em humanos saudáveis. A colonização ocorre em muitos locais, como o trato gastrointestinal, o trato reprodutivo, boca e pele (Achkar, Fries, 2010; Ganguly, Mitchell, 2011; Kennedy, Volz, 1985; Kumamoto, 2011, 2002). Distúrbios causados por alterações no pH local, alterações nutricionais, alterações nos níveis de oxigênio teciduais, uso de antibióticos, doenças ou terapia imunossupressora podem promover a proliferação excessiva de *C. albicans* e, muitas vezes, levar a quadros graves. As infecções por *C. albicans* variam de infecções superficiais da mucosa e dérmica, as infecções disseminadas da corrente sanguínea com taxas de mortalidade acima de 40% (Calderone, Fonzi, 2001; Esher et al., 2019; Pappas et

al., 2004; Wenzel, 1995). Pode ser grave em pacientes com AIDS, em pacientes submetidos a quimioterapia, em indivíduos recebendo terapias imunossupressoras e, em pacientes com dispositivos médicos implantados (Kullberg, Oude Lashof, 2002; Weig et al., 1998).

Os biofilmes de *C. albicans* são formados por células em forma de levedura, pseudo-hifas e hifas envolvidas por uma matriz extracelular (Chandra et al., 2001; Fox, Nobile, 2012; Ramage et al., 2009). Os biofilmes de *C. albicans* se formam nas superfícies de dispositivos médicos implantados, nas superfícies mucosas, no revestimento de células epiteliais e em órgãos parenquimatosos (Kojic, Darouiche, 2004; Ramage et al., 2006).

Concentrações altas de medicamentos antifúngicos são eficazes contra biofilmes, porém, essas doses podem causar graves efeitos adversos ao hospedeiro. A resistência a drogas antifúngicas associadas aos biofilmes de *C. albicans* e a capacidade de colonizar dispositivos médicos implantados têm sido associadas a custos médicos aumentados e a resultados negativos para os pacientes (Donlan, 2001; Kojic, Darouiche, 2004; Lebeaux et al., 2014; Ramage et al., 2006; Tumbarello et al., 2012, 2007).

Em pacientes que usam prótese na cavidade bucal, *C. albicans* pode gerar estomatite na região da mucosa em que a prótese se adapta. Isto se relaciona à higiene inadequada, resultando em um acúmulo de detritos e formação de biofilme, o que contribui para alterações inflamatórias na mucosa adjacente que causam estomatite protética (Budtz-Jorgensen, 1981; Pattanaik et al., 2010; Zomorodian et al., 2011). Essa doença é um problema comum para usuários de prótese total mucossuportada. Além da má higiene, outros fatores predisponentes dessa doença são oclusão traumática, xerostomia, condições sistêmicas, diabetes *mellitus*, imunodeficiência e deficiências nutricionais (Gendreau, Loewy, 2011; Naik, Pai, 2011). Foi relatado ainda que grande percentual de pacientes com câncer possuem *Candida* em suas cavidades orais já que o tratamento aumenta os

níveis desse fungo, o que favorece o desenvolvimento de candidíase oral (Mothibe, Patel, 2017). A fixação e adesão inicial de *C. albicans* à base de uma prótese é um passo essencial na colonização e patogênese que causa estomatite protética (Budtz-Jorgensen, 1981; Pattanaik et al., 2010; Vasilas et al., 1992; Zomorodian et al., 2011).

Há estudos que correlacionam o uso de próteses totais à ocorrência de hipertensão arterial (Desvarieux et al., 2010; Paizan, Martin, 2009). A hipertensão arterial sistêmica é dada por uma falta de controle na pressão arterial que pode ser gerada por processo inflamatório e por disfunção endotelial, entre outros fatores (Desvarieux et al., 2010; Paizan, Martin, 2009). Em pacientes usuários de próteses totais removíveis foi possível observar o aumento de cepas bacterianas e fúngicas. Essas cepas podem interferir no processo inflamatório e favorecer a formação de placas ateroscleróticas (Marchi-Alves et al., 2017; Nagi-Miura et al., 2006; Nurgeldiyeva et al., 2014). Dessa forma, o controle de biofilme em pacientes usuários de próteses é extremamente importante, uma vez que a colonização bacteriana e fúngica pode inclusive aumentar o risco para o desenvolvimento de hipertensão arterial (Marchi-Alves et al., 2017).

A prevenção de estomatite está relacionada ao controle de biofilme que pode ser obtido pela correta orientação de higiene direcionada ao paciente usuário de próteses (Barbeau et al., 2003). Os métodos de limpeza mecânica são considerados insuficientes na redução de micro-organismos nas superfícies das próteses. Assim, estudos foram realizados com a finalidade de reduzir a adesão de *C. albicans* e sua colonização na base das próteses. Agentes antifúngicos foram utilizados porém, foram considerados uma terapia de curto prazo e nem sempre eficazes (Izumida et al., 2014; Pattanaik et al., 2010). Outras abordagens para superar a adesão de fungos a base de prótese foram adotadas, como a modificação da superfície com o uso de diferentes reembasadores (Ali et al., 2013; Nawasrah et al., 2016; Queiroz et al., 2013; Yodmongkol et al., 2014).

2.3 Nanopartículas em Odontologia

A nanociência refere-se as propriedades fundamentais de objetos de tamanho nano, que indica um bilionésimo ou 10^{-9} unidades (Sergeev, 2003; Sergeev, Shabatina, 2008). Os nanomateriais geralmente mostram propriedades físicas, químicas e biológicas excepcionais e consideravelmente diferenciadas quando vistas em escala macro (Li et al., 2001). As nanopartículas são nanomateriais com aglomerados de átomos, naturais ou fabricados, com 50 % ou mais partículas na faixa de tamanho de 1 a 100 nm (Ema et al., 2017; Mathur et al., 2018; Williams, 2008). Possuem alta área de superfície em relação ao volume, alta reatividade química, atividade antimicrobiana e fungicida e biocompatibilidade (Mathur et al., 2018). São classificadas em inorgânicas e orgânicas, sendo as inorgânicas subdivididas em semicondutoras (ZnO, ZnS e CdS), metálicas (Au, Ag, Cu, Al) e magnéticas (Co, Fe, Ni), já as orgânicas possuem carbono (nanotubos de carbono) (Mathur et al., 2018).

As nanopartículas de metais nobres, tais como ouro, prata e cobre são utilizadas nas áreas de fotografia, catálise, biológica, fotônica, optoeletrônica (Smith et al., 2006). Em particular, as nanopartículas de prata são de interesse devido às propriedades antimicrobianas, tendo sua aplicação realizada em biossensores, em fibras compostas, em materiais supercondutores criogênicos, em produtos cosméticos e em componentes eletrônicos (Caro et al., 2010). Sabe-se que as nanopartículas de prata têm efeitos inibitórios e microbicidas (Abbasi et al., 2016). Contudo, suas principais desvantagens são a baixa estabilidade coloidal, reatividade química / térmica e toxicidade para os sistemas vivos, tornando-as dificilmente utilizáveis no campo biomédico (Barbasz et al., 2017; Guerrero-Martínez et al., 2010; Hadrup, Lam, 2014; Kobayashi et al., 2011; Marin et al., 2015).

2.3.1 Nanopartículas de sílica

Para melhorar as propriedades das nanopartículas de prata e facilitar sua aplicação nas áreas da saúde, a sílica é um dos materiais mais populares (Liu, Han, 2010). Sua alta estabilidade, sua inércia química, porosidade controlada, processabilidade e transparência óptica fazem dela o material ideal para controlar as limitações das nanopartículas de prata (Guerrero-Martínez et al., 2010; Liz-Marzán, Mulvaney, 2003).

Além disso, as nanopartículas de sílica são frequentemente usadas para melhorar as propriedades de um material, como resistência à abrasão, propriedades mecânicas e índice de refração. O pequeno tamanho e a distribuição homogênea das nanopartículas na matriz são essenciais para a transparência óptica e as propriedades mecânicas ideais (Jiangkongkho et al., 2018; Judeinstein, Sanchez, 1996).

Por fim, por serem bioinertes, as nanopartículas de sílica podem funcionar como biomarcadores (Barnes et al., 2008; Choi et al., 2009; Savage, Diallo, 2005; Sharma et al., 2009), tendo uma série de aplicações biomédicas e biotecnológicas, como terapia para câncer, administração de medicamentos e imobilização enzimática (Choi et al., 2011; Durnev et al., 2010; Yu KO et al., 2009). Dessa forma, parece evidente que associá-la a prata pode facilitar a administração desse metal em aplicações médicas.

2.3.2 Recobrimento das nanopartículas com prata

A prata é utilizada há muitos séculos em diferentes formas e com

diferentes finalidades. Há registros de utilização deste material por seu potencial agente antimicrobiano no Egito e Roma antiga. Hipócrates também a utilizava em tratamento de úlceras. É possível observar que o uso da prata na área médica não é recente (Mathur et al., 2018). Com a evolução da nanociência e o desenvolvimento de materiais à base de prata nanoestruturada, foi possível obter materiais com excelentes propriedades antimicrobianas. A ação antimicrobiana desses materiais afeta microrganismos como bactérias, vírus e fungos (Besinis et al., 2015; Padovani et al., 2015; Rai et al., 2015, 2014; Wei et al., 2015). Atualmente, um estudo afirmou que as nanopartículas de prata seriam promissoras até mesmo contra o coronavírus, e também na execução de futuros estudos para a formulação de uma vacina contra este vírus (Nikaeen et al., 2020).

Na Odontologia, o interesse pela prata foi renovado criando várias novas e promissoras tecnologias para os materiais odontológicos. Demonstrou-se que as nanopartículas de prata são componentes antimicrobianos eficazes para o uso em materiais protéticos, adesivos e implantes uma vez que age contra cárie e a formação de biofilme. Assim, podem prevenir a periodontite, a periimplantite, a propagação de trincas de coroas cerâmicas, a ocorrência de lesões de manchas brancas geradas por brackets de aparelhos ortodônticos e ainda serem utilizadas como solução irrigante para tratamento de canal (Bapat et al., 2018; Godoy-Gallardo et al., 2015; Jia et al., 2016; Liu et al., 2012; Melo et al., 2013; Nuñez-Anita et al., 2014; Santos Júnior et al., 2014; Yin et al., 2020; Zhang et al., 2012). Desta forma, as nanopartículas de prata desempenham um papel importante nos cuidados de saúde bucal.

Em contrapartida, as nanopartículas de prata são suscetíveis à dissolução oxidativa, e por isso, exibem maior toxicidade para os organismos vivos (Barbasz et al., 2017; Kittler et al., 2010). A toxicidade das nanopartículas de prata é afetada por vários fatores, como o tamanho da partícula, forma e química da superfície, cristalinidade e fatores ambientais, como por exemplo a força iônica, o pH, a

presença de ligantes, cátions divalentes e macromoléculas (Mathur et al., 2018). Porém, com o intuito de reduzir esse efeito, pode-se combinar a prata a sílica, de forma que a sílica formaria o núcleo da partícula e a prata estaria ao seu redor. Assim, é possível obter uma liberação controlada dos íons de prata e minimizar a sua citotoxicidade (Abou El-Nour et al., 2010).

O processo de funcionalização das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ tem como objetivo melhorar a interação química entre o polímero e o metal. O γ -metacriloxi-propil-trimetoxissilano (MPS) é uma molécula bifuncional, que apresenta grupos organofuncionais semelhantes ao PMMA, o qual pode garantir uma melhor dispersão e interação com o polímero, e também apresenta grupos acrílicos, os quais podem promover uma interação maior entre esses compostos quando em contato. A funcionalização também pode influenciar positivamente as propriedades mecânicas do material (Liu et al., 2008). Dessa forma, a funcionalização se mostra um processo necessário para obtenção de resultados mais favoráveis.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo geral do trabalho foi avaliar a ação antimicrobiana de um glaze e de um reembasador macio modificados com nanopartículas de SiO₂-Ag MPS. Já os objetivos específicos do trabalho foram desenvolver uma metodologia adequada para a fabricação das nanopartículas SiO₂-Ag; funcionalizar as nanopartículas de SiO₂-Ag com grupo acrílico de MPS, denominadas de SiO₂-Ag MPS; caracterizar as nanopartículas SiO₂-Ag MPS; determinar a concentração inibitória mínima da solução de nanopartículas frente a *Candida albicans*; associar a nanopartícula SiO₂-Ag MPS ao glaze e ao reembasador macio, obtendo os nanocompósitos; realizar a caracterização superficial dos nanocompósitos obtidos em MEV-FEG; analisar a molhabilidade e energia de superfície dos nanocompósitos através da comparação dos diferentes grupos de estudo; avaliar o potencial anti-biofilme dos nanocompósitos sobre *Candida albicans*; analisar os biofilmes fúngicos por meio de MEV-FEG.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os materiais que serão utilizados no estudo apresentam-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Materiais utilizados

Material	Fórmula Química	Fabricante
Tetraetilortosilicato (TEOS) 98,0 %	$\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$	Sigma Aldrich, St. Louis, EUA
Hidróxido de amônio PA 24,0 %	NH_4OH	Synth, Diadema, Brasil
Álcool etílico absoluto 99,5%	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Neon, Suzano, Brasil
Nitrato de prata PA 99,0 %	AgNO_3	Neon, Suzano, Brasil
Glicose Anidra PA 97,0 %	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	Neon, Suzano, Brasil
Carbonato de sódio anidro PA 99,5 %	Na_2CO_3	Synth, Diadema, Brasil
Álcool etílico 98,8 %	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	
MPS 98 %	$\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$	Sigma Aldrich, St. Louis, EUA
Ácido acético glacial 100 %	CH_3COOH	Synth, Diadema, Brasil

Glaze Soft Confort	-	Dencril, São Paulo, Brasil
Reembasador macio Soft Confort	-	Dencril, São Paulo, Brasil

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Síntese das nanopartículas de SiO₂

Primeiramente, foi realizada a síntese de nanopartículas de SiO₂ por meio da hidrólise e condensação controlada do TEOS em meio alcoólico, conhecida como método de Stöber (Stober, Fink, 1968). Para tal, foi confeccionada uma solução contendo 9 mL de TEOS e 55 mL de álcool etílico (Solução A) e outra solução com 30 mL de água deionizada, 55 mL de álcool etílico e 5 mL de hidróxido de amônio (Solução B). A solução B foi vertida sob a solução A e mantida sob agitação constante durante 1 h. Após esse processo, o precipitado obtido foi lavado e centrifugado. Em seguida, o material foi seco em estufa à 60 °C, macerado em almofariz de ágata e peneirado em peneira de 200 mesh. Na figura 1, é possível observar o material obtido após a síntese da nanopartícula de SiO₂.

Figura 1 - Nanopartículas de SiO₂



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Recobrimento das nanopartículas de SiO₂ com prata

Após obter as partículas de SiO₂, estas foram recobertas por prata, seguindo o procedimento de Nischala (Nischala et al., 2011). Neste caso, 50 mL da suspensão obtida na etapa anterior (4.2) (antes da centrifugação) foi misturada em uma solução contendo 12,5 mL de água deionizada, 1,70 g de nitrato de prata (10 mmol) e 2 g de glicose. A mistura foi agitada em agitador magnético durante 30 min à temperatura ambiente. Em seguida, 25 mL de uma solução de carbonato de sódio (25 ml de água deionizada + 2 g de carbonato de sódio) foi adicionada gota a gota a mistura e mantida sob agitação por mais 1 h. A quantidade de nitrato de prata foi de 10 mmol a fim de se verificar sua influência sobre *C. albicans*. Na figura 2, é possível observar o material obtido após a síntese da nanopartícula de SiO₂-Ag.

