



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**LAÍS ARAGÃO LIMA**

**EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS EM  
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS, FÍSICAS E MECÂNICAS DE MATERIAIS  
DENTÁRIOS RESTAURADORES**

**FORTALEZA**

**2022**

LAÍS ARAGÃO LIMA

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS EM  
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS, FÍSICAS E MECÂNICAS DE MATERIAIS  
DENTÁRIOS RESTAURADORES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- L698c Lima, Lais Aragão.  
Efeito da incorporação de nanopartículas metálicas em propriedades antimicrobianas, físicas e mecânicas de materiais dentários restauradores / Lais Aragão Lima. – 2022.  
93 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues.
1. Cárie dentária. 2. Biofilmes. 3. Antimicrobianos. I. Título.

CDD 617.6

---

LAÍS ARAGÃO LIMA

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS EM  
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS, FÍSICAS E MECÂNICAS DE MATERIAIS  
DENTÁRIOS RESTAURADORES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em 2 de agosto de 2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Beatriz Gonçalves Neves  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ramilye Araújo Lima  
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)



A **Deus**, por seu eterno amparo e sua eterna presença em minha vida.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará (UFC), por meio do seu Reitor **José Cândido Lustosa Bittencourt de Albuquerque** e do vice-reitor **José Glauco Lobo Filho**.

À Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, na pessoa de sua diretora, Dra. **Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage** e da vice-diretora, Dra. **Ana Karina Bezerra Pinheiro**.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) da Universidade Federal do Ceará, em nome do coordenador Dr. **Vicente de Paulo Aragão Saboia**, do vice-coordenador Dr. **Fábio Wildson Gurgel Costa**, da secretária **Joana Karla de Assis Pinheiro** e do secretário **Rafael Maia Reis**, por todo apoio, disponibilidade de recursos e de atenção aos pós-graduandos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento: 88887.616627/2021-00, pelo apoio.

Aos meus pais, **Alice Rebouças Aragão e Anchieta Lima Júnior** pelo exemplo de vida, abdicção e confiança, sem os quais a realização de tudo não seria possível. Obrigada por todo carinho e confiança! Amo vocês!

Aos meus avós, **Lásaro Arsênio de Paula Aragão e Maria Alice Rebouças Aragão**, que sempre acreditaram tanto em mim e me ajudaram de todas as formas possíveis. Obrigada por tanto amor!

Ao meu padrinho, **Jhonson Ferreira**, pela confiança e pelas palavras de apoio tão importantes. Obrigada por tanto carinho e incentivo.

À minha orientadora, Dra. **Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage**, pelo exemplo profissional. Sou muito grata pela confiança e pela oportunidade de poder crescer com os seus ensinamentos. Obrigada por tudo!

À minha professora, Dra. **Ramille Araújo Lima**, por todo aprendizado, confiança, oportunidade e por sempre estar presente em minha caminhada. Obrigada por tudo!

Ao meu professor, Dr. **Paulo Goberlânio de Barros Silva**, por todo apoio, conselho, ensinamento e ajuda. Obrigada por tanto aprendizado e por todas as palavras de incentivo e calma.

Ao meu amigo, professor **Pedro Henrique Acioly Guedes Peixoto Vieira**, pela amizade, por todos os conselhos e ensinamentos. Obrigada por me incentivar a ir além sempre. Sua amizade foi um grande presente.

À **Maria Julya Lopes Callado**, por todo apoio, incentivo e atenção. Você foi muito importante durante todo esse período. Obrigada por tudo!

À minha amiga **Wanessa Fernandes Matias Regis Pinheiro**, pelo carinho e companheirismo e por toda ajuda na realização deste trabalho e das várias outras pesquisas. Obrigada por todos os aprendizados.

Aos meus amigos **Sussan Daniela Salazar Segales** e **Ruan Luzeiros Lima**, por todo apoio. Agradeço por todo empenho para a realização deste estudo. Foi um prazer trabalhar com vocês.

À minha professora, Dra. **Juliana Paiva Marques Lima Rolim**, pelo carinho e por ter contribuído imensamente para a minha formação acadêmica e profissional.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. **Beatriz Gonçalves Neves**, pela atenção e disponibilidade para contribuir com o trabalho.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

## RESUMO

A modificação de materiais dentários restauradores pode ser promissora para o controle microbiano, resultando na redução da formação de biofilmes em margens de restaurações dentárias, sem que haja o comprometimento das propriedades do material. O uso de nanopartículas foi introduzido com o intuito de melhorar a eficácia dos materiais, atuando em suas propriedades químicas, mecânicas, físicas, elétricas e/ou óticas. Dessa forma, a presente dissertação é constituída por dois capítulos, que têm como objetivo, respectivamente: 1) realizar uma revisão sistemática com metanálise, avaliando os efeitos antimicrobianos de materiais dentários restauradores modificados por incorporação com nanopartículas metálicas e 2) investigar o efeito antimicrobiano da adição de nanopartículas de cobre/prata (CuAgNP) em cimento de ionômero de vidro (CIV) quimicamente ativado em biofilmes de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, bem como em propriedades físicas do cimento. No estudo 1, uma busca eletrônica foi realizada usando 7 bases de dados e a literatura cinzenta. A busca inicial identificou 1.072 artigos. Após a remoção das duplicatas e triagem dos critérios de elegibilidade, 39 artigos foram elegíveis para esta revisão, permanecendo 29 artigos para metanálise. No estudo 2, foram confeccionados espécimes de CIV (n=9), de acordo com os grupos: 1- CIV inalterado; 2- CIV + 0,01% CuAgNP; 3- CIV + 0,05% CuAgNP e 4- CIV + 0,1% CuAgNP. Biofilmes duo-espécies foram formados sobre os espécimes em meio de cultura triptona caseína soja suplementado com extrato de leveduras e com sacarose a 1%, por 72 h. O experimento foi repetido 3 vezes com 3 unidades experimentais em cada grupo. Em seguida, os biofilmes foram coletados e semeados em meios seletivos e foram realizadas a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e a análise do peso seco. Os ensaios físicos acessaram rugosidade de superfície, variação de cor e tempo de presa. As análises estatísticas foram realizadas com Kolmogorov-Smirnov, ANOVA e teste de Tukey. No estudo 1, a incorporação de Ag e Cu reduziu UFC em *primer* e CIV. Nas propriedades mecânicas, Ag em CIV reduziu a microdureza e a resistência à tração diametral, aumentando somente as resistências ao cisalhamento e à compressão. Incorporação de Ag aumentou significativamente a resistência ao cisalhamento em adesivo e Ti e Ag não demonstraram alterações no grau de conversão. No estudo experimental, a incorporação das CuAgNP no CIV não apresentou efeito antimicrobiano significativo e houve alterações significantes nas propriedades físicas do material adicionado com as CuAgNP, como o aumento do tempo de presa e da rugosidade, além de alteração de cor. A incorporação de nanopartículas metálicas na composição dos materiais não garante efetividade nas propriedades antimicrobianas e

físicas dos materiais. Estudos *in situ* e clínicos ainda precisam ser realizados para a aferição da eficácia e da segurança da utilização de materiais modificados com a incorporação de nanopartículas metálicas.

**Palavras-chave:** Cárie dentária; Antimicrobianos; Biofilmes; Resina composta; Cimento de Ionômero de Vidro; Sistema Adesivo.

## ABSTRACT

The modification of dental restorative materials may be promising for microbial control, resulting in biofilm reduction around dental restoration margins, without compromising mechanical properties of materials. The use of nanoparticles was introduced to improve the effectiveness of materials, acting on their chemical, mechanical, physical, electrical and/or optical properties. Thus, the present dissertation is composed by two chapters, which aim, respectively: 1) to perform a systematic review with meta-analysis, evaluating the antimicrobial effects of dental restorative materials modified by incorporating metallic nanoparticles and 2) to investigate the antimicrobial effect of adding copper/silver nanoparticles (CuAgNP) in a chemically activated glass ionomer cement (GIC) in *Streptococcus mutans*-and-*Candida albicans* biofilms, as well as on physical properties of the cement. In study 1, an electronic search was performed using 7 databases and the gray literature. The initial search identified 1,072 articles. After removing duplicates and screening eligibility criteria, 39 articles were eligible for this review, leaving 29 articles for meta-analysis. In study 2, GIC specimens were made (n=9), according to the groups: 1- unchanged GIC; 2- GIC + 0.01% CuAgNP; 3- GIC + 0.05% CuAgNP and 4- GIC + 0.1% CuAgNP. Duo-species biofilms were formed on specimens in tryptone casein soy culture medium supplemented with yeast extract and 1% sucrose for 72 h. The experiment was repeated 3 times with 3 experimental units in each group. Then, the biofilms were collected and seeded in selective media and the colony forming units (CFU) were counted and the dry weight was analyzed. Physical tests assessed surface roughness, color variation and setting time. Statistical analyzes were performed using Kolmogorov-Smirnov, ANOVA and Tukey test. In study 1, the incorporation of Ag and Cu reduced CFU in primer and GIC. In terms of mechanical properties, Ag in GIC reduced microhardness and diametral tensile strength, increasing only the shear and compression strengths. Ag-incorporation significantly increased shear strength in adhesive and Ti and Ag showed no change in conversion degree. In the experimental study, the incorporation of CuAgNP into the GIC did not present a significant antimicrobial effect and significant changes in physical properties of the CuAgNP-doped material, such as an increase in setting time, roughness and color change were observed. Incorporation of metallic nanoparticles in the material composition does not guarantee effectiveness in antimicrobial and physical properties of materials. *In situ* and clinical studies need to be carried out to assess efficacy and safety of using materials modified by the incorporation of metallic nanoparticles.

