

UNIVERSIDADE PAULISTA

**PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS E
ANTIMICROBIANAS DE UM ADESIVO EXPERIMENTAL
EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

MARINA STRUNCOVÁ FERNANDES

**SÃO PAULO
2023**

UNIVERSIDADE PAULISTA

**PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS E
ANTIMICROBIANAS DE UM ADESIVO EXPERIMENTAL
EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maristela Dutra-Corrêa.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Pigozzo Manso.

MARINA ŠTRUNCOVÁ FERNANDES

SÃO PAULO

2023

Fernandes, Marina Štruncová.

Propriedades físico-mecânicas e antimicrobianas de um adesivo experimental em função da concentração de nanopartículas de prata / Marina Štruncová Fernandes. - 2023.

13 f. : il. color. + CD-ROM.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2023.

Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maristela Dutra-Corrêa Bomfim.

Coorientora: Prof.^a Dr.^a Adriana Pigozzo Manso.

1. Nanopartícula multifuncional.
2. Polimerização.
3. Solubilidade.
4. Resistência flexural.
5. Módulo de elasticidade.
6. Íons.
7. *Streptococcus mutans*. I. Bomfim, Maristela Dutra-Corrêa (orientadora). II. Manso, Adriana Pigozzo (coorientadora).
- III. Título.

MARINA ŠTRUNCOVÁ FERNANDES

**PROPRIEDADES FÍSICO-MECÂNICAS E
ANTIMICROBIANAS DE UM ADESIVO EXPERIMENTAL
EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Aprovado em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

____ / ____ /
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maristela Dutra-Correa
Universidade Paulista – UNIP - SP

____ / ____ /
Prof.^a Dr.^a Cintia Helena Coury Saraceni
Universidade Paulista – UNIP - SP

____ / ____ /
Prof.^a Dr.^a Flávia Pires Rodrigues
Universidade Paulista – UNIP - SP

____ / ____ /
Prof.^a Dr.^a Adriana Pigozzo Manso
University of British Columbia – UBC

____ / ____ /
Prof. Dr. André Guaraci de Vito Moraes
Universidade de São Paulo – USP

*“Entrega o teu caminho ao Senhor; confia Nele, e o mais Ele fará”.
Salmos 35:7*

AGRADECIMENTOS

Dou graças ao bom Senhor Deus por ter sido meu pastor, por ter iluminado o meu caminho e abençoado cada passo meu até aqui.

Agradeço ao meu querido Flávio, noivo e companheiro, que acreditou em mim, me apoiou desde o princípio e não mediu esforços para ver o meu crescimento. Renunciou aos seus sonhos em prol dos meus e preencheu a minha vida com amor e carinho.

Agradeço ao meu pai e à minha mãe, por todo apoio e por terem construído a minha base, me preparando para enfrentar os desafios da vida.

À minha querida orientadora, Professora Maristela, por ter me orientado com excelência, desde a minha primeira iniciação científica. Agradeço por ter me apresentado o mundo científico, por ter compartilhado todo o seu conhecimento e pela sincera e carinhosa amizade que surgiu ao longo de todos estes anos.

Agradeço à Professora Cintia Saraceni, por todo incentivo e apoio para realização deste doutorado Sanduíche, e pela consideração e amizade que pautaram a minha vida acadêmica, desde a graduação.

Agradeço à Professora Flávia Pires Rodrigues, pela sua sincera amizade, consideração e prestatividade, e por ter aberto as portas que me permitiram expandir o meu horizonte científico.

Agradeço à Professora Adriana Manso pela amistosa recepção junto à sua equipe na University of British Columbia e pelo apoio na realização desta pesquisa.

I herein also acknowledge my dear colleagues Dr. Patricia Comeau and Dr. Malu, for spending their time sharing their knowledge with me, and for making my lab days more special.

Agradeço a todos os professores que participaram da minha formação, pela excelência e comprometimento com o ensino.

