

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/06/2019.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



BRUNA NATÁLIA ALVES DA SILVA PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E CITOTOXICIDADE DE
MICROCRISTAIS DE ALFA VANADATO DE PRATA (α -AgVO₃) SINTETIZADOS
EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

Araraquara

2017



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



BRUNA NATÁLIA ALVES DA SILVA PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E CITOTOXICIDADE DE
MICROCRISTAIS DE ALFA VANADATO DE PRATA (α -AgVO₃) SINTETIZADOS
EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, Área de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de Mestre em Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Araraquara

2017

Pimentel, Bruna Natália Alves da Silva
Avaliação da atividade antifúngica e citotoxicidade de microcristais de alfa vanadato de prata (α -AgVO₃) sintetizados em diferentes temperaturas / Bruna Natália Alves da Silva Pimentel.-- Araraquara: [s.n.], 2017.
67 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

1. Candida albicans 2 . Antifúngicos 3.Testes de toxicidade 4.
Queratinócitos I. Título

BRUNA NATÁLIA ALVES DA SILVA PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E CITOTOXICIDADE DE
MICROCRISTAIS DE ALFA VANADATO DE PRATA (α -AgVO₃) SINTETIZADOS
EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

COMISSÃO JULGADORA

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

2º Examinador: Prof. Dr. Ewerton Garcia de Oliveira Mima

3º Examinador: Prof^a. Dr^a. Andréa Cândido dos Reis

Araraquara, 30 de junho de 2017

DADOS CURRICULARES

BRUNA NATÁLIA ALVES DA SILVA PIMENTEL

Nascimento	06 de novembro de 1990, São Paulo – SP
Filiação	Antonio Luiz Pimentel Maria do Carmo Alves da Silva
2009 a 2014	Curso de Graduação pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia – UFBA
2011 a 2011	Extensão Universitária em Odontologia Hospitalar no Hospital Ana Nery (HAN) pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia - UFBA
2011 a 2012	Extensão Universitária em Monitoria Voluntária nas Disciplinas de Patologia Geral e Estomatologia II da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia – UFBA
2012 a 2014	Extensão Universitária em Grupo de Pesquisa em Imaginologia Dentomaxilofacial (CEPOV) pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia – UFBA
2013 a 2014	Extensão Universitária em Monitoria Voluntária na Disciplina de Prótese Parcial Fixa II pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia – UFBA
2015 a 2017	Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, Área de concentração em Prótese, nível Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – UNESP
2015 a 2016	Estágio docência na Disciplina de Prótese Parcial Removível I e II do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” - UNESP

Agradecimentos

À Deus, por me conceder o dom da vida, por me presentear com a melhor família que alguém poderia ter, por colocar pessoas maravilhosas no meu caminho, por me dar forças quando eu mais precisei, por tudo que Ele tem feito por mim.

Aos meus pais, Antonio Luiz Pimentel e Maria do Carmo Alves da Silva, por sempre acreditarem e confiarem em mim, mesmo quando eu achava que não seria capaz. Obrigada por todos os ensinamentos, os incentivos e os puxões de orelha. Se sou o que sou hoje é graças a vocês!

Aos meus irmãos, Felipe, Gabriel e Júlia, por encherem minha vida de alegria e serem a minha certeza de nunca estar sozinha. Amo vocês três incondicionalmente!

Ao meu noivo, minha alma gêmea, meu melhor amigo, Hugo, por estar sempre ao meu lado independente de qualquer coisa, por me apoiar, ficar acordado nas madrugadas comigo e acompanhar as minhas loucuras. Tenho certeza de que boa parte do meu sucesso se deve ao seu apoio incondicional! Muito obrigada, meu anjo!

À minha segunda família, família do meu noivo, em especial à Maria Angela, Jorge, Mauro, Marcelo, Marcela, Maria Júlia, Helena, Celeste, que me acolheram com tanto amor e carinho, me tornando membro da família de vocês. Não tenho palavras para agradecê-los!

Aos meus amigos, Deise, Bruna, Marina, Alessandra, Filipe, Henrique, que mesmo de longe e sem saber continuam a me apoiar. Cada mensagem de vocês me dá forças para continuar minha jornada!

Aos meus Mestres e Inspiradores da Universidade Federal da Bahia, em especial ao Prof. Dr. Luciano Castellucci e à Prof^a. Dr^a. Viviane Sarmiento, vocês enxergaram um potencial em mim e me forçaram a enxergá-lo, me incentivaram ao máximo e até hoje me acompanham vibram com minhas vitórias. Serei eternamente grata a vocês!