Figura 2 - Nanopartículas de SiO₂-Ag



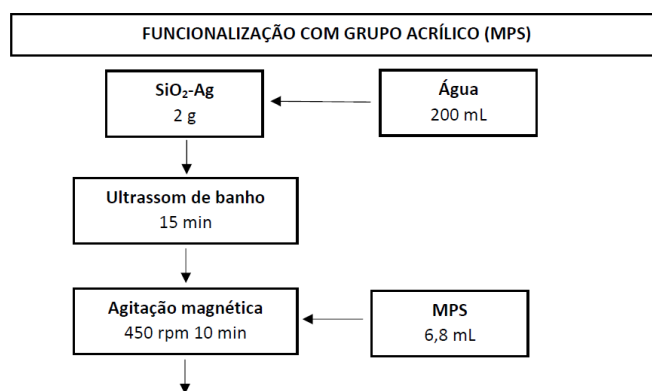
Fonte: Elaborado pelo autor.

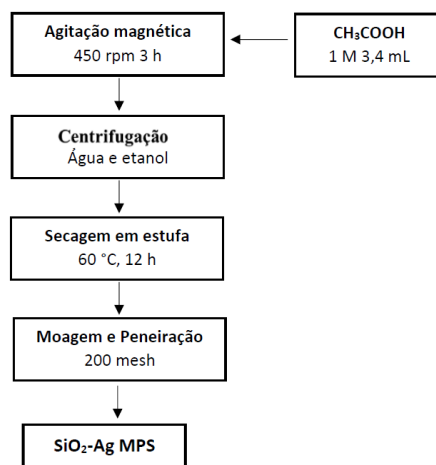
4.4 Funcionalização das nanopartículas de SiO₂-Ag utilizando MPS

Para a funcionalização das nanopartículas de SiO₂ com prata utilizando MPS como precursor, misturou-se 200 mL de água deionizada e 2 g de nanopartículas e manteve-se a mistura no ultrassom de banho (Bransson 2210, potência 225 W) durante 15 minutos. Em seguida, adicionou-se 6,8 mL de MPS (H₂C=C(CH₃)CO₂(CH₂)₃Si(OCH₃)₃), Sigma Aldrich 98%), o qual foi mantido sob agitação magnética a temperatura ambiente até homogeneização. Por fim, adicionou-se 3,4 mL de ácido acético glacial (CH₃COOH, Synth, 100%) 1 M gota a gota. A mistura foi mantida sob agitação magnética a 450 rpm sob temperatura ambiente durante 3 h. Então, a solução foi centrifugada e lavada com água deionizada e álcool diversas vezes. Por fim, o pó obtido foi mantido em estufa a 60 °C durante 12 h. A amostra obtida foi denominada SiO₂-Ag MPS.

A figura 3 apresenta um fluxograma esquemático da funcionalização das nanopartículas de SiO₂-Ag MPS utilizando MPS.

Figura 3 - Fluxograma esquemático da funcionalização das nanopartículas de SiO₂-Ag MPS utilizando MPS





Fonte: Elaborado pelo autor.

Na figura 4, é possível observar o material obtido após a síntese da nanopartícula de SiO₂-Ag MPS.

Figura 4 - Nanopartículas de SiO₂-Ag MPS



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Caracterização microestrutural das nanopartículas

As nanopartículas de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS foram caracterizadas com o objetivo de verificar o tamanho, composição e morfologia das

nanopartículas e a quantidade de prata na superfície. Foram utilizados os seguintes métodos:

4.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura – Field Emission Gun (MEV-FEG)

A microscopia eletrônica de varredura por field emission gun - MEV-FEG (Mira3, Tescan, Brno, República Tcheca) permite maiores aumentos das imagens que um microscópio eletrônico de varredura. Como o material desenvolvido possui escala nanométrica, a visualização de seu padrão morfológico é melhor visualizada por esse microscópio. As imagens das amostras foram obtidas com 30 kV. Os pós de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag-MPS obtidos foram depositados em fita condutora de carbono. A análise foi realizada no Laboratório Associado de Sensores e Materiais (LAS) do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE).

4.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com EDS (MEV-EDS)

A caracterização por EDS permite determinar quais compostos químicos estão presentes no material e foi realizada em um MEV-EDS (Vega3, Tescan, Brno, República Tcheca), com 20 kV. Os pós de foram depositados em fita condutora de carbono. A análise foi realizada na Divisão de Engenharia Mecânica e Aeronáutica do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA).

4.5.3 Difratometria de Raios X (DRX)

O DRX permite analisar a estrutura atômica e molecular de um material cristalino. Por serem materiais cristalinos, as nanopartículas de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS foram analisadas por DRX. A análise foi realizada em um equipamento Philips X'Pert da PANalytical, equipado com radiação CuK α , operando à 45 kV e 40 mA, no intervalo de $10^\circ < 2\theta < 90^\circ$, $\Delta\theta = 0,02^\circ$ e tempo de 30 s por $\Delta\theta$. Essa análise foi realizada no Laboratório de Caracterização de Materiais (LabMat) do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA).

4.5.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR)

O FT-IR permite avaliar a fração de energia transmitida ou absorvida pelas ligações químicas. Esta análise foi realizada em um espectrofotômetro Spectrum One da PerkinElmer, empregando-se a técnica de refletância total atenuada (ATR), na região de 2000-500 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e 16 varreduras. As medidas foram realizadas no Laboratório de Caracterização de Materiais (LabMat) do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA).

4.6 Concentração inibitória mínima da solução de nanopartículas SiO₂-Ag MPS para *Candida albicans*

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das amostras de SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS foi realizada frente à cepa fúngica *Candida albicans* SC5314. O ensaio foi baseado na norma CLSI M27- A3 (CLSI, 2008) em placa de microtitulação de 96 poços e foi utilizado o método de diluições sucessivas em meio de cultura. A CIM foi determinada onde foi observada a menor concentração antifúngica correspondente a 50% de redução, comparado ao grupo controle.

Cepa de *C. albicans* armazenada a -80 °C em caldo Sabouraud dextrose (SD) em 20% de glicerol foram cultivadas em placa de ágar SD por 24 horas a 37 °C em aerobiose. Após o cultivo, preparou-se a suspensão padronizada das células em solução fisiológica estéril (NaCl, 0,9 %) até atingir a concentração de 10⁶ células/mL (comprimento de onda (λ) 530 nm e densidade óptica (D.O) 0,138). Para tal, utilizou-se um espectrofotômetro AJX-1600 da AJMicronal. Após, foi preparado o inóculo em meio de cultura caldo SD na concentração de 10³ células/ml.

Nesse ensaio de suscetibilidade, as substâncias a serem testadas foram suspensas em meio de cultura caldo SD na concentração de 4000 µg/ml para SiO₂-Ag e 16000 µg/ml para SiO₂ pura e SiO₂-Ag MPS. Em seguida, foram adicionados 200 µL na primeira coluna e realizado diluições seriadas de razão 2 em 100 µL de meio de cultura. Ao final foi acrescentado 100 µL do inóculo e obtido concentrações variando entre 2000 a 3,90 µg/ml para SiO₂-Ag e 8000 a 15,6 µg/ml para SiO₂ pura e SiO₂-Ag MPS. Como controle positivo foi adicionado ao ensaio controle de crescimento contendo inóculo em meio de cultura sem a presença da substância testada e controle negativo contendo apenas o meio de cultura. Após, as incubações das placas foram realizadas em aerobiose à 37 °C durante 24 h. Para cada amostra, o ensaio foi realizado em triplicata em três dias distintos (n = 9).

Posteriormente, devido a coloração escura das amostras testes (SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS), foi realizado o subcultivo dos poços em placas de Petri e incubado

à 37 °C por 24 horas. Em seguida, o valor da CIM foi determinado comparando o grupo tratado ao grupo controle de crescimento, considerando inibição de 50%.

4.7 Preparação dos nanocompósitos com a incorporação do SiO₂-Ag MPS ao glaze e ao reembasador macio

Após o teste de concentração inibitória mínima, a nanopartícula de SiO₂-Ag MPS foi incorporada ao reembasador e ao glaze nas concentrações de 1 wt% e 2,5 wt% em relação a massa dos materiais (Jasiorski et al., 2009). Foi selecionada a nanopartícula funcionalizada por sua melhor dispersão no polímero. Assim, as nanopartículas foram divididas em 3 grupos para avaliação do glaze e em 3 grupos para a avaliação do reembasador (n = 12), sendo um grupo controle negativo (sem nanopartículas), e dois grupos experimentais com a presença de nanopartículas variando a concentração em relação a massa, 1% wt e 2,5% wt. O intuito foi avaliar o potencial antifúngico da nanopartícula de SiO₂-Ag MPS, quando incorporada no glaze e ao reembasador macio, de acordo com a Tabela 2 e 3.

Tabela 2 - Divisão dos grupos experimentais de acordo com a concentração de nanopartículas de SiO₂-Ag MPS para o glaze

Grupos (n=12)	Descrição
CG	Glaze + Reembasador macio
G1	(Glaze + Nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS 1 wt%) + Reembasador macio

G2 (Glaze + Nanopartículas de SiO₂-Ag MPS 2,5 wt%) + Reembasador macio

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3 - Divisão dos grupos experimentais de acordo com a concentração de nanopartículas de SiO₂-Ag MPS para o reembasador

Grupos (n=12)	Descrição
CR	Reembasador macio
R1	Reembasador macio + Nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS 1 wt%
R2	Reembasador macio + Nanopartículas de SiO ₂ -Ag MPS 2,5 wt%

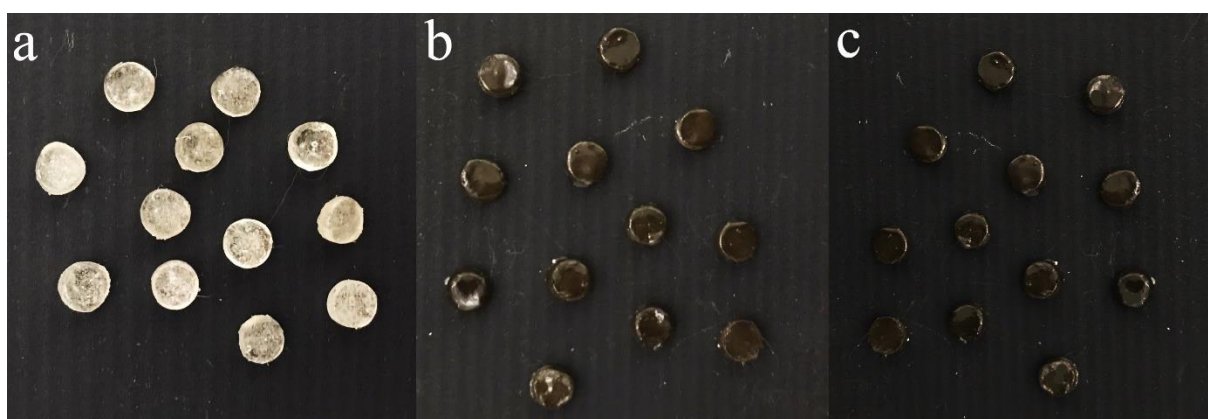
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a obtenção dos nanocompósitos dos três primeiros grupos (CG, G1 e G2), foram confeccionadas 36 amostras cilíndricas de 6 x 2 mm (diâmetro e espessura) de glaze sobre o reembasador macio. Para a preparação do reembasador macio, os materiais dos dois frascos (pó e líquido) foram misturados na proporção recomendada pelo fabricante (2:1), em 21 g de pó do polímero foi adicionado 10 mL de monômero em um pote de vidro com tampa. O material foi manipulado na fase plástica com o auxílio de uma seringa para evitar a incorporação de bolhas, e então, foi acomodado nos espaços de padrões metálicos de 6 mm de diâmetro e 2 mm de espessura sobre uma placa de vidro e após o preenchimento dos orifícios, foi posicionada uma nova placa de vidro. Sobre o conjunto foi realizada uma pressão de 350 g. Após a limpeza em ultrassom, as amostras de reembasador foram consideradas prontas para receber a aplicação do glaze, segundo a recomendação do fabricante. Para os grupos G1 e G2, as nanopartículas de SiO₂-Ag MPS foram dispersas no glaze líquido conforme as

concentrações de 1 wt% e 2,5 wt% e foram mantidas em agitação constante por 15 minutos para completa incorporação. A aplicação do glaze foi realizada com o auxílio de um microbrush sobre o reembasador macio, obtendo os nanocompósitos de glaze.

Para os grupos CR, R1 e R2 foram confeccionadas 12 amostras cilíndricas adicionais de reembasador macio nas mesmas dimensões e proporções descritas. O monômero utilizado na confecção deste grupo foi modificado pela incorporação de nanopartículas, conforme as concentrações de 1 wt% (R1) e 2,5 wt% (R2), sendo mantidas em agitação constante por 15 minutos para completa dispersão no líquido. A manipulação do material foi realizada conforme descrito para os demais grupos. Após a polimerização, os discos confeccionados foram limpos em ultrassom com água destilada por 5 minutos. Na figura 5 pode ser observado os nanocompósitos obtidos após a incorporação das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ para o glaze. Já na figura 6, os nanocompósitos de reembasador.

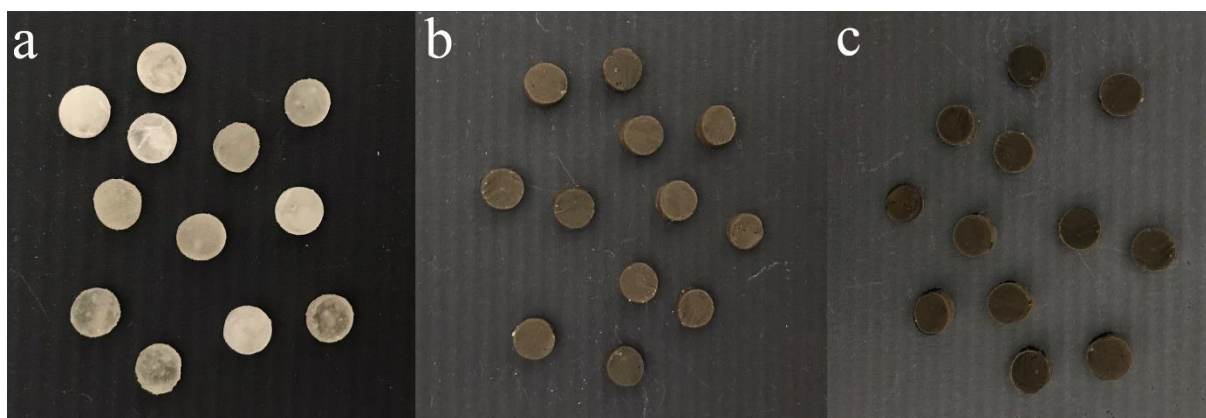
Figura 5 - Nanocompósitos de glaze



Legenda: a) CG; b) G1; c) G2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 - Nanocompósitos de reembasador



Legenda: a) CR; b) R1; c) R2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.8 Caracterização microestrutural dos nanocompósitos

4.8.1 Análise da superfície do nanocompósito por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

Uma amostra de cada grupo foi avaliada a fim de se verificar a superfície do nanocompósito. Esta análise foi realizada no Laboratório Associado de Sensores e Materiais (LAS) por um MEV-EDS (Vega3, Tescan, Brno, República Tcheca), com 20 kV. As amostras receberam previamente uma deposição de liga de ouro com espessura de 8 nm em uma metalizadora (EMITECH SC7620, Sputter Coater) por 120 s a 12 mA. Imagens de cada grupo foram realizadas em 1kx de ampliação.

4.8.2 Análise de ângulo de contato e energia de superfície por Goniômetro

Em todos os nanocompósitos, foi realizado o ensaio de análise de ângulo de contato e energia de superfície através de um goniômetro (Theta Lite model, Attension, Biolin Scientific, Espoo, Finland), sob temperatura controlada e ligada a um computador com software One Attension. Uma gota de água destilada foi colocada sobre a superfície do nanocompósito com uma seringa, e depois de 10 segundos, o ângulo de contato foi mensurado.