**Keywords:** Dental cavity; Antimicrobials; Biofilms; Composite Resin; Glass Ionomer Cement; Adhesive System.

## SUMÁRIO

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 1   | INTRODUÇÃO GERAL .....   | 11 |
| 2   | PROPOSIÇÃO .....   | 15 |
| 2.1 | Objetivo geral .....   | 15 |
| 2.2 | Objetivos específicos .....  | 15 |
| 3   | CAPÍTULOS .....  | 16 |
| 3.1 | CAPÍTULO 1 .....   | 17 |
|     | Incorporação de nanopartículas metálicas em materiais dentários apresentam efeito antimicrobiano: revisão sistemática com metanálise                         |    |
| 3.2 | CAPÍTULO 2 .....   | 50 |
|     | Efeito da incorporação de nanopartículas de cobre e prata nas propriedades antimicrobianas, cor, rugosidade e tempo de presa de cimento de ionômero de vidro |    |
| 4.  | CONCLUSÃO GERAL .....  | 75 |
|     | REFERÊNCIAS .....  | 76 |
|     | APÊNDICE A - Termos de pesquisa específicos para cada banco de dados e truncamentos.....   | 83 |
|     | MATERIAL SUPLEMENTAR – GRÁFICOS FUNNEL PLOT .....  | 87 |

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cárie dentária é uma doença multifatorial dinâmica, mediada por biofilme e modulada pelo consumo de açúcar, resultando em desmineralização dos substratos dentários duros (PITTS *et al.*, 2017). O estudo *Global Burden of Disease* (GBD) 2010 avaliou que as condições bucais afetaram 3,9 bilhões de pessoas e que a cárie não tratada em dentes permanentes foi a condição avaliada mais prevalente (MARCENES *et al.*, 2013), atingindo cerca de 60 a 90% das crianças em idade escolar e a maioria dos adultos (*World Health Organization*, 2018).

Diversos fatores locais e externos estão inter-relacionados com o início e a progressão da cárie, doença biofilme-açúcar-dependente. Fatores locais são essenciais para o desenvolvimento e a destruição dos tecidos dentários. Fatores externos, como fatores sociodemográficos e comportamentais, podem estar associados ao desenvolvimento e à progressão (FEJERSKOV, 2015).

Como um dos fatores essenciais para a formação da cárie dentária, o biofilme é composto por algumas das 700 espécies bacterianas encontradas na cavidade oral (MARSH, 2016) e consiste em uma comunidade cooperativa de uma ou múltiplas espécies microbianas aglomeradas em uma matriz de polissacarídeos (PETERSON *et al.*, 2015), resultando em uma mistura heterogênea de microrganismos que desempenham um importante papel na doença (FEJERSKOV, 2017).

Um dos microrganismos mais cariogênicos é o *Streptococcus mutans*, por sua capacidade de produzir polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose da dieta, de sobreviver e crescer em meios com baixo pH; apresentando, portanto, características acidogênicas e acidúricas (KLEIN *et al.*, 2015; AAS *et al.*, 2008). Além disso, a interação do *S. mutans* com o fungo *Candida albicans* é considerada promotora de severidade do processo de cárie (GARCIA *et al.*, 2021), favorecendo a invasão dos túbulos dentinários (PEREIRA *et al.*, 2018).

A associação entre diferentes microrganismos, especialmente entre fungos e bactérias, pode ser cooperativa ou antagônica (XU *et al.*, 2014). O *S. mutans*, além de fornecer sítios de adesão, libera ácidos que podem servir como fonte de carbono para o crescimento de leveduras, resultando assim na redução da tensão de oxigênio e, conseqüentemente, gerando fatores que estimulam o crescimento bacteriano (FALSETA *et al.*, 2014).

O acúmulo de biofilme é relevante frente à longevidade, pois essa pode ser afetada pela produção de ácidos advindos do biofilme, podendo resultar na formação de lesões de cárie adjacentes às margens de restaurações (BEYTH *et al.*, 2007). A recidiva de cárie consiste em uma das maiores causas de falhas e trocas de restaurações (SHAH *et al.*, 2021).

Portanto, o desenvolvimento de materiais dentários ou a modificação daqueles já existentes pode ser promissor para o controle microbiano, resultando na redução da formação de biofilmes em margens de restaurações dentárias, sem que haja o comprometimento das propriedades mecânicas do material (CHEN; SHEN; SUH 2012; IMAZATO *et al.*, 2014).

Dessa forma, a incorporação de nanopartículas com ação antimicrobiana em materiais odontológicos consiste em uma alternativa terapêutica que contribui para o desenvolvimento de materiais que previnam a cárie recorrente e, conseqüentemente, diminuam as falhas dos materiais (TAKAHASHI *et al.*, 2006).

A busca pelo desenvolvimento de materiais com melhores propriedades para o uso clínico é crescente. Entre os materiais restauradores dentários, o cimento de ionômero de vidro (CIV) é bastante utilizado em procedimentos de adequação bucal e em tratamentos restauradores atraumáticos (PRABHAKAR *et al.*, 2013), devido às suas diversas características, como adesão química à estrutura dentária, biocompatibilidade e potencial cariostático, ou ainda pela liberação de fluoreto (CASSANHO *et al.*, 2005; GARCIA-CONTRERAS, *et al.*, 2015), atuando na remineralização do dente (XIE *et al.*, 2011). A liberação de flúor pode proporcionar uma redução da progressão da lesão de cárie na superfície dentária (CURY *et al.*, 2016); sua ação antibacteriana, todavia, é limitada, não sendo suficiente para exercer atividade inibitória sobre as bactérias presentes no biofilme, pois, para tal efeito, precisaria ser liberado em elevadas concentrações (MARINHO, 2008).

Desse modo, estudos buscam novas formulações terapêuticas, com a incorporação de componentes dotados de propriedades antimicrobianas em materiais dentários, que visem a proporcionar maior controle do biofilme oral ou modificação da sua cariogenicidade – considerando o seu relevante papel na formação e na progressão da cárie dentária (HANNIG, 2010; DUTRA-CORREA *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2021) – e a diminuir o risco da formação de lesões cariosas adjacentes às restaurações (DE CASTILHO *et al.*, 2013).

Nessa perspectiva, o crescente estudo de nanotecnologias desperta cada vez mais o interesse nas ciências médicas e odontológicas, sendo realizadas pesquisas com intuito de obter uma melhor eficácia, podendo alterar as propriedades químicas, físicas, ópticas, elétricas

e mecânicas de substâncias (BAPAT *et al.*, 2018) e aumentar a segurança terapêutica para uma infinidade de aplicações clínicas (LOHCHAROENKAL *et al.*, 2014).

O uso de nanopartículas em materiais propicia propriedades mecânicas e químicas superiores àquelas encontradas com uso de partículas em maior escala (BAPAT *et al.*, 2018). Sua composição estrutural varia entre 1 e 100 nanômetros de diâmetro, podendo chegar a mais de 1.000 nanômetros. As nanopartículas possibilitam uma melhor relação superfície-volume, aumentando a ação antibacteriana e as propriedades mecânicas, pois têm um contato direto com a parede celular da bactéria (BAPAT *et al.*, 2018; DEFRATES *et al.*, 2018).

A incorporação de nanopartículas metálicas é cada vez mais estudada: nanopartículas de prata, cobre, titânio, zinco – dentre outras – são bastante investigadas em materiais dentários (ZHANG *et al.*, 2012; MELO *et al.*, 2013; ENAN *et al.*, 2021; AGUILAR-PEREZ *et al.* 2020; OGUNSONA *et al.*, 2019), a fim de desenvolver benefícios aos materiais nos quais são incorporadas.

A literatura relata possíveis mecanismos de ação de nanopartículas de prata contra os microrganismos, como a capacidade de ancorar às paredes celulares bacterianas e penetrá-las, resultando em alterações estruturais com a permeabilidade e interações com o DNA bacteriano (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004). Outros mecanismos de ações são a interação com proteínas bacterianas, a liberação de íons de prata com carga positiva – que são atraídos eletrostaticamente pelas cargas negativas presentes na parede bacteriana – e seu acúmulo na parede celular. Esses íons interagem com as enzimas bacterianas, inativando-as (CHALOUPKA *et al.*, 2010; MATSUMURA *et al.*, 2003). Nanopartículas de cobre, assim como as prata, não possuem efeito antibacteriano bem esclarecido, mas relata-se que a atividade antibacteriana de nanopartículas de cobre pode ser resultante de interações que conduzem à desnaturação das proteínas bacterianas (SCHRAND *et al.*, 2010), de interações com a parede celular, devido à presença de grupos amina e carboxila na superfície celular de algumas bactérias (principalmente as Gram-positivas), possuindo uma maior afinidade das nanopartículas de cobre a esses grupos e de interações com o DNA bacteriano (REN *et al.*, 2009). A ligação do cobre com a parede celular da bactéria ocasiona alterações químicas, resultando em danos e rupturas, facilitando a entrada das nanopartículas (PANDIYARAJAN *et al.*, 2013).

Nanopartículas metálicas – como a prata, óxido de cobre, óxido de zinco, dióxido de titânio, entre outras – apresentam atividade antimicrobiana e surgem como alternativas relevantes para o desenvolvimento de materiais com ação antibacteriana (OGUNSONA *et al.*,

2019). Elsaka *et al.* (2011) observaram que a incorporação de 3% de nanopartículas de dióxido de titânio em CIV apresentou efetiva atividade antibacteriana e relataram que concentrações superiores a essa não foram benéficas às propriedades mecânicas do material. No entanto, outros estudos relatam resultados divergentes em relação à eficácia do efeito antimicrobiano de nanopartículas, mostrando que a incorporação de prata em CIV (WANG *et al.*, 2015; PORTER *et al.*, 2020), resina composta (ARDESTANI *et al.*, 2021; NEVES *et al.*, 2014) e adesivo (LI *et al.*, 2018) não apresentou efetiva atividade antimicrobiana (sem redução do número de unidades formadoras de colônias) e resultou em piora ou não alteração significativa das propriedades mecânicas, reduzindo a microdureza em adesivo (ARGUETA-FIGUEROA *et al.*, 2015) e não alterando significativamente as propriedades quando avaliada em CIV (CHEN *et al.*, 2020) e resina (REN *et al.*, 2019).

Todavia, a nanotecnologia tem mostrado a ação de nanopartículas como uma inovadora terapia na maximização da destruição de microrganismos (CARUSO, 2012.). O grande diferencial desse material é potencializar propriedades físicas e químicas em concentrações extremamente reduzidas e delegar características antes não apresentadas por um dado produto (FERRACANE, 2011).

Desse modo, considerando a natureza polimicrobiana da cárie dentária, a compreensão das propriedades antibiofilme, física e mecânica de materiais odontológicos com a incorporação de nanopartículas metálicas é relevante para o surgimento de um material com propriedades antibacterianas, proporcionando o controle do aparecimento de lesões cariosas adjacentes às restaurações.

