

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS ANTIFÚNGICAS E MECÂNICAS DA RESINA
ACRÍLICA TERMOPOLIMERIZÁVEL, CONVENCIONAL E EM MICRO-ONDAS,
PARA BASE DE PRÓTESES DENTÁRIAS, SOB A INFLUÊNCIA DA
PIGMENTAÇÃO E NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

DANIELA QUARESMA INÁCIO SILVEIRA

**BRASÍLIA
2019**

DANIELA QUARESMA INÁCIO SILVEIRA

Análise das características antifúngicas e mecânicas da resina acrílica termopolimerizável, convencional e em micro-ondas, para base de próteses dentárias, sob a influência da pigmentação e nanopartículas de prata

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Tadeu de Souza Figueiredo

Coorientadora: Profa. Dra. Aline Úrsula Rocha Fernandes

BRASÍLIA

2019

DANIELA QUARESMA INÁCIO SILVEIRA

**ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS ANTIFÚNGICAS E MECÂNICAS DA RESINA
ACRÍLICA TERMOPOLIMERIZÁVEL, CONVENCIONAL E EM MICRO-ONDAS,
PARA BASE DE PRÓTESES DENTÁRIAS, SOB A INFLUÊNCIA DA
PIGMENTAÇÃO E NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Data da defesa: 29/07/2019

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Tadeu de Souza Figueiredo (Orientador)

Prof. Dr. Rodrigo Antônio de Medeiros

Prof. Dr. Vicente de Paulo Martins

Profa. Dra. Sílvia Taveira Elias (Suplente)

*Dedico esta dissertação ao meu pai
Manoel (in memoriam), com todo meu
amor.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde para chegar até aqui e por ter iluminado meu caminho.

À minha mãe Diva e ao meu filho Vitor, pela paciência, compreensão, carinho e amor.

Ao meu orientador professor Paulo Tadeu e à coorientadora professora Aline Úrsula pela confiança, compreensão e aprendizado.

A Clássico Artigos Odontológicos, representada por Fernando Claro, CEO, que cedeu as resinas e muflas utilizadas neste estudo.

Ao pessoal da Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade de Brasília: professor Daniel Monteiro Rosa (Chefe do Departamento de Engenharia Mecânica), professor Cosme, professor Fábio Castro, técnico Ivan Banho dos Reis, alunos de pós-graduação Pedro e Erick, por terem possibilitado minhas idas ao laboratório e me ajudado na realização dos testes mecânicos.

Ao pessoal do Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos – LAMP do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília: professor Vicente e os alunos de pós-graduação, Herick Muller e Luis, que me ajudaram nos testes biológicos.

Ao pessoal do Instituto de Química da Universidade de Brasília: professor Leonardo Paterno e aluna de pós-graduação Priscila Rios que me forneceram as nanopartículas de prata.

Aos técnicos do laboratório de prótese do Hospital Universitário de Brasília – HUB, Caetano e Frederico.

À Alenícia e Sr. Edvaldo do Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aos técnicos em saúde bucal do HUB, Jones Ferreira e Márcia Vianna, por aguentarem minha bagunça quando eu mexia com os corpos de prova.

À minha secretária Tina que sempre arrumava a desorganização que eu deixava e teve paciência para me aguentar nos dias difíceis.

Aos amigos Lúcia, Ana Cristina, Fernanda, Luciana, Yeda, Adriana, Érica, Ingrid, Patrícia e Eliúde pelas conversas, ajuda e apoio de sempre.

À minha amiga de trabalho no HUB, Dra. Valéria, pela companhia, ajuda e tempo para me ouvir.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar características antifúngica e mecânica de resina acrílica para base de dentadura, sob a interferência de pigmentação e incorporação de nanopartículas de prata (AgNPs). Cilindros em resina acrílica termopolimerizável (Artigos Odontológicos Clássico LTDA., São Paulo, SP, Brasil) de 4X8mm foram confeccionados e divididos em oito grupos (n=20), (Grupo 1: incolor convencional, Grupo 2: incolor convencional com AgNPs, Grupo 3: incolor por energia de micro-ondas, Grupo 4: incolor por energia de micro-ondas com AgNPs, Grupo 5: rosa convencional, Grupo 6: rosa convencional com AgNPs, Grupo 7: rosa por energia de micro-ondas, Grupo 8: rosa por energia de micro-ondas com AgNPs). Todos os grupos foram submetidos a teste microbiológico (n=8), mediante contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), e avaliação do biofilme e teste de microdureza Vickers (n=12), com três medições aleatórias em cada corpo de prova. Para análise dos dados, foram realizadas análises descritivas para microdureza e biofilme e teste não paramétrico de Mann Whitney para a contagem de UFC ($\alpha=0.05$). Todos os grupos apresentaram contagem de UFC significativamente menores que o controle (somente *C. albicans* sem corpo de prova) ($p<0,05$), sem diferença para pigmentação e adição de AgNPs. Para as mesmas condições de pigmentação da resina e polimerização, os grupos com AgNPs apresentaram mais biofilme que os grupos sem ($p<0,05$). Os grupos com polimerização convencional apresentaram mais biofilme do que os grupos de micro-ondas ($p<0,05$). A medida da microdureza Vickers não apresentou diferença significativa quanto à polimerização ou pigmentação. Para o mesmo tipo de polimerização e de pigmentação da resina, a microdureza foi significativamente menor com a adição de AgNPs. Conclui-se que, a concentração de AgNPs utilizada neste estudo para incorporação à resina acrílica, não se mostrou uma alternativa terapêutica para a estomatite protética pois não inibiu o crescimento de *C. albicans* e diminuiu a microdureza tornando o material menos resistente ao desgaste.

Palavras-chave: resinas acrílicas, nanopartículas metálicas, dureza, *Candida albicans*, biofilmes

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate antifungal and mechanical characteristics of acrylic resin for denture base, under the interference of pigmentation and incorporation of silver nanoparticles (AgNPs). Cylinders in thermo-polymerizable acrylic resin (Artigos Odontológicos Clássico LTDA., São Paulo, SP, Brazil) of 4X8mm were made and divided into eight groups (n=20), Group 1: conventional colorless, Group 2: conventional colorless with AgNPs, Group 3: colorless by power microwave, Group 4: colorless by power microwave with AgNPs,, Group 5: conventional pink, Group 6: conventional pink with AgNPs, Group 7: pink by power microwave, Group 8: pink by power microwave with AgNPs. All groups were submitted to microbiological test (n = 8), counting colony forming units (CFU), and biofilm evaluation and Vickers microhardness test (n = 12), with three random measurements in each specimen. For analysis of the data, descriptive analyzes were performed for microhardness and biofilm and Mann Whitney non-parametric test for the CFU count ($\alpha = 0.05$). All groups presented significantly lower CFU counts than the control (only *C. albicans* without specimen) ($p < 0.05$), with no difference for pigmentation and addition of AgNPs. For the same conditions of resin pigmentation and polymerization, the groups with AgNPs presented more biofilm than the groups without ($p < 0.05$). The groups with conventional polymerization presented more biofilm than the groups of microwaves ($p < 0.05$). The Vickers microhardness measure showed no significant difference in polymerization or pigmentation. For the same type of resin polymerization and pigmentation, the microhardness was significantly lower with the addition of AgNPs. It is concluded that the concentration of AgNPs used in this study for incorporation into the acrylic resin was not a therapeutic alternative for prosthetic stomatitis because it did not inhibit the growth of *C.albicans* and decreased microhardness, making the material less resistant to wear.

Key words: acrylic resins, metal nanoparticles, hardness, *Candida albicans*, biofilms

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Sequência do preparo da suspensão das AgNPs	33
Figura 2 – Impressora 3D Luzbolt.....	35
Figura 3 – Cilindros de plástico impressos na impressora 3D.....	36
Figura 4 – Mufla não metálica com gesso e Zetalabor para confecção dos cilindros em resina acrílica.....	36
Figura 5 – Prensa hidráulica Gold Line VH	37
Figura 6 – Paquímetro para medição de comprimento e largura dos corpos de prova.....	38
Figura 7 – Corpos de prova cilíndricos em acrílico.....	38
Figura 8 - Cilindros de resina acrílica termopolimerizável, em grau cirúrgico, após a esterilização.....	39
Figura 9 - Agitador orbital Thoth Equipamentos onde os microtubos com corpos de prova foram incubados.....	40
Figura 10 – Microtubos com as diluições seriadas de <i>C. albicans</i>	41
Figuras 11 e 12 – Placa de Petri com controle positivo e negativo, respectivamente, para <i>C. albicans</i>	41
Figuras 13 e 14 – Placa de Petri com diluições do grupo 1 e do grupo 2.....	41
Figuras 15 e 16 – Placa de Petri com diluições do grupo 3 e do grupo 4.....	42
Figuras 17 e 18 - Placa de Petri com diluições do grupo 5 e do grupo 6.....	42
Figuras 19 e 20 – Placa de Petri com diluições do grupo 7 e do grupo 8.....	43
Figura 21 – Microdurômetro Emcotest (modelo DuraScan 20, Áustria) utilizado para ensaio de microdureza.....	45
Figura 22 – Imagem da marcação em formato de pirâmide sobre o corpo de prova após a medição pelo software.....	45
Figura 23 – Imagem ampliada da marcação em formato de pirâmide sobre o corpo de prova.....	46

Figura 24 – Média e desvio padrão de colônias de fungo (UFC/mL) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.....	47
Figura 25 – Boxplot da contagem de colônias de fungo (UFC/mL) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.....	48
Figura 26 – Média e desvio padrão de biofilme em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.....	49
Figura 27 – Média e desvio padrão da microdureza Vickers (Hv) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.....	50
Figura 28 - Boxplot da microdureza Vickers (Hv) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PMMA – Polimetilmetacrilato

C. albicans – *Candida albicans*

UFC – Unidade formadora de colônia

AgNPs – Nanopartículas de prata

PBS – phosphate-buffered saline; salina tamponada com fosfato

min – minuto(s)

HNO₃ - ácido nítrico

HCl - ácido clorídrico

v/v - proporção em volume

AgNO₃ - nitrato de prata

mL – mililitro

mol.L – mol por litro

°C – graus Celsius

g/L – grama por litro

W – watt

RPM – rotação por minuto

μL – microlitro

μg -micrograma

pH – potencial hidrogeniônico

nm – nanômetro

Kgf – quilograma-força

Hv – unidade de microdureza Vickers

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
1.1 JUSTIFICATIVA.....	24
1.2 RESINAS ACRÍLICAS.....	25
1.3 <i>CANDIDA ALBICANS (C. albicans)</i>	27
1.4 NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs)	29
1.5 HIPÓTESE.....	30
1.6 OBJETIVOS.....	30
2. METODOLOGIA	31
2.1 MATERIAL	31
2.1.1 RESINAS ACRÍLICAS	31
2.1.2 NANOPARTÍCULAS DE PRATA	32
2.2 MÉTODOS	32
2.2.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA	32
2.2.2 CONFECÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	33
2.2.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	39
2.2.3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	39
2.2.3.2 AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME.....	43
2.2.4 ENSAIO MECÂNICO	44
2.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
3. RESULTADOS	46
4. DISCUSSÃO	52
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
6. REFERÊNCIAS	57
7. PRESS RELEASE	66

1. INTRODUÇÃO

A odontologia preventiva levou à diminuição do número de dentes perdidos na população adulta. Porém, ainda é grande o número de edentados totais no Brasil [1] e a demanda por aparelhos protéticos deverá aumentar devido ao rápido crescimento da população idosa [2]. De acordo com o SB Brasil 2010 (Pesquisa Nacional de Saúde Bucal), dentre os idosos de 65 a 74 anos, 17,9% necessitavam de prótese total, em pelo menos um maxilar, e 15,4% necessitavam de prótese total dupla [3].

A prótese total é o principal recurso para reabilitar pacientes totalmente desdentados. Elas são constituídas de dentes artificiais suportados por uma base composta basicamente de polimetilmetacrilato (PMMA) e é responsável pela estabilidade, retenção e distribuição das forças mastigatórias ao rebordo adjacente [4]. O PMMA é utilizado na confecção de aparelhos protéticos desde 1937 e é considerado um material de fácil manuseio e processamento, ajuste preciso, estabilidade dimensional, baixa solubilidade, que não necessita de equipamentos especiais, apresenta estética adequada e baixo custo [5-8]. A polimerização pode se dar por meio de reações químicas, por adição térmica e ou por adição de luz [9]. A composição das resinas vem sendo modificada com o objetivo de melhorar as características físicas, mecânicas e facilitar e diminuir o tempo de polimerização. Assim, em 1968, foi documentada a utilização da energia de micro-ondas para polimerização de resinas acrílicas, a fim de diminuir o tempo de polimerização e dispensar a necessidade dos equipamentos maiores [10].

Com o surgimento de alguns problemas de saúde decorrentes do avançar da idade e, dentre eles, alterações do sistema imunológico, passamos a nos deparar com a ocorrência de alterações locais da mucosa bucal nos pacientes usuários de próteses acrílicas. Diversos microrganismos são frequentemente encontrados na superfície de próteses e na mucosa oral dos pacientes, sendo a *Candida albicans* (*C. albicans*) a espécie mais relacionada com o aparecimento da candidose oral (estomatite protética) [11].

A estomatite protética, ou estomatite por dentadura, é um processo inflamatório comumente encontrado na mucosa palatina de usuários de próteses dentárias [12,13] e ocorre em cerca de 60 a 65% desses usuários [12,14,15].