4.9 Caracterização microbiológica dos nanocompósitos – avaliação da atividade anti-biofilme de *Candida albicans*

Previamente ao ensaio de formação de biofilme, espécimes com nanocompósitos (n=12) foram esterilizados por exposição à radiação ultravioleta por 10 minutos em cada face. Após a esterilização, foi utilizada a cepa padrão *C. albicans* SC 5314. A amostra de *C. albicans* foi semeada em ágar Sabouraud dextrose e incubada por 24 horas a 37 °C, em aerobiose. Após este período, foi obtida suspensão padronizada contendo 10^6 células/ml em solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%, pH 7,0), com auxílio de um espectrofotômetro (λ : 530; DO: 0,138). As amostras foram transferidas para poços de placas de poliestireno de 24 poços. Em seguida, alíquotas de 2 ml de caldo RPMI com 2% de glicose e 200 μ L do inóculo fúngico foram adicionados a cada poço. As placas foram incubadas por 90 minutos a 37 °C em aerobiose sobre agitação (75 rpm) para a aderência das células fúngicas aos espécimes. Após o período de pré-adesão, as amostras foram lavadas com solução fisiológica estéril para remoção de células não aderentes. Em seguida foi adicionado 2 ml do meio de cultura e incubado a 37 °C

por 24h. Após este período, os espécimes foram lavados com solução fisiológica e transferidos para tubos contendo 1 mL de solução fisiológica. Para a recuperação do biofilme, os tubos foram agitados por 60 segundos em vórtex e depois sonicados (2 pulsos de 15 segundos com 5 segundos de intervalo, amplitude 40, 15 W, no gelo). A suspensão resultante foi diluída em série e semeada em ágar Sabouraud dextrose. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C, em aerobiose. A seguir, a contagem do número de células viáveis dos biofilmes foi realizada. Os valores de UFC/espécime foram calculados e comparados estatisticamente entre os grupos testes. Foi adicionado ao ensaio, controle de crescimento fúngico em meio de cultura estéril, controle de esterilidade do meio de cultura ausente de inóculo fúngico e controle de esterilidade de parte dos espécimes em meio de cultura estéril ausente de micro-organismo. Os testes foram realizados em triplicata.

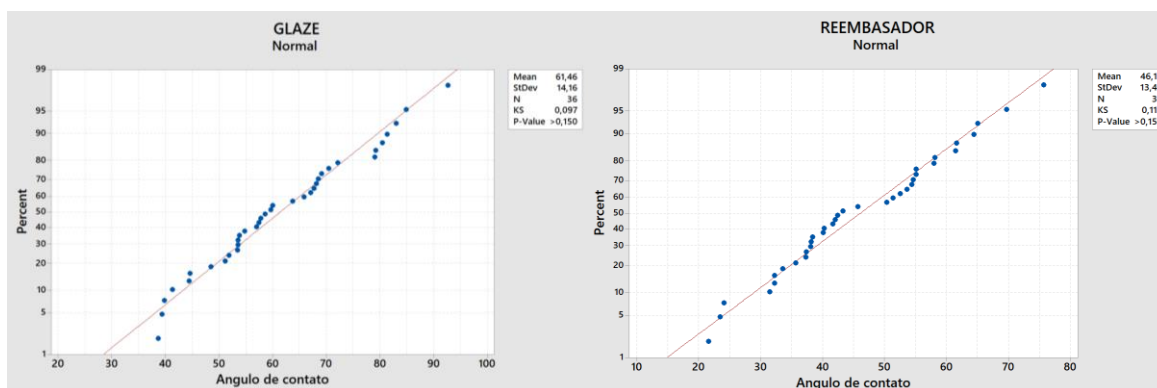
Foram preparados 2 espécimes de cada grupo nas condições descritas acima para análise em microscopia eletrônica de varredura. Os biofilmes foram submetidos ao processo de fixação por glutaraldeído 2,5 % durante 24 horas. Após enxague em solução fisiológica, foi realizada a desidratação em diferentes concentrações de álcool (30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 % durante 15 minutos e 100 % durante 30 minutos). A seguir, os biofilmes foram secos em temperatura ambiente por 24 horas. Os biofilmes foram metalizados (EMITECH SC7620, Sputter Coater) e observados em MEV-FEG (Mira3, Tescan, Brno, República Tcheca), sendo as imagens capturadas e registradas.

Por fim, o percentual de inibição de crescimento fúngico foi calculado usando a seguinte equação: Taxa de inibição (por cento) = $R - r / R \times 100$; onde R é o crescimento fúngico no controle negativo (UFC/espécime) e r é o crescimento fúngico no grupo experimental com as nanopartículas (Bahrami-Teimoori et al., 2017).

4.10 Análise estatística

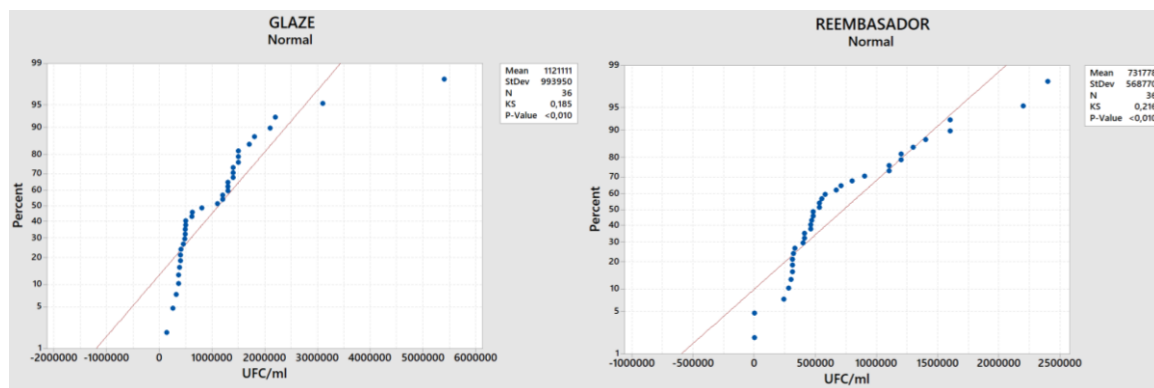
Para a interpretação dos resultados, foram consideradas variáveis dependentes do presente estudo o glaze, o reembasador e a nanopartícula. Já as variáveis independentes, foram a CIM, o ângulo de contato e o biofilme. Após a compilação de todos os resultados, foi realizado o teste de normalidade e homocedasticidade (Kolmogorov-Smirnov) para avaliar a existência de distribuição normal. Houve distribuição normal para ângulo de contato, tanto para o glaze quanto para o reembasador, sendo observado na figura 7. Assim, foram estabelecidas médias e desvio padrão e realizado o teste de Análise de Variância ANOVA um fator e teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Para a formação do biofilme, tanto para o glaze quanto para o reembasador, não houve distribuição normal dos resultados, sendo observado na figura 8. Assim, os dados de UFC/espécime foram submetidos ao teste não-paramétrico Kruskal-Wallis.

Figura 7 - Gráfico de homoscedasticidade para o ângulo de contato, glaze e reembasador



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 - Gráfico de homoscedasticidade para o biofilme, glaze e reembasador



Fonte: Elaborado pelo autor.

5 RESULTADO

5.1 Caracterização das nanopartículas

Foi realizada a síntese das nanopartículas de SiO_2 pura, de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ (não funcionalizadas) e de $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ (funcionalizadas pelo grupo acrílico MPS). A caracterização das nanopartículas de SiO_2 pura, de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ foi realizada com o objetivo de analisar suas características físico-químicas, morfologia e estrutura cristalina. Já a caracterização das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$, que foram modificados por MPS, teve como finalidade verificar se, de fato, ocorreu a funcionalização. Para todas as amostras, utilizou-se as técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG) com energia dispersiva (MEV-EDS), difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).

5.1.1 Microscopia eletrônica de varredura – Field Emission Gun (MEV-FEG)

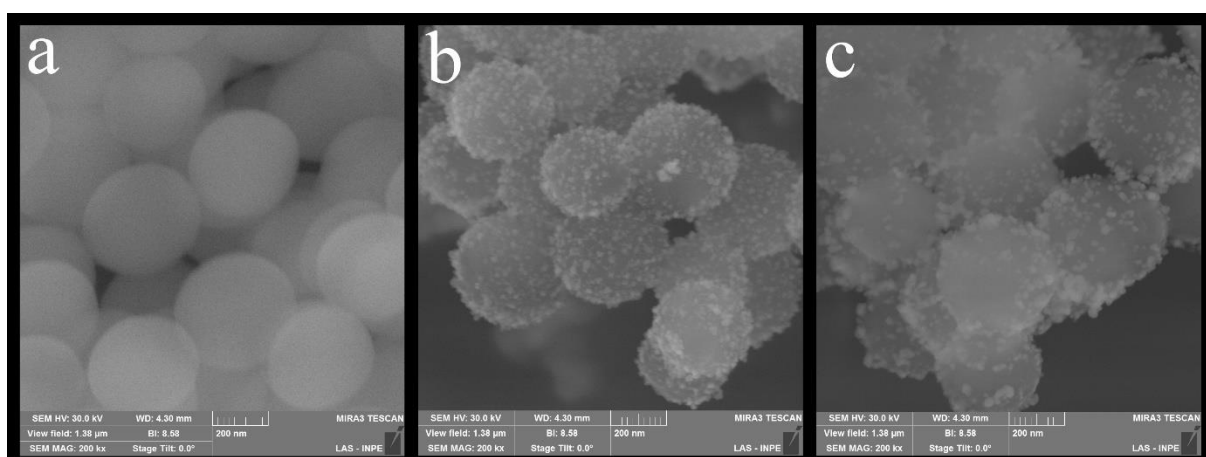
Para a caracterização das nanopartículas quanto a sua morfologia foi utilizado um MEV-FEG (Mira3, Tescan, Brno, República Tcheca) em aumentos de 200 kx. As imagens obtidas podem ser observadas na figura 9 (a-c). Em a, foi possível observar a superfície das nanopartículas de SiO_2 puro. Na micrografia, nota-se a disposição dos grãos arredondados de sílica que se encontra uniforme,

com superfície lisa e homogênea e tamanho regular. O diâmetro médio variou entre 468 e 504 nm.

Em b, observou-se a superfície das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$, nas quais foi possível verificar o grão de sílica (cinza escuro) envolto por grãos menores de prata (cinza claro). Essa disposição também foi uniforme e regular, sendo que grande parte da área das nanopartículas de SiO_2 estavam envoltas por nanopartículas de prata. Neste caso, o diâmetro das nanopartículas de SiO_2 variou entre 423 e 510 nm.

Por fim, em c, observou-se a superfície das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ MPS, após a funcionalização. Nota-se que não houve diferença morfológica em relação as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$, mantendo o diâmetro entre 418 a 502 nm. Dessa forma, foi possível inferir que a funcionalização foi realizada de forma homogênea, sem alterações de morfologia e sem a formação de aglomerados de agentes funcionalizantes.

Figura 9 - Imagens obtidas por MEV-FEG das amostras (200 kx)



Legenda: a) SiO_2 puro; b) $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ não funcionalizado; c) $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ funcionalizado por MPS.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.2 Microscopia eletrônica de varredura com energia dispersiva (MEV-EDS)

Para a caracterização das nanopartículas quanto a sua composição química, foi realizada análise em MEV-EDS. Através dessa análise, foi possível obter os valores percentuais, em massa e atômico, quanto aos compostos químicos presentes na nanopartícula. As nanopartículas possuem em sua composição, oxigênio (O), sílica (Si) e prata (Ag), como pode-se observar na tabela 4. A concentração de carbono (C) que apareceu na leitura do MEV-EDS foi referente a fita de carbono utilizada para a fixação das nanopartículas, portanto não será analisada na discussão dos resultados.

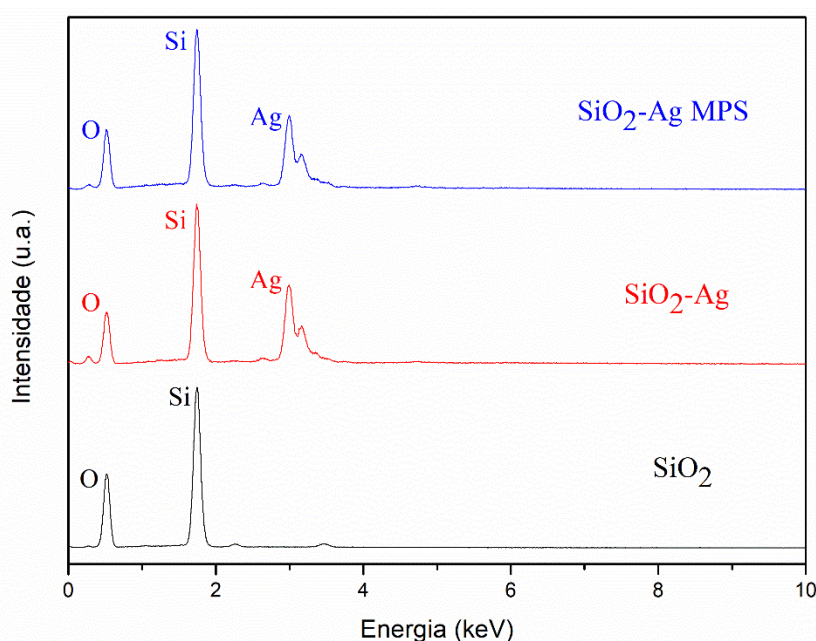
Tabela 4 - Médias de valores de percentual em massa (wt %) e de percentual atômico (at %) das nanopartículas de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS pela análise em MEV-EDS

	SiO ₂		SiO ₂ -Ag		SiO ₂ -Ag MPS	
	wt %	at %	wt %	at %	wt %	at %
C	1,2	1,9	6,7	13,5	2,0	4,3
O	54,1	66,7	41,5	62,9	35,2	61,5
Si	44,7	31,5	18,6	16,1	23,6	23,9
Ag	-	-	33,2	7,5	38,2	10,4

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a amostra SiO_2 , notou-se apenas a presença de Si e O referente à composição química da sílica. Após o recobrimento das nanopartículas de SiO_2 com prata ($\text{SiO}_2\text{-Ag}$), notou-se o surgimento de uma quantidade significativa de Ag na composição da amostra, sendo de 33,2 wt %. Consequentemente, a quantidade relativa de Si e O foi reduzida, devido à inserção de novos elementos na amostra. Após o processo de funcionalização ($\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$), notou-se novamente um aumento na quantidade de Si, quando comparado à amostra sem funcionalização, uma vez que o MPS possui Si em sua composição. Na figura 10 é possível observar os espectros de EDS obtidos para as nanopartículas sintetizadas.