Agradeço a todos da secretaria de Pós-Graduação, em especial à Vera Maia, que me amparou sempre que necessário.

Agradeço à UNIP por ter proporcionado os meios para alcançar os meus objetivos.

Agradeço à CAPES pelo apoio para realização deste Doutorado Sanduíche.

RESUMO

Objetivo: Avaliar as propriedades físico-mecânicas e antimicrobianas de um adesivo experimental formulado com diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNP). **Material e método:** um adesivo experimental contendo 14% em peso de hidroxietilmacrilato (HEMA), 30% de dimetacrilato de tetraetilenoglicol (TEEGDMA), 50% de dimetacrilato etoxilado de bisfenol A (BisEMA), 1,34% de benzoato de dimetilamina (EDAB) e 0,66% de canforoquinona (CQ) foi formulado e usado como base para a criação dos grupos experimentais após a adição de nanopartículas de prata: 0 ppm (grupo controle), 125 ppm, 250 ppm e 500 ppm. Espécimes em formato de disco (5 mm x 1 mm) foram submetidos às análises de sorção e solubilidade, avaliação de cor, contagem de unidades formadoras de colônia imediata e após envelhecimento em água, e liberação iônica, enquanto amostras em formato de bloco retangular (25 mm x 2 mm x 2 mm) foram confeccionadas e analisadas quanto à resistência à flexão imediata e pós- envelhecimento e microscopia eletrônica de varredura. Também foram analisados o grau de conversão e a mínima concentração inibitória para *S. mutans*. **Resultados:** Não houve diferença estatística entre os grupos para as análises de grau de conversão, sorção e solubilidade. A resistência à flexão foi semelhante para os grupos do mesmo tempo, no entanto, os valores após envelhecimento foram显著mente maiores que os imediatos. A contagem de unidades formadoras de colônia dos grupos experimentais foi semelhante ao controle (0 ppm), ainda que diferença estatística tenha sido encontrada entre os grupos imediatos 125 ppm e 500 ppm. **Conclusão:** De modo geral, a adição de nanopartículas não interferiu nas propriedades físico-mecânicas do material, com exceção da cor, que foi significantemente alterada. Além disso, o armazenamento em água por 8 semanas elevou os valores de resistência flexural. E apesar de 7,81 ppm de AgNPs terem sido suficientes para inibir o crescimento bacteriano, o efeito antimicrobiano proporcionado não foi suficiente para reduzir significantemente a viabilidade bacteriana após a adição das nanopartículas ao adesivo experimental.

Palavras-chave: Nanopartícula multifuncional; Polimerização; Solubilidade; Resistência flexural; Módulo de elasticidade; Íons; *Streptococcus Mutans*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	8
2 CONCLUSÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO.....	12

1 INTRODUÇÃO GERAL

Adesivos experimentais têm sido constantemente desenvolvidos para que as características e qualidades destes materiais sejam aprimoradas. Idealmente, um adesivo dentinário deve apresentar uma rede polimérica com propriedades físicas, químicas (MALACARNE *et al.*, 2006) e ópticas significantemente estáveis. É, portanto, desejável que haja equilíbrio entre a quantidade de monômeros mais hidrofílicos (ex: HEMA), mais hidrofóbicos (ex: Bis-GMA, TEEGDMA) e solventes (etanol, acetona) para que o conjunto exerça o fundamento da adesão: difusão da porção hidrofílica sobre o tecido dentinário, evaporação da umidade residual por meio da evaporação do solvente e acesso da porção hidrofóbica do adesivo, responsável pela união ao material resinoso restaurador.