## 2 PROPOSIÇÃO

### 2.1 Objetivo geral

- Analisar se a incorporação de nanopartículas metálicas em materiais restauradores apresenta efeito antimicrobiano e não altera as propriedades físicas e mecânicas, quando comparados com materiais não incorporados com nanopartículas.

### 2.2 Objetivos específicos

- Revisar a partir da literatura realizando uma revisão sistemática com metanálise se a incorporação de nanopartículas metálicas em materiais restauradores apresenta efeito antimicrobiano e não altera as propriedades físicas e mecânicas, quando comparados com materiais não incorporados com nanopartículas.
- Avaliar o efeito da adição de nanopartículas de cobre/prata em cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado na inibição da formação de biofilme duo-espécies de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* formado *in vitro*.
- Avaliar o efeito da adição de nanopartículas de cobre/prata em cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado em propriedades físicas do cimento, como rugosidade, variação de cor e tempo de presa.

### 3 CAPÍTULOS

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e que permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato (Anexo 1). Assim sendo, esta dissertação é composta de dois capítulos contendo artigos a serem submetidos para publicação em revistas científicas, conforme descrito abaixo:

✓ Capítulo 1

“Incorporação de nanopartículas metálicas em materiais dentários apresentam efeito antimicrobiano: revisão sistemática com metanálise.”

Laís A. Lima, Ruan L. Lima, Paulo G. B. Silva, Fernanda F. Sousa, Lidiany K. A. Rodrigues.  
Este artigo será submetido à publicação no periódico *Dental Materials*.

✓ Capítulo 2

“Efeito da incorporação de nanopartículas de cobre e prata em propriedades antimicrobianas, cor, rugosidade e tempo de presa de cimento de ionômero de vidro.”

Laís A. Lima, Wanessa F. M. Regis, Victor T. Noronha, Amauri J. Paula, Paulo G. B. Silva, Fernanda F. Sousa, Rafael M. Freire, Lidiany K. A. Rodrigues.  
Este artigo será submetido à publicação no periódico *Journal of Nanoparticle Research*.

### 3.1 CAPÍTULO 1

#### **Incorporação de nanopartículas metálicas em materiais dentários apresentam efeito antimicrobiano: revisão sistemática com metanálise**

Laís Aragão Lima (laisaragaoo@hotmail.com)<sup>1</sup>

Ruan Luzeiros Lima (ruanlouzeirolima@gmail.com)<sup>1</sup>

Fernanda Freitas Sousa (fernanda.freitas.sousa@hotmail.com)<sup>2</sup>

Paulo Goberlânio de Barros Silva (paulo\_goberlanio@yahoo.com.br)<sup>2</sup>

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues (lidianykarla@ufc.br)<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Brasil.

<sup>2</sup>Centro Universitário Christus, Fortaleza Ceará, Brasil.

\* Lidiany K. A. Rodrigues (e-mail: lidianykarla@ufc.br), Professora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil. Rua Francisco Pedro - CEP:60430-170, Telefone- #+558533668410/Fax #+558533668232

#### **Declarações de Interesse**

Sem conflito de interesse.

## Resumo

**Objetivo:** Esta revisão sistemática com metanálise teve como objetivo avaliar se materiais dentários modificados por incorporação de nanopartículas metálicas apresentam potencial efeito antimicrobiano sem prejuízos de propriedades físicas e mecânicas.

**Métodos:** Pesquisas foram realizadas nas bases de dados Medline via Pubmed, Scopus, Web of Science, EBSCO, LILACS, LIVIO, Embase e literatura cinzenta, até 13 dezembro de 2021. A metanálise de materiais incorporados com nanopartículas metálicas foi realizada para ação antimicrobiana (diferenças médias padronizadas) e propriedades mecânicas (diferenças médias) por variância inversa e efeitos randômicos (Revman,  $p < 0,05$ ). Para o risco de viés, os estudos foram avaliados de acordo com a avaliação crítica do Instituto Joanna Briggs.

**Resultados:** Foram incluídos nesta revisão sistemática 39 estudos, dos quais 29 foram incluídos na metanálise. Na metanálise, as incorporações de prata ( $p=0,001$ ) e de cobre ( $p=0,010$ ) reduziram a contagem de unidades formadoras de colônias, quando incorporadas em *primer* e cimento de ionômero de vidro (CIV), respectivamente. A prata aumentou o halo de inibição e apresentou propriedades antimicrobianas na viabilidade celular, através do ensaio vivo/morto em *primer*, CIV e adesivo ( $p < 0,001$ ). A incorporação de prata reduziu microdureza e resistência ao cisalhamento ( $p < 0,001$ ) em adesivos e aumentou a resistência à compressão ( $p=0,0003$ ) em CIV. O titânio e a prata não interferiram no grau de conversão. Os estudos apresentaram um baixo risco de viés (RoV).

**Conclusão:** Os resultados desta revisão com metanálise sugerem que a incorporação de nanopartículas metálicas, especialmente titânio e cobre, apresentam benefícios às propriedades antimicrobianas, sem prejuízo das propriedades mecânicas dos materiais dentários restauradores.

**Palavras-chave:** Nanocristal Metálico, Nanopartícula Metálica, Material Dentário.

## Introdução

A cárie dentária consiste em uma doença multifatorial e sua incidência e progressão são influenciadas por diversos fatores de risco, como dieta, saliva, deficiente exposição ao flúor e bactérias cariogênicas e indicadores de risco como fatores sociodemográficos e comportamentais [1]. Diversos fatores estão inter-relacionados com o início e a progressão da cárie, sendo o biofilme dentário um dos fatores essenciais, constituído por diferentes microrganismos, que podem ser um dos determinantes para a formação da lesão de cárie [2].

O desenvolvimento de materiais dentários restauradores com propriedades antibacterianas tem por objetivo reduzir a formação de biofilmes em margens de restaurações dentárias, sem que haja o comprometimento das propriedades mecânicas do material [3,4], pois diferentes estudos relatam como principais motivos para a substituição das restaurações: recidiva de cárie, defeitos marginais, fraturas, descolorações/manchas nas restaurações, degradações de suas interfaces, presença de micro-infiltração, falta de adaptação, falha da técnica operatória e falha na adesão [5].

Nanopartículas são incorporadas em materiais dentários com o objetivo de aumentar suas propriedades antimicrobianas, beneficiando ou, pelo menos, não comprometendo as propriedades mecânicas do material [6,7], pois materiais odontológicos estão expostos ao biofilme dentário disbiótico [8] e às forças mastigatórias [9].

Com o progresso da nanotecnologia, os métodos de administração com a utilização de nanopartículas foram introduzidos, com o intuito de melhorar a eficácia das drogas, atuando em suas propriedades química, física, mecânica, elétrica e ótica [10]. Sua composição estrutural varia entre 1 e 100 nanômetros de diâmetro, proporcionando uma melhor relação superfície-volume e, conseqüentemente, aumentando o contato direto com a parede celular da bactéria, aumentando sua ação antibacteriana e suas propriedades mecânicas [10, 11].

Nanopartículas metálicas são bastante investigadas, com o intuito de avaliar se a incorporação de diferentes metais resulta em efeitos mais promissores nas propriedades do material dentário. Nanopartículas de prata (AgNP), de benzoato de prata, sílica dopada com prata, materiais híbridos zinco-prata e óxido de zinco, foram incorporadas em adesivo, resina e *primer*, respectivamente, resultando em compósitos odontológicos com atividade antibacteriana [6, 7,12]. Além disso, outros metais como nanopartículas de cobre (CuNP) [13] e óxido de ferro ou maghemita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) [14] – os quais foram incorporados em sistemas adesivos – e o titânio – que foi adicionado em CIV [16] – mostraram uma melhora nas propriedades antibacterianas. Nas propriedades mecânicas, a adição de CuNP em sistemas

adesivos resultou em um aumento da microdureza de superfície, quando avaliados em até dois anos [13]. Nanopartículas de óxido de ferro (Fe) proporcionaram uma elevada resistência de união em sistemas adesivos [14] e o óxido de titânio incorporado em CIV proporcionou melhora na tenacidade à fratura e na resistência à flexão e à compressão [15-16].

Desse modo, considerando as inúmeras falhas e trocas de restaurações por cárie secundária, o objetivo desse estudo é realizar uma revisão sistemática com metanálise, para avaliação do efeito antimicrobiano das nanopartículas metálicas e sua interferência nas propriedades mecânicas incorporadas em materiais dentários restauradores.

## **Materiais e métodos**

### ***Protocolo***

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com o *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) [17] e foi registrada no *Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) – protocolo número CRD42022297684.

### ***Estratégia de triagem***

O planejamento da busca foi baseado na estratégia PICOS, sendo considerada a sigla (P) para população com materiais dentários restauradores; (I) para intervenção com nanopartículas metálicas; (C) para comparação com materiais não modificados por nanopartículas metálicas; (O) para resultado com materiais com efeito antimicrobiano e o tipo de estudo com a sigla (S) para estudo *in vitro/in situ*, da seguinte forma: materiais dentários (P) com nanopartículas metálicas (I) em comparação com materiais não modificados por nanopartículas metálicas (C), com efeito antimicrobiano (O) e estudo *in vitro* ou *in situ* (S).

A estratégia de triagem em cada banco de dados é apresentada no Apêndice A, utilizando as palavras-chave *Dental Materials, Metallic Nanoparticles, Metallic Nanocrystal*. Além disso, as referências duplicadas foram removidas com o auxílio do *Microsoft Excel* (*Microsoft Corporation*®).

### ***Critérios de elegibilidade: Critérios de inclusão***

Estudos *in vitro* e *in situ* que avaliaram a incorporação de nanopartículas metálicas em materiais dentários restauradores foram incluídos. Não houve restrições de estudo quanto ao idioma e ano de publicação; foram incluídos, entretanto, apenas estudos que avaliassem a ação antimicrobiana contra microrganismos cariogênicos.