Figura 10 - Espectros de EDS das nanopartículas de SiO_2 puro, $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ não funcionalizado e $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ funcionalizado por MPS



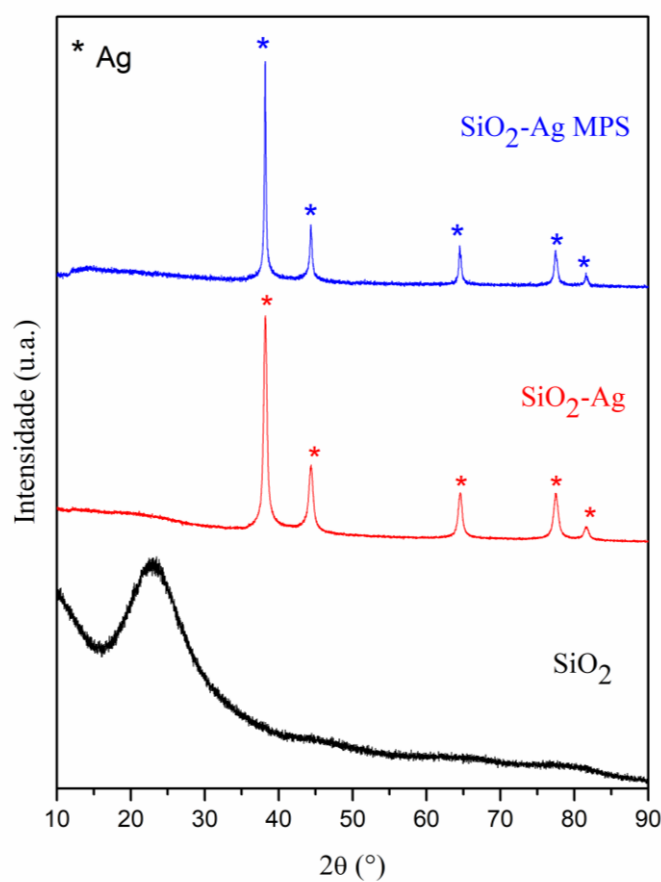
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.3 Difração de raios X (DRX)

Na figura 11 foram apresentados os difratogramas de raios X das nanopartículas de SiO_2 , $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ e $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$. No difratograma da sílica pura observou-se apenas a presença de uma banda larga em torno de $2\theta = 24^\circ$, referente a estrutura amorfa do material (Gholami et al., 2013). Não houve a presença de nenhum outro pico referente a outras fases. Para as amostras $\text{SiO}_2\text{-Ag}$, antes e após a funcionalização, pode-se observar a presença de cinco picos correspondentes à prata metálica. Em ambos os difratogramas, os picos foram atribuídos aos seguintes planos de difração pela ficha JCPDS 01-087-0597: $2\theta = 38,11^\circ$ (111), $2\theta = 44,29^\circ$ (200), $2\theta = 64,44^\circ$ (220), $2\theta = 77,39^\circ$ (311), e $2\theta = 81,54^\circ$ (222).

Após as etapas de funcionalização utilizando MPS, não houve nenhuma mudança significativa nos difratogramas. Nenhum pico referente à formação de óxido de prata foi identificado nos difratogramas, indicando apenas a presença de prata metálica mesmo após a modificação superficial. Pode-se verificar que não houve regiões amorfas, as quais seriam um indicativo de excesso de agente de funcionalização após a reação. Assim, a funcionalização não gerou mudanças na estrutura cristalina das amostras de $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$.

Figura 11 - Análise do DRX das nanopartículas de SiO_2 , $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ e $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$



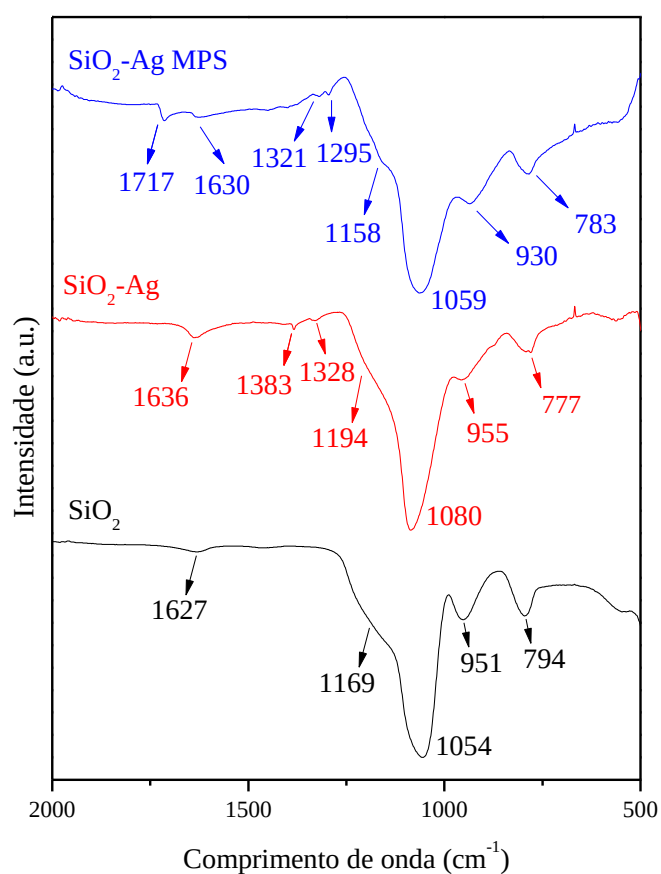
Legenda: Os picos evidenciados pelo asterisco (*) se referem aos picos da prata cúbica (Ag).
 Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.4 Espectroscopia de infravermelho (FT-IR)

Na Figura 12 foram apresentados os espectros de FT-IR obtidos para as amostras de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS. Para a amostra de SiO₂, observou-se bandas relativas às ligações de Si e O. Em torno de 794 cm⁻¹, encontrou-se uma banda referente ao modo de flexão (torção) das ligações Si-O-Si (Hu et al., 2003). A banda em 951 cm⁻¹ foi relativa ao estiramento assimétrico Si-OH (Sakthisabarimoorthi et al., 2017; Yu et al., 2009). A banda em 1054 cm⁻¹ estava relacionada com a vibração de estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si (Hu et al., 2003). O ombro em torno de 1169 cm⁻¹ refere-se ao estiramento assimétrico

da ligação Si-O (Hu et al., 2003). Já em 1627 cm^{-1} , encontrou-se uma banda associada a vibrações das moléculas de água adsorvidas na superfície das nanopartículas de SiO_2 (Holtz et al., 2010).

Figura 12 - Espectros de FT-IR das amostras de nanopartículas de SiO_2 , $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ e $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ de 2000 a 500 cm^{-1}



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a amostra $\text{SiO}_2\text{-Ag}$, as bandas características do SiO_2 ainda foram observadas. Nota-se, também, o surgimento de novas bandas em 1328 e 1383 cm^{-1} , ambas relacionadas ao estiramento simétrico da ligação N=O de

compostos nitrogenados, o qual pode ser proveniente do AgNO_3 utilizado no processo de recobrimento (Sakthisabarimoorthi et al., 2017). Para essa amostra, pode-se observar também o deslocamento da banda relativa à vibração de estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si, de 1054 para 1080 cm^{-1} , e a redução de intensidade da banda em 955 cm^{-1} , relativa ao estiramento assimétrico Si-OH. Tais fenômenos podem estar relacionados com a adesão da prata na superfície do SiO_2 . Durante o processo de recobrimento, a superfície tensionada das ligações Si-O-Si e Si-OH foi rompida para melhor incorporação das nanopartículas de prata (Sakthisabarimoorthi et al., 2017).

Após a funcionalização utilizando MPS, as bandas relativas à estrutura do $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ ainda foram observadas, indicando que a modificação superficial não alterou a estrutura primária do material. Entretanto, notou-se o surgimento de novas bandas em 1295 , 1321 e 1717 cm^{-1} . As bandas em 1295 e 1321 cm^{-1} foram relativas ao estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-O e C-O-C, respectivamente (Abdelmouleh et al., 2007; Suzuki, Ishida, 2005). Já a banda em 1717 cm^{-1} , refere-se ao estiramento C=C (Abdelmouleh et al., 2007; Rodriguez et al., 1999). As novas bandas observadas foram relativas à estrutura carbônica presente no MPS. A banda em torno de 930 cm^{-1} , referente às ligações Si-OH, tem sua intensidade aumentada novamente, devido à presença de grupos Si-OH no MPS (Rice, Scott, 1997; Rulkens et al., 1999).

A Tabela 5 apresentou as atribuições de bandas de FT-IR para as amostras em estudo. As novas bandas apresentadas no espectro de FT-IR das amostras $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ e $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ indicaram que, de fato, ocorreu a funcionalização do $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ com o MPS. Os grupos hidroxilas presentes na superfície do SiO_2 reagiram com o Si-OH formado na hidrólise dos grupos $(\text{OR}')_3$ do MPS, levando a modificação superficial das nanopartículas. Após a modificação realizada com MPS, grupos acrílicos $(\text{Si}-(\text{CH}_2)_3\text{CO}_2(\text{CH}_3)\text{C}=\text{CH}_2)$ ficaram expostos na superfície do nanopartículas, facilitando sua interação com o PMMA.

Tabela 5 - Atribuição de bandas de FT-IR para as amostras SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS

Amostra	Bandas (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
SiO ₂	1627	Vibração H ₂ O	(Holtz et al., 2010)
	1169	Estiramento assimétrico da ligação Si-O	(Hu et al., 2003)
	1054	Estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si	(Hu et al., 2003)
	951	Estiramento assimétrico Si-OH	(Sakthisabarimoorthi et al., 2017; L. Yu et al., 2009)
SiO ₂ -Ag	794	Modo de flexão (torção)	(Hu et al., 2003)
	1636	Vibração H ₂ O	(Holtz et al., 2010)
	1383	Estiramento simétrico da ligação N=O	(Sakthisabarimoorthi et al., 2017)
	1328	Estiramento simétrico da ligação N=O	(Sakthisabarimoorthi et al., 2017)
	1194	Estiramento assimétrico da ligação Si-O	(Hu et al., 2003)
	1080	Estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si	(Hu et al., 2003)
	955	Estiramento assimétrico Si-OH	(Sakthisabarimoorthi et al., 2017; L. Yu et al., 2009)
	777	Modo de flexão (torção)	(Hu et al., 2003)

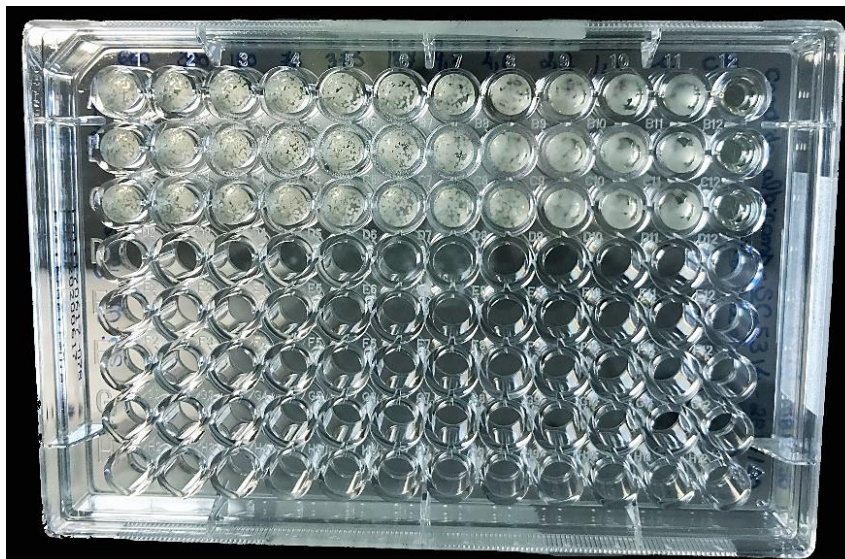
Amostra	Bandas (cm ⁻¹)	Atribuição	Referência
SiO ₂ -Ag MPS	1717	Estiramento C=C	(Abdelmouleh et al., 2007; Rodriguez et al., 1999)
	1630	Vibração H ₂ O	(Holtz et al., 2010)
	1321	Estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-O-C	(Abdelmouleh et al., 2007; Suzuki, Ishida, 2005)
	1295	Estiramento simétrico e assimétrico das ligações C-O	(Abdelmouleh et al., 2007; Suzuki, Ishida, 2005)
	1158	Estiramento assimétrico da ligação Si-O	(Hu et al., 2003)
	1059	Estiramento assimétrico das ligações Si-O-Si	(Hu et al., 2003)
	930	Estiramento assimétrico Si-OH	(Hu et al., 2003)
	783	Modo de flexão (torção)	(Hu et al., 2003)

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Concentração inibitória mínima para *Candida albicans* (SC 5314)

Para as nanopartículas de SiO₂, não houve inibição de crescimento de *C. albicans* em nenhuma das concentrações testadas, podendo ser observado o crescimento fúngico em todos os poços semeados, conforme a figura 13.

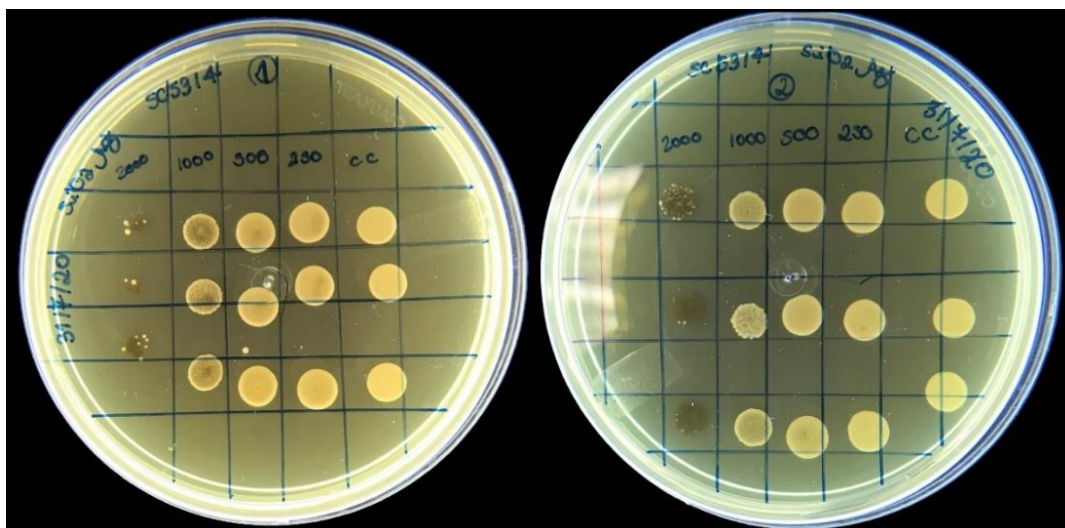
Figura 13 - Determinação da concentração inibitória mínima das nanopartículas de SiO₂ demonstrando crescimento fúngico em todos os poços, exceto no poço 12 (controle de esterilidade do meio de cultura)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para as nanopartículas de SiO₂-Ag na presença de *C. albicans*, a concentração inibitória mínima observada foi de 1000 µg/mL, podendo ser observado na figura 14. Foi observado efeito bacteriostático até a concentração de 2000 µg/mL.

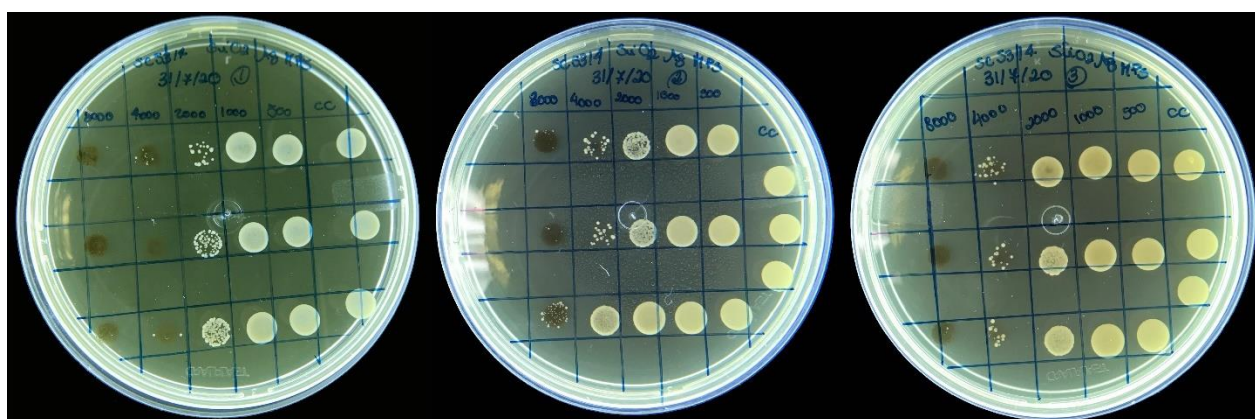
Figura 14 - Concentração inibitória mínima das nanopartículas de SiO₂-Ag



Fonte: Elaborado pelo autor.