À minha mãe de coração, Nilda, por seu amor, carinho e incentivo. Posso afirmar que minha vida passou a ter mais cores depois que te conheci!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani, por confiar em mim e compartilhar todo o seu conhecimento comigo. Obrigada pelos desafios propostos, eles com certeza me engrandeceram como pessoa e profissional!

Às minhas “orientadoras de coração” Camila Foggi e Paula Barbugli, pelo acompanhamento, pelos ensinamentos e pela amizade. Vocês foram dois anjos que Deus colocou no meu caminho!

Aos professores da Prótese Parcial Removível, Ana Cláudia, Janaína, Paula e Ewerton, e à professora Marlise, por todo o conhecimento compartilhado e pela ótima convivência.

Aos amigos que a Pós-Graduação me deu, em especial Gabriela, Suelen, Jacqueline, Camila, Beatriz, Fernanda, Jéssica, Geise e Isabel. Vocês tornaram essa caminhada mais leve e divertida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pelo financiamento desta pesquisa através da bolsa de mestrado (Proc. 2015/13834-2) e do CEPID (Proc. 2013/07296-2).

Aos professores da banca, por aceitarem o convite e dedicarem uma parte de seu tempo ajudando a enriquecer o meu trabalho.

Às bibliotecárias da F.O.Ar. – UNESP, pela prontidão e paciência em todos os momentos em que fui buscar auxílio.

A todos os meus mais sinceros agradecimentos e minha eterna gratidão!

“Alone we can do so little, together we can do so much!”

(Helen Keller)

Pimentel BNAS. Avaliação da atividade antifúngica e citotoxicidade de microcristais de alfa vanadato de prata (α -AgVO₃) sintetizados em diferentes temperaturas [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

RESUMO

Nos últimos anos, os microcristais de prata têm se tornado foco de estudos. Uma das propriedades evidenciadas destes materiais é a sua atividade antimicrobiana contra diferentes microrganismos, devido a presença da prata na sua composição. Neste estudo, investigou-se a atividade antifúngica de microcristais de alfa vanadato de prata (α -AgVO₃) contra *Candida albicans* (ATCC 90028) e sua citotoxicidade sobre células do tipo queratinócitos orais normais espontaneamente imortalizados (NOK-si). Os microcristais de α -AgVO₃ foram sintetizados pelo método da co-precipitação sob três diferentes temperaturas (10, 20 e 30°C) e caracterizados através de difração de raios-x, microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo e espectroscopia Raman. A atividade antifúngica foi avaliada a partir da microdiluição seriada dos microcristais (de acordo com o *Clinical & Laboratorial Standards Institute* - CLSI), onde foram determinadas as concentrações inibitória (CIM) e fungicida mínimas (CFM). Imagens de microscopia de fluorescência com os microcristais nas concentrações inibitória e fungicida mínimas foram obtidas a fim de confirmar os achados microbiológicos. A viabilidade celular de células NOK-si foi avaliada através do ensaio Alamar Blue, e imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de todos os grupos avaliados foram realizadas. Nos ensaios celulares foram utilizadas apenas quatro concentrações dos microcristais (CIM, CFM, CIM diluída 10 vezes e concentrada 10 vezes). Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, e então avaliados com o teste Kruskal-Wallis, seguidos do pós teste de Dunn ($\alpha = .05$), no software GraphPad Prism 7. Os três microcristais apresentaram os mesmos valores de CIM e CFM (3,90 μ g/mL e 15,62 μ g/mL, respectivamente). Ao avaliar a microscopia de fluorescência foi possível confirmar os resultados obtidos com o ensaio microbiológico, onde na CIM notou-se uma redução do número de células em comparação ao controle, e na CFM notou-se inviabilidade de todas as células. Quando avaliados com relação a citotoxicidade, os três microcristais apresentaram-se biocompatíveis nos valores de CIM, CFM e CIM diluída 10 vezes ($p < 0,05$). As imagens de MEV foram consistentes com os achados no ensaio de Alamar Blue, onde apenas observou-se morte celular na concentração CIM concentrada 10 vezes. Através da morfologia da morte celular, sugeriu-se que os microcristais avaliados causam morte celular por necrose. Os três microcristais de α -AgVO₃ mostraram resultados promissores como agentes antifúngicos contra *C. albicans* e apresentaram biocompatibilidade com o tipo celular estudado, tornando-os interessante para posteriores estudos *in vivo*.