Alguns estudos foram realizados com o intuito de incorporar à resina acrílica aditivos que possuam atividade antimicrobiana, com a finalidade de prevenir o aparecimento deste tipo de lesão e reduzir o uso de medicamento pelos idosos [16,2,17].

Dentre os materiais escolhidos para serem incorporados aos polímeros, estão as nanopartículas de prata que, entre os íons metálicos, é o material que apresenta melhores propriedades bactericidas, sendo eficaz contra um largo espectro de espécies microbianas e é o menos tóxico para as células animais, quando usado em baixas concentrações [17-19]. Atualmente, a prata e compostos associados são usados para reduzir o risco de infecções no tratamento de queimaduras, prevenir colonização microbiana em dispositivos médicos, em tecidos cirúrgicos, purificação de água, cimentos ósseos e materiais dentários [20,21].

Essa incorporação das nanopartículas de prata pode interferir nas propriedades físicas das resinas. Uma importante propriedade física a ser avaliada após a adição das nanopartículas de prata é a microdureza, pois está diretamente associada à longevidade da prótese. Quanto maior a microdureza, maior a resistência à abrasão e fratura da dentadura [22,23].

Conseguir incorporar um agente com ação antimicrobiana ao material para base de dentadura, prótese ainda muito demandada no nosso país, e que mantenha ou melhore as propriedades físicas do material, seria muito benéfico para aumentar a longevidade e obter maiores taxas de sucesso nos tratamentos.

1.1 JUSTIFICATIVA

Este estudo *in vitro* teve o propósito de avaliar a atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata frente à *C. albicans*, após a incorporação às resinas acrílicas para base de dentadura, com a finalidade de diminuir a incidência da estomatite protética e manter ou melhorar as características mecânicas das resinas testadas, independente do tipo de polimerização e presença de pigmento.

1.2 RESINAS ACRÍLICAS

As resinas acrílicas utilizadas para confecção de próteses totais são à base de polimetilmetacrilato (PMMA) e são compostos orgânicos classificados como polímeros, fornecidas como um sistema pó/líquido. Surgiram entre os anos de 1937 e 1940, como uma excelente alternativa para a confecção de próteses odontológicas [5,24] A resina acrílica tem sido largamente utilizada por proporcionar uma boa estética e por características favoráveis, tais como fácil manipulação e biocompatibilidade [25].

Segundo especificações da ISO (*International Organization for Standardization*) nº 1567, as resinas acrílicas são classificadas em: tipo 1 (polímeros termopolimerizáveis), tipo 2 (polímeros autopolimerizáveis), tipo 3 (polímeros termoplásticos), tipo 4 (materiais fotoativados) e tipo 5 (materiais polimerizados por micro-ondas) [26].

As resinas acrílicas são fornecidas como um sistema de pó (polímero) e líquido (monômero). O monômero compõe-se basicamente de metilmetacrilato ou metacrilato de metila e hidroquinona, que é um inibidor de polimerização para garantir a estabilidade do material durante a armazenagem. O pó é composto de microesferas pré-polimerizadas de PMMA que se dissolvem no monômero, promovendo uma massa plástica a ser moldada, e peróxido de benzoíla, que é o iniciador da reação de polimerização [9].

Para a polimerização das resinas acrílicas termicamente ativadas, o agente de calor necessário para desencadear o processo advém de aquecimento da resina acrílica em banho de água ou por energia de micro-ondas [27].

A resina polimerizada pela energia de micro-ondas teve sua primeira referência para uso odontológico em 1968, por Nishii [10] e foi desenvolvida pelos japoneses na década de 80. A energia de micro-ondas é transformada em energia térmica, pois promove a vibração das moléculas, produzindo fricção e resultando no aquecimento da resina [28]. Esta mostrou-se tão resistente à falha mecânica como a de polimerização convencional e pode ser seguramente utilizada para confecção de base de dentadura [29]. As resinas polimerizadas por micro-ondas apresentam vantagens, como maior praticidade técnica, maior rapidez e ação do calor diretamente nas resinas acrílicas [28].

O processo de aquecimento empregado para realizar a polimerização das resinas termicamente ativadas é chamado ciclo de polimerização ou ciclo de ativação. O calor é aplicado à resina mediante a imersão dentro de uma mufla e da prensa carregadora no banho com água. A água é aquecida a temperatura pré-determinada e mantida nesta temperatura por um período preconizado pelo fabricante [27].

Desde a introdução do metilmetacrilato como material de escolha para confecção das bases da dentadura, há uma preocupação em melhorar a naturalidade das dentaduras, envolvendo basicamente a reprodução do contorno, textura e cor do tecido gengival do paciente nas próteses totais [30-32].

Resina acrílica rosa é utilizada para finalização das próteses totais como rotina básica em quase todos os países e aprimoramento nas propriedades físicas destas resinas com pigmentos tem sido relatado. Apesar disso, há a necessidade de mais estudos comparativos das propriedades mecânicas das resinas de base de prótese incolores e cor de rosa [33].

Mesmo que muitos estudos tenham apresentado diferentes métodos e materiais para a pigmentação da dentadura, poucos se preocuparam em investigar os efeitos dos pigmentos nas propriedades mecânicas da resina acrílica [32].

A incorporação das nanopartículas de prata à resina acrílica para base de dentadura pode ser uma alternativa para inibir o crescimento de fungos na superfície das próteses odontológicas. Assim, surge a necessidade de investigar quais os efeitos dessa incorporação nas propriedades mecânicas das resinas, uma vez que estas não devem ser sacrificadas e podem até ser melhoradas se as partículas funcionarem como reforço [7].

A microdureza está relacionada com a longevidade das próteses totais, em que, quanto maior esta propriedade, maior a resistência ao desgaste abrasivo e rachaduras [34]. A abrasão na superfície da resina acrílica aumenta a rugosidade do material e promove a retenção microbiana. Como consequência, pode ocorrer a inflamação dos tecidos bucais em contato com a prótese, causando desconforto ao paciente e falha no tratamento [35].

1.3 CANDIDA ALBICANS (*C. albicans*)

Candida albicans é um fungo capaz de habitar como um microrganismo comensal normal a cavidade oral de pessoas saudáveis [36]. Quando o sistema de defesa do hospedeiro sofre com alguma alteração, como na imunodeficiência, na quimioterapia ou diabetes mellitus, a *C. albicans* torna-se patogênica e manifesta-se na forma de candidose, podendo acometer um ou mais locais ou toda a cavidade oral. Estomatite associada ao uso de próteses totais e presença de *C. albicans* é um processo inflamatório comum que afeta cerca de 60 a 65% dos usuários de prótese total [12,14,15]. A patogênese da estomatite associada ao uso de prótese é multifatorial, pois envolve fatores locais e sistêmicos associados ao hospedeiro e à capacidade da *C. albicans* de aderir e proliferar nos tecidos orais epiteliais e na prótese dentária [37].

Candida albicans demonstrou ser a principal cepa de cândida responsável pela patologia inflamatória, mesmo com outros estudos que isolaram outras espécies de cândida envolvidas na patogenicidade da candidose oral, como *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e sobretudo *C. glabrata* [38,39].

Entre os idosos, particularmente nos usuários de dentadura e que não possuem uma boa higiene oral, infecção por cândida ou candidose é comum. O supercrescimento da cândida pode levar a um desconforto local, alteração do paladar e disfagia. A estomatite protética é geralmente assintomática, mas pode estar associada à queimação, sangramento, gosto desagradável ou halitose [40]. Em pacientes imunocomprometidos, a infecção pode se espalhar pela corrente sanguínea, causando severa infecção com significativa morbidade e mortalidade [41].

Para a colonização, células de levedura podem se aderir tanto às células e tecidos do hospedeiro ou à superfície do biomaterial revestido com um filme de condicionamento glicoproteico [13,42-44]. *C. albicans* adere diretamente ou por meio da camada de placa bacteriana sobre o acrílico da dentadura (PMMA) [40,45,46]. *C. albicans* é altamente aderente ao PMMA, que é o material básico da prótese e que pode conter microfissuras que facilitam a retenção do fungo e a proteção do biofilme, relacionado ainda com a má higiene bucal e o esquecimento de se remover a prótese ao dormir [35,47]. O biofilme é uma comunidade estruturada de células de microrganismos, embebida em uma matriz polimérica extracelular e aderente a uma superfície inerte ou viva, formando uma estrutura tridimensional [4,48].

A nistatina é considerada como primeira escolha para o tratamento de candidoses orais em pacientes portadores de prótese, pelo fato de não ser absorvida pelo trato gastrointestinal, o que confere um perfil de segurança [47]. Os antifúngicos empregados no tratamento da candidose são potencialmente tóxicos para as células humanas e o uso de tais fármacos deve obedecer a critérios rígidos [49]. Os antifúngicos azólicos, tais como *miconazol*, empregado por meio de aplicação local, e o cetoconazol, fluconazol e o itraconazol, que são bem absorvidos pela mucosa intestinal, permitindo a administração sistêmica por via oral, também são opções para o tratamento da candidose, mas deve ser evitado o uso concomitante com outros medicamentos [47,49,50].

Apesar de toda terapia antifúngica para o tratamento da estomatite protética, a infecção pode se restabelecer após o fim do tratamento, sugerindo que a placa aderida à prótese serve como um reservatório protetor para *C. albicans* [12,51].

Os microrganismos podem ser quantificados de forma direta, contando-se microscopicamente o número de células presentes num determinado material ou superfície, ou indiretamente, efetuando-se análise da turbidez, determinação do peso seco, concentração de substâncias químicas (proteínas, pesquisa de determinada enzima ou produto final de uma via metabólica, DNA, RNA) ou através da contagem do número de microrganismos viáveis, utilizando um meio de cultura apropriado. O procedimento mais comumente utilizado para mensurar a formação de colônias é a contagem de viabilidade em placas de Petri, ou seja, a contagem de unidade formadora de colônia (UFC) [52]. Outros métodos que permitem a quantificação do biofilme são: microscopia confocal [12] e a coloração com Cristal Violeta [4,53]. A coloração com Cristal Violeta é um dos métodos mais rápidos para quantificar a biomassa e pode ser utilizado diretamente sem desorganizar o biofilme fúngico [53].

1.4 NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs)

Metais têm sido utilizados por séculos como agente antimicrobiano, cada um com suas diferentes propriedades e espectro de atividade. Com relação às nanopartículas, a prata tem recebido bastante atenção [54,55]. Uma relação inversa entre o tamanho da nanopartícula e a atividade antimicrobiana tem sido demonstrada, em que nanopartículas com tamanho entre 1-10 nm tem demonstrado maior atividade biocida contra bactérias [56,57]. Devido à larga área de superfície e alta reatividade comparada com o íon prata, partículas de metal de tamanhos nanométricos exibiram notáveis propriedades físicas, químicas e biológicas [58]. Como resultado do pequeno tamanho, as nanopartículas podem oferecer outra vantagem no campo biomédico, por meio da melhoria na biocompatibilidade [55,59].

As ações antibacterianas, antifúngicas e antivirais da prata, dos íons de prata e dos compostos de prata têm sido amplamente investigados em comparação com outros metais [20,60]. Como um meio de reduzir a adesão de bactérias e fungos aos materiais e dispositivos orais, as nanopartículas de prata têm sido estudadas para uma gama de possibilidade de aplicações e, dentro do campo da Odontologia, a incorporação aos materiais dentários [20,55,61]. Muitos desses estudos utilizaram metodologias *in vitro*, porque preocupações em relação à biocompatibilidade não foram totalmente resolvidas até o momento. A quantidade ótima de nanopartículas de prata adicionada aos materiais poliméricos também pode ser um fator crítico importante para evitar um efeito adverso nas propriedades físicas destes materiais [55].

A atividade antifúngica das AgNPs é comparável à atividade dos íons de prata, entretanto estes demonstraram citotoxicidade aos fibroblastos humanos numa concentração dez vezes menor que a necessária para inibir o crescimento das leveduras [62].

O mecanismo da atividade antimicrobiana da nanopartícula metálica ainda não está completamente elucidado. Em relação ao mecanismo molecular de ação inibitória dos íons de prata nos microrganismos, tem sido demonstrado que o DNA perde a sua capacidade de duplicação [58,63] e a expressão das sub-unidades de proteínas ribossômicas e outras proteínas celulares e enzimas necessárias para produção de ATP tornam-se inativas [64].

1.5 HIPÓTESE

Nanopartículas de prata incorporadas à resina acrílica, rosa ou incolor, termopolimerizada por técnica convencional ou por energia de micro-ondas, promovem atividade antifúngica sobre a *C. albicans* e não comprometem as propriedades mecânicas do material.

1.6 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos:

- Avaliar atividade antifúngica das nanopartículas de prata após a incorporação à resina acrílica para base de dentadura termopolimerizada por técnica convencional ou por energia de micro-ondas, nas cores rosa e incolor;
- Comparar a microdureza das resinas acrílicas termopolimerizadas em banho térmico (técnica convencional) e por energia de micro-ondas, rosa e incolor, antes e após a incorporação de nanopartículas de prata.

1. METODOLOGIA

2.1 MATERIAL

2.1.1. Resinas Acrílicas

Foram avaliadas resinas acrílicas termopolimerizáveis em banho térmico (técnica convencional) e por energia de micro-ondas, nas cores rosa médio e incolor (Quadro 1).