Já para as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ MPS, a CIM foi considerada na concentração de 2000 $\mu\text{g/mL}$, podendo ser observado na figura 15. Efeito bacteriostático também foi demonstrado até a maior concentração testada, de 8000 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 15 - Concentração inibitória mínima das nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ MPS



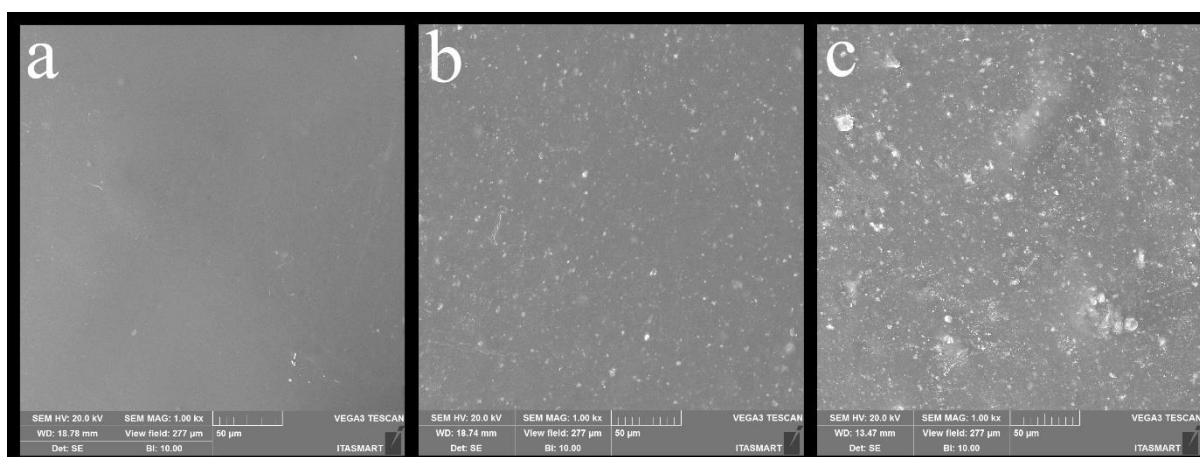
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Caracterização microestrutural dos nanocompósitos

5.3.1 Análise da superfície do nanocompósito por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

As imagens obtidas pelo MEV podem ser observadas na figura 16 e 17 (a-c). Tanto para o glaze quanto para o reembasador, foi possível observar uma importante modificação superficial da amostra após a incorporação das nanopartículas. Além disso, a distribuição das nanopartículas no glaze e no reembasador foram distintas, uma vez que se trata de materiais diferentes. Na figura 16, correspondente ao glaze, houve uma modificação importante na superfície do material, principalmente em para o G2. Na figura 17, correspondente ao reembasador, também foi possível observar uma importante modificação superficial do material, principalmente para o R2.

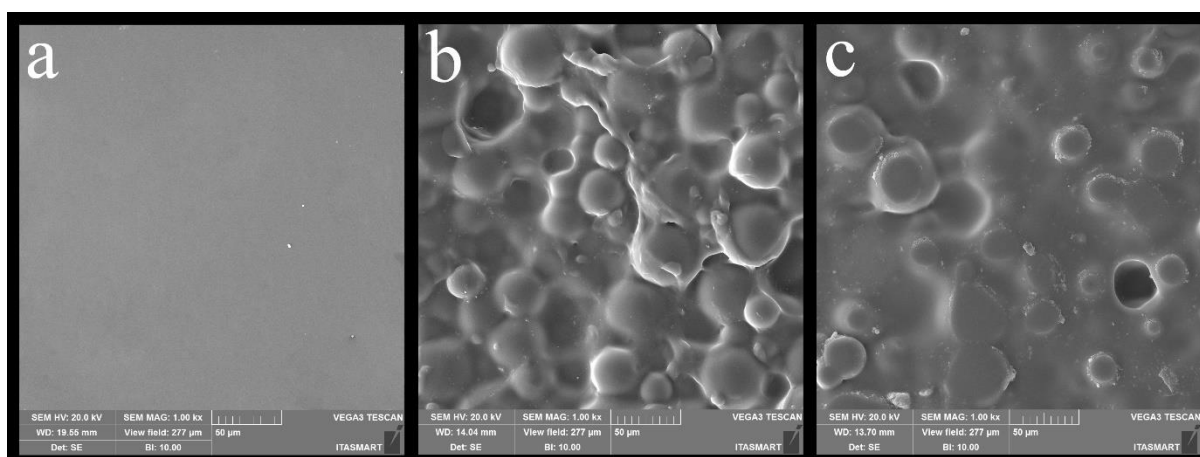
Figura 16 - Imagens obtidas por MEV-EDS da superfície dos nanocompósitos dos grupos experimentais relativos ao glaze (1kx)



Legenda: a) CG; b) G1; c) G2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 17 - Imagens obtidas por MEV-EDS da superfície dos nanocompósitos dos grupos experimentais relativos ao reembasador (1kx)



Legenda: a) CR; b) R1; c) R2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.2 Análise de ângulo de contato e energia de superfície por Goniômetro

Os resultados para o ângulo de contato do glaze podem ser observados na Tabela 6, sendo estabelecidas médias e desvios padrão. A tabela 7 disponibilizou a estatística ANOVA um-fator. Foi possível observar que houve diferença estatística significativa (p -valor=0,001) comparando o CG, G1 e G2. Houve um maior ângulo de contato para o grupo G2, com 2,5 wt% de nanopartículas.

Tabela 6 - Média e desvio padrão para o ângulo de contato com teste de Tukey ($\alpha=0,05$) para o glaze

Grupos	Média $\pm$ desvio padrão	Teste de Tukey
CG	53,3 $\pm$ 11	B
G1	57,2 $\pm$ 10,6	B
G2	73,7 $\pm$ 12,1	A

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7 - Tabela ANOVA um-fator demonstrando haver diferença estatística significativa quanto a presença e ausência de nanopartículas no glaze ($p=0,001$)

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	p-Value
NANO	2	2486	1243,2	8,66	0,001
Error	34	4881	143,6		
Total	36	7368			

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados para o ângulo de contato do reembasador podem ser observados na Tabela 8, sendo estabelecidas médias e desvios padrão. A tabela 9 disponibilizou a estatística ANOVA um-fator. Foi possível observar que houve diferença estatística significativa ($p\text{-valor}=0,000$) comparando o CR, R1 e R2. Houve um maior ângulo de contato para o grupo R2, com 2,5 wt% de nanopartículas.

Tabela 8 - Média e desvio padrão para o ângulo de contato com teste de Tukey ($\alpha=0,05$) para o reembasador

Grupos	Média $\pm$ desvio padrão	Teste de Tukey
CR	35,6 $\pm$ 10,9	B
R1	44,8 $\pm$ 7,8	B
R2	57,9 $\pm$ 10,7	A

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 9 - Tabela ANOVA um-fator demonstrando haver diferença estatística significativa quanto a presença e ausência de nanopartículas no reembasador (p=0,000)

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	p-Value
NANO	2	3020	1509,90	15,26	0,000
Error	33	3264	98,92		
Total	35	6284			

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi possível notar que os grupos CG e CR apresentaram na média um menor ângulo de contato quando comparados aos demais grupos experimentais, tendo como consequência, uma maior molhabilidade e maior energia de superfície, o que facilitaria a interação com o meio. Já nos grupos experimentais, a nanopartícula de sílica e prata incorporada tornou a superfície mais hidrofóbica tanto para o glaze quanto para o reembasador. Consequentemente, houve uma redução na energia de superfície e menor permeabilidade.

5.4 Caracterização microbiológica dos nanocompósitos – avaliação da atividade anti-biofilme de *Candida albicans*

Os valores de UFC/espécime para os grupos CG, G1 e G2 podem ser observados na tabela 10. De acordo com o método de análise dado pelo teste de Kruskal Wallis, é possível observar na tabela 11 que não houve diferença estatística para a presença de nanopartículas, independente da sua concentração. Porém, o valor de UFC/espécime em G1 obteve uma menor contagem em relação aos demais grupos. Não houve crescimento microbiano nos espécimes do teste de esterilidade.

Tabela 10 - Valores de UFC/espécime para o glaze

Grupos	N	Mediana	Ponto médio	Valor-Z
CG	12	1300000	20,7	0,87
G1	12	470000	14,3	-1,68
G2	12	1150000	20,5	0,81
Global	36		18,5	

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 11 - Estatística não paramétrica para o glaze

Método	G	H-valor	P-valor
Não ajustado para empates	2	2,82	0,245
Ajustado para empates	2	2,82	0,244

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores de UFC/espécime para os grupos CR, R1 e R2 podem ser observados na tabela 12. De acordo com o método de análise dado pelo teste de Kruskal Wallis, é possível observar na tabela 13 que não houve diferença estatística para a presença de nanopartículas, independente da sua concentração. O menor valor de UFC/espécime foi obtido no CR, o que indica que a agregação de nanopartículas no reembasador não gerou benefício quanto a redução fúngica. Não houve crescimento microbiano nos espécimes do teste de esterilidade.

Tabela 12 - Valores de UFC/espécime para o reembasador

Grupos	N	Mediana	Ponto médio	Valor-Z
CR	12	470000	17,0	-0,59
R1	12	475000	16,0	-1,02
R2	12	1150000	22,5	1,61
Global	36		18,5	

Fonte: Elaborado pelo autor.

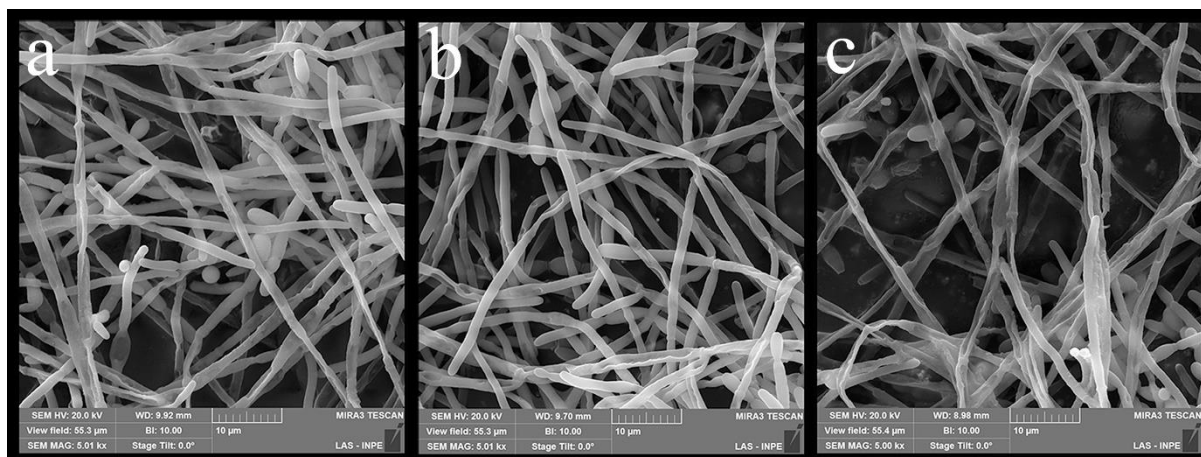
Tabela 13 - Estatística não paramétrica para o reembasador

Método	G	H-valor	P-valor
Não ajustado para empates	2	2,66	0,265
Ajustado para empates	2	2,66	0,264

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os biofilmes formados sobre uma amostra de cada grupo experimental podem ser observados nas figuras 18 e 19. Na figura 18, correspondente ao glaze, notou-se a formação de hifas nos diferentes grupos, CG, G1 e G2. Porém, foi possível observar uma alteração morfológica no biofilme conforme o aumento da concentração de nanopartículas. Essa alteração morfológica pode ser observada principalmente em G2, cujas hifas aparentam uma morfologia distinta quando comparado ao CG. Na figura 19, correspondente ao reembasador, também se notou a formação de hifas nos diferentes grupos, CR, R1 e R2. Assim como no glaze, foi possível observar uma alteração morfológica no biofilme conforme o aumento da concentração de nanopartículas, sendo a alteração morfológica mais importante visualizada no R2.

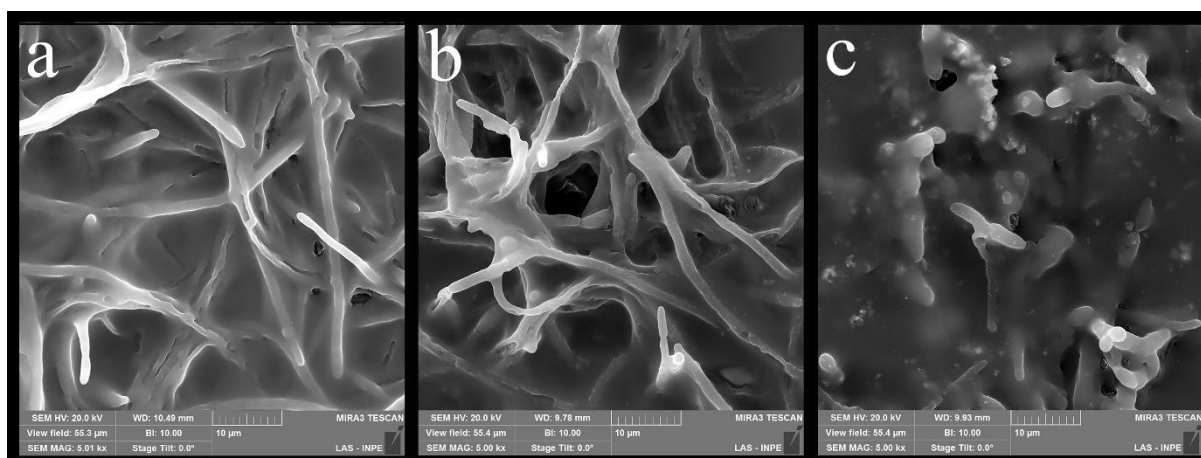
Figura 18 - Imagens obtidas por MEV-FEG do biofilme formado na superfície dos nanocompósitos de glaze (5x)



Legenda: a) CG; b) G1; c) G2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19 - Imagens obtidas por MEV-FEG do biofilme formado na superfície dos nanocompósitos de reembasador (5kx)



Legenda: a) CR; b) R1; c) R2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O percentual de redução fúngica foi calculado para o glaze, devido a redução da contagem de UFC/espécime. O grupo G1 obteve um percentual de redução de UFC/espécime de 64% quando comparado ao CG. Já o grupo G2, teve um percentual de redução de UFC/espécime de 12% quando comparado ao CG.

Já para o reembasador, como os grupos experimentais R1 e R2 obtiveram maiores valores de UFC/espécime quando comparados ao CR, o cálculo não foi realizado.

6 DISCUSSÃO

Este estudo realizou a síntese e as caracterizações das nanopartículas de SiO₂-Ag e dos nanocompósitos de glaze e de reembasador macio. Foi avaliado o potencial antifúngico da nanopartícula de SiO₂-Ag, tanto não-funcionalizada quanto funcionalizada, pelo teste de CIM frente a cepa de *C. albicans* SC 5314. O potencial antifúngico dos nanocompósitos de glaze e de reembasador macio também foi avaliado frente a cepa de *C. albicans* SC 5314 pelo teste de biofilme. De acordo com os resultados obtidos pelo estudo, foi possível desenvolver um material promissor para redução fúngica visto que o percentual de redução fúngica atingido pelo grupo G1 foi de 64%. Como para o reembasador houve um aumento de UFC/espécime, não foi realizada o cálculo percentual.

Como já falado, a resina acrílica é um material susceptível a absorção de pequenas quantidades de água quando colocado em ambiente úmido, tendendo a absorver solventes (Anusavice, Shen, 2013; Hamid et al., 2019). A incorporação de nanopartículas de SiO₂-Ag visou criar uma camada de proteção impermeável para aplicação na superfície da resina acrílica. Para isso, as nanopartículas desenvolvidas no presente estudo foram incorporadas ao glaze e ao reembasador macio de prótese, materiais poliméricos que possuem afinidade com a resina acrílica utilizada para base da dentadura (Anusavice, Shen, 2013).