Com o intuito de garantir maior longevidade da interface restauradora, diversos compostos passaram a ser estudados (COMEAU *et al.*, 2022a; HASHIMOTO *et al.*, 2016; MANSO *et al.*, 2022; PANPISUT *et al.*, 2021; ŠTRUNCOVÁ *et al.*, 2020) e incorporados aos adesivos dentinários. Dentre os aditivos existentes, as nanopartículas metálicas despertaram interesse devido à diversidade de elementos disponíveis para uso (Au, Ag, Cu, Zn, Sn, Ru etc.) e grande potencial para agregar efeito antimicrobiano aos materiais resinosos (COMEAU *et al.*, 2022b). Tais nanopartículas apresentam diâmetros de ordem nanométrica, menores que 100 nm, e grande área superficial em comparação à massa (NORONHA *et al.*, 2017), o que permite que tais aditivos sejam eficientes, mesmo em concentrações consideravelmente baixas (DUTRA-CORREA *et al.*, 2018; YIN *et al.*, 2020).

É esperado que a modificação de adesivos pela adição de nanopartículas seja capaz de agregar propriedades de interesse clínico ao material, por exemplo, ação antimicrobiana, sem comprometer suas características físico-químicas e seu desempenho mecânico. Deve-se ainda considerar que materiais constituídos por monômeros apresentam uma capacidade intrínseca de absorção de água e lixiviação de substâncias químicas residuais para o meio (MALACARNE *et al.*, 2006). Por isso, torna-se fundamental avaliar um adesivo modificado quanto à alteração de hidrofilicidade, por meio de análises de sorção e solubilidade.

Estudos sugerem que haja uma associação entre o grau de conversão polimérica e as propriedades físico-mecânicas dos materiais resinosos, tais como resistência à flexão, ao desgaste, à tração e estabilidade de cor (DE LIMA *et al.*, 2016).

A adição de nanopartículas poderia interferir no espalhamento da luz (MOCK *et al.*, 2002) e prejudicar a conversão das duplas ligações de carbono dos grupamentos aromáticos de bisfenol e alifáticos de metacrilato (DE FREITAS *et al.*, 2017). Um prejuízo na formação da cadeia polimérica pode resultar na presença de monômeros residuais que, além de lixiviarem para o meio bucal, deixam a estrutura do material suscetível à hidrólise e degradação e podem ser tóxicos aos tecidos orais. Além disso, uma indevida polimerização pode trazer prejuízos microestruturais, resultantes de uma pobre energia coesiva da ligação das pontes de hidrogênio, que podem ser indiretamente mensuradas através dos testes de resistência à flexão (MELINTE *et al.*, 2016). Finalmente, do ponto de vista estético, é desejável que qualquer modificação não influencie negativamente a estabilidade de cor do material, ou que a alteração de cor se mantenha abaixo dos níveis aceitáveis relatados na literatura quando analisados através do espaço de cores estabelecido pela *Commission Internationale de l'Eclairage (CIE)*: 1,8 para CIEDE e 3,5 para CIELAB (PARAVINA *et al.*, 2015; ŠTRUNCOVÁ *et al.*, 2020).

Pesquisas com nanopartículas de prata (AgNPs) passaram a ter relevância na literatura, pela possibilidade de serem sintetizadas a partir de diversos reagentes sintéticos ou naturais (SATO *et al.*, 2018), estas permitem funcionalização com proteínas e diferentes grupamentos químicos (YIN *et al.*, 2020), além de apresentarem efeito antimicrobiano (ZHANG *et al.*, 2012). Por serem dependentes da forma, tamanho e carga, as AgNPs são capazes de apresentar propriedades antimicrobianas mesmo em baixas concentrações (LIAO; LI; TJONG, 2019). Estudos demonstram que a utilização de baixas concentrações de nanopartículas de prata (AgNP) em adesivos dentinários é segura, pois são biocompatíveis com células-tronco pulpar (DUTRA-CORREA *et al.*, 2018) e fibroblastos gengivais humanos (ZORRAQUÍN-PEÑA *et al.*, 2020). Ainda, em relação à alteração de cor (ΔE), a adição de até 250 ppm em adesivos dentinários pode ser considerada segura, uma vez que as mudanças de ΔE permaneceram abaixo do limite clínico perceptível de alteração de cor (ŠTRUNCOVÁ *et al.*, 2020). Além disso, o custo mais acessível das AgNPs, quando comparado ao de outras nanopartículas (ouro, por exemplo), torna a sua utilização economicamente mais viável para o desenvolvimento de pesquisas.