### ***Critérios de elegibilidade: Critérios de exclusão***

Os critérios de exclusão foram os seguintes: (1) ensaio clínico, (1) resumos de reuniões, (3) avaliação do componente do material, (3) ausência de potencial antimicrobiano contra microrganismos cariogênicos/associado à cárie dentária, (1) duplicata e (3) materiais sem função restauradora.

### ***Fontes de informações***

A presente investigação envolveu sete bases de dados online: PubMed, Scopus, Web of Science, EBSCO, LILACS, LIVIVO e Embase. Além disso, a literatura cinzenta foi revisada; Google Scholar, Proquest e Opengrey. A busca incluiu todos os artigos publicados até 13 de dezembro de 2021, sem restrições de tempo.

### ***Seleção de estudos***

Um processo de seleção em duas fases foi realizado por dois revisores (LAL e RLL) e dois árbitros (PGBS e LKAR). Inicialmente, os títulos e resumos dos estudos potenciais foram lidos e os estudos anotados no software Rayyan® para aplicar os critérios de inclusão e exclusão [18]. Na fase seguinte, os textos completos dos artigos foram avaliados de forma independente, com base nos critérios de elegibilidade adotados nesta revisão sistemática. As discordâncias nas duas fases de triagem foram resolvidas por dois árbitros (PGBS e LKAR).

### ***Processo de coleta de dados***

Dois cirurgiões-dentistas (LAL; RLL) realizaram a fase de coleta de dados e um estatístico (PGBS) fez a verificação cruzada. Qualquer discordância persistente entre os dois autores foi discutida.

### ***Itens de dados***

As seguintes informações foram registradas dos estudos incluídos: (1) material dentário restaurador, (2) nanopartícula metálica, (3) dados para metanálise (tamanho da amostra, média e desvio-padrão), (4) grupos experimentais, (5) ensaio microbiológico (6) e ensaios mecânicos.

### ***Risco de viés em estudos individuais***

O risco de viés (RoV) foi avaliado por dois autores (LAL e RLL) e qualquer discordância persistente entre os dois autores foi discutida com o terceiro pesquisador (PGBS). A lista de verificação de avaliação crítica do Instituto Joanna Briggs para estudos *in vitro* foi considerada para os artigos aqui incluídos [19]. O *Microsoft Excel* foi utilizado para construção dos gráficos de RoV geral.

### ***Metanálise***

A metanálise foi realizada em dois blocos: os ensaios microbiológicos e os ensaios físicos e mecânicos. Em ambos, a metanálise foi realizada por uma metanálise contínua (efeitos aleatórios) – usando diferenças médias padronizadas (SMD) [20] – o d de Cohen foi calculado e o método de variância inversa foi usado em ambas as metanálises. O coeficiente  $I^2$  foi calculado para estimar a heterogeneidade entre os estudos e subgrupos, a análise *One-of-out* foi realizada para avaliar o peso de cada estudo na metanálise e os testes de Egger e Beggs foram realizados para análise do risco de publicação de viés. Todas as análises foram realizadas no *software* RevMan ( $p < 0,05$ ).

## **Resultados**

### ***Triagem de literatura***

O fluxograma resumindo o processo de seleção é mostrado em (Figura 1). Um total de 1.072 artigos foram identificados inicialmente nas bases de dados eletrônicas. Os títulos e resumos de 1.072 artigos foram selecionados na base de dados Microsoft Excel e 212 foram excluídos por serem duplicatas (Microsoft Corporation®). Após a triagem inicial dos 860 artigos, apenas 51 seguiram os critérios de elegibilidade. Destes, após leitura do texto completo, 1 duplicata remanescente foi excluída, 1 estudo foi retirado por ser resumo, 6 artigos por não avaliarem materiais restauradores, 1 artigo por ser revisão de literatura, 2 por não investigarem a ação antimicrobiana e 1 por ser ensaio clínico. Os 39 estudos restantes foram selecionados e incluídos na revisão sistemática. Além disso, não houve divergência quanto aos artigos incluídos entre os dois avaliadores.

Dos 39 estudos restantes, incluídos na revisão sistemática, 34 foram estudos *in vitro* e 5 estudos *in situ*. Dentre eles, 28 estudaram os valores de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), 16 estudaram o diâmetro do halo de inibição, 12 estudaram a viabilidade bacteriana por microscopia confocal à laser-MCL (ensaio vivo/morto), 10 estudaram a resistência à compressão, 6 estudaram rugosidade de superfície, 13 estudaram resistência ao cisalhamento, 6 estudaram microdureza da superfície, 7 estudaram resistência à flexão, 4 estudaram resistência à microtração, 2 estudaram módulo de elasticidade e 4 estudaram resistência à tração diametral. Os dados extraídos dos estudos estão nas tabelas 1 e 2.

Diagrama de fluxo PRISMA 2020 para novas revisões sistemáticas que incluíram apenas buscas em bancos de dados e registros.

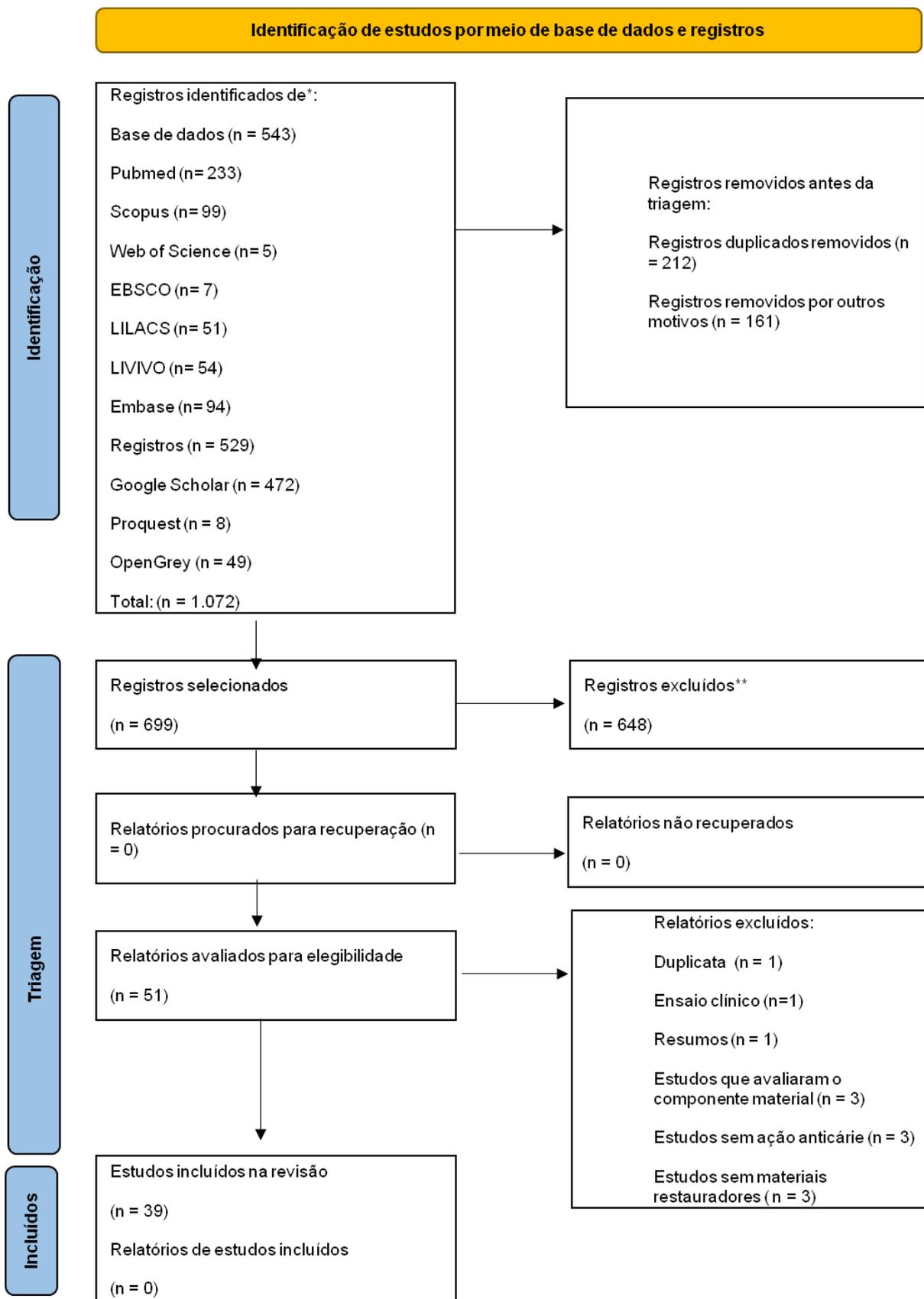


Figura 1. Fluxograma PRISMA de itens de relatório adequados para revisão sistemática e metanálises demonstrado à seleção dos artigos.

**Tabela 1. Resumo dos resultados microbiológicos dos artigos incluídos na revisão**

| <b>Nanopartícula</b> | <b>Referencias</b>  | <b>UFC</b> | <b>HI</b> | <b>VC</b> |
|----------------------|---|------------|-----------|-----------|
| <b>Ag</b>            | [6], [7], [12],<br>[21], [22], [23],<br>[24], [25], [26],<br>[27], [28], [29],<br>[30], [31], [32]. | ↓          |           |           |
|                      | [7], [12], [26],<br>[30], [33], [34],<br>[35].  |            | ↑         |           |
|                      | [12], [21], [24],<br>[23], [25], [27],<br>[29], [33], [30],<br>[36], [37], [38],<br>[39].           |            |           | ↓         |
| <b>Cu</b>            | [35], [40], [41],<br>[42], [43].  | ↓          |           |           |
|                      | [41], [43], [44].   |            | ↑         |           |
| <b>Ti</b>            | [31], [45] Artigo<br>1, [46].   | ↓          |           |           |
|                      | [47], [48].   |            | ↑         |           |
| <b>Zn</b>            | [42], [48], [49],<br>[50], [51].  | ↓          |           |           |

Abreviaturas: UFC - unidades formadoras de colônias. HI - halo de inibição. AA - atividade bacteriana. VC - viabilidade celular MTT (Vivo/morto). ↑ - aumentou, ↓ - diminuiu.