A despeito de seu efeito antimicrobiano, a prata é citotóxica para o corpo humano quando utilizada puramente e em grandes concentrações (Barbasz et al., 2017; Hadrup, Lam, 2014; Marin et al., 2015). Em baixas concentrações, as nanopartículas de prata são aplicadas em diversas áreas da odontologia, como por exemplo, na endodontia, na prótese dentária, na implantodontia e na odontologia restauradora. Sua incorporação tem o objetivo de evitar ou diminuir a colonização bacteriana nos materiais dentários, aumentando o nível de saúde oral e

melhorando a qualidade de vida dos pacientes (Corrêa et al., 2015; Luccato, 2017; Sacorague, 2016). A citotoxicidade não foi avaliada no presente estudo, visto que a nanopartícula possuía um núcleo de SiO_2 , descrito em outros estudos como um estabilizador de agentes antimicrobianos, reduzindo a citotoxicidade dos materiais (Devi et al., 2014; Lu et al., 2017).

Foi descrito em outros estudos que a atividade bactericida das nanopartículas de prata é dependente de seu tamanho, forma e quantidade (Martínez-Castañón et al., 2008; Pal et al., 2007). Sabe-se que o tamanho da partícula de prata parece desempenhar um papel importante na morte bacteriana. As partículas com menor tamanho possuem maior potencial de toxicidade e de liberação lenta de átomos e íons na superfície. O presente mecanismo de inibição do crescimento bacteriano por nanopartículas de prata não é muito claro, mas a ação inibitória delas está relacionada a liberação controlada de íons Ag^+ (Devi et al., 2014). Assim, o presente estudo visou sintetizar nanopartículas com o menor tamanho possível para obter a liberação controlada de Ag^+ . Após a caracterização do material por MEV-FEG, foi possível observar nanopartículas que variaram de tamanho entre 418 a 502 nm. Muito embora as dimensões das partículas obtidas no estudo tenham sido satisfatórias, entende-se que a metodologia de síntese pode ser aprimorada com o intuito de diminuir ainda mais o tamanho da nanopartícula obtida.

Para ocorrer a liberação controlada de íons Ag^+ , nanopartículas de SiO_2 foram usadas como transportador e como núcleo das nanopartículas de prata, visto que o SiO_2 foi descrito como núcleo de agentes antimicrobianos em outro estudo (Devi et al., 2014). Além disso, as nanopartículas de SiO_2 possuem alta área de superfície, permitindo o carregamento de grandes quantidades de materiais antimicrobianos e a liberação lenta dos agentes bactericidas por um período prolongado (Devi et al., 2014). No presente estudo, primeiramente foi sintetizada a nanopartícula de SiO_2 , indo de encontro ao estudo já descrito na literatura (Devi

et al., 2014), visando uma maior estabilidade da prata, visto que ela tende a oxidar com o tempo.

Quanto a caracterização do material obtida pelo EDS, os resultados obtidos pelo presente estudo vão ao encontro a outros estudos já descritos na literatura (De Castro et al., 2016b; Gholami et al., 2013; Lu et al., 2017; Menezes et al., 2021). A caracterização por EDS da nanopartícula de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS, mostrou um percentual de massa e um percentual atômico relativo ao Si, ao O e a Ag. O percentual de C foi desconsiderado por ser referente a fita de carbono utilizada para a fixação das nanopartículas. Os espectros do EDS também podem ser relacionados aos espectros descritos em outro estudo, que também encontrou espectros característicos ao Si, ao O e a Ag (Lu et al., 2017). Em outro estudo, os espectros gerados pelo EDS se assemelharam ao do presente estudo com a presença de O e de Ag, porém divergiram em outros, com a presença de V, relativo ao vanadato de prata (De Castro et al., 2016b). Vale salientar que esse material é quimicamente distinto ao material sintetizado pelo presente estudo.

Quanto a caracterização obtida pelo DRX, os resultados do presente estudo também puderam ser observados em outros estudos (De Castro et al., 2016b; Lu et al., 2017). A estrutura amorfa do SiO₂ dada pelo DRX no presente estudo, também foi observada em outros estudos (Gholami et al., 2013; Lu et al., 2017). Já nas nanopartículas incorporadas com prata, houve uma modificação da estrutura cristalográfica do material, na qual foi possível observar os picos referentes a prata (De Castro et al., 2016b; Lu et al., 2017), tanto para o material não funcionalizado quanto para o material funcionalizado.

Quanto a caracterização realizada pelo FT-IR, os resultados obtidos por esse estudo também foram descritos em outros (Hu et al., 2003; Menezes et al., 2021; Sakthisabarimoorthi et al., 2017; Yu L et al., 2009). Como descrito nos resultados do presente estudo, as bandas relativas a SiO₂, deram-se pelas ligações químicas referentes a H₂O, Si-O, Si-O-Si, Si-OH, também observadas em outros

estudos (Hu et al., 2003; Sakthisabarimoorthi et al., 2017; Yu L et al., 2009). Quando as nanopartículas de SiO₂ foram recobertas pela prata, houve o surgimento de novas bandas relativas as ligações químicas N=O, provenientes do AgNO₃ utilizado no processo de recobrimento (Sakthisabarimoorthi et al., 2017). Após a funcionalização pelo MPS, houve surgimento de novas bandas relativas as ligações químicas entre C-O, C-O-C (Abdelmouleh et al., 2007; Suzuki, Ishida, 2005) e C=C (Abdelmouleh et al., 2007; Rodriguez et al., 1999). As novas bandas foram obtidas pela presença da estrutura carbônica presente no MPS, evidenciando que a funcionalização ocorreu de fato. Também foi possível observar um aumento na quantidade de ligações químicas entre Si-OH, devido à presença de grupos Si-OH no MPS (Rice, Scott, 1997; Rulkens et al., 1999). A formação de novas bandas devido a funcionalização com MPS também foi descrita em outro estudo (Menezes et al., 2021), onde foi possível identificar grupos acrílicos e grupos silanol, responsáveis pela melhor interação química com a resina acrílica.

O ensaio de concentração inibitória mínima para *C. albicans* foi realizado com as três nanopartículas, de SiO₂, SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS. De acordo com os resultados obtidos pelo presente estudo, foi possível observar que a nanopartícula de SiO₂ pura não teve ação antifúngica, observando crescimento em todos os poços independente da redução de concentração. Esses achados também foram relatados em outro estudo, porém os microorganismos testados foram distintos a *C. albicans*, sendo eles *S. aureus* e *E. coli* (Lu et al., 2017). As nanopartículas de SiO₂-Ag e SiO₂-Ag MPS obtiveram valores de CIM para *C. albicans* de 1000 µg/mL e 2000 µg/mL, respectivamente. Esses achados também foram encontrados em outro estudo (Liao et al., 2019) cuja CIM obtida variou de 1.406 – 5.625 µg/mL, porém o microorganismo estudado foi a *P. aeruginosa*. Já em outro estudo, o efeito antifúngico das nanopartículas de prata foi limitado contra *T. harzianum*, enquanto nenhum efeito antifúngico foi observado para *G.*

candidum, mesmo na concentração mais alta das nanopartículas de prata, porém foi encontrada a CIM para de 328.05 µg/mL contra *M. phaseolina*, *A. alternata* e *F. oxysporum* (Bahrami-Teimoori et al., 2017). Este resultado difere do presente estudo onde encontrou-se efeito antifúngico para *C. albicans*, apesar da nanopartícula ser diferente.

Para a confecção dos nanocompósitos, optou-se pela incorporação das nanopartículas de SiO₂-Ag MPS funcionalizadas pelo grupo acrílico, com intuito de melhorar a dispersão das nanopartículas no material polimérico, já sendo descrita em outro estudo (Menezes et al., 2021). A caracterização superficial dos nanocompósitos, deu-se por MEV e por goniometria. Em MEV, foi possível observar a modificação superficial do material quando incorporadas as nanopartículas, tanto para o glaze quanto para o reembasador macio, independente da concentração utilizada (1 wt% e 2,5 wt%). As imagens de MEV das amostras dos grupos G2 e R2 mostraram uma quantidade maior de nanopartículas na superfície quando comparadas aos grupos CG, G1 e CR e R1.

O ângulo de contato obtido pelo presente estudo indicou que a incorporação das nanopartículas de SiO₂-Ag MPS alteraram significativamente a superfície do material, reduzindo a energia de superfície e, portanto, a permeabilidade do material, quando comparados aos grupos controle (CG e CR). Esses resultados diferiram dos resultados já relatados na literatura, cuja a incorporação das nanopartículas de SiO₂-Ag não alteraram o ângulo de contato do material (Sacorague, 2016). É importante salientar que as nanopartículas de SiO₂-Ag não foram funcionalizadas por MPS no estudo sendo, provavelmente, causa da diferença entre os resultados.

Como dito, os resultados de biofilme foram promissores apenas para o glaze. Apesar da redução não ser estatisticamente significante, houve redução de 64% na contagem de UFC/espécime entre o grupo controle CG e o grupo G1. Em outro estudo, houve redução no percentual de biomassa da *C. albicans* com o uso

de uma suspensão de nanopartículas de prata em resina acrílica para base de dentadura (Li et al., 2016). Neste estudo, quanto maior a concentração do agente antifúngico, maior o percentual de redução de biomassa (Li et al., 2016). Este resultado diferiu do presente estudo quanto ao aumento da concentração do agente antifúngico, visto que, no presente estudo, o percentual de redução foi maior no grupo com menor concentração da nanopartícula. Vale salientar que existe diferenças entre os materiais utilizados nos estudos, tanto para o agente antifúngico quanto para o material polimérico. Em outro estudo, observou-se uma redução de crescimento de *S. aureus* e de *E. Coli* com a incorporação de 2,5% de nanopartículas de SiO₂-Ag em uma fibra têxtil. Não foi observado redução de crescimento com 1% para ambos microorganismos (Jasierski et al., 2009). Este resultado difere do presente estudo, pois a menor contagem de UFC/espécime foi encontrada para a incorporação de 1% de nanopartículas de SiO₂-Ag MPS no glaze. Importante salientar que as nanopartículas foram testadas em diferentes materiais, possível causa da diferença nos resultados.

Houve uma redução na contagem de UFC/mL em outro estudo (De Castro et al., 2016a), que avaliou o efeito de diferentes concentrações de vanadato de prata incorporado a resina acrílica sobre *S aureus* e *P aeruginosa*. Nesse estudo, a contagem de UFC/mL foi menor quando incorporado a resina acrílica 5% e 10% de vanadato de prata, sendo que em menores concentrações (0,5%, 1% e 2,5%) não houve redução significativa na contagem de UFC/mL. Já em outro estudo, o percentual de redução significativo para *C. albicans* foi encontrado quando incorporado 10% de vanadato de prata a resina acrílica (De Castro et al., 2016b). Para o *S. mutans*, um percentual de redução significativo foi encontrado já na concentração de 2,5% de vanadato de prata a resina acrílica (De Castro et al., 2016b). Este resultado também difere do presente estudo, visto que o maior percentual de redução ocorreu no glaze com incorporação de 1% de nanopartículas.

Vale ressaltar a necessidade do desenvolvimento de novas metodologias para incrementar a liberação de prata e, conseqüentemente, melhorar a ação antifúngica do material. Os resultados obtidos no presente estudo podem estar relacionados a funcionalização da partícula, que gera uma melhoria da interação com o polímero. Porém, o material não funcionalizado não obteve uma dispersão homogênea no material, o que limita sua aplicação. É importante realizar novos estudos com o intuito de melhorar a cor do material, além de avaliar diferentes concentrações de nanopartículas de SiO₂-Ag MPS no glaze. É interessante avaliar também a citotoxicidade da nanopartícula, a sua curva de liberação e o efeito das diferentes concentrações nas propriedades mecânicas do material.

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos por este estudo é possível concluir que, a síntese e caracterização de nanopartículas de SiO_2 , $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ e $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ obteve características morfológicas em escala nanométrica. A estrutura cristalina nas nanopartículas se manteve estável mesmo após a funcionalização do material com o grupo MPS. Houve redução de crescimento fúngico nos poços que receberam as nanopartículas de $\text{SiO}_2\text{-Ag}$ e $\text{SiO}_2\text{-Ag MPS}$ na concentração de 1000 e 2000 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Houve alteração significativa da energia de superfície e molhabilidade dos nanocompósitos, tanto no glaze quanto no reembasador macio, sendo que os grupos G2 e R2, foram os de aumento mais significativo. Houve uma redução de 64% de UFC/espécime para o grupo G1 quando comparada ao CG, não sendo estatisticamente significativa. Já G2, houve uma redução de 12% quando comparado ao CG. O desenvolvimento de um glaze para materiais resinosos pode ter potencial antifúngico promissor, uma vez que demonstrou uma redução de 64% de UFC/espécime quando comparado o G1 ao CG, além de reduzir de forma significativa a molhabilidade do material quando presente a nanopartícula.

REFERÊNCIAS*

Abbasi E, Milani M, Aval SF, Kouhi M, Akbarzadeh A, Nasrabadi HT, et al. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. *Crit Rev Microbiol*. 2016;42(2):173–80. doi: 10.3109/1040841X.2014.912200.

Abdelmouleh M, Boufi S, Belgacem MN, Dufresne A. Short natural-fibre reinforced polyethylene and natural rubber composites: effect of silane coupling agents and fibres loading. *Compos Sci Technol*. 2007;67(7–8):1627–39. doi: 10.1016/j.compscitech.2006.07.003.

Abou El-Nour KMM, Eftaiha A, Al-Warthan A, Ammar RAA. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab J Chem*. 2010;3(3):135–40. doi: 10.1016/j.arabjc.2010.04.008.

Achkar JM, Fries BC. *Candida* infections of the genitourinary tract. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(2):253–73. doi: 10.1128/CMR.00076-09.

Alexander, BD. M27: reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. 4 ed. Wayne, PA: Clinical laboratory standards institute; 2008.

Ali AA, Alharbi FA, Suresh CS. Effectiveness of coating acrylic resin dentures on preventing candida adhesion. *J Prosthodont*. 2013;22(6):445–50. doi: 10.1111/jopr.12046.

Anusavice K, Shen C. *Phillips materiais dentários*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.

Atar-Froyman L, Sharon A, Weiss EI, Houri-Haddad Y, Kesler-Shvero D, Domb AJ, et al. Anti-biofilm properties of wound dressing incorporating nonrelease polycationic antimicrobials. *Biomaterials*. 2015;46:141–8. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.12.047.

Bacchi A, Consani RLX, Mesquita MF, Dos Santos MBF. Influence of different mucosal resiliency and denture reline on stress distribution in peri-implant bone tissue during osseointegration: a three-dimensional finite element analysis. *Gerodontology*. 2012;29(2):1–5. doi: 10.1111/j.1741-2358.2011.00569.x.

Bahrami-Teimoori B, Nikparast Y, Hojatianfar M, Akhlaghi M, Ghorbani R, Pourianfar HR. Characterisation and antifungal activity of silver nanoparticles biologically synthesised by *Amaranthus retroflexus* leaf extract. *J Exp Nanosci*. 2017;12(1):129–39. doi: 10.1080/17458080.2017.1279355.

Bapat RA, Chaubal TV, Joshi CP, Bapat PR, Choudhury H, Pandey M, et al. An

overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Mater Sci Eng C*. 2018;91(2017):881–98. doi: 10.1016/j.msec.2018.05.069. PMID: 30033323.

Barbasz A, Oćwieja M, Roman M. Toxicity of silver nanoparticles towards tumoral human cell lines U-937 and HL-60. *Colloids Surf B*. 2017;156:397–404. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.05.027.

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. doi: 10.1067/moe.2003.44.