Quadro 1 - marcas comerciais e composição das resinas acrílicas utilizadas

Material	Composição (Nº do lote e validade)	Polimerização	Fabricante
Resina acrílica para base de dentadura Rosa médio	Polímero: copolímero metil etil metacrilato, DBP, pigmentos e peróxido (Lote 031096) Monômero: metil metacrilato e topanól (lote 031067) Validade: Polímero: 08/28 Monômero: 08/20	Convencional	Artigos Odontológicos Clássico LTDA., SP, Brasil
Resina acrílica para base de dentadura Incolor	Polímero: copolímero metil etil metacrilato, DBP, pigmentos e peróxido (lote 031111) Monômero: metil metacrilato e topanól (lote 031067) Validade: Polímero: 08/28 Monômero: 08/20		
Resina acrílica para base de dentadura Onda Ceryl Rosa médio	Polímero:co-polímero de MMA e EA, Dibutil ftalato (lote 029071) Monômero: MMA-monômero metil metacrilato, etileno glicol dimetacrilato (lote 031185) Validade: Polímero: 03/28 Monômero: 08/20	Energia de Micro-ondas	
Resina acrílica para base de dentadura Onda Ceryl Incolor	Polímero:co-polímero de MMA e EA, Dibutil ftalato (lote 031188) Monômero: MMA-monômero metil metacrilato, etileno glicol dimetacrilato (lote 031185) Validade: Polímero: 08/28 Monômero: 08/20		

2.1.2. Nanopartículas de prata (AgNPs)

A síntese química das AgNPs foi realizada no laboratório do Instituto de Química da Universidade de Brasília, segundo o método originalmente descrito por Turkevich, por redução do Nitrato de prata com citrato de sódio [65,66].

2.2 MÉTODOS

2.2.1. Síntese das Nanopartículas de Prata

Via de regra, para a síntese das AgNPs, o citrato é usado em excesso, para garantir a estabilidade do colóide. Inicialmente, todas as vidrarias empregadas foram lavadas com água régia (HNO_3/HCl 1:3 v/v), a fim de eliminar possíveis pontos de nucleação, como resíduos de outros metais.

Num balão de 125 mL de duas bocas e de fundo redondo, devidamente limpo, foram adicionados 10 mL de uma solução de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ de AgNO_3 . Adicionou-se água ultrapura para completar o volume para 70 mL. A solução resultante foi agitada e aquecida em banho de glicerina até atingir a temperatura de refluxo de $\sim 95^\circ\text{C}$. Ao se atingir a condição de refluxo, foram adicionados de uma só vez 10 mL de solução de citrato de sódio ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$). A mistura reacional foi mantida em refluxo por mais 30 minutos após a adição do citrato

Com a adição do citrato, a cor incolor inicial da mistura entre o AgNO_3 deu lugar, rapidamente, a uma cor amarela. A solução resultante não requereu tratamento adicional, sendo, essencialmente, uma suspensão coloidal de AgNPs. A suspensão coloidal de AgNPs foi transferida para um frasco de vidro boro silicato com tampa e recoberto por papel alumínio e armazenada em geladeira [65,66] (Figura 1).

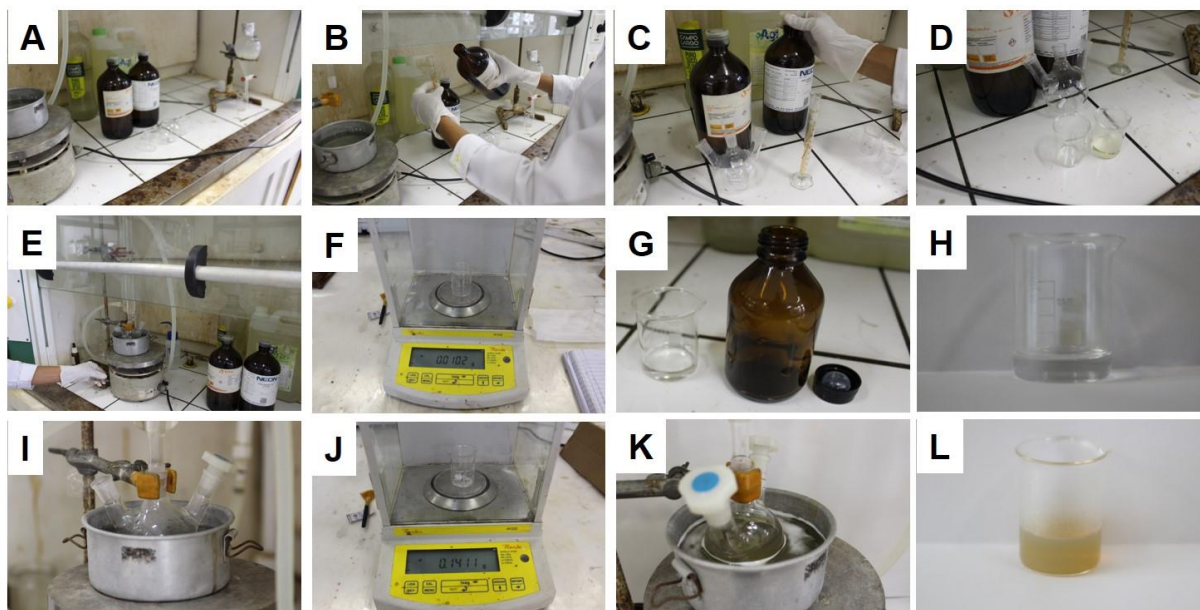


Figura 1: Sequência do preparo da suspensão das AgNPs. A: Material na câmara de sucção; B,C,D: Medição do HNO_3/HCl 1:3 v/v para limpeza das vidrarias; E: Preparo do balão em banho de glicerina; F: Pesagem do nitrato de prata; G: Medição da água ultrapura; H: Água ultrapura; I: Banho de glicerina da solução até atingir $\sim 95^\circ\text{C}$. J,K: Adição do citrato de sódio e aguardar mais 30 min; L: Suspensão coloidal de AgNPs de cor amarelo âmbar

2.2.2 Confeção dos Corpos de Prova

Para a realização do presente estudo, foram confeccionados 160 corpos de prova, divididos em dois testes, de forma que 64 amostras foram divididas em 8 grupos ($n=8$) para o teste biológico e 96 divididos em 8 grupos para o teste de microdureza ($n=12$), (Quadro 2).

Quadro 2 – Grupos experimentais de acordo com o material e tratamento

Grupos	Material	Adição de nanopartículas de prata	Teste
1	Resina acrílica termopolimerizável convencional, incolor	Não	Microbiológico e Microdureza
2		Sim	
3	Resina acrílica termopolimerizável por energia de micro-ondas, incolor	Não	
4		Sim	
5	Resina acrílica termopolimerizável convencional, rosa médio	Não	
6		Sim	
7	Resina acrílica termopolimerizável por energia de micro-ondas, rosa médio	Não	
8		Sim	

Os corpos de prova foram confeccionados em cilindros com dimensões de 4 mm de diâmetro e 8 mm de altura, de acordo com a ISO 604 (2002)/ASTM D695-15, normas que determinam os padrões a serem seguidos para materiais plásticos termopolimerizáveis rígidos e semi-rígidos que serão submetidos a ensaio mecânico. Inicialmente, foram encomendados cilindros de plástico com as mesmas dimensões das amostras. Os cilindros foram obtidos por meio da impressora 3D LULZBOT MINI (Aleph Objects, EUA)(Figuras 2 e 3).

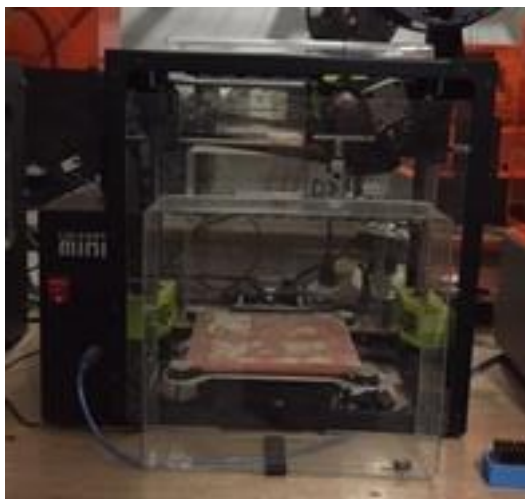


Figura 2: Impressora 3D LULZBOT MINI (Aleph Objects, EUA)

onde foram confeccionados os cilindros de plástico



Figura 3: Cilindros de plástico impressos pela impressora 3D

Foi realizada a moldagem dos cilindros de plástico com silicone de condensação denso extraduro laboratorial Zetalabor (Zhermarck, Labordental Ltda., São Paulo, SP, Brasil). O silicone foi manipulado conforme orientação do fabricante e colocado dentro de uma pequena caixa transparente e os cilindros foram inseridos dentro do silicone em três fileiras de quatro cilindros. Uma camada de gesso pedra Tipo III (ASFEN Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil), espatulado na proporção de 30 ml de água para 100g de pó, foi inserida na base da mufra e foi posicionado o molde de silicone. Após a presa do gesso, foi realizado o isolamento com Isolak (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

A contramufla foi ajustada à base e os parafusos foram apertados, vertendo-se vagarosamente o gesso pedra Tipo III (ASFEN Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil), sob vibração mecânica, até o preenchimento completo da contramufla [17]. Após a presa final do gesso, a mufla foi aberta e foram removidos os cilindros pré-fabricados com o auxílio de uma pinça clínica. Foram utilizadas muflas não metálicas (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP, Brasil) (Figura 4).

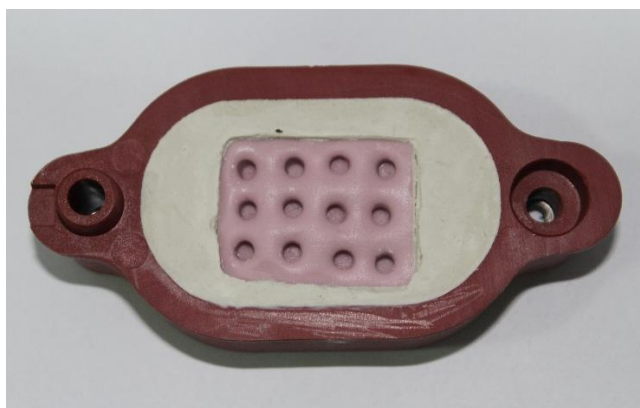


Figura 4: Molde em silicone Zetalabor (Zhermarck, Labordental Ltda., São Paulo, SP, Brasil) posicionado em mufla não metálica, para confecção dos cilindros em resina acrílica termopolimerizável pela técnica convencional e por energia de micro-ondas

Posteriormente, iniciou-se a confecção dos cilindros em resina acrílica para base de dentadura termopolimerizável em micro-ondas Onda Ceryl (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) e com resina acrílica para base de dentadura termopolimerizável em banho térmico (Artigos Odontológicos Clássico LTDA., Campo Limpo Paulista, SP, Brasil), nas cores rosa e incolor, com e sem a incorporação das nanopartículas de prata. A manipulação das resinas foi realizada segundo as instruções do fabricante, em potes de vidro com tampa, na proporção de 3:1 (pó/líquido). A mistura foi manipulada por alguns segundos com a espátula 31 e o pote foi tampado. Para a resina termopolimerizável pela técnica convencional, quando a massa atingiu a fase plástica, estava pronta para ser adaptada nos moldes. Para as resinas termopolimerizáveis por energia de micro-ondas, a massa foi adaptada após atingir a fase fibrosa, seguindo as recomendações do fabricante.

Os moldes de silicone foram isolados com vaselina, para facilitar a demuflagem das amostras crescidas de nanopartículas, preenchidos com a resina manipulada e, em seguida, a mufla foi fechada de forma lenta e gradual, com força próxima de 500 quilos para remoção dos excessos do material e nova prensagem até 750 quilos, sendo mantida em prensa hidráulica Gold Line VH (Essence Dental, Araraquara, São Paulo) por 30 minutos (Figura 5). Metade das amostras recebeu incorporação de suspensão coloidal de nanopartículas de prata na concentração de 0,14g/l, adicionadas ao monômero da resina acrílica, durante a fase pré-polimerização. A solução de prata foi adicionada ao líquido da resina acrílica na concentração de 0,4% em peso, sob vibração mecânica, e o pó foi misturado em seguida, também sob vibração, para que as partículas de prata pudessem se dispersar na mistura [21,67].



Figura 5: Mufla com resina acrílica na prensa hidráulica Gold Line VH (Essence Dental, Araraquara, São Paulo)

Após os 30 minutos de polimerização de bancada, a mufla foi removida da prensa e a polimerização foi realizada conforme especificações do fabricante. As termopolimerizáveis em banho térmico sofreram polimerização inicialmente com água fria (a mufla não deve ficar em contato direto com a panela, segundo o fabricante, e para isso, foi colocada em uma prensa manual) e iniciou-se com fogo brando por meia hora. Desligou-se o fogo e foram aguardados 30 minutos.