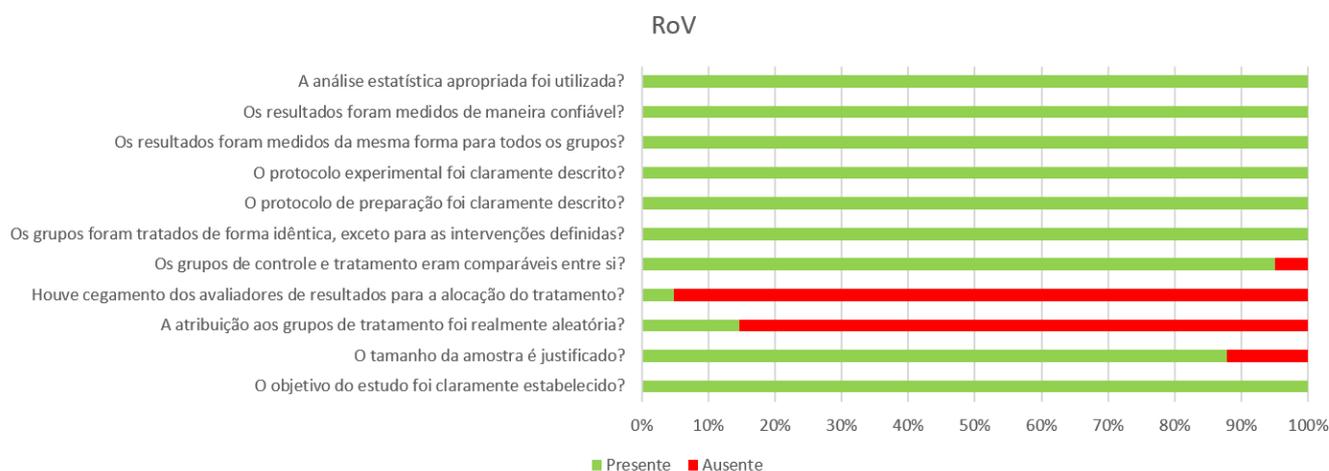
**Tabela 2. Resumo dos resultados mecânicos dos artigos incluídos na revisão**

| Nanopartícula    | Referencias                  | C  | RC | MS | RM | RF | RT | RS | GC |
|------------------|------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Ag               | [6], [12], [21], [28], [29]. | ↑  |    |    |    |    |    |    |    |
|                  | [7], [23], [25], [26].       | NS |    |    |    |    |    |    |    |
|                  | [27], [33], [34].            |    | ↑  |    |    |    |    |    |    |
|                  | [28], [29], [43].            |    | NS |    |    |    |    |    |    |
|                  | [28], [29], [31], [52].      |    |    | NS |    |    |    |    |    |
|                  | [24], [27], [30].            |    |    |    |    | ↓  |    |    |    |
|                  | [37], [43], [52].            |    |    |    |    |    | ↑  |    |    |
| Cu               | [41], [43], [44].            | ↑  |    |    |    |    |    |    |    |
|                  | [40], [41], [42].            |    | NS |    |    |    |    |    |    |
| TiO <sub>2</sub> | [47]                         |    | ↑  |    |    |    |    |    |    |
|                  | [46]                         |    | NS |    |    |    | NS | NS |    |
|                  | [45]                         |    |    |    |    |    |    | ↑  |    |
|                  | [45] Artigo 1, [46]          |    |    |    |    |    | ↓  |    |    |
|                  | [31], [45], [46]             |    |    |    |    |    |    |    | NS |
| ZnO              | [42], [49], [50], [51], [48] | NS |    |    |    |    |    |    |    |
|                  | [46], [49]                   | NS |    |    |    |    | NS |    |    |
|                  | [45]                         |    |    |    |    |    |    | NS | NS |
|                  | [45]                         |    |    |    |    |    |    | NS | NS |
| OFe              | [14]                         | NS |    |    |    |    |    |    |    |
| OMg              | [53]                         |    | NS |    |    |    |    |    |    |

Abreviaturas: C- resistência ao cisalhamento. RS - rugosidade de superfície. RC - resistência à compressão. RF - resistência à flexão. MS - microdureza da superfície. RM - resistência à microtração ( $\mu$ TBS). RF - resistência à flexão. RT - resistência à tração diametral. ↑ - aumentou, ↓ - diminuiu. NS – não significativa.

#### *Avaliação do risco de viés*

Os estudos incluídos na revisão apresentaram um RoV de 82%. Oito pontos de avaliação foram contemplados com mais de 95% de presença e apenas três pontos não, sendo um destes acima de 80% (Figura 2).



**Figura 2. Resumo da avaliação do risco de viés**

Todos os 42 estudos declararam categoricamente o objetivo de pesquisa e descreveram adequadamente o resultado principal. Os protocolos de preparação e do experimento em si foram bem descritos em quase todos, com exceção do estudo de Javed [50].

O número de amostras em estudos *in vitro* geralmente é reduzido, vistas as circunstâncias do experimento e o valor de escore de viés apresentado ser baixo. No entanto, o valor não foi menor ainda, devido à ausência de explicitação do número de amostras em 6 dos estudos avaliados. A variação entre o número de amostras em relação aos estudos se deu, em parte, pela diferença do método de avaliação antimicrobiana: teste de disco-difusão e contagem de unidades formadoras de colônias.

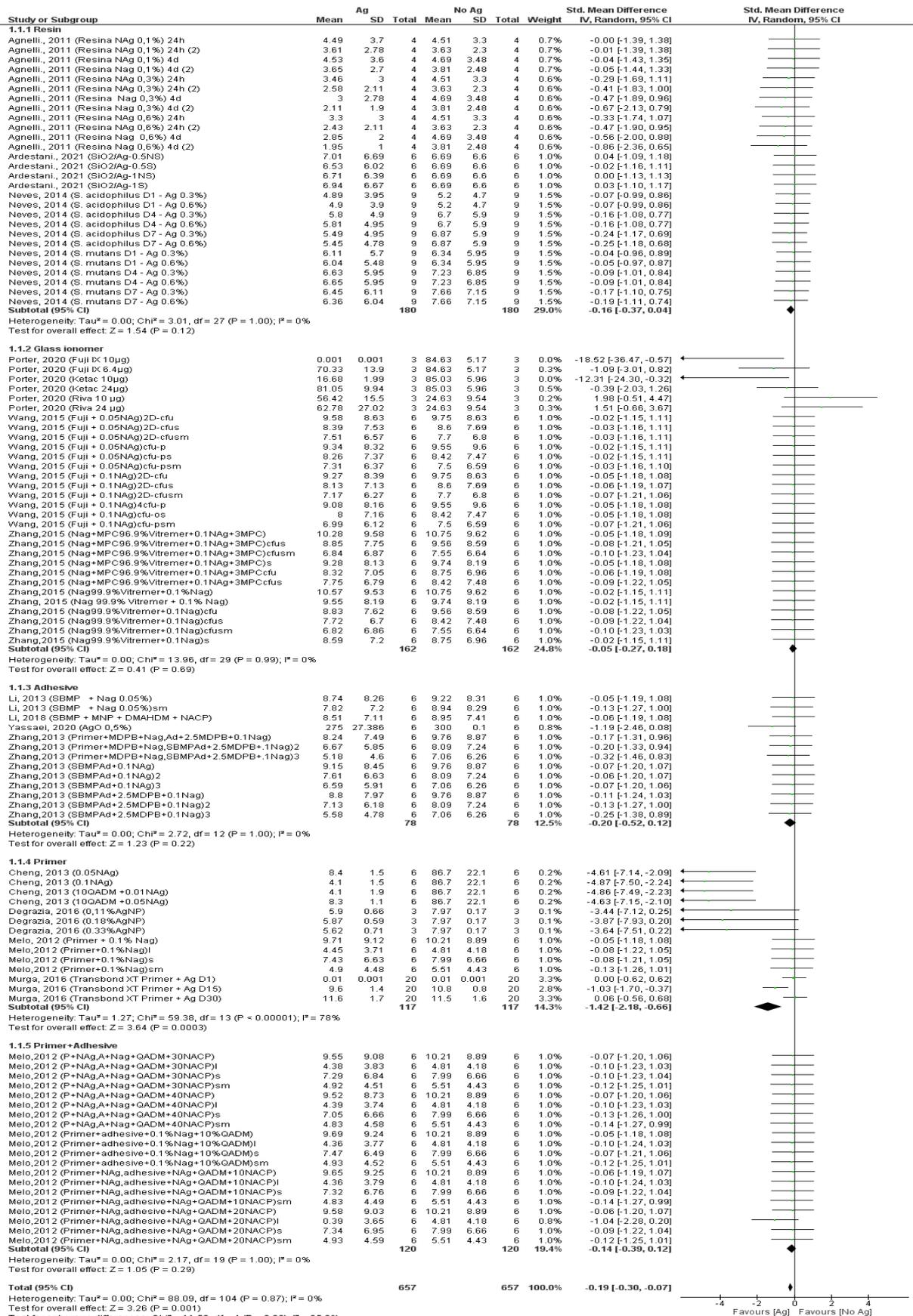
O cegamento para distribuição das amostras entre os grupos e em relação à realização de tratamento apresentou um alto viés de publicação e apenas em Gutiérrez [42] e Ghorbanzadeh [38] foram randomizados os tratamentos com nanopartículas.

A comparação de controles e grupos apresentou um baixo valor de viés e em apenas 3 estudos (Ai [37]; Javed [50]; Li [14]) não houve menção a controles. Aliado a esta comparação, apenas Ai [37] apresentou heterogeneidade no tratamento entre grupos, quanto à atividade antimicrobiana.