Barnes CA, Elsaesser A, Arkusz J, Smok A, Palus J, Leśniak A, et al. Reproducible cornet assay of amorphous silica nanoparticles detects no genotoxicity. *Nano Lett*. 2008;8(9):3069–74. doi: 10.1021/nl801661w.

Besinis A, De Peralta T, Tredwin CJ, Handy RD. Review of nanomaterials in dentistry: interactions with the oral microenvironment, clinical applications, hazards, and benefits. *ACS Nano*. 2015;9(3):2255–89. doi: 10.1021/nn505015e.

Broek R, Koczorowski R, Rogalewicz R, Voelkel A, Czarnecka B, Nicholson JW. Effect of denture cleansers on chemical and mechanical behavior of selected soft lining materials. *Dent Mater*. 2011;27(3):281–90. doi: 10.1016/j.dental.2010.11.003.

Budtz-Jorgensen E. Oral mucosal lesions associated with the wearing of removable dentures. *J Oral Pathol Med*. 1981;10(2):65–80. doi: 10.1111/j.1600-0714.1981.tb01251.x.

Calderone R, Fonzi W. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*. 2001;9(7):327–35. PMID: 23484392.

Caro C, Castillo P, Klippstein R, Pozo D, Zaderenco AP. Silver nanoparticles: sensing and imaging applications. 1 ed. Reino Unido: IntechOpen; 2010. doi: 10.5772/8513.

De Castro DT, Valente MLC, Agnelli JAM, Lovato Da Silva CH, Watanabe E, Siqueira RL, et al. In vitro study of the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. *J Prosthet Dent*. 2016a;115(2):238–46. doi: 10.1016/j.prosdent.2015.0 ed9.003.

De Castro DT, Valente MLC, Da Silva CHL, Watanabe E, Siqueira RL, Schiavon MA, et al. Evaluation of antibiofilm and mechanical properties of new nanocomposites based on acrylic resins and silver vanadate nanoparticles. *Arch Oral Biol*. 2016b;67:46–53. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.03.002.

- Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen. *Society*. 2001;183(18):5385–94. doi: 10.1128/JB.183.18.5385.
- 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. doi: 10.3390/ijms12074735.
- Choi HS, Kim YJ, Song M, Song MK, Ryu JC. Genotoxicity of nano-silica in mammalian cell lines. *Toxicol Environ Health Sci*. 2011;3(1):7–13. doi: 10.1007/s13530-011-0072-7.
- Choi J, Zhang Q, Reipa V, Wang NS, Stratmeyer ME, Hitchins VM, et al. Comparison of cytotoxic and inflammatory responses of photoluminescent silicon nanoparticles with silicon micron-sized particles in RAW 264.7 macrophages. *J Appl Toxicol*. 2009;29(1):52–60. doi: 10.1002/jat.1382.
- Corrêa JM, Mori M, Sanches HL, Cruz AD Da, Poiate E, Poiate IAVP. Silver nanoparticles in dental biomaterials. *Int J Biomater*. 2015;2015(485275):1–9. doi: 10.1155/2015/485275.
- Davey M, O'Toole G. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000;64(4):847–67. doi: 10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000.Updated. PMID: 11104821.
- Desvarieux M, Demmer RT, Jacobs DR, Rundek T, Boden-Albala B, Sacco RL, et al. Periodontal bacteria and hypertension: the oral infections and vascular disease epidemiology study. *J Hypertens*. 2010;28(7):1413–21. doi: 10.1097/HJH.0b013e328338cd36.
- 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. doi: 10.1007/s10856-014-5165-9.
- Digel I, Kern I, Geenen EM, Akimbekov N. Dental plaque removal by ultrasonic toothbrushes. *Dent J*. 2020;8(1):1–13.
- Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis*. 2001;33(8):1387–92. doi: 10.1086/322972. PMID: 11565080.
- Dorocka-Bobkowska B, Medyński D, Pryliński M. Recent advances in tissue conditioners for prosthetic treatment: a review. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(4):723–8. doi: 10.17219/acem/62634.
- Dos Santos M, Consani R, Mesquita M. Influence of different soft liners on

stress distribution in peri-implant bone tissue during healing period - a 3D finite element analysis. *J Oral Implantol*. 2013;39(5):575–81.

Dos Santos MBF, Bacchi A, Consani RLX, Mesquita MF. Influence of thickness and area of reline on the stress distribution in peri-implant bone during the healing period: a three-dimensional finite element analysis. *Gen Dent*. 2012;60(4):e231—6.

Dos Santos MBF, Da Silva Neto JP, Consani RLX, Mesquita MF. Three-dimensional finite element analysis of stress distribution in peri-implant bone with relined dentures and different heights of healing caps. *J Oral Rehabil*. 2011;38(9):691–6. doi: 10.1111/j.1365-2842.2011.02217.x.

Durán N, Marcato PD, De Souza GIH, Alves OL, Esposito E. Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. *J Biomed Nanotechnol*. 2007;3(2):203–8. doi: 10.1166/jbn.2007.022.

Durnev AD, Solomina AS, Daugel-Dauge NO, Zhanataev AK, Shreder ED, Nemova EP, et al. Evaluation of genotoxicity and reproductive toxicity of silicon nanocrystals. *Bull Exp Biol Med*. 2010;149(4):445–9. doi: 10.1007/s10517-010-0967-3.

El-Hadary A, Drummond JL. Comparative study of water sorption, solubility, and tensile bond strength of two soft lining materials. *J Prosthet Dent*. 2000;83(3):356–61. doi: 10.1016/S0022-3913(00)70140-5. PMID: 10709046.

Ema M, Okuda H, Gamo M, Honda K. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals. *Reprod Toxicol*. 2017;67:149–64. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.01.005.

Esher SK, Fidel PL, Noverr MC. Candida/staphylococcal polymicrobial intra-abdominal infection: pathogenesis and perspectives for a novel form of trained innate immunity. *J Fungi*. 2019;5(2):1–16. doi: 10.3390/jof5020037.

Ficklin MG, Kunkel KAR, Suber JT, Gerard PD, Kowaleski MP. Biomechanical evaluation of polymethyl methacrylate with the addition of various doses of cefazolin, vancomycin, gentamicin, and silver microparticles. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2016;29(5):394–401. doi: 10.3415/VCOT-16-01-0005.

Fox E, Nobile C. A sticky situation: untangling the transcriptional network controlling biofilm development in *Candida albicans*. *Transcription*. 2012;3(6):315–22. doi: 10.4161/trns.22281.

Ganguly S, Mitchell AP. Mucosal biofilms of *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol*. 2011;14(4):380–5. doi: 10.1016/j.mib.2011.06.001.

- 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.
- Gholami T, Salavati-Niasari M, Bazarganipour M, Noori E. Synthesis and characterization of spherical silica nanoparticles by modified Stöber process assisted by organic ligand. *Superlattices Microstruct*. 2013;61:33–41. doi: 10.1016/j.spmi.2013.06.004.
- Godoy-Gallardo M, Rodríguez-Hernández AG, Delgado LM, Manero JM, Javier Gil F, Rodríguez D. Silver deposition on titanium surface by electrochemical anodizing process reduces bacterial adhesion of *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus salivarius*. *Clin Oral Implants Res*. 2015;26(10):1170–9. doi: 10.1111/clr.12422.
- Graham B, Jones D, Sutow E. Clinical implications of resilient denture lining material research. Part II: gelation and flow properties of tissue conditioners. *J Prosthet Dent*. 1991;65(3):413–8.
- Guerrero-Martínez A, Pérez-Juste J, Liz-Marzán LM. Recent progress on silica coating of nanoparticles and related nanomaterials. *Adv Mater*. 2010;22(11):1182–95. doi: 10.1002/adma.200901263. PMID: 20437506.
- Hacioglu M, Oyardi O, Bozkurt-Guzel C, Savage PB. Antibiofilm activities of ceragenins and antimicrobial peptides against fungal-bacterial mono and multispecies biofilms. *J Antibiot*. 2020. doi: 10.1038/s41429-020-0299-0.
- Hadrup N, Lam HR. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver - a review. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2014;68(1):1–7. doi: 10.1016/j.yrtph.2013.11.002.
- Hamid SK, Al-Dubayan AAH, Al-Awami H, Khan SQ, Gad MM. In vitro assessment of the antifungal effects of neem powder added to polymethyl methacrylate denture base material. *J Clin Exp Dent*. 2019;11(2):170–8. doi: 10.4317/jced.55458.
- Hayakawa I, Hirano S, Takahashi Y, Keh E. Changes in the masticatory function of complete denture wearers after relining the mandibular denture with a soft denture liner. *Int J Prosthodont*. 2000;13(3):227–31.
- Holtz RD, Souza Filho AG, Brocchi M, Martins D, Durán N, Alves OL. Development of nanostructured silver vanadates decorated with silver nanoparticles as a novel antibacterial agent. *Nanotechnology*. 2010;21(18):185102. doi: 10.1088/0957-4484/21/18/185102.
- Hu Q, Suzuki H, Gao H, Araki H, Yang W, Noda T. High-frequency FTIR absorption of SiO₂/Si nanowires. *Chem Phys Lett*. 2003;378(3–4):299–304. doi:

10.1016/j.cplett.2003.07.015.

Huddar D, Hombesh M, Sandhyarani B, Chandu G, Nanjannawar, GS, Shetty R. Effect of denture cleanser on weight, surface roughness and tensile bond strength of two resilient denture liners. *J Contemp Dent Pr.* 2012;13(5):607–11.

Huh JB, Lim Y, Youn HI, Chang BM, Lee JY, Shin SW. Effect of denture cleansers on *Candida albicans* biofilm formation over resilient liners. *J Adv Prosthodont.* 2014;6(2):109–14. doi: 10.4047/jap.2014.6.2.109. PMID: 24843395.

Iqbal Z, Zafar MS. Role of antifungal medicaments added to tissue conditioners: a systematic review. *J Prosthodont Res.* 2016;60(4):231–9. doi: 10.1016/j.jpor.2016.03.006.

Izumida FE, Moffa EB, Vergani CE, Machado AL, Jorge JH, Giampaolo ET. In vitro evaluation of adherence of *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Streptococcus mutans* to an acrylic resin modified by experimental coatings. *Biofouling.* 2014;30(5):525–33. doi: 10.1080/08927014.2014.894028.

Jasierski M, Leszkiewicz A, Brzeziński S, Bugla-Płoskońska G, Malinowska G, Borak B, et al. Textile with silver silica spheres: its antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Sol-Gel Sci Technol.* 2009;51(3):330–4. doi: 10.1007/s10971-009-1902-9.

Jia Z, Xiu P, Li M, Xu X, Shi Y, Cheng Y, et al. Bioinspired anchoring AgNPs onto micro-nanoporous TiO₂ orthopedic coatings: trap-killing of bacteria, surface-regulated osteoblast functions and host responses. *Biomaterials.* 2016;75:203–22. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.10.035.

Jiangkongkho P, Arksornnukit M, Takahashi H. The synthesis, modification, and application of nanosilica in polymethyl methacrylate denture base. *Dent Mater J.* 2018;37(4):582–91. doi: 10.4012/dmj.2017-142.

John J, Gangadhar S, Shah I. Flexural strength of heat-polymerized polymethyl methacrylate denture resin reinforced with glass, aramid, or nylon fibers. *J Prosthet Dent.* 2001;86(4):424–7. doi: 10.1067/mpr.2001.118564.

Jones DW, Sutow EJ, Hall GC, Tobin WM, Graham BS. Dental soft polymers: plasticizer composition and leachability. *Dent Mater.* 1988;4(1):1–7. doi: 10.1016/S0109-5641(88)80080-0.

Judeinstein P, Sanchez C. Hybrid organic-inorganic materials: a land of multidisciplinary. *J Mater Chem.* 1996;6(4):511–25.

Kazanji M, Watkinson A. Soft lining materials: their absorption of, and

solubility in, artificial saliva. *Br Dent J*. 1988;165(3):91–4. doi: 10.1038/sj.bdj.4809642.

Kennedy MJ, Volz PA. Ecology of *Candida albicans* gut colonization: inhibition of *Candida* adhesion, colonization, and dissemination from the gastrointestinal tract by bacterial antagonism. *Infect Immun*. 1985;49(3):654–63. doi: 10.1128/iai.49.3.654-663.1985. PMID: 3897061.

Kimoto S, Yamamoto S, Shinomiya M, Kawai Y. Randomized controlled trial to investigate how acrylic-based resilient liner affects on masticatory ability of complete denture wearers. *J Oral Rehabil*. 2010;37(7):553–9. doi: 10.1111/j.1365-2842.2010.02070.x.

Kittler S, Greulich C, Diendorf J, Köller M, Epple M. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. *Chem Mater*. 2010;22(16):4548–54. doi: 10.1021/cm100023p.

Kobayashi Y, Inose H, Nakagawa T, Gonda K, Takeda M, Ohuchi N, et al. Control of shell thickness in silica-coating of Au nanoparticles and their X-ray imaging properties. *J Colloid Interface Sci*. 2011;358(2):329–33. doi: 10.1016/j.jcis.2011.01.058.

Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17(2):255–67. doi: 10.1128/CMR.17.2.255-267.2004.

Kolter R, Greenberg EP. Microbial sciences: the superficial life of microbes. *Nature*. 2006;441(7091):300–2. doi: 10.1038/441300a.

Krishnamurthy S, Hallikerimath RB. An in-vitro evaluation of retention, colonization and penetration of commonly used denture lining materials by *Candida albicans*. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(10):ZC84–8. doi: 10.7860/JCDR/2016/20892.8665.

Kullberg B, Oude Lashof A. Epidemiology of opportunistic invasive mycoses. *Eur J Med Res*. 2002;7(5):183–91.

Kumamoto CA. Inflammation and gastrointestinal *Candida* colonization. *Curr Opin Microbiol*. 2011;14(4):386–91. doi: 10.1016/j.mib.2011.07.015.

Kumamoto CA. *Candida* biofilms. *Curr Opin Microbiol*. 2002;5(6):608–11. doi: 10.1016/S1369-5274(02)00371-5. PMID: 12457706.

Kurt A, Erköse-Genc G, Uzun M, Emrence Z, Ustek D, Isik-Ozkol G. The antifungal activity and cytotoxicity of silver containing denture base material. *Niger J Clin Pract*. 2017;20(3):290–5. doi: 10.4103/1119-3077.181362.

Lebeaux D, Ghigo J-M, Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap

between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014;78(3):510–43. doi: 10.1128/mmbr.00013-14. PMID: 25184564.

Leite VMF, Pisani MX, Paranhos HFO, Souza RF, Silva-Lovato CH. Effect of ageing and immersion in different beverages on properties of denture lining materials. *J Appl Oral Sci.* 2010;18(4):372–8. doi: 10.1590/S1678-77572010000400009. PMID: 20835572.

Li LS, Hu J, Yang W, Alivisatos AP. Band gap variation of size- and shape-controlled colloidal CdSe quantum rods. *Nano Lett.* 2001;1(7):349–51. doi: 10.1021/nl015559r.

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.* 2016;33(2):209–16. doi: 10.1111/ger.12142. PMID: 25070079.

Liao S, Zhang Y, Iang C, Liu Q, Cheng Z, Dai G, et al. Antibacterial activity and mechanism of nickel nanoparticles against multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Trop Med Public Heal.* 2019;22(6):1469–87. doi: 10.36295/ASRO.2019.220618.

Liu H, Ye H, Zhang Y. Preparation and characterization of PMMA/flaky aluminum composite particle in the presence of MPS. *Colloids Surf.* 2008;315(1–3):1–6. doi: 10.1016/j.colsurfa.2007.06.057.

Liu S, Han MY. Silica-coated metal nanoparticles. *Chem Asian J.* 2010;5(1):36–45. doi: 10.1002/asia.200900228.