Ligou-se novamente o fogo até alcançar a fervura, mantida por 60 minutos. As resinas acrílicas polimerizáveis em micro-ondas foram polimerizadas em aparelho de micro-ondas (Consul Facilite, São Paulo, SP, Brasil), com potência de 800 W, na seguinte sequência, de acordo com a programação definida pelo fabricante: 1) por 3 minutos a uma potência de 30% da capacidade, 2) por 4 minutos a uma potência 0% e 3) por 3 minutos a uma potência de 60% da capacidade. Após o resfriamento natural da mufla, os corpos de prova foram removidos do molde e foi realizada a regularização da superfície com broca de tungstênio (Maxicut número 1510, tarja azul, American Burs) , verificação das medidas com paquímetro digital (MTX, China) (Figura 6) e polimento em duas etapas: a primeira com água e pedra pomes (Maquira Indústria de Produtos Odontológicos, Maringá, PR) com escova de pelo e a segunda com água e branco de Espanha (ASFEN Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil) e roda de feltro [70]. O procedimento foi repetido até a obtenção de todos os corpos de prova. (Figura 7).

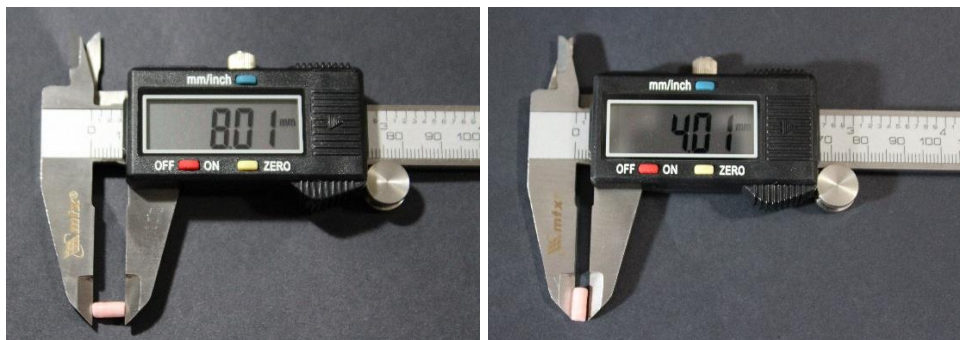


Figura 6: Medição do comprimento e da largura do cilindro em acrílico



Figura 7: Corpos de prova em resina acrílica

2.2.3 Análise Microbiológica

2.2.3.1 Avaliação da atividade antimicrobiana

Todos os corpos de prova de cada grupo (n=8), destinados ao teste microbiológico, foram acondicionados em envelopes com uma face de plástico (envelope grau cirúrgico termo selável, Sispack, São Paulo, SP, Brasil) e submetidos à esterilização por meio de óxido de etileno na FBMFarma Indústria Farmacêutica em Anápolis – GO, para posterior análise microbiológica com fungos (Figura 8).



Figura 8: Cilindros de resina acrílica termopolimerizável, em grau cirúrgico, após a esterilização

O ensaio para avaliação da atividade antimicrobiana do material em teste foi realizado em microtubo de 1,5 mL, contendo 1000 células de *C. albicans* (ATCC SC5314) inoculadas em 1mL de solução de dextrose a 0,5% (1000 células/mL). Os corpos de prova foram adicionados a esta suspensão de leveduras, utilizando-se material previamente esterilizado e técnicas assépticas, com manipulação em cabine de biossegurança NB-2 (VECO, Campinas, SP, Brasil). Os microtubos foram incubados por 18h a 37°C em agitador orbital (Thoth Equipamentos, Piracicaba, SP, Brasil) com agitação de 100 RPM (Figura 9).



Figura 9: Agitador orbital Thoth Equipamentos, Piracicaba, SP, Brasil, onde os microtubos com corpos de prova foram incubados

No dia subsequente, foram realizadas diluições seriadas das células de cada microtubo (Figura 10), em escala de 1:10 e 15 μL das diluições 10^{-0} , 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foram plaqueadas pelo método de gota em placas de Petri, contendo o meio de cultura Sabouraud Dextrose Agar (HiMedia, Mumbai, India) acrescido de 100 $\mu\text{g/mL}$ de cloranfenicol. Foram realizados dois ensaios biológicos independentes, sendo que em cada ensaio os corpos de prova foram analisados em quadruplicata em única placa. As placas foram incubadas por 18h a 37°C em estufa para cultivo microbiológico (FANEM LTDA, São Paulo, SP, Brasil). Em um grupo, denominado controle, foi cultivada somente a *C. albicans* sem corpo de prova, ou seja, meio de cultura e levedura com crescimento sem interferência. Posteriormente, foram contadas a olho nu as unidades formadoras de colônia (UFC's) (Figuras 11 a 20) nos dois ensaios biológicos e as médias obtidas destes dados foram analisadas quanto suas significâncias e distribuições estatísticas, conforme descrito ao longo deste texto no item de análises estatísticas (2.2.5) [71].

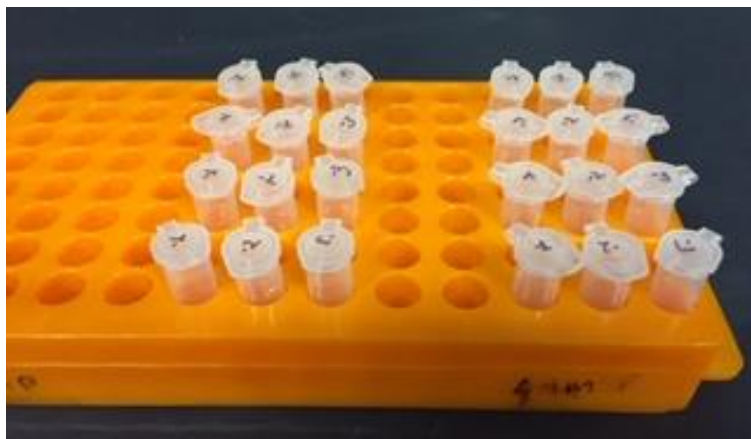
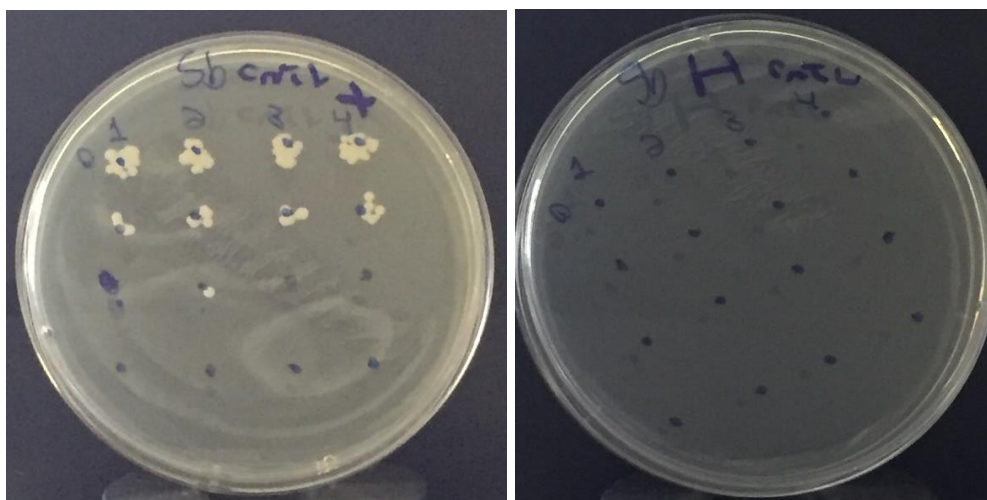
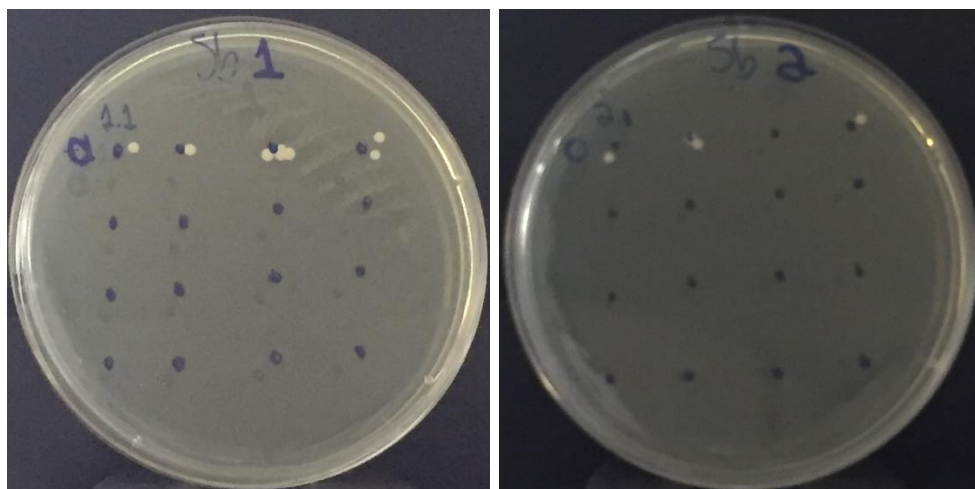


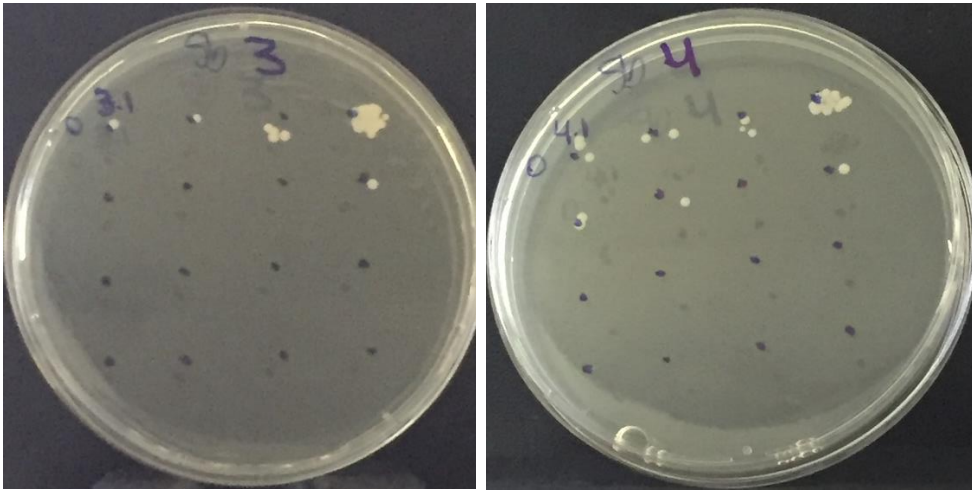
Figura 10: Microtubos com as diluições seriadas de *C. albicans*



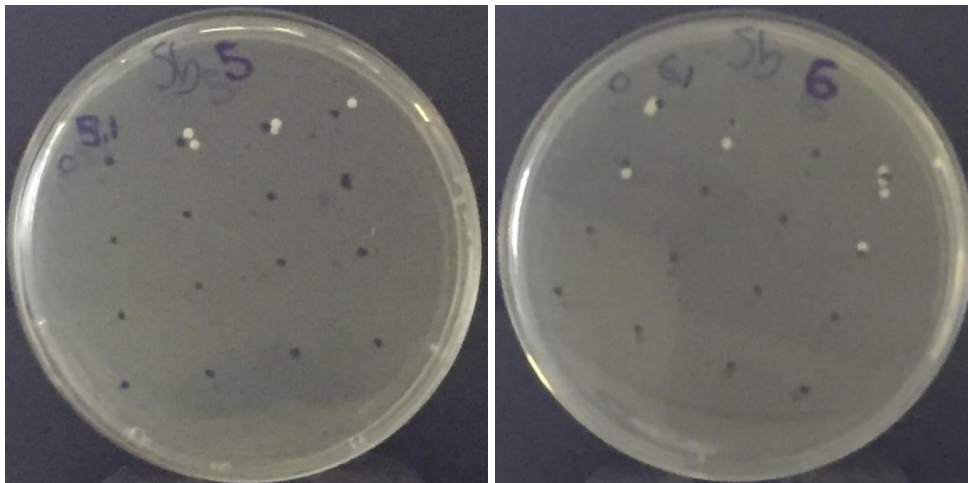
Figuras 11 e 12: Placa de Petri com controle positivo e negativo, respectivamente, para *C. albicans*



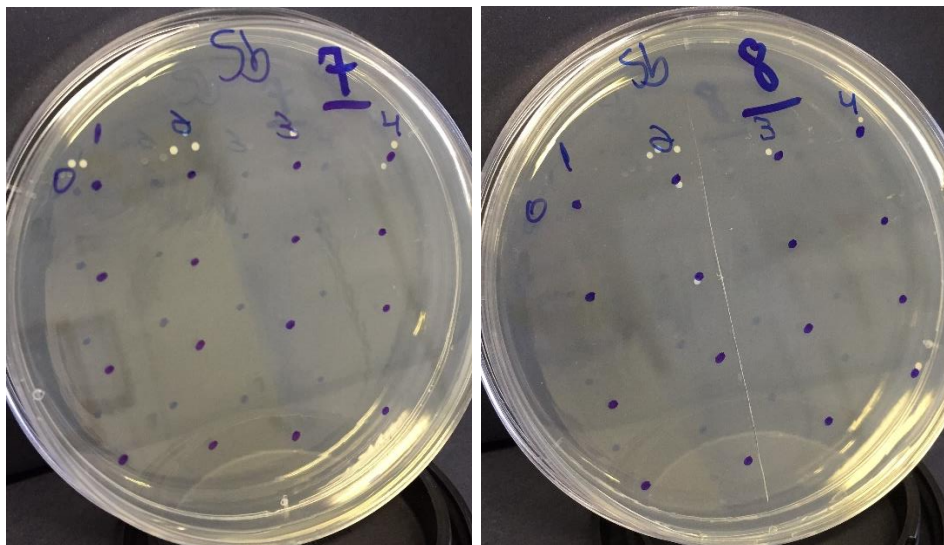
Figuras 13 e 14: Placa de Petri com diluições do grupo 1 e do grupo 2



Figuras 15 e 16: Placa de Petri com diluições do grupo 3 e do grupo 4



Figuras 17 e 18: Placa de Petri com diluições do grupo 5 e do grupo 6



Figuras 19 e 20: Placa de Petri com diluições do grupo 7 e do grupo 8

2.2.3.2 Avaliação da formação de biofilme

Os corpos de prova incubados na presença de *C. albicans*, como descrito no item anterior (2.2.3.1), foram analisados quanto à formação de biofilme em suas superfícies. Os corpos de prova foram removidos para outros microtubos estéreis e foram lavados por três vezes com 100 μ L de PBS, pH 7,4, sendo aplicado contra a parede do microtubo, para evitar desprender qualquer material aderido no corpo de prova. Após as lavagens com PBS, foram acrescidos 100 μ L de metanol e deixado em contato com os corpos de prova por 15 min para fixação da estrutura das células, sendo removido o excesso de metanol e deixado secar em capela de exaustão (OXICAMP, Campinas, SP, Brasil). A seguir, o material foi corado com 100 μ L de cristal violeta por 15 min e, posteriormente, o corante foi removido por pipetagem e o excesso lavado por três vezes com 100 μ L de PBS, pH 7,4. O material foi deixado secar completamente em fluxo laminar (VECO, Campinas, SP, Brasil) e, por fim, foram acrescidos em cada tubo 100 μ L de ácido acético para desprender o corante que havia sido retido no biofilme aderido aos corpos de prova. O corante solubilizado foi transferido para placas de fundo chato transparentes de 96 poços e, em seguida, foi determinada a intensidade de absorbância por leitura em espectrofotômetro (SpectraMax, Molecular Devices, San Jose, CA, USA), em comprimento de onda de 570 nm.