Deste modo, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as propriedades físico-mecânicas e antimicrobianas de um adesivo experimental com diferentes concentrações de nanopartículas de prata: 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm.

Foram realizadas análises do grau de conversão (DC), sorção (WS) e solubilidade (SL), alteração de cor (ΔE), liberação iônica de prata, mínima concentração inibitória (MIC), resistência à flexão (FS) e módulo flexural (FM), contagem de unidades formadoras de colônia (CFU) e análise fractográfica. As análises de ΔE , FS, FM e CFU foram realizadas também após envelhecimento dos espécimes de 8 semanas em água.

2 CONCLUSÃO GERAL

Nanopartículas de prata obtidas a partir da redução de nitrato de prata evidenciam apresentar propriedades antimicrobianas em concentrações tão conservadoras quanto 7,81 ppm. No entanto, a sua capacidade antimicrobiana pode sofrer prejuízos por interferência de fatores externos sobre o correto desencadeamento dos processos envolvidos no modo de ação das partículas. Ainda, o uso de nanopartículas provenientes de elementos que naturalmente sofrem oxidação poderá impactar de maneira significativa sobre as propriedades ópticas do material.

Quanto às propriedades mecânicas, a adição de até 500 ppm de AgNPs em um adesivo experimental de composição similar ao desenvolvido neste estudo pode não influenciar negativamente sobre o grau de conversão, sorção de água, solubilidade e resistência flexural do material. Também é possível inferir que a resistência flexural de materiais resinosos tende a ser maior após armazenamento ou envelhecimento amostral.

Tendo em vista a variedade de formulações existentes na literatura, há uma certa dificuldade em estabelecer comparações com resultados de outros estudos. Por isso, é importante que o desenvolvimento de um novo material experimental seja sustentado por um número suficiente de análises para entender as características e comportamento do material estudado.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

COMEAU, P.; BURGESS, J.; MALEKAFZALI, N.; LEITE, M. L.; LEE, A.; MANSO, A. Exploring the Physicochemical, Mechanical, and Photocatalytic Antibacterial Properties of a Methacrylate-Based Dental Material Loaded with ZnO Nanoparticles. **Materials**, v. 15, n. 14, p. 1-14, 2022b.

COMEAU, P.; PANARIELLO, B.; DUARTE, S.; MANSO, A. Impact of curcumin loading on the physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of a methacrylate-based experimental dental resin. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2022a.

DE FREITAS, S. A. A. D.; LANZA, M. D. S.; CARNEIRO, K. K.; LOGUERCIO, A. D.; BAUER, J. Evaluation of degree of conversion, microtensile bond strength and mechanical properties of three etch-and-rinse dental adhesives. **Polímeros**, v. 27, p. 230-236, 2017.

DE LIMA, A. L. X.; DE SOUZA, P. H.; AMORIM, D. M. G.; CALDAS, S. G. F. R.; GALVÃO, M. R. Avaliação do grau de conversão de resinas compostas fotoativadas em diferentes tempos e potências. **Revista da Faculdade de Odontologia-UPF**, v. 21, n. 2, 2016.

DUTRA-CORREA, M.; LEITE, A. A.; DE CARA, S. P.; DINIZ, I. M.; MARQUES, M. M.; SUFFREDINI, I. B.; MEDEIROS, I. S. Antibacterial effects and cytotoxicity of an adhesive containing low concentration of silver nanoparticles. **Journal of dentistry**, v. 77, p. 66-71, 2018.

HASHIMOTO, M.; KAWAI, K.; KAWAKAMI, H.; IMAZATO, S. Matrix metalloproteases inhibition and biocompatibility of gold and platinum nanoparticles. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 104, n. 1, p. 209-217, 2016.