Liu Y, Zheng Z, Zara JN, Hsu C, Soofer DE, Lee KS, et al. The antimicrobial and osteoinductive properties of silver nanoparticle/poly (dl-lactic-co-glycolic acid)-coated stainless steel. *Biomaterials.* 2012;33(34):8745–56. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.08.010.

Liz-Marzán LM, Mulvaney P. The assembly of coated nanocrystals. *J Phys Chem B.* 2003;107(30):7312–26. doi: 10.1021/jp027835b.

Lu MM, Wang QJ, Chang ZM, Wang Z, Zheng X, Shao D, et al. Synergistic bactericidal activity of chlorhexidine-loaded, silver-decorated mesoporous silica nanoparticles. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:3577–89. doi: 10.2147/IJN.S133846. PMID: 28533681.

Luccato B. 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 (Unesp) Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

Marchi-Alves LM, Freitas D, Andrade D De, Godoy S De, Toneti AN, Mendes IAC. Characterization of oral microbiota in removable dental prosthesis users: influence of arterial hypertension. *Biomed Res Int*. 2017;2017(3838640):1-7. doi: 10.1155/2017/3838640.

Marin S, Vlasceanu G, Tiplea R, Bucur I, Lemnaru M, Marin M, et al. Applications and toxicity of silver nanoparticles: a recent review. *Curr Top Med Chem*. 2015;15(16):1596–604.

Martínez-Castañón GA, Niño-Martínez N, Martínez-Gutierrez F, Martínez-Mendoza JR, Ruiz F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *J Nanoparticle Res*. 2008;10(8):1343–8. doi: 10.1007/s11051-008-9428-6.

Maruo Y, Nishigawa G, Irie M, Oka M, Hara T, Suzuki K, et al. Stress distribution prevents ischaemia and bone resorption in residual ridge. *Arch Oral Biol*. 2010;55(11):873–8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.07.022.

Mathur P, Jha S, Ramteke S, Jain NK. Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2018;46(1):115–26. doi: 10.1080/21691401.2017.1414825.

Melo MAS, Cheng L, Zhang K, Weir MD, Rodrigues LKA, Xu HHK. Novel dental adhesives containing nanoparticles of silver and amorphous calcium phosphate. *Dent Mater*. 2013;29(2):199–210. doi: 10.1016/j.dental.2012.10.005.

Menezes BRC, Sampaio AG, da Silva DM, Montanheiro TLA, Koga-Ito CY, Thim GP. AgVO₃ nanorods silanized with γ -MPS: an alternative for effective dispersion of AgVO₃ in dental acrylic resins improving the mechanical properties. *Appl Surf Sci*. 2021;543:148830. doi: 10.1016/j.apsusc.2020.148830.

Mothibe JV, Patel M. Pathogenic characteristics of *Candida albicans* isolated from oral cavities of denture wearers and cancer patients wearing oral prostheses. *Microb Pathog*. 2017;110:128–34. doi: 10.1016/j.micpath.2017.06.036. PMID: 28655563.

Muttagi S, Subramanya JK. Effect of incorporating seed oils on the antifungal property, surface roughness, wettability, weight change, and glucose sorption of a soft liner. *J Prosthet Dent*. 2017;117(1):178–85. doi: 10.1016/j.prosdent.2016.05.010.

Nagi-Miura N, Harada T, Shinohara H, Kurihara K, Adachi Y, Ishida-Okawara A, et al. Lethal and severe coronary arteritis in DBA/2 mice induced by fungal pathogen, CAWS, *Candida albicans* water-soluble fraction. *Atherosclerosis*. 2006;186(2):310–20. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.08.014.

- Naik AV, Pai RC. A study of factors contributing to denture stomatitis in a North Indian community. *Int J Dent*. 2011;2011:589064. doi: 10.1155/2011/589064.
- Nam KY. In vitro antimicrobial effect of the tissue conditioner containing silver nanoparticles. *J Adv Prosthodont*. 2011;3(1):20–4. doi: 10.4047/jap.2011.3.1.20.
- Nawasrah A, Al Nimr A, Ali AA. Antifungal effect of henna against *Candida albicans* adhered to acrylic resin as a possible method for prevention of denture stomatitis. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(5):1–8. doi: 10.3390/ijerph13050520.
- Nikaeen G, Abbaszadeh S, Yousefinejad S. Application of nanomaterials in treatment, anti-infection and detection of coronaviruses. *Nanomedicine*. 2020;15(15):1501–12. doi: 10.2217/nnm-2020-0117. PMID: 32378459.
- Nischala K, Rao TN, Hebalkar N. Silica-silver core-shell particles for antibacterial textile application. *Colloids Surf B*. 2011;82(1):203–8. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.08.039.
- Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annu Rev Microbiol*. 2015;69(1):71–92. doi: 10.1146/annurev-micro-091014-104330. PMID: 26488273.
- Nowakowska-Toporowska A, Malecka K, Raszewski Z, Wieckiewicz W. Changes in hardness of addition-polymerizing silicone-resilient denture liners after storage in artificial saliva. *J Prosthet Dent*. 2019;121(2):317–21. doi: 10.1016/j.prosdent.2018.05.002.
- Nuñez-Anita RE, Acosta-Torres LS, Vilar-Pineda J, Martínez-Espinosa JC, de la Fuente-Hernández J, Castaño VM. Toxicology of antimicrobial nanoparticles for prosthetic devices. *Int J Nanomedicine*. 2014;9(1):3999–4006. doi: 10.2147/IJN.S63064.
- Nurgeldiyeva MJ, Hojakuliyev BG, Muhammedov MB. Correlation of atherogenesis with an infection of *Candida albicans*. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(8):2137–43.
- Padovani GC, Feitosa VP, Sauro S, Tay FR, Durán G, Paula AJ, et al. Advances in dental materials through nanotechnology: facts, perspectives and toxicological aspects. *Trends Biotechnol*. 2015;33(11):621–36. doi: 10.1016/j.tibtech.2015.09.005.
- Paes Junior T, Marchini L, Kimpara E. 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):1-7. doi: 10.14295/bds.1999.v2i2.47.

- Paizan M, Martin J. Association between periodontal disease, cardiovascular disease and hypertension. *Rev Bras Hipertens*. 2009;16(3):183–5.
- Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(6):1712–20. doi: 10.1128/AEM.02218-06. PMID: 17261510.
- Pappas P, Rex J, Sobel J, Scott G, William E, Walsh T, et al. Guidelines for treatment of candidiasis. *Infect Dis Clin Pract*. 2004;12(4):245–6. doi: 10.1097/01.idc.0000130888.27859.52.
- Pattanaik S, Vikas B, Pattanaik B, Sahu S, Lodam S. Denture stomatitis: a literature review. *J Indian Acad Oral Med Radiol*. 2010;22(3):136–40. doi: 10.5958/2229-3264.2015.00013.1.
- Pisani MX, Malheiros-Segundo ADL, Balbino KL, Souza RDF, Paranhos HDFO, Lovato Da Silva CH. Oral health related quality of life of edentulous patients after denture relining with a silicone-based soft liner. *Gerodontology*. 2012;29(2):474–80. doi: 10.1111/j.1741-2358.2011.00503.x. PMID: 21696442.
- Qudah S, Huggett R, Harrison A. The effect of thermocycling on the hardness of soft lining materials. *Quintessence Int*. 1991;22(7):575–80.
- Queiroz JRC, Fissmer SF, Koga-Ito CY, Salvia ACRD, Massi M, Sobrinho AS da S, et al. Effect of diamond-like carbon thin film coated acrylic resin on *Candida albicans* biofilm formation. *J Prosthodont*. 2013;22(6):451–5. doi: 10.1111/jopr.12029.
- Rai M, Ingle AP, Gade AK, Duarte MCT, Duran N. Three *Phoma* spp. synthesised novel silver nanoparticles that possess excellent antimicrobial efficacy. *IET Nanobiotechnology*. 2015;9(5):280–7. doi: 10.1049/iet-nbt.2014.0068.
- Rai M, Kon K, Ingle A, Duran N, Galdiero S, Galdiero M. Broad-spectrum bioactivities of silver nanoparticles: the emerging trends and future prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014;98(5):1951–61. doi: 10.1007/s00253-013-5473-x.
- Ramage G, Martínez JP, López-Ribot JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res*. 2006;6(7):979–86. doi: 10.1111/j.1567-1364.2006.00117.x.
- Ramage G, Mowat E, Jones B, Williams C, Lopez-Ribot J. Our current understanding of fungal biofilms. *Crit Rev Microbiol*. 2009;35(4):340–55. doi: 10.3109/10408410903241436.

Rice GL, Scott SL. Site-specific oxygen-18 labelling of silica-supported vanadium(V) complexes: implications for oxidation catalysis. *J Mol Catal A Chem.* 1997;125(1):73–9. doi: 10.1016/S1381-1169(97)00093-9.

Rodrigues ME, Lopes SP, Pereira CR, Azevedo NF, Lourenço A, Henriques M, et al. Polymicrobial ventilator-associated pneumonia: fighting in vitro *Candida albicans*-*pseudomonas aeruginosa* biofilms with antifungal-antibacterial combination therapy. *PLoS One.* 2017;12(1):1–19. doi: 10.1371/journal.pone.0170433.

Rodriguez M, Liso M, Rubio F, Oteo J. Study of the reaction of (γ -MPS) with slate surfaces. *J Mater Sci.* 1999;4:3867–73.

Rulkens R, Male JL, Terry KW, Olthof B, Khodakov A, Bell AT, et al. Vanadyl tert-butoxy orthosilicate, $\text{OV}[\text{OSi}(\text{OtBu})_3]_3$: a model for isolated vanadyl sites on silica and a precursor to vanadia-silica xerogels a. *Chem Mater.* 1999;11(10):2966–73. doi: 10.1021/cm990350o.

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

Sakthisabarimoorthi A, Dhas SAMB, Jose M. Fabrication and nonlinear optical investigations of SiO_2 -Ag core-shell nanoparticles. *Mater Sci Semicond Process.* 2017;71:69–75. doi: 10.1016/j.mssp.2017.07.008.

Santos Júnior V, Vasconcelos Filho A, Targino A, Flores M, Galembeck A, Caldas Junior A, et al. A new “silver-bullet” to treat caries in children - nano silver fluoride: a randomised clinical trial. *J Dent.* 2014;42(8):945–51. doi: 10.1016/j.jdent.2014.05.017.

Savage N, Diallo MS. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges. *J Nanoparticle Res.* 2005;7(4–5):331–42. doi: 10.1007/s11051-005-7523-5.

Sergeev GB. Cryochemistry of metal nanoparticles. *J Nanoparticle Res.* 2003;5(5–6):529–37. doi: 10.1023/B:NANO.0000006153.65107.42.

Sergeev GB, Shabatina TI. Cryochemistry of nanometals. *Colloids Surf.* 2008;313:18–22. doi: 10.1016/j.colsurfa.2007.04.064.

Sharma H, Hussain S, Schlager J, Ali S, Sharma A. Influence of nanoparticles on blood–brain barrier permeability and brain edema formation in rats. *Acta Neurochir Suppl.* 2009;106:359–64. doi: 10.1007/978-3-211-98811-4.

- Smith AM, Duan H, Rhyner MN, Ruan G, Nie S. A systematic examination of surface coatings on the optical and chemical properties of semiconductor quantum dots. *Phys Chem Chem Phys*. 2006;8(33):3895–903. doi: 10.1039/b606572b.
- Stober W, Fink A. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J Colloid Interface Sci*. 1968;26(1):62–9. doi: 10.1589/jpts.29.112.
- Suzuki N, Ishida H. Acceleration of silanol condensation of a methacryl-functional silane in the model sizing system. *Compos Interfaces*. 2005;12(8–9):769–85. doi: 10.1163/156855405774984084.
- Tang S, Tang Y, Zhu S, Lu H, Meng X. Synthesis and characterization of silica-silver core-shell composite particles with uniform thin silver layers. *J Solid State Chem*. 2007;180(10):2871–6. doi: 10.1016/j.jssc.2007.08.022.
- Tumbarello M, Fiori B, Trecarichi EM, Posteraro P, Losito AR, de Luca A, et al. Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. *PLoS One*. 2012;7(3):1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0033705.
- Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, Fiori B, Rossi M, Porta R, et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol*. 2007;45(6):1843–50. doi: 10.1128/JCM.00131-07.
- Urban VM, Lima TF, Bueno MG, Giannini M, Arioli Filho JN, de Almeida ALPF, et al. Effect of the addition of antimicrobial agents on shore a hardness and roughness of soft lining materials. *J Prosthodont*. 2015;24(3):207–14. doi: 10.1111/jopr.12205.
- Vasilas A, Molina L, Hoffman M, Haidaris CG. The influence of morphological variation on *Candida albicans* adhesion to denture acrylic in vitro. *Arch Oral Biol*. 1992;37(8):613–22. doi: 10.1016/0003-9969(92)90123-P.
- Wei L, Lu J, Xu H, Patel A, Chen ZS, Chen G. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discov Today*. 2015;20(5):595–601. doi: 10.1016/j.drudis.2014.11.014.
- Weig M, Gross U, Muhlschlegel F. Clinical aspects and pathogenesis of *Candida* infection. *Trends Microbiol*. 1998;6(12):468–70. doi: 10.1016/S0966-842X(98)01407-3.
- Welles A. Silver nanoparticles: properties, characterization and applications. 1st ed. Nova Iorque: Nova science publishers; 2010.

Wenzel RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clin Infect Dis*. 1995;20(6):1531–4. doi: 10.1093/clinids/20.6.1531.

Williams D. The relationship between biomaterials and nanotechnology. *Biomaterials*. 2008;29(12):1737–8. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.01.003.

Wright PS, Young KA, Riggs PD, Parker S, Kalachandra S. Evaluating the effect of soft lining materials on the growth of yeast. *J Prosthet Dent*. 1998;79(4):404–9. doi: 10.1016/S0022-3913(98)70153-2.

Xu K, Wang JX, Kang XL, Chen JF. Fabrication of antibacterial monodispersed Ag-SiO₂ core-shell nanoparticles with high concentration. *Mater Lett*. 2009;63(1):31–3. doi: 10.1016/j.matlet.2008.08.039.

Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:2555–62. doi: 10.2147/IJN.S246764. PMID: 32368040.

Yodmongkol S, Chantarachindawong R, Thaweboon S, Thaweboon B, Amornsakchai T, Sriksirin T. The effects of silane-SiO₂ nanocomposite films on *Candida albicans* adhesion and the surface and physical properties of acrylic resin denture base material. *J Prosthet Dent*. 2014;112(6):1530–8. doi: 10.1016/j.prosdent.2014.06.019.

Yu KO, Grabinski CM, Schrand AM, Murdock RC, Wang W, Gu B, et al. Toxicity of amorphous silica nanoparticles in mouse keratinocytes. *J Nanoparticle Res*. 2009;11(1):15–24. doi: 10.1007/s11051-008-9417-9.

Yu L, Xu Z, Shen H, Yang H. Preparation and characterization of PVDF-SiO₂ composite hollow fiber UF membrane by sol-gel method. *J Memb Sci*. 2009;337(1–2):257–65. doi: 10.1016/j.memsci.2009.03.054.

Zender CA, Mehta V, Pittman AL, Feustel PJ, Jaber JJ. Etiologic causes of late osteocutaneous free flap failures in oral cavity cancer reconstruction. *Laryngoscope*. 2012;122(7):1474–9. doi: 10.1002/lary.23326.

Zhang K, Melo MAS, Cheng L, Weir MD, Bai Y, Xu HHK. Effect of quaternary ammonium and silver nanoparticle-containing adhesives on dentin bond strength and dental plaque microcosm biofilms. *Dent Mater*. 2012;28(8):842–52. doi: 10.1016/j.dental.2012.04.027.

Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, et al. Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Med Mycol*. 2011;49(2):208–11. doi: 10.3109/13693786.2010.507605.