Os dados foram analisados e, a partir de suas médias, foram realizadas análises estatísticas para avaliar diferenças entre os corpos de prova e seus respectivos efeitos sobre a formação do biofilme [4,71-73].

2.2.4 Ensaio Mecânico

A dureza Vickers, introduzida em 1925, usa como um penetrador uma pirâmide de diamante de base quadrada. Durante os ensaios de microdureza a carga pode variar de 0,01 a 1 Kgf e é mantida constante por um tempo específico. O penetrador de Vickers é pressionado na amostra deixando uma pirâmide de base quadrada na superfície [17]. A mensuração da dureza é realizada pela largura da endentação ou sua profundidade e a área é calculada. De modo simples, quanto menor a endentação, maior a dureza [74].

Todas as amostras foram armazenadas em água destilada, em recipientes de vidro, por 24 horas e secadas com gaze. As amostras destinadas ao teste mecânico (n=12) de cada grupo (Quadro 2) foram submetidas ao teste de microdureza. O ensaio foi realizado no microdurômetro Emcotest (modelo DuraScan 20, Áustria) (Figura 21), com carga de 0,025 Kgf por 5 segundos, com três medições aleatórias em cada corpo de prova.

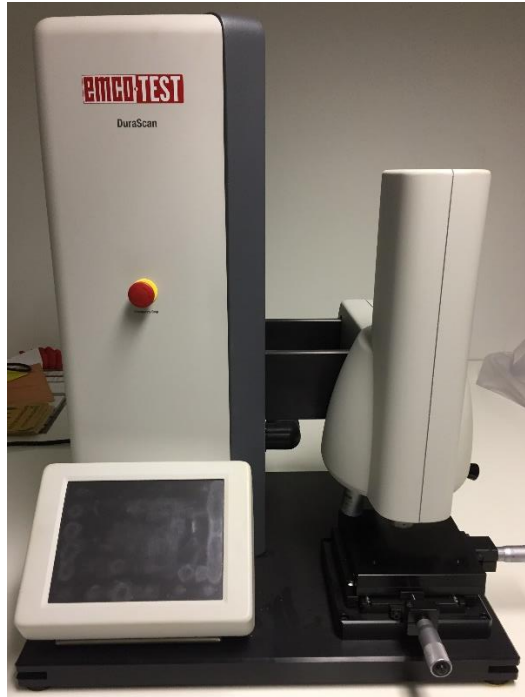


Figura 21: Microdurômetro Emcotest (modelo DuraScan 20, Áustria) utilizado para ensaio de microdureza

As marcações nos corpos de prova foram feitas por meio de um penetrador em formato de pirâmide, com base quadrada, e o próprio software do equipamento forneceu o cálculo automático das marcas nos vértices do losango, em uma imagem com aumento de 40X, determinando o comprimento das diagonais (Figuras 22, 23).

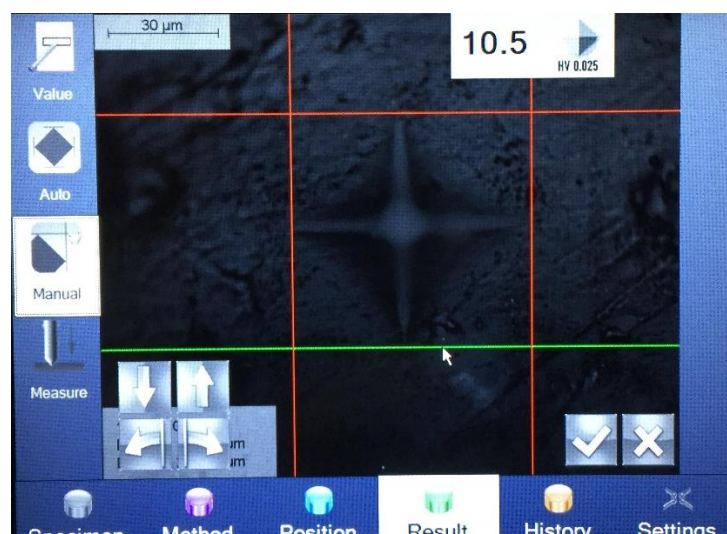


Figura 22 : Imagem da marcação em formato de pirâmide sobre o corpo de prova.

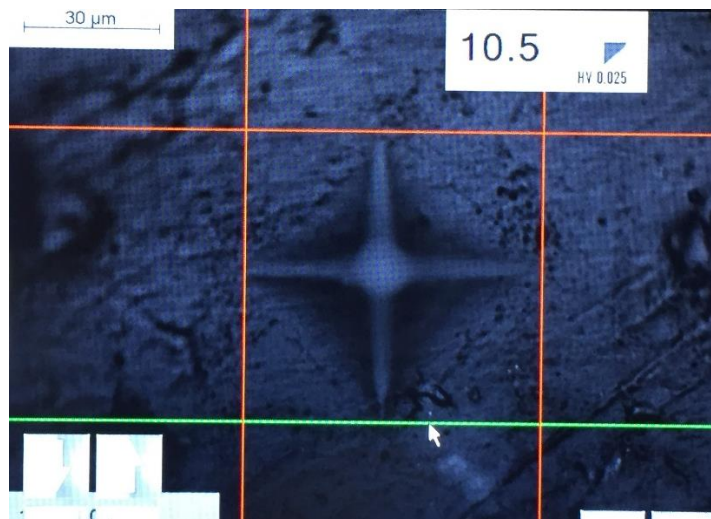


Figura 23: Imagem ampliada da marcação em formato de pirâmide sobre o corpo de prova.

2.2.5 Análise Estatística

Foram realizadas análises descritivas (média, desvio padrão, mediana, valor mínimo e máximo) e exploratórias dos dados. Os dados de contagem de colônias de fungo foram analisados pelo teste não paramétrico de Mann Whitney. As análises foram realizadas com auxílio dos programas SAS [75] e R [76], com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$).

3 RESULTADOS

Todos os grupos (Quadro 2) apresentaram unidades formadoras de colônias de fungo (UFC/mL) significativamente menores que o grupo controle ($p<0,05$), mas não houve diferença significativa entre os tipos de pigmentação, polimerização ou adição de nanopartículas de prata ($p>0,05$), conforme ilustra a Tabela 1 e Figuras 24 e 25.

Tabela 1 - Mediana (valor mínimo; valor máximo) da contagem de colônias de fungo (UFC/mL) em função da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata

Polimerização	AgNPs	Pigmentação da resina	
		Incolor	Rosa
Convencional	Sem	*66,00 (0,00; 266,00)	*266,00 (0,00; 533,00)
	Com	*66,00 (0,00; 200,00)	*99,50 (0,00; 333,00)
Micro-ondas	Sem	*66,00 (66,00; 466,00)	*133,00 (0,00; 666,00)
	Com	*166,50 (0,00; 766,00)	*99,50 (0,00; 466,00)

*Difere do Grupo controle ($p \leq 0,05$): mediana = 4666,0 (mínimo= 0,0; máximo=6666,0)

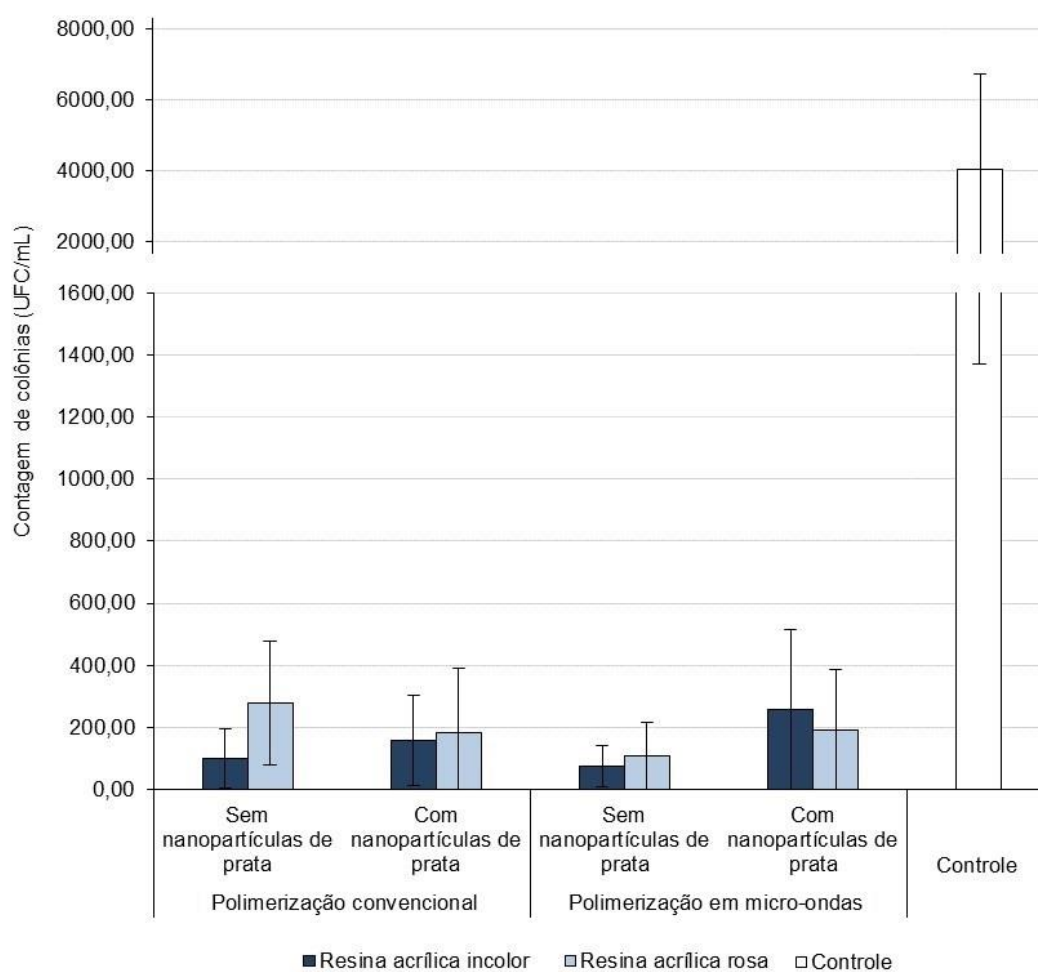


Figura 24 - Média e desvio padrão de colônias de fungo (UFC/mL) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.