Palavras-chave: *Candida albicans*. Antifúngicos. Testes de toxicidade. Queratinócitos.

Pimentel BNAS. Evaluation of antifungal activity and cytotoxicity of alpha silver vanadate (α -AgVO₃) microcrystals synthesized in different temperatures [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

ABSTRACT

In recent years, silver microcrystals have become the focus of studies. One property of these materials is its antimicrobial activity against different microorganisms, which is due to the presence of silver in its composition. In this study the antifungal activity of alpha silver vanadate (α -AgVO₃) microcrystals against *Candida albicans* (ATCC 90028) and cytotoxicity on normal oral keratinocytes spontaneously immortalized (NOK-si) cells were investigated. The microcrystals were synthesized by coprecipitation (CP) method under three different temperatures (10, 20 and 30°C) and were characterized by x-ray diffraction, scanning electronic microscopy field emission guns and Raman spectroscopy. The antifungal activity was evaluated from serial microdilution of microcrystals (according to Clinical & Laboratorial Standards Institute - CLSI), where minimum inhibitory (MIC) and fungicide (MFC) concentrations were determined. Fluorescence microscopy images were obtained in order to confirm microbiological findings. Cell viability of NOK-si cells was evaluated by Alamar Blue assay, and scanning electron microscopy (SEM) images of all groups were performed. In these tests, only four concentrations of microcrystals (MIC, MFC, MIC 10 times diluted and MIC 10 times concentrated) were used. The results were submitted to Shapiro-Wilk's test, and then they were evaluated using the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's post-test ($\alpha = .05$), in GraphPad Prism 7 software. All three microcrystals presented the same values of MIC and MFC (3.90 μ g/mL and 15.62 μ g/mL, respectively). When evaluated fluorescence microscopy it was possible to confirm the results obtained with the microbiological assay, where at the MIC noticed a reduction in cell number when compared with the control, and at the MFC noticed unviability of all cells. When evaluated for its cytotoxicity, the three microcrystals were biocompatible in the MIC, MFC and MIC 10 times diluted values ($p < 0.05$). SEM images were consistent with the findings in the Alamar Blue assay, where cell death was observed only at MIC 10 times concentrated. Through the morphology analyses of cell death, it was observed that the microcrystals at MIC 10 times concentrated caused cell death by necrosis. The three α -AgVO₃ microcrystals showed promising results as antifungal agents against *C. albicans* and showed biocompatibility with the studied cell type, making them interesting for later in vivo studies.

Keywords: *Candida albicans*. Antifungal agents. Toxicity tests. Keratinocytes.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 <i>Candida albicans</i>	13
2.2 Atividade Antimicrobiana Dos Compostos Contendo Prata	14
2.3 Biocompatibilidade Dos Compostos Contendo Prata	20
3 PROPOSIÇÃO	23
4 MATERIAL E MÉTODO	24
4.1 Material	24
4.2 Método	28
4.2.1 Síntese dos microcristais	28
4.2.2 Ensaio microbiológico	29
4.2.2.1 <i>Microrganismo e condições de cultivo</i>	29
4.2.2.2 <i>Ensaio de concentrações inibitória (CIM) e fungicida (CFM) mínimas</i> .	30
4.2.2.3 <i>Microscopia de fluorescência</i>	32
4.2.3 Ensaio de biocompatibilidade <i>in vitro</i>	32
4.2.3.1 <i>Célula e condições de cultivo</i>	32
4.2.3.2 <i>Ensaio de viabilidade celular (Ensaio de Alamar Blue)</i>	33
4.2.3.3 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	34
4.2.4 Análise estatística	35
5 RESULTADOS	36
5.1 Ensaio De Concentrações Inibitória (CIM) e Fungicida (CFM) Mínimas	36
5.2 Microscopia De Fluorescência	36
5.3 Ensaio De Viabilidade Celular (Ensaio De Alamar Blue)	40
5.4 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)	47
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE A	63

1 INTRODUÇÃO

Infecções causadas por fungos oportunistas têm surgido como importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos, e permanecem como um grande desafio. Mais de 90% das infecções fúngicas invasivas são causadas por espécies de *Candida* e, aproximadamente, 40% das infecções na corrente sanguínea são causadas por *Candida albicans*²³. *C. albicans* é um fungo comensal oportunista, o qual é frequentemente encontrado na cavidade oral^{3, 28, 29, 31} e, quando associado à fatores locais e/ou sistêmicos, como envelhecimento, doenças crônicas ou imunossupressoras, utilização de medicamentos (antibióticos de amplo espectro e imunossupressores), xerostomia, higienização precária e utilização de próteses dentárias removíveis²⁸, se torna virulento podendo causar infecções recorrentes na mucosa oral^{28, 33}, além de infecções disseminadas pelo corpo, as quais podem ser um risco para a vida³³.