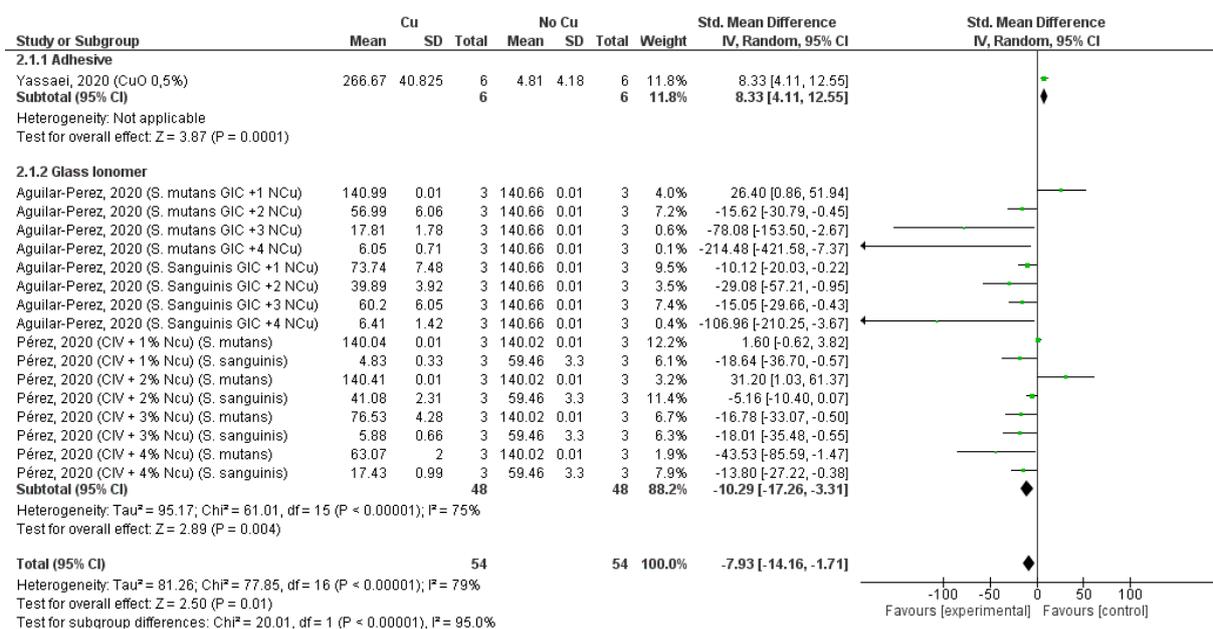
A análise estatística apresentou um baixo risco de viés, em que apenas 1 artigo não fez menção ao método estatístico utilizado.

### ***Metanálise dos ensaios microbiológicos: contagem de UFC***

Na metanálise, avaliando a contagem de UFC, 14 estudos que incorporam Ag foram incluídos com 1314 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A incorporação de Ag reduziu a contagem de UFC, com um *d* de Cohen de baixo impacto clínico -0,19 (CI95% = -0,30 a -0,07), porém significativa ( $p=0,001$ ). Houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais nos quais as AgNP foram incorporadas ( $p=0,020$ ). Quando a Ag foi incorporada em resina composta ( $p=0,120$ ), ionômero de vidro ( $p=0,690$ ), adesivo ( $p=0,220$ ) e sistema de *primer* /adesivo ( $p=0,290$ ), não houve benefício significativo; apenas quando a Ag foi incorporada em *primer* ( $p=0,0003$ ), houve redução significativa da contagem de UFC com um *d* de Cohen de altíssimo impacto clínico ( $d= -1,42$ ; CI95% = -2,18 a -0,66); foi o único subgrupo em que houve heterogeneidade significativa ( $p<0,001$ ,  $I^2 = 78\%$ ) (gráfico 1). A análise *one-of-out* não demonstrou impacto significativo dos dados de nenhum artigo após remoção individual, porém os testes de Egger e Beggs demonstraram risco de viés de publicação significativo ( $p<0,001$ ) (Material suplementar 1).



Na metanálise avaliando a contagem de UFC, apenas 3 estudos incorporando Cu foram incluídos, com 108 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as CuNP. A incorporação de Cu reduziu significativamente a contagem de UFC ( $p=0,010$ ), com um  $d$  de Cohen de altíssimo impacto clínico ( $-7,93$ ,  $CI_{95\%} = -14,16$  a  $-1,71$ ). Houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais nos quais as CuNP foram incorporadas ( $p<0,001$ ). Quando o Cu foi incorporado em resina e adesivo, houve aumento significativo na contagem de UFC ( $p=0,001$ ); porém, quando o Cu foi incorporado em ionômero de vidro ( $p<0,001$ ), apesar da alta heterogeneidade ( $p<0,001$ ,  $I^2 = 75\%$ ), houve redução significativa da contagem de UFC, com um  $d$  de Cohen de altíssimo impacto clínico ( $d = -10,29$ ,  $CI_{95\%} = -17,26$  a  $-3,31$ ) (gráfico 2). A análise *one-of-out* demonstrou que a remoção individual dos achados de Aguilar-Perez [40] ou Pérez [41] dissiparam o benefício da incorporação de CuNP. Os testes de Egger ( $p=0,002$ ) e Beggs ( $p<0,001$ ) demonstraram risco de viés de publicação significativo (Material suplementar 2).



**Gráfico 2. Forest plot contagem de unidades formadoras de colônias em materiais com a incorporação de Cu.**

***Metanálise dos ensaios microbiológicos: viabilidade celular bacteriana (ensaio vivo/morto)***

Na metanálise avaliando viabilidade celular bacteriana, 9 estudos incorporando Ag foram incluídos, com 608 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A incorporação de Ag reduziu significativamente ( $p < 0,001$ ) a viabilidade celular bacteriana com um  $d$  de Cohen de alto impacto clínico (-2,19; CI95% = -2,71 a -1,66). Houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais nos quais as AgNP foram incorporadas ( $p < 0,001$ ). Quando a Ag foi incorporada em todos os materiais, houve benefício significativo ( $p < 0,05$ ), mas o benefício foi significativamente maior ( $d$  de Cohen = -5,31, CI95% = -6,52 a -4,09). Não houve heterogeneidade nos resultados da incorporação de AgNP em sistemas de *primer* /adesivo ( $p = 0,300$ ,  $I^2 = 17\%$ ) ou *primer* isoladamente ( $p = 0,390$ ,  $I^2 = 3\%$ ); no entanto, nos demais materiais, houve ( $p < 0,05$ ) (gráfico 3). A análise *one-of-out* não demonstrou impacto significativo dos dados de nenhum artigo após remoção individual, porém os testes de Egger e Beggs demonstraram risco de viés de publicação significativo ( $p < 0,001$ ) (Material suplementar 3).

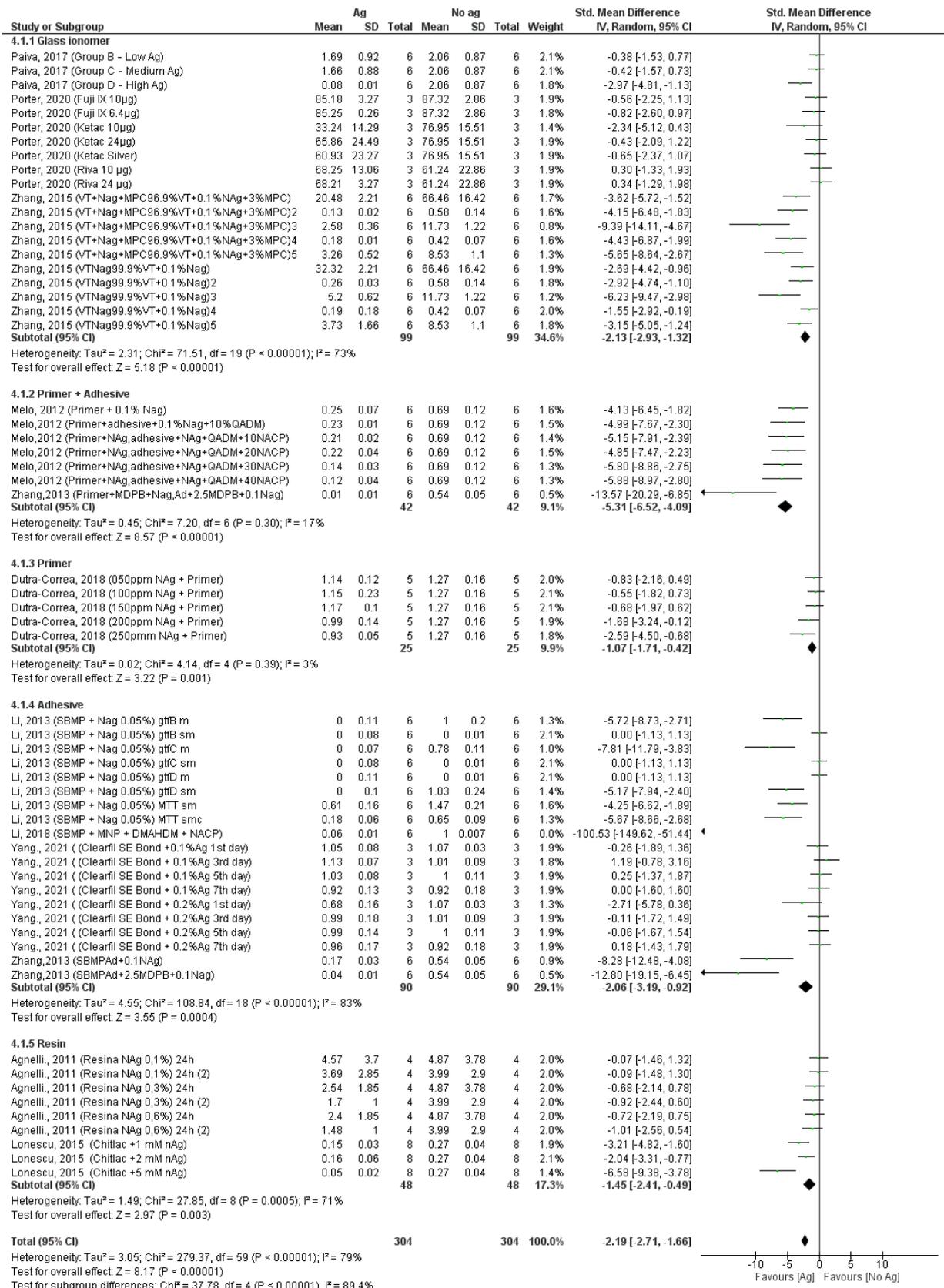


Gráfico 3. Forest plot de viabilidade celular (ensaio vivo/morto) em materiais com a incorporação deAg.