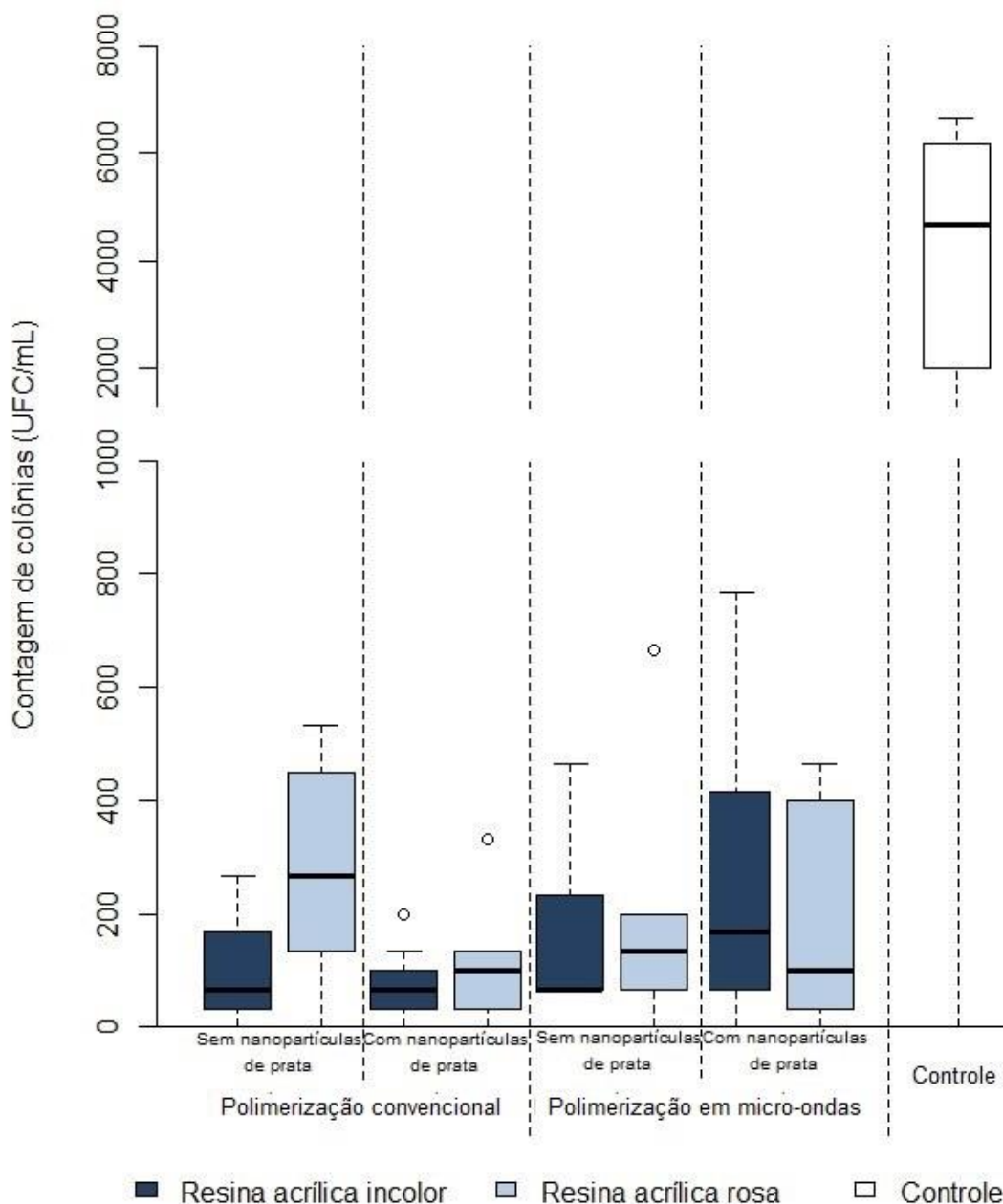


Figura 25 - Boxplot da contagem de colônias de fungo (UFC/mL) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.

Neste estudo, observa-se que para as mesmas condições de pigmentação da resina e polimerização, os grupos com adição de nanopartículas de prata apresentaram mais biofilme do que os grupos sem ($p < 0,05$) conforme Tabela 2 e figuras 26 e 27. Além disso, os grupos com polimerização convencional apresentaram mais biofilme do que os grupos polimerizados por energia de micro-ondas ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Média (desvio padrão) de biofilme em função da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata

Polimerização	AgNPs	Pigmentação da resina	
		Resina acrílica incolor	Resina acrílica rosa
Convencional	Sem	0,5421 (0,0987)	0,5250 (0,0600)
	Com	*0,5851 (0,1435)	*0,7263 (0,2664)
Micro-ondas	Sem	[§] 0,3992 (0,1597)	[§] 0,3808 (0,0796)
	Com	[§] *0,5343 (0,0892)	[§] *0,4860 (0,0523)

*Difere do grupo sem nanopartículas de prata, nas mesmas condições de pigmentação da resina e polimerização ($p \leq 0,05$). [§]Difere do grupo com polimerização convencional, nas mesmas condições de pigmentação da resina e adição de nanopartículas de prata ($p \leq 0,05$). $p(\text{pigmentação})=0,2398$; $p(\text{polimerização})=0,0032$; $p(\text{nanopartículas})=0,0118$; $p(\text{pigmentação} \times \text{polimerização})=0,4109$; $p(\text{pigmentação} \times \text{nanopartículas})=0,6406$; $p(\text{polimerização} \times \text{nanopartículas})=0,4442$; $p(\text{pigmentação} \times \text{polimerização} \times \text{nanopartículas})=0,5159$

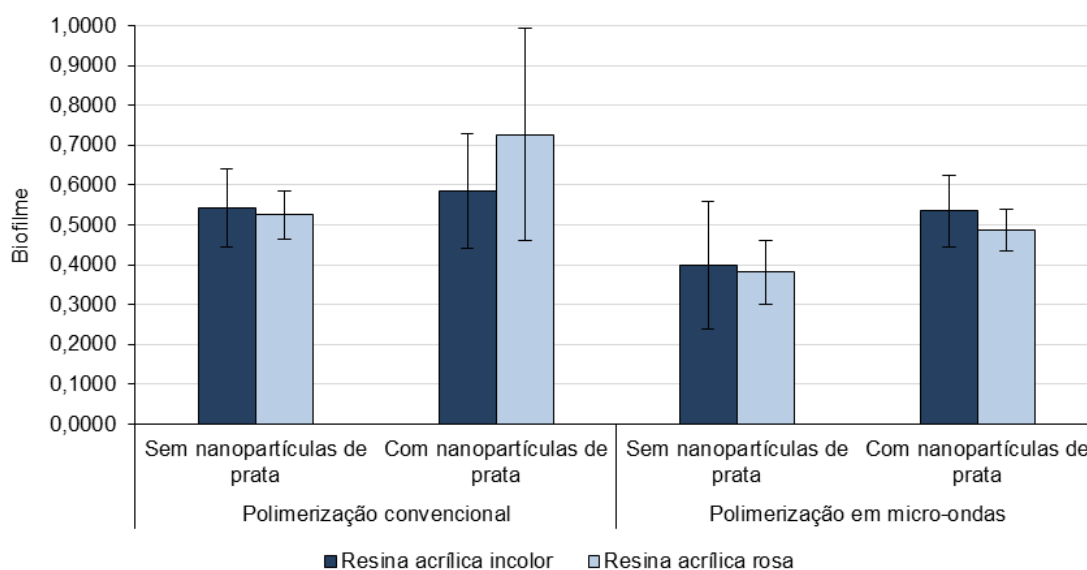


Figura 26 - Média e desvio padrão de biofilme em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.

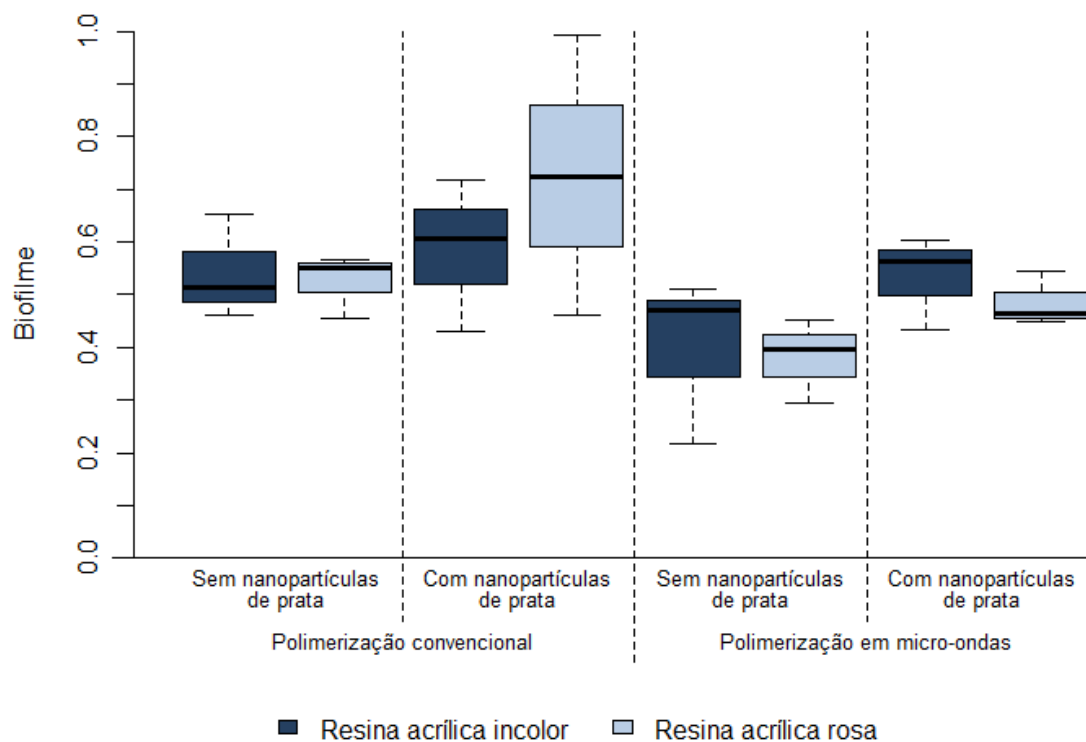


Figura 27 - Boxplot de biofilme em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.

Na Tabela 3 e Figuras 28 e 29, são apresentados os resultados da microdureza Vickers (Hv). Não houve diferença significativa estatisticamente entre os grupos com polimerização convencional ou por energia de micro-ondas e entre os grupos com resina incolor ou rosa. Para o mesmo tipo de polimerização e de pigmentação da resina, a microdureza foi significativamente menor com a adição de nanopartículas de prata ($p < 0,05$).

Tabela 3 - Média (desvio padrão) da microdureza Vickers (Hv), em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata

Polimerização	AgNPs	Pigmentação da resina	
		Incolor	Rosa
Convencional	Sem	15,90 (4,20)	16,43 (2,14)
	Com	*13,45 (2,67)	*13,52 (2,50)
Micro-ondas	Sem	15,37 (1,17)	15,59 (1,29)
	Com	*13,75 (2,05)	*15,21 (1,10)

*Difere do grupo sem nanopartículas de prata, nas mesmas condições de pigmentação da resina e polimerização ($p \leq 0,05$). $p(\text{pigmentação})=0,2295$; $p(\text{polimerização})=0,6065$; $p(\text{nanopartículas})=0,0001$; $p(\text{pigmentação} \times \text{polimerização})=0,5206$; $p(\text{pigmentação} \times \text{nanopartículas})=0,6035$; $p(\text{polimerização} \times \text{nanopartículas})=0,0747$; $p(\text{pigmentação} \times \text{polimerização} \times \text{nanopartículas})=0,3659$

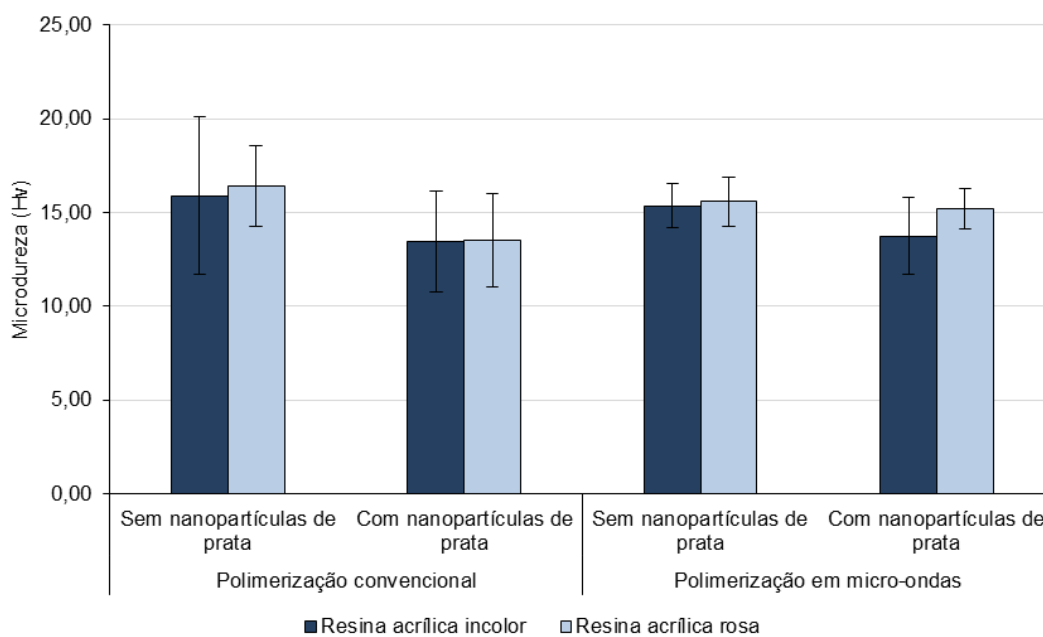


Figura 28 - Média e desvio padrão da microdureza Vickers (Hv) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.