LIAO, C.; LI, Y.; TJONG, S. C. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 2, p. 449, 2019.

MALACARNE, J.; CARVALHO, R. M.; MARIO, F.; SVIZERO, N.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; DE OLIVEIRA CARRILHO, M. R. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. **Dental materials**, v. 22, n. 10, p. 973-980, 2006.

MANSO, A. P.; LEITE, M. L.; COMEAU, P.; DIETRICH, C.; GHAFFARI, S.; LANGE, D.; BRANDA, N. Exploring the use of a Ruthenium complex incorporated into a methacrylate-based dental material for antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials**, v. 20, p. 1-13, 2022.

MELINTE, V.; BURUIANA, T.; CHIBAC, A.; MARES, M.; ALDEA, H.; BURUIANA, E. C. New acid BisGMA analogs for dental adhesive applications with antimicrobial activity. **Dental Materials**, v. 32, n. 12, p. e314-e326, 2016.

MOCK, J. J.; BARBIC, M.; SMITH, D. R.; SCHULTZ, D. A.; SCHULTZ, S. Localized surface plasmon resonance effects by naturally occurring Chinese yam particles. **J. Chem. Phys.**, v. 116, p. 6755-6759, 2002.

NORONHA, V. T.; PAULA, A. J.; DURÁN, G.; GALEMBECK, A.; COGO-MÜLLER, K.; FRANZ-MONTAN, M.; DURÁN, N. Silver nanoparticles in dentistry. **Dental Materials**, v. 33, n. 10, p. 1-17, 2017.

PANPISUT, P.; SUPPAPATPONG, T.; RATTANAPAN, A.; WONGWARAWUT, P. Monomer conversion, biaxial flexural strength, apatite forming ability of experimental dual-cured and self-adhesive dental composites containing calcium phosphate and nisin. **Dental Materials Journal**, v. 40, n. 2, p. 399-406, 2021.

PARAVINA, R. D.; GHINEA, R.; HERRERA, L. J.; BONA, A. D.; IGIEL, C.; LINNINGER, M.; MAR PEREZ, M. D. Color difference thresholds in dentistry. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, v. 27, p. S1-S9, 2015.

SATO, T. P.; CONJO, C. I.; ROSSONI, R. D.; JUNQUEIRA, J. C.; DE MELO, R. M.; DURÁN, N.; BORGES, A. L. S. Antimicrobial and mechanical acrylic resin properties with silver particles obtained from *Fusarium oxysporum*. **Brazilian Dental Science**, v. 21, n. 1, p. 96-103, 2018.

ŠTRUNCOVÁ, M.; TOMA, S. H.; ARAKI, K.; BRESCIANI, E.; RODRIGUES, F. P.; MEDEIROS, I. S.; DUTRA-CORREA, M. Silver nanoparticles added to a commercial adhesive primer: Colour change and resin colour stability with ageing. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 102, p. 1-6, 2020.

YIN, I. X.; ZHANG, J.; ZHAO, I. S.; MEI, M. L.; LI, Q.; CHU, C. H. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. **International journal of nanomedicine**, p. 2555-2562, 2020.

ZHANG, K.; MELO, M. A. S.; CHENG, L.; WEIR, M. D.; BAI, Y.; XU, H. H. Effect of quaternary ammonium and silver nanoparticle-containing adhesives on dentin bond strength and dental plaque microcosm biofilms. **Dental Materials**, v. 28, n. 8, p. 842-852, 2012.

ZORRAQUÍN-PEÑA, I.; CUEVA, C.; GONZÁLEZ DE LLANO, D.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M. V. Glutathione-stabilized silver nanoparticles: antibacterial activity against periodontal bacteria, and cytotoxicity and inflammatory response in oral cells. **Biomedicines**, v. 8, n. 10, p. 375, 2020.