### Metanálise dos ensaios microbiológicos: halo de inibição

Na metanálise avaliando o halo de inibição bacteriana, quatro estudos incorporando Ag foram incluídos, com 230 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A incorporação de Ag aumentou significativamente ( $p < 0,001$ ) a halo de inibição bacteriana com um  $d$  de Cohen de alto impacto clínico (5,31, CI95% = 4,18 a 6,44). Não houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais nos quais as AgNP foram incorporadas ( $p = 0,680$ ), mas houve heterogeneidade significativa ( $p < 0,05$ ,  $I^2 = 61\%$ ) (gráfico 4). A análise *one-of-out* não demonstrou impacto significativo dos dados de nenhum artigo, após remoção individual, porém os testes de Egger e Beggs demonstraram risco de viés de publicação significativo ( $p < 0,001$ ) (Material suplementar 4).

Apenas Yassaei [35] avaliou a incorporação de CuNP ( $p = 0,001$ ); Yassaei [35] e Hamid [47] avaliaram a incorporação de TiNP ( $p = 0,320$ ), com 32 e 50 amostras igualmente distribuídas entre grupos testes e controles. Apenas a incorporação de CuNP mostrou benefício significativo no aumento do halo de inibição. Gutiérrez [42] incorporou nanopartículas de cobre e zinco CuZnNP, também obtendo um aumento significativo do halo de inibição no material testado ( $p < 0,001$ ) (*data not shown*).

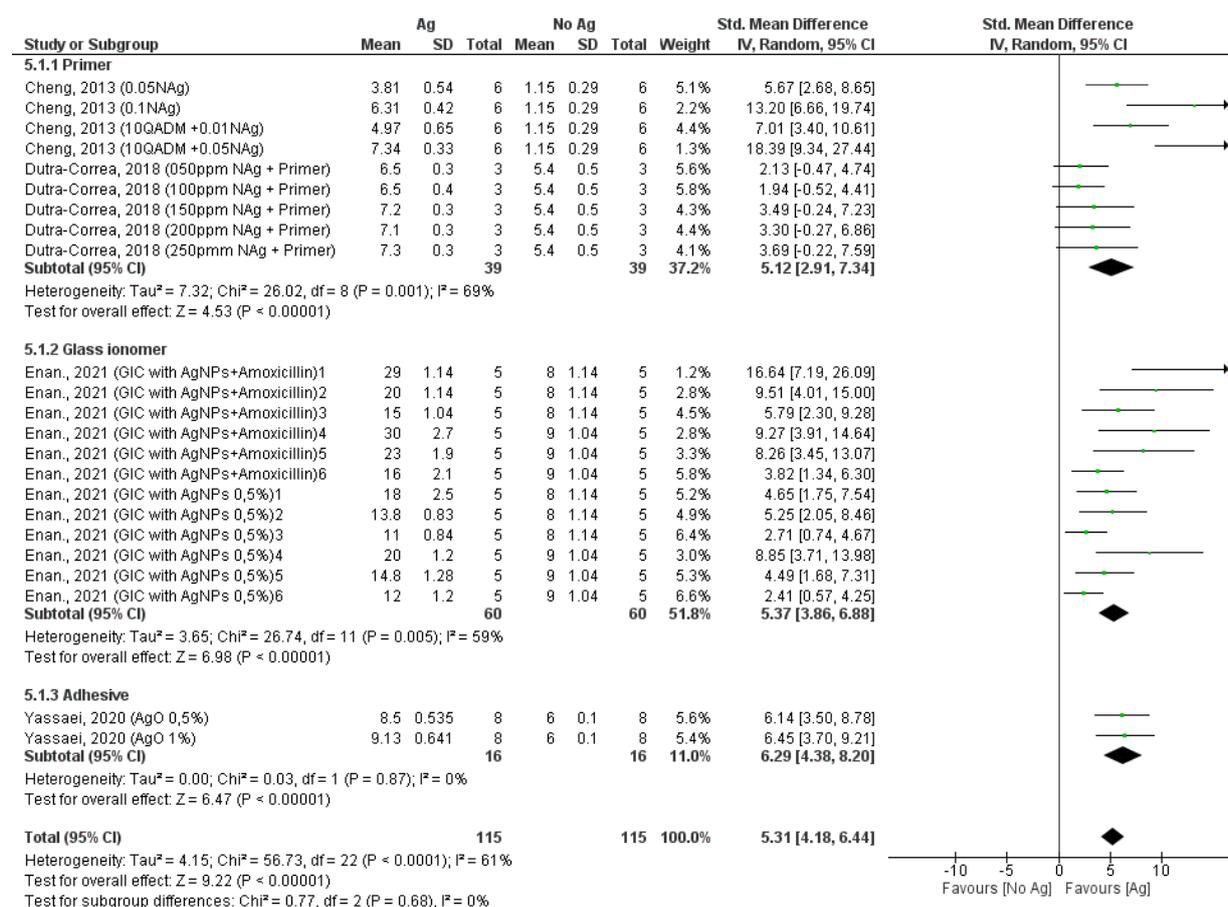
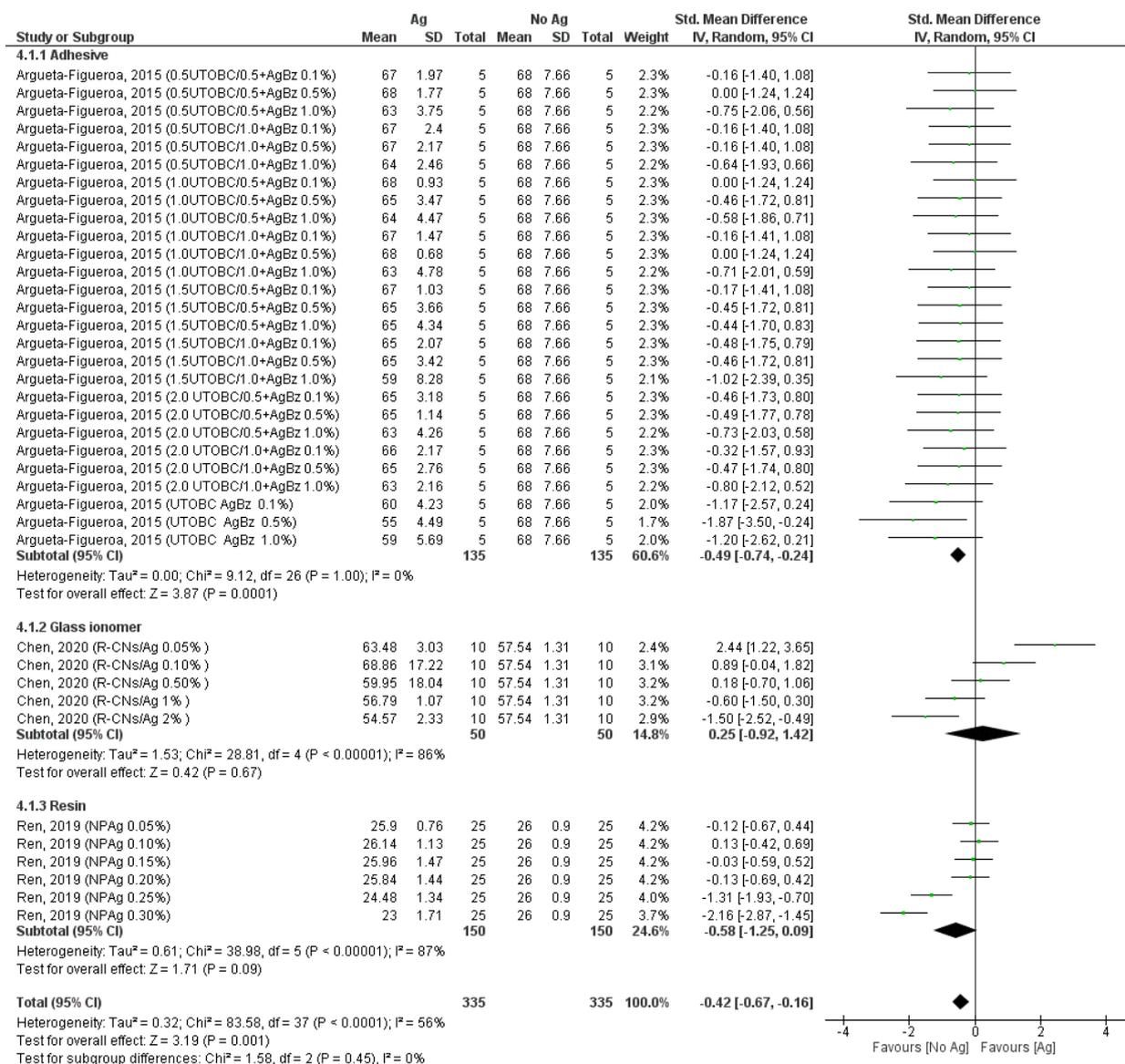


Gráfico 4. Forest plot do halo de inibição em materiais com a incorporação de Ag.

### ***Metanálise dos ensaios de propriedades físicas e mecânicas: microdureza e rugosidade***

Com relação à microdureza, três estudos incorporando Ag foram incluídos com 670 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A incorporação de Ag reduziu a microdureza, com um d de Cohen de impacto clínico moderado -0,42 [CI95% = -0,67 a -0,16], porém significativo ( $p < 0,001$ ). Não houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais ( $p = 0,450$ ); mas, apesar de a incorporação de Ag não modificar significativamente a microdureza de resina ( $p = 0,090$ ) e do ionômero de vidro ( $p = 0,670$ ), interferiu negativamente na microdureza de adesivos ( $p < 0,001$ , d de Cohen = -0,49 [CI95% = -0,74 a -0,24]). Nos subgrupos ionômero de vidro e resina, houve heterogeneidade significativa ( $p < 0,0001$ ) e, na análise *one-of-out*, a remoção dos achados de Argueta-Figueroa [43] reduziu essa diferença entre Ag e não Ag ( $p = 0,400$ ) (gráfico 5). O teste de Beggs ( $p < 0,001$ ) – mas não o de Egger ( $p = 0,645$ ) – demonstrou risco de viés de publicação significativo (Material suplementar 5).