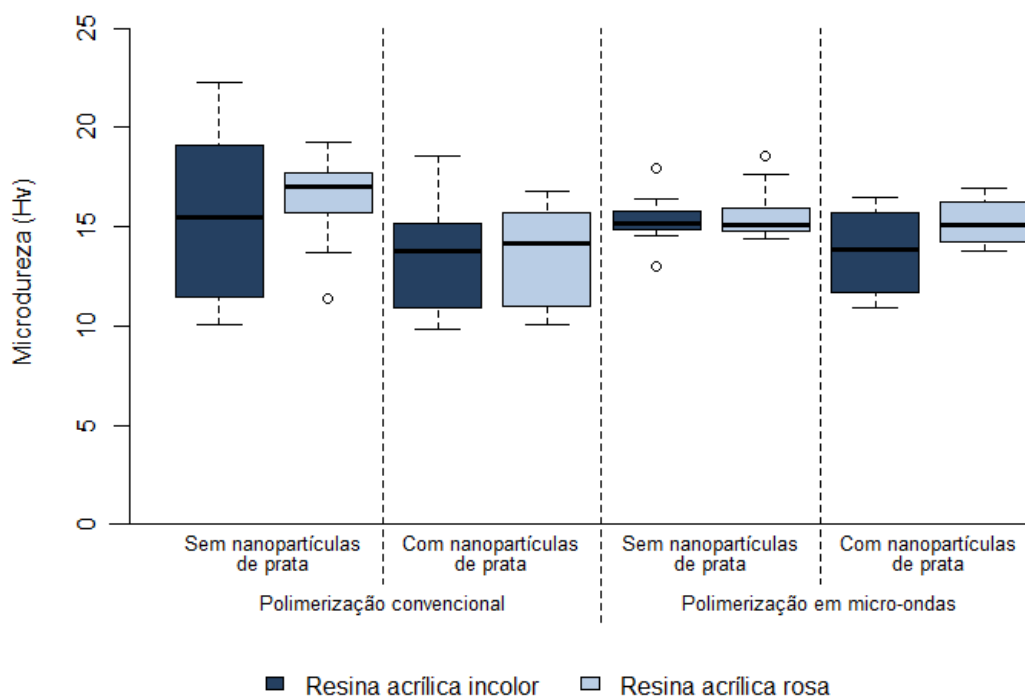


Figura 29 - Boxplot da microdureza Vickers (Hv) em função da pigmentação da resina, tipo de polimerização e adição de nanopartículas de prata.

4 DISCUSSÃO

Para tentar diminuir a incidência da estomatite protética, a ação antimicrobiana da prata faz-se necessária após a sua incorporação à resina acrílica para base de dentadura. Observou-se nos resultados deste estudo, o que pode ser visto na tabela 1 e figuras 24 e 25, que todos os grupos testados (Quadro 2) apresentaram número de UFC/mL significativamente menor que o grupo controle ($p < 0,05$) e isto deve ter ocorrido pelo depósito do fungo na superfície do PMMA e não no sobrenadante que é retirado para o cultivo na Placa de Petri. Porém, não houve diferença significativa entre os tipos de pigmentação, polimerização ou adição da nanopartículas de prata ($p > 0,05$), ou seja, as resinas aqui testadas apresentaram o mesmo efeito sobre *C. albicans* antes e pós a incorporação das AgNPs.

Diferente da metodologia aqui apresentada, em outro estudo [77] foram adicionadas AgNPs ao polímero de resina termopolimerizável convencional para base de dentadura nas concentrações de 2,5%, 3% e 5% em peso e o resultado mostrou um material com maior atividade antifúngica na concentração de 5%, e que pode ser escolhido para o tratamento com pacientes resistentes à terapia convencional para estomatite protética. No estudo [17], a resina termopolimerizável convencional avaliada apresentou atividade antifúngica frente à *C. albicans*, porém foram usadas AgNPs derivadas do vanadato de prata e na concentração de 10% incorporadas ao pó da resina.

Outra característica importante do material antimicrobiano incorporado à resina acrílica, é a inibição da formação e crescimento do biofilme microbiano a fim de evitar colonização por *C. albicans* na superfície da prótese. Neste estudo, os resultados mostraram que para as mesmas condições de pigmentação da resina e polimerização, os grupos com adição de AgNPs apresentaram mais biofilme do que os grupos sem, conforme é apresentado na tabela 2 e figuras 26 e 27. Observou-se que as AgNPs aqui incorporadas apresentaram uma desvantagem ao propiciar maior formação de biofilme na superfície das amostras. No estudo [78], foi avaliada a atividade da solução aquosa de AgNPs sobre *C. albicans* com relação à adesão e formação de biofilme diferente da metodologia aqui apresentada. Concluiu-se que a solução de AgNPs mostrou atividade antifúngica contra células de *C. albicans* planquitônicas e sésseis. Por outro lado, neste mesmo estudo, após a incorporação das AgNPs à resina para base de dentadura, nenhum efeito sobre adesão e formação de biofilme foi detectado, independente da concentração estudada.

No estudo [71], AgNPs sintetizadas pelo método de Turkevich apresentaram ação antifúngica contra cepas de *C. albicans* e *C. glabrata* a concentrações bem baixas de 0,4 a 3,3 $\mu\text{g ml}^{-1}$, quando em suspensão e contato direto por meio de diluições. Estas AgNPs foram mais efetivas em inibir a formação do biofilme do que no controle do biofilme maduro. Ao estudar diferentes concentrações de AgNPs a 1%, 2%, 3% e 5% em peso ao polímero de uma resina tipo 1, no estudo [79], observou-se que o efeito anti-adesão da *C. albicans* só foi observado na concentração de 5%, ou seja, segundo os autores, este resultado indica que o efeito anti-adesão exige uma alta concentração de AgNPs incorporada à resina para base de dentadura, bem acima da concentração utilizada neste estudo.

A concentração da suspensão coloidal de AgNPs (0,14g/L) incorporada ao monômero do PMMA utilizada neste estudo foi baseada na eficácia antimicrobiana e na não alteração das características mecânicas apresentadas em outros artigos [21,71] e na possível toxicidade aos tecidos humanos [61]. Esta concentração não demonstrou efeito inibidor do crescimento de *C. albicans* depois da incorporação à resina apesar de ser uma concentração maior do que a considerada mínima para ação contra *C. albicans* [71]. Alguns artigos demonstraram resultado diferente pois apresentaram efeito antifúngico com as AgNPs ao testarem a solução aquosa agindo diretamente sobre o fungo, outros fizeram a incorporação das AgNPs em pó ao polímero da resina o que pode ser um diferencial para a ação das nanopartículas.

No presente estudo também foi avaliada a característica física de microdureza das resinas acrílicas. Ao comparar as resinas termopolimerizadas de forma convencional e em micro-ondas, com a mesma coloração, observou-se que não houve diferença estatística significativa como pode ser visto na tabela 3 e figuras 28 e 29. O tipo de polimerização não influencia na dureza destes materiais resultando em produtos com desempenho clínico semelhante. Este resultado também pode ser conferido em outro estudo [29], em que a microdureza Vickers da resina acrílica (Meliodent), termopolimerizada em micro-ondas, demonstrou valor compatível com as de polimerização convencional. Ao comparar três tipos de resinas termopolimerizadas (Meliodent, Paladent e QC-20), duas de modo convencional e uma em micro-ondas, outro estudo [80] demonstrou também que a técnica de polimerização não afetou a dureza Vickers dos materiais. Um trabalho [81] que comparou a dureza Knoop de resinas com os mesmos métodos de polimerização acima citados, também demonstrou que não houve diferença significativa.

O resultado da comparação da microdureza Vickers das resinas rosa e incolor termopolimerizadas pelos dois métodos estudados também não apresentou diferença significativa conforme tabela 3, figuras 28 e 29. Este resultado também expressa que a presença do pigmento não altera o desempenho clínico das resinas e permite a elaboração de próteses mais estéticas com a mesma durabilidade. No entanto, ao comparar quatro tipos de resina [82], dentre estas a resina rosa e a incolor polimerizadas com banho térmico, concluiu que a resina rosa apresentou o mais alto valor de dureza Vickers (18,57Hv). Nosso resultado mostrou que o valor médio da microdureza Vickers para resina rosa com o mesmo tipo de polimerização foi de 16,43Hv e da incolor de 15,90Hv.

Outro estudo [33] comparou algumas propriedades mecânicas (flexão, tensão e compressão) de duas resinas acrílicas para base de dentadura, nas cores rosa e incolor, termopolimerizadas pela técnica convencional e observou que não houve diferença nas propriedades mecânicas dos dois materiais.

Para o mesmo tipo de polimerização e de pigmentação da resina no presente trabalho, a microdureza foi significativamente menor com a adição de nanopartículas de prata ($p < 0,05$). Percebe-se que, apesar da pequena concentração de AgNPs utilizada, houve decréscimo na dureza superficial dos materiais testados. Esta desigualdade inviabiliza a indicação do uso dessas partículas em resina acrílica para dentadura. Ao avaliar três diferentes concentrações de prata (derivadas do vanadato de prata, diferente das utilizadas neste estudo) adicionadas ao polímero da resina termopolimerizável convencional [17], concluiu que a dureza superficial Knoop permaneceu inalterada. Em uma comparação entre duas resinas termopolimerizáveis por banho térmico e incorporadas com concentrações de 0,05% e 0,2% de AgNPs ao polímero, não apresentaram alterações significativas em suas propriedades mecânicas (dureza Vickers)[83]. Ambos estudos adicionaram as AgNPs ao polímero da resina acrílica, divergindo do estudo aqui apresentado.

Este estudo apresentou algumas limitações pois só uma marca de resina foi testada e em apenas uma concentração de AgNPs em suspensão coloidal. Como não existe padronização metodológica na literatura, os estudos divergem nos tipos de testes empregados e nos diferentes tipos de concentração e síntese de AgNPs. Isto dificulta parcialmente a interpretação e comparação dos resultados avaliados.

As amostras aqui estudadas podem ter apresentado aumento da rugosidade de superfície após a incorporação das AgNPs e isso pode ter proporcionado maior adesão da *C. albicans* e diminuição da microdureza da resina acrílica. Porém, a característica de rugosidade não foi objeto deste estudo. Por isso, sugerimos estudos comparando outras concentrações para avaliar o efeito antifúngico e mecânico das AgNPs na forma de pó após a incorporação ao polímero e também na tentativa de esclarecer o exato mecanismo de ação dessas nanopartículas e seus efeitos nos tecidos e efeitos sistêmicos a longo prazo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as limitações do presente estudo *in vitro*, conclui-se que:

1) A quantidade de AgNPs incorporadas à resina acrílica termopolimerizável não apresentou atividade antifúngica contra *C. albicans* provavelmente por estar em pequena concentração ou por não apresentar atividade antimicrobiana após sua incorporação à resina acrílica. Esta concentração não se mostrou como alternativa para a prevenção da estomatite protética.

2) Resinas termopolimerizadas em banho térmico ou em micro-ondas não apresentaram diferença na quantidade de UFC/mL, e microdureza, ou seja, o tipo de polimerização não torna uma resina inferior à outra para o uso clínico.

3) A presença de pigmento não alterou as características mecânicas da resina termopolimerizável.

4) Para o mesmo tipo de polimerização e de pigmentação da resina, as com AgNPs apresentaram microdureza significativamente menor e maior crescimento de biofilme. Isso ocorreu provavelmente por causa da alteração na rugosidade de superfície do material, sugerindo que outros estudos sejam realizados.

6 REFERÊNCIAS

1. Moreira RS, Nico LS, Tomita NE, Ruiz T. A saúde bucal do idoso brasileiro: revisão sistemática sobre o quadro epidemiológico e acesso aos serviços de saúde bucal. *Cad. Saúde Pública*, 2005, 21(6): 1665-2005.
2. Takahashi N, Iwasa F, Inoue Y, Morisaki H, Ishihara K, Baba K. Evaluation of the durability and antiadhesive action of 2-methacryloyloxyethyl phosphorycholine grafting on an acrylic resin denture base material. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 2014, 112(2): 194-203.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
4. Jacobina, Matheus. Formação de biofilme de *Candida albicans* na superfície de uma resina acrílica termopolimerizável tratada com polimento líquido. Matheus Jacobina de Andrade e Silva - Bauru, 2012. 106p. Dissertação (mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.
5. Peyton, FA. History of resins in dentistry. *Dent Clin North Am.*, 1975, 19(2): 211- 215.
6. Cunha TR, Regis RR, Bonatti MR, Souza RF. Influence of incorporation of fluoroalkyl methacrylates on roughness and flexural strength of a denture base acrylic resin. *J. Appl Oral Sci.*, 2009, 17(2): 103-107.
7. Straioto FG, Filho APR, Neto AJF, Cury AADB. Polytetrafluorethylene added to acrylic resins: mechanical properties. *Braz Dent.*, 2010, 21(1): 55-59.
8. Sivakumar I, Arunachalam KS, Sajjan S, Ramaraju AV, Rao B, Kamaraj B. Incorporation of antimicrobial macromolecules in acrylic denture base resins: A research composition and update. *J. Prosthodont.*, 2014, 23(4): 284-290.
9. Camacho DP, Svidzinski TIE, Furlaneto MC, Lopes MB, Corrêa GO. Resinas acrílicas de uso odontológico à base de polimetilmetacrilato. *Braz. J. Surg. Clin. Res.*, 2014, 6(3): 63-72.