Dentre as infecções bucais associadas à *Candida* spp., a estomatite protética, caracterizada por diferentes graus de inflamação da mucosa que mantém contato com a prótese, é a manifestação mais prevalente, acometendo de 60-65% dos usuários de próteses com diversas manifestações clínicas. Contudo, se os indivíduos sem sintomatologia forem levados em consideração, este número sobe para 75% dos usuários de próteses removíveis²⁸. A presença dessa patologia bucal pode contribuir para o desenvolvimento de infecções sistêmicas, sobretudo em pacientes hospitalizados, idosos e imunossuprimidos²⁹. *C. albicans* pode se desenvolver como células leveduriformes (blastóporos) ou células alongadas em forma de tubo, denominadas pseudohifas (septadas) ou hifas (não septadas)^{29, 33}. O fato deste microrganismo possuir diferentes morfologias está associado à sua virulência^{29, 33}. Quando nas formas de hifas e pseudohifas, *C. albicans* é capaz de invadir tecidos durante os estágios iniciais da infecção, além de ser importante na colonização de órgãos; enquanto que a forma de blastóporos é mais associada com a disseminação via corrente sanguínea³³.

Os fungos têm se destacado entre os microrganismos citados como causadores de doenças humanas²⁹. Um problema enfrentado pela comunidade médico/farmacêutica com relação ao desenvolvimento de novas drogas contra fungos é a similaridade destes microrganismos com as células humanas, o que diminui o

número de alvos que podem ser explorados pelos fármacos²⁹. Atualmente há uma enorme demanda por novas terapias para inativação de microrganismo patogênicos e controle de infecções devido aos problemas relacionados à resistência dos microrganismos às terapias medicamentosas existentes, além do surgimento de outras espécies resistentes^{23, 31}. Dentro desse contexto, estudos recentes têm avaliado a atividade antimicrobiana de diversas micropartículas (microcristais) contendo prata^{10, 22, 25}.

Por apresentar atividade antimicrobiana e pela baixa propensão em causar resistência dos microrganismos, a prata tem sido amplamente utilizada no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos²⁷. O mecanismo de ação antimicrobiana da prata envolve duas teorias diferentes: uma delas afirma que este metal pode reagir com a água e liberar íons, os quais se ligariam às proteínas da parede celular, causando alterações estruturais na parede celular bacteriana. Desta forma, estes materiais contendo prata inativariam os microrganismos, provavelmente, por meio da inibição da síntese de ATP, desnaturação do DNA e bloqueio das cadeias respiratórias, atuando em algumas enzimas¹⁸. A segunda teoria sugere que a prata poderia reagir com o oxigênio dissolvido na água e gerar radicais livres de oxigênio ativo, que são tóxicos para as bactérias²².

Apesar de sua excelente propriedade antimicrobiana, a depender da quantidade a prata pode ser tóxica às células dos mamíferos². Em uma tentativa de melhorar as propriedades antimicrobianas e reduzir os efeitos citotóxicos deste importante metal, a prata tem sido associada a diversos outros metais, entre eles o vanádio, com o intuito de diminuir a concentração no composto para a mínima possível. Os óxidos de vanádio e seus derivados são estruturas de interesse devido às suas atividades de oxirredução e por apresentarem estrutura em camadas¹³. Entre os diversos óxidos de vanádio existentes, o vanadato de prata (AgVO_3) tem se destacado devido às suas excelentes propriedades eletroquímica e fotofísica¹³. AgVO_3 é a forma mais comum dos óxidos de vanadato de prata no estado sólido³⁴, e pode ser encontrada em três formas diferentes: alfa (α), beta (β) e gama (γ)³⁰. O beta vanadato de prata ($\beta\text{-AgVO}_3$) é uma fase estável com grupo espacial monoclinico³⁴, sendo relatado na literatura como um material com promissora atividade antibacteriana contra algumas cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas em solução^{7, 18}. Quando incorporado à resina acrílica, este microcristal demonstrou