10. Nishii M. Studies on the curing of denture base resins with microwave irradiation: with particular reference to heat-curing resins. *J Osaka Dental Univ.*, 1968, 2(1): 23-40.
11. Valentini F, Luz MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *Journal of Dentistry*, 2013, 41(5): 420-427.
12. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, Ghannoum MA. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res.*, 2001, 80(3): 903-908.
13. Yildirim MS, Hasanreisglu U, Harsici N, Sultan N. Adherence of *Candida albicans* to glow-discharge modified acrylic denture base polymers. *J Oral Rehabil.* Jul., 2005, 32(7): 518-525.
14. Geerts GA, Stuhlinger ME, Basson NJ. Effect of an antifungal denture liner on the saliva yeast count in patients with denture stomatitis: a pilot study. *J Oral Rehabil.*, 2008, 35:664-9.
15. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, Guida A, Petruzzi M, Serpico, R. *Candida*-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011, Mar 1;16(1):139-43.
16. Queiroz JRC, Fissmer SF, Koga-ito CY, Salvia ACRD, Massi M, Sobrinho ASS, Júnior LN. Effect of Diamond-like carbono thin film coated acrylic resin on *Candida albicans* biofilm formation. *J Prosthodont.*, 2013, 22(6): 451-455
17. Castro DT. Efeito da incorporação de vanadato de prata nanoestruturado na atividade antimicrobiana, propriedades mecânicas e morfologia de resinas acrílicas. Ribeirão Preto, 2014. 119 p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
18. Kumar V, Jolivalt C, Pulpytel J, Jafari R, Arefi-Khonsari F. Development of silver nanoparticle loaded antibacterial Polymer mesh using plasma polymerization process. *J.Biomed Mater Res A.*, 2013, 101(4): 1121-1132

19. Takamyia A L, Monteiro D R, Brenabé D G, Gorup L F, Camargo E R, Gomes-Filho J E, Oliveira SHP, Barbosa DB. In vitro and in vivo toxicity evaluation of colloidal silver nanoparticles used in endodontics treatments. *J.Endod.*, 2016, 42(6): 953-960.
20. Monteiro DR, Gorup LF, Takamyia AS, Ruvollo-Filho AC, Camargo ER, Barbosa DB. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int J Antimicrob Ag.*, 2009, 34(2): 103-110.
21. Köroglu A, Sahin O, Kürkçüoğlu I, Dede DÖ, Özdemir T, Hazer B. Silver nanoparticle incorporation effect on mechanical and thermal properties of denture base acrylic resins. *J Appl Oral Sci.* 2016, 24(6): 590- 596.
22. Goiato MC, Dos Santos DM, Baptista GT, Moreno A, Andreotti AM, Dekon SF. Effect of thermal cycling and disinfection on microhardness of acrylic resin denture base. *J Med Eng Technol* 2013; 37: 203-207.
23. Gungor H, Gondogdu M, Alkurt M, Yesil Duymus Z. Effect of polymerization cycles on flexural strengths and microhardness of different denture base materials. *Dent Mater J.*, 2017, 36(2): 168-173.
24. Callister Jr, WD. *Ciência e Engenharia de Materiais – Uma introdução*, 5ª Ed. Rio de Janeiro: LTC Editora,2002.
25. Goiato MC, Santos DM, Haddad MF, Pesqueira AA. Effect of accelerated aging on the microhardness and color stability of flexible resins for dentures. *Braz Oral Res.*, 2010, 24(1):114-9.
26. International Organization for Standardization. ISO 1567: 1998. *Dentistry: denture base polymers*. Geneva, Switzerland: 1998.
27. Anusavice KJ. *Phillips Materiais Dentários*. 11ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000; 764 pag.
28. Yamamoto C, Toshio E, Uemura E S, Maekawa MY, Bagni B A, Rosa RGS, Renata, Destro ASS. Avaliação da resistência flexural de resinas acrílicas polimerizadas por dois métodos. *RSBO Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 2009,6(2): 147-154.
29. Ilbay SG, Güvener S, Alkumru HN. Processing dentures using a microwave technique. *J Oral Rehabil.* Oxford., 1994, 21(1): 103-9.

30. Kotwal KR. Color matching denture bases for non-white patients. *J Prosthet Dent.*, 1980, 44:673-674.
31. Zimmerman DE. Denture esthetics III: Denture base color. *Quintessence Int.*, 1982, 13:747-758.
32. Silva FA, Silva TB, Rached RN, Del Bel Cury AA. Effect of intrinsic pigmentation on the flexural strength of a microwave-cured acrylic resin. *Braz Dent J.*, 2002, 13(3): 205-207.
33. Sushma R, Vande AV, Malvika SR, Abhijeet K, Pronob KS. A comparative study of the mechanical properties of clear and pink colored denture base acrylic resins. *Ann Afr Med.*, 2018, 17(4):178-182.
34. Sartori EA, Schmidt CB, Mota EG, Hirakata LM, Shinkai RS. Cumulative effect of disinfection procedures on microhardness and tridimensional stability of a poly (methyl methacrylate) denture base resin. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2008, 86: 360–367.
35. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent.*, 1997, 77(5): 535-9
36. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW, Webb BC, et al. *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. *Aust Dent J.*, 1998, 43: 45-50.
37. Bilhan H, Sulun T, Erkose G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O, et al. The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture related stomatitis. *Clin Oral Investig.*, 2009, 13:363-8.
38. Budtz-Jørgensen E, Stenderup A, Grabowski M. An epidemiologic study of yeasts in elderly denture wearers. *Community Dent Oral Epidemiol.*, 1975, 3:115-9.
39. Ferreira MA, Pereira-Cenci T, Rodrigues de Vasconcelos LM, Rodrigues-Garcia RC, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida* species. *Clin Oral Investig.*, 2009, 13: 237-42.

40. Arendorf TM, Walker DM. *Candida albicans*: its association with dentures, plaque and the oral mucosa. *J Dent Assoc S Afr.*, 1980, 35: 563-569.
41. Akpan A, Morgan R. Oral candidosis. *Postgrad Med J.*, 2002, 78: 455-9.
42. Cannon RD, Chffin WL. Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med.*, 1999,10: 359-383.
43. Cristina AG, Giridhar G, Gabriel BL et al. Cell biology and molecular mechanisms in artificial device infections. *Int J Artif Organs.*, 1993, 16(11): 755-63.
44. Ramage G, Walle KV, Wickes L, López-Ribot JL. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol.*, 2001,18: 163-170.
45. Saramanayake LP, McCourtie J, Mac Farlane TW. Factors affecting the in vitro adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Archives of Oral Biology.* 1980, 25(8-9):611-615.
46. Edgerton M, Scannapieco FA, Reddy MS, Levine MJ. Human submandibular-sublingual saliva promotes adhesion of *Candida albicans* to polymethylmethacrylate. *Infect Immun.*1993, 61:2644-2652.
47. Williams DK, Kuriyama T, Silva S, Malic S, Lewis MA. *Candida* biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. *Periodontology* 2000, 2011;55(1):250-65.
48. Blankenship JR, Mitchell AP. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Current Opinion in Microbiology.*2006, Dec.;9(6):588-594.
49. Andrade ED. *Terapêutica Medicamentosa em Odontologia*, 3ª edição, São Paulo: Artes Médicas, 2014.
50. Oliver RJ, Dhaliwal HS, Theaker ED, Pemberton MN. Patterns of antifungal prescribing in general dental practice. *Br Dent J.*, 2004;196(11):701-3.

51. Budtz-Jorgensen E (1990). Candida-associated denture stomatitis and angular cheilitis. In: Oral candidosis. Samaranayake LP, MacFarlane TW, editors. London: Wright, 156-183.
52. Culler HF. Formação de biofilme por *Escherichia coli* enteropatogênica atípica. Hebert Fabricio Culler. Dissertação de Mestrado (Biotecnologia) Instituto Butantã, São Paulo, SP, 120p. 2010.
53. Li X, Yan Z, Xu J. Quantitative variations of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. *Microbiology (Reading, Engl.)*. 2003 Feb.;149(Pt 2):353-362.
54. Sondi I, Salopeck-Sondi B. Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci.*, 2004, 275: 177-182.
55. Allaker, RP. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dental Res.*, 2010, 89(11): 1175-1186.
56. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri, JB, Ramirez JT. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 2005, 16: 2346-2353.
57. Verran J, Sandoval G, Allen NS, Edge M, Stratton J. Variables affecting the antibacterial properties of nano and pigmentary titania particles in suspension. *Dyes and Pigments*, 2007, 73: 298-304.
58. Lok CN, Ho CM, Chen H, He QY, Yu WY, Sun H, Tam PKH, Chiu JF, Che CM. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities: *J Biol Inorg Chem.*, 2007,12:527-534.
59. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine*, 2007, 3: 95-101.
60. Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J Nanobiotechnol.*, 2005, Jun 29:3-6.
61. Contreras RG, Figueroa LA, Rubalcava CM, Martinez RJ, Guajardo SC, Reyna PAS, Zeron HM. Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. *Intern. Dental J.*, 2011, 61:297-301.

62. Panacek A, Kolar M, Vecerova R, Prucck R, Soukupova J, Krystof V, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials*. 2009, 30(31): 633-6340.
63. Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res.*, 2000, 52 (4): 662-8.
64. Yamanaka M, Hara K, Kudo J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Appl Environ Microbiol.*, 2005, 71(11): 7589-93.
65. Turkevich, J, Stevenson PC & Hiller J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* 11, 55–75 (1951).
66. Teixeira, PR., Santos, MSC., Silva, ALG., Bão, SN., Azevedo, RB., Sales, MJA., Paterno, LG. Photochemically-assisted synthesis of non-toxic and biocompatible gold nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, Dec: 1; 148:317-323.
67. Sodagar A, Kassae MZ, Akhavan A, Javadi N, Arab S, Kharazifard MJ. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. *J. Prosthodont. Res.*, 2012, 56:120-24.
68. INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Plastiques – Détermination des propriétés em compression. ISO 604:2002(E)*. Switzerland.
69. ASTM D695-15 Standard Test Method for Compressive Properties of Rigid Plastics
70. MANUAL TÉCNICO DE CONFECÇÃO DE PRÓTESES TOTAIS PELA TÉCNICA DE POLIMERIZAÇÃO EM MICRO-ONDAS/ MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 36p.:il.
71. Monteiro DR, Gorup LF, Silva S et al. Silver colloidal nanoparticles: antifungal effect against *Candida albicans* and *Candida glabrata* adhered cells and biofilms. *Biofouling*, 2011; 27: 711-719.

72. Jin Y, Yip HK, Samaranayake YH, Yau JY, Samaranayake LP. Biofilm-forming ability of *Candida albicans* is unlikely to contribute to high levels of oral yeast carriage in cases of human immunodeficiency virus infection. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41, 2961-2967.
73. Silva S, Pires P, Monteiro DR et al. The effect of silver nanoparticles and nystatin on mixed biofilms of *Candida glabrata* and *Candida albicans* on acrylic. *Med Mycol.*, 2013;51: 178-184.
74. Darwell BW. *Ciência dos materiais para odontologia restauradora*. 9ª edição. 2012. Editora Santos. 688 páginas.
75. SAS Institute Inc. 2019. SAS® Studio 3.8: User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
76. R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. URL.
77. Suganya S, Ahila SC, Kumar BM, Kumar MV. Evaluation and comparison of anti-*Candida* effect of heat cure polymethylmethacrylate resin enforced with silver nanoparticles and conventional heat cure resins: An *in vitro* study. *Indian J Dent Res.*, 2014, 25(2):204-7.
78. Wady AF, Machado AL, Zucolotto V, Zamperini CA, Berni E, Vergani CE. Evaluation of *Candida albicans* adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles. *J Appl Microbiol.*, 2012, 112(6): 1163-72.
79. Li Z, Sun J, Lan J, Qi Q. Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Gerodontology*, 2014, 33(2): 209-216.
80. Ayaz EA, Durkan R, Bagis N. The effect of acrylamide incorporation on the thermal and physical properties of denture resins. *J Adv Prosthodont.*, 2013, 5(2):110-117.
81. Shlosberg SR, Goodacre CJ, Munoz CA, Moore BK, Schnell, RJ. Microwave energy polymerization of poly(methyl methacrylate) denture base resin. *Int J Prosthodont.*, 1989; 2: 453-458.

82. Duymus ZY, Ozdogan A, Ulu H, Ozbayran O. Evaluation the Vickers hardness of denture base material. *Open Journal of Stomatology*. 2016, 6(4):114-19.

83. Abdallah RM, Emera RMK, Gebreil AS. Antimicrobial activity of silver nanoparticles and their effect on acrylic resin mechanical properties. *Egyptian D J.*, 2015, 61; 1039-1052.

7 PRESS RELEASE

Cerca de 60 a 65% de usuários de prótese total são acometidos por um tipo de candidose denominada estomatite protética. Esta infecção fúngica pode apresentar diversas manifestações clínicas, é de difícil diagnóstico e pode ser causada por uma série de fatores locais e/ou sistêmicos. Dentre as possíveis causas podemos citar o trauma produzido pela prótese, uso de alguns medicamentos, falta de uma higienização adequada e doenças e problemas sistêmicos que podem acometer o organismo e alterar o sistema imunológico. Uma das alternativas para diminuir a incidência da estomatite protética, sem o uso de medicamentos, é a incorporação de uma substância antimicrobiana no polimetilmetacrilato (que é o material mais utilizado para confecção de prótese total) e que iniba a adesão e o crescimento microbiano na superfície da prótese e na mucosa do paciente e que não traga prejuízo para a resistência do material. Neste estudo foi testada a incorporação das nanopartículas de prata ao polimetilmetacrilato. Porém, pelo menos na concentração utilizada, não demonstraram ser uma alternativa terapêutica para estomatite protética. A presença destas nanopartículas causou a diminuição da microdureza que foi a característica mecânica testada neste estudo. Entretanto, ao comparar as resinas rosa e incolor entre si e sem nanopartículas de prata, estas se apresentaram com características semelhantes mostrando que este material possui resistência adequada para confecção de próteses acrílicas. Mais estudos são necessários para testar outras concentrações e outros testes mecânicos também devem ser realizados.