significante redução no número de microrganismos viáveis de *C. albicans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*^{6, 7, 8}. Já o alfa vanadato de prata (α -AgVO₃) é uma fase metaestável, formada abaixo do ponto de fusão de forma instantânea quando o composto é resfriado de maneira lenta e congelado rapidamente³⁰. Assim, o polimorfismo se mostra prevalente neste composto. Sabe-se que o polimorfismo de um material pode resultar em diferentes propriedades para cada composto. Por se tratar de um novo microcristal, ainda pouco se sabe sobre as suas propriedades antimicrobianas e estudos microbiológicos sobre o α -AgVO₃ ainda são escassos na literatura. Oliveira et al.²⁵ (2017), avaliaram a síntese, caracterização desse microcristal sintetizado em três diferentes temperaturas e sua ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilina. Os autores relataram que as diferentes temperaturas acarretaram em diferenças morfológicas dos microcristais, o que consequentemente acarretou em diferentes respostas antibacterianas, onde o microcristal sintetizado à 10°C apresentou valores de CIM e CFM de 62,5 µg/mL e os microcristais sintetizados à 20 e 30°C apresentaram valores de CIM e CFM de 125 µg/mL. Contudo, por se tratar de um composto relativamente novo, sua ação antifúngica ainda não foi estabelecida.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados aqui relatados, foi possível concluir que:

1. Os três microcristais estudados (α -AgVO₃ a 10, 20 e 30°C) apresentaram atividade fungistática e fungicida contra *C. albicans*.
2. Os três microcristais, nas concentrações inibitória (CIM) e fungicida (CFM) mínimas (3,9 µg/mL e 15,62 µg/mL, respectivamente) apresentaram-se biocompatíveis.
3. A maior concentração avaliada (39 µg/mL) causou a morte de células NOK-si e, por meio da análise em microscopia eletrônica de varredura, é possível sugerir que os microcristais de α -AgVO₃ causaram morte celular por necrose.

REFERÊNCIAS*

- 1 Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM. Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies. *Toxicol Lett.* 2008;179(2):93-100. doi: 10.1016/j.toxlet.2008.04.009.
- 2 AshaRani PV, Mun GLK, Hande MP, Valiyaveetil S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano.* 2009;3(2):279-90. doi: 10.1021/nn800596w.
- 3 Avila M, Ojcius DM, Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanente guest. *DNA Cell Biol.* 2009;28(8):405-11. doi: 10.1089/dna.2009.0874.
- 4 BDBioscience – Support protocol BD [homepage na internet] [acesso em 2017 abr 1]. Disponível em: http://www.bdbiosciences.com/in/resources/protocols/cell_death.jsp.
- 5 Brown S, Santa Maria Jr JP, Walker S. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2013;67:313-36. doi: 10.1146/annurev-micro-092412-155620.
- 6 Castro DT, Holtz RD, Alves OL, Watanabe E, Valente MLC, Silva CHL et al. Development of a novel resin with antimicrobial properties for dental application. *J Appl Oral Sci.* 2014;22(5):442-9.
- 7 Castro DT, Valente MLC, Agnelli JAM, Silva CHL, Watanabe E, Siqueira RL et al. In vitro study on the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. *J Prosthet Dent.* 2016;115(2):238-46. doi: 10.1016/j.prosdent.2015.09.003.
- 8 Castro DT, Valente MLC, 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.* 2016;67:46-53. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.03.002.
- 9 CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standard, 3rd ed. CLSI Document M27-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008. [homepage na internet] [acesso em 2016 abr 1]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/clsi/clsi_OPAS1M27-A2.pdf

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-marco-2015.pdf>

- 10 Fabbro MT, Foggi CC, Santos LPS, Gracia L, Perrin A, Perrin C et al. Synthesis, antifungal evaluation and optical properties of silver molybdate microcrystals in different solvents: a combined experimental and theoretical study. *Dalton Trans.* 2016;45(26):10736-43. doi: 10.1039/c6dt00343e.
- 11 Foggi CC. Síntese, caracterização e ação antimicrobiana de óxidos bimetálicos e de revestimentos depositados a plasma sobre resina acrílica. [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.
- 12 Gliga AR, Skoglund S, Wallinder IO, Fadeel B, Karlsson HL. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. *Part Fibre Toxicol.* 2014;11:11. doi: 10.1186/1743-8977-11-11.
- 13 Guicun L, Kun C, Congsheng Y, Hongrui P. One-step synthesis of Ag nanoparticles supported on AgVO₃ nanobelts. *Mater Lett.* 2007;62(4):735-8.
- 14 Hackenberg S, Scherzed A, Kessler M, Hummel S, Technau A, Froelich K et al. Silver nanoparticles: evaluation of DNA damage, toxicity and functional impairment in human mesenchymal stem cells. *Toxicol Lett.* 2011;201(1):27-33. doi: 10.1016/j.toxlet.2010.12.001.
- 15 Haro Chávez NL. Efeito citotóxico de microcristais de Tungstato de prata e de Molibdato de prata em fibroblastos gengivais humanos cultivados em monocamada e em equivalente dermal [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.
- 16 Hoffman R. In vitro toxicology and cellular fate determination using promega's cell-based assays. *Cell Notes Issue.* 2002. [homepage na internet] [acesso em 2017 abr 1]. Disponível em: <https://www.promega.com.br/resources/pubhub/cellnotes/in-vitro-toxicology-and-cellular-fate-determination-using-promega-cell-based-assays/>
- 17 Holtz RD, Lima BA, Souza Filho AG, Brocchi M, Alves OL. Nanostructured silver vanadate as a promising antibacterial additive to water-based paints. *Nanomedicine.* 2012;8(6):935-40. doi: 10.1016/j.nano.2011.11.012.
- 18 Hyeyoung K, Jyongsik J. Antibacterial properties of novel poly(methyl methacrylate) nanofiber containing silver nanoparticles. *Langmuir.* 2008;24(5):2051-6. doi: 10.1021/la703085e.

- 19 Kaba SI, Egorova EM. In vitro studies of the toxic effects of silver nanoparticles on HeLa and U937 cells. *Nanotechnol Sci Appl*. 2015;8:19-29. doi: 10.2147/NSA.S78134.
- 20 Kong X, Guo Z, Zeng C, Huang J, Cao L, Li, L et al. Soft Chemical in situ synthesis, formation mechanism and electrochemical performances of 1D bead-like AgVO₃ nanoarchitectures. *J Mater Chem A*. 2015;3:18127-35.
- 21 Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ*. 2009;16(1):3–11.
- 22 Longo VM, Foggi CC, Ferrer MM, Gouveia AF, André RS, Avansi W et al. Potentiated electron transference in α -Ag₂WO₄ microcrystals with Ag nanofilaments as microbial agent. *J Phys Chem A*. 2014;118(31):5769-78.
- 23 Masiá Canuto M, Gutiérrez Rodero F. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *Lancet Infect Dis*. 2002;2(9):550-63.
- 24 Mohammad AMA, Arulmozhi DK, Xiaohu F, Schultz R. Hydrogen peroxide-induced necrotic cell death in cardiomyocytes is independent of matrix metalloproteinase-2. *Toxicol In Vitro*. 2013;27(6):1686-92. doi: 10.1016/j.tiv.2013.04.013.
- 25 Oliveira RC, Foggi CC, Teixeira MM, Silva MDP, Assis M, Francisco EM et al., Mechanism of antibacterial activity via morphology change of α -AgVO₃: theoretical and experimental insights. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017;9(13):11472-81. doi: 10.1021/acsami.7b00920.
- 26 Percy MG, Gründling A. Lipoteichoic acid synthesis and function in gram-positive bacteria. *Annu Rev Microbiol*. 2014;68:81-100. doi: 10.1146/annurev-micro-091213-112949.
- 27 Randall CP, Oyama LB, Bostock JM, Chapra I, O'Neill AJ. The silver cation (Ag⁺): antistaphylococcal activity, mode of action and resistance studies. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(1):131-8. doi: 10.1093/jac/dks372.
- 28 Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L et al. Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(2):e139-43.
- 29 Shapiro RS, Robbins N, Cowen LE. Regulatory circuitry governing development, drug resistance, and disease. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2011;75(2):213-67. doi: 10.1128/MMBR.00045-10.

- 30 Shigeharu K, Kosaku M, Haruo A. Crystal structure of alpha-AgVO₃ and phase relation of AgVO₃. *J Solid State Chem.* 1999;142(2):360-7.
- 31 Shirtliff ME, Peters BM, Jabra-Rizk MA. Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2009;299(1):1-8. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01668.x
- 32 Singh DP, Polychronopoulou K, Rebholz C, Aouadi SM. Room temperature synthesis and high temperature frictional study of silver vanadate nanorods. *Nanotechnology.* 2010;21(32):325601. doi: 10.1088/0957-4484/21/32/325601.
- 33 Sudbery P, Gow N, Berman J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.* 2004;12(7):317-24.
- 34 Takeuchi KJ, Marschlok AC, Davis SM, Leising RA, Takeuchi ES. Silver vanadium oxides and related battery applications. *Coord Chem Rev.* 2001;219:283-310.