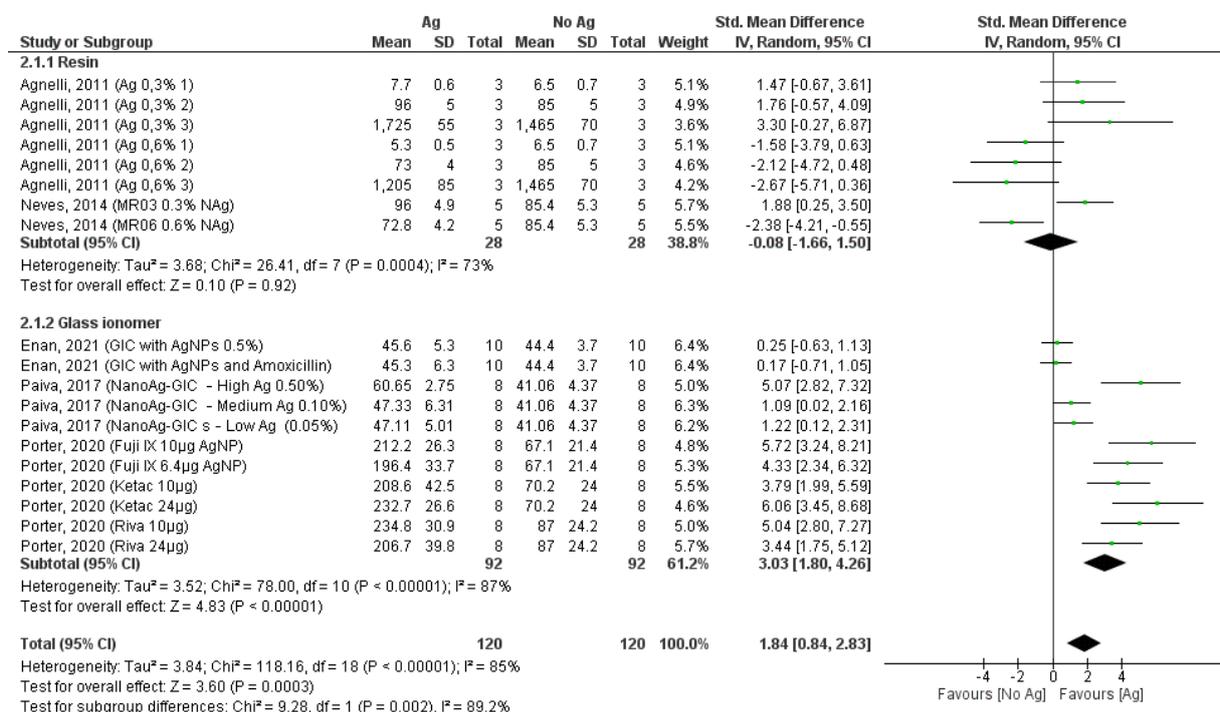
**Gráfico 5. Forest plot da microdureza de superfície em materiais com a incorporação de Ag.**

Na metanálise avaliando a rugosidade, em um estudo com 36 amostras igualmente distribuídas entre os dois grupos [28], não houve diferença significativa após incorporação de Cu ( $p=0,490$ ) (*data not shown*). Outro estudo [45], avaliando a incorporação de Ti ( $p=0,670$ ) ou Ti-Ag ( $p=0,720$ ), que incluiu 1.200 amostras igualmente distribuídas em dois grupos de estudo, não encontrou variação significativa na rugosidade, após incorporação dessas nanopartículas ( $p=0,460$ ) (*data not shown*).

### **Metanálise dos ensaios de propriedades mecânicas: resistência à compressão e à flexão**

Na metanálise avaliando a resistência à compressão, 5 estudos incorporando Ag foram incluídos, com 240 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A

incorporação de Ag aumentou a resistência à compressão, com um *d* de Cohen de alto impacto clínico 1,84 [CI95% = 0,84 a 2,83] ( $p=0,0003$ ). Houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais, não havendo benefício significativo na incorporação em resina composta ( $p=0,920$ ), mas sim na incorporação de Ag no ionômero de vidro ( $p<0,001$ ), com um *d* de Cohen = 3,03 [CI95% = 1,80 a 4,26] (gráfico 6). Em ambos os subgrupos, houve heterogeneidade significativa ( $p<0,0001$ ). A análise *one-of-out* não demonstrou impacto significativo dos dados de nenhum artigo após remoção individual, porém o teste de Beggs ( $p=0,008$ ) – mas não o de Egger ( $p=0,059$ ) – demonstrou risco de viés de publicação significativo (Material suplementar 6).



**Gráfico 6. Forest plot da resistência à compressão em materiais com a incorporação de Ag.**

Na metanálise avaliando a resistência à flexão, cinco estudos incorporando Ag foram incluídos, com 756 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A incorporação de Ag não interferiu significativamente no aumento da resistência à flexão ( $p=0,460$ ). Não houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais ( $p=0,640$ ); mas, enquanto nas resinas não houve interferência significativa ( $p=0,260$ ), no ionômero de vidro a incorporação de Ag reduziu significativamente a resistência à flexão, com um *d* de Cohen de moderado impacto clínico (-0,36, CI95% = -0,71 a -0,01) ( $p=0,040$ ) (gráfico 7). Em ambos os subgrupos, houve heterogeneidade significativa ( $p<0,0001$ ). A análise *one-of-out* não demonstrou impacto significativo dos dados de nenhum artigo após remoção individual,

porém os testes de Egger e Beggs ( $p < 0,001$ ) demonstraram risco de viés de publicação significativo (Material suplementar 7).

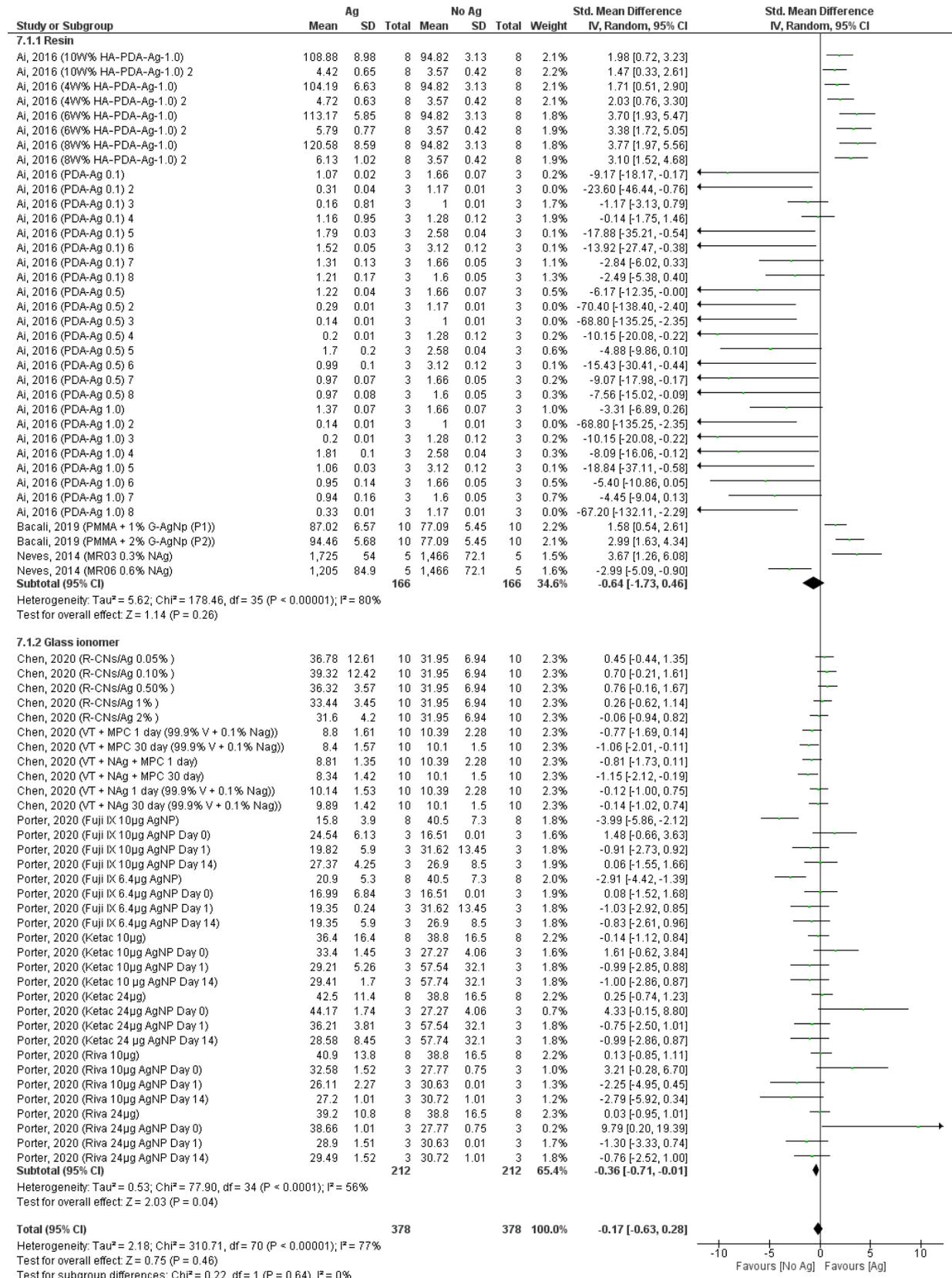


Gráfico 7. Forest plot da resistência à flexão em materiais com a incorporação de Ag.

### Metanálise dos ensaios de propriedades mecânicas: resistência ao cisalhamento

Na metanálise avaliando a resistência ao cisalhamento, 4 estudos incorporando Ag foram incluídos, com 571 amostras igualmente divididas em grupos com e sem as AgNP. A incorporação de Ag reduziu significativamente a resistência ao cisalhamento, com um  $d$  de Cohen de moderado impacto clínico ( $d = -0,35, -0,53$  a  $-0,17$ ) ( $p < 0,001$ ). Não houve diferença significativa entre os subgrupos de materiais ( $p = 0,370$ ) e em todos os materiais houve redução desse parâmetro ( $p < 0,05$ ) (gráfico 8). Apenas o subgrupo *primer* mostrou heterogeneidade significativa ( $p < 0,001$ ,  $I^2 = 85\%$ ). A análise *one-of-out* demonstrou que a remoção dos dados de Degrazia [6] diminuiu significativamente essa diferença. Os testes de Egger e de Beggs ( $p < 0,001$ ) demonstraram risco de vies de publicação significativo (Material suplementar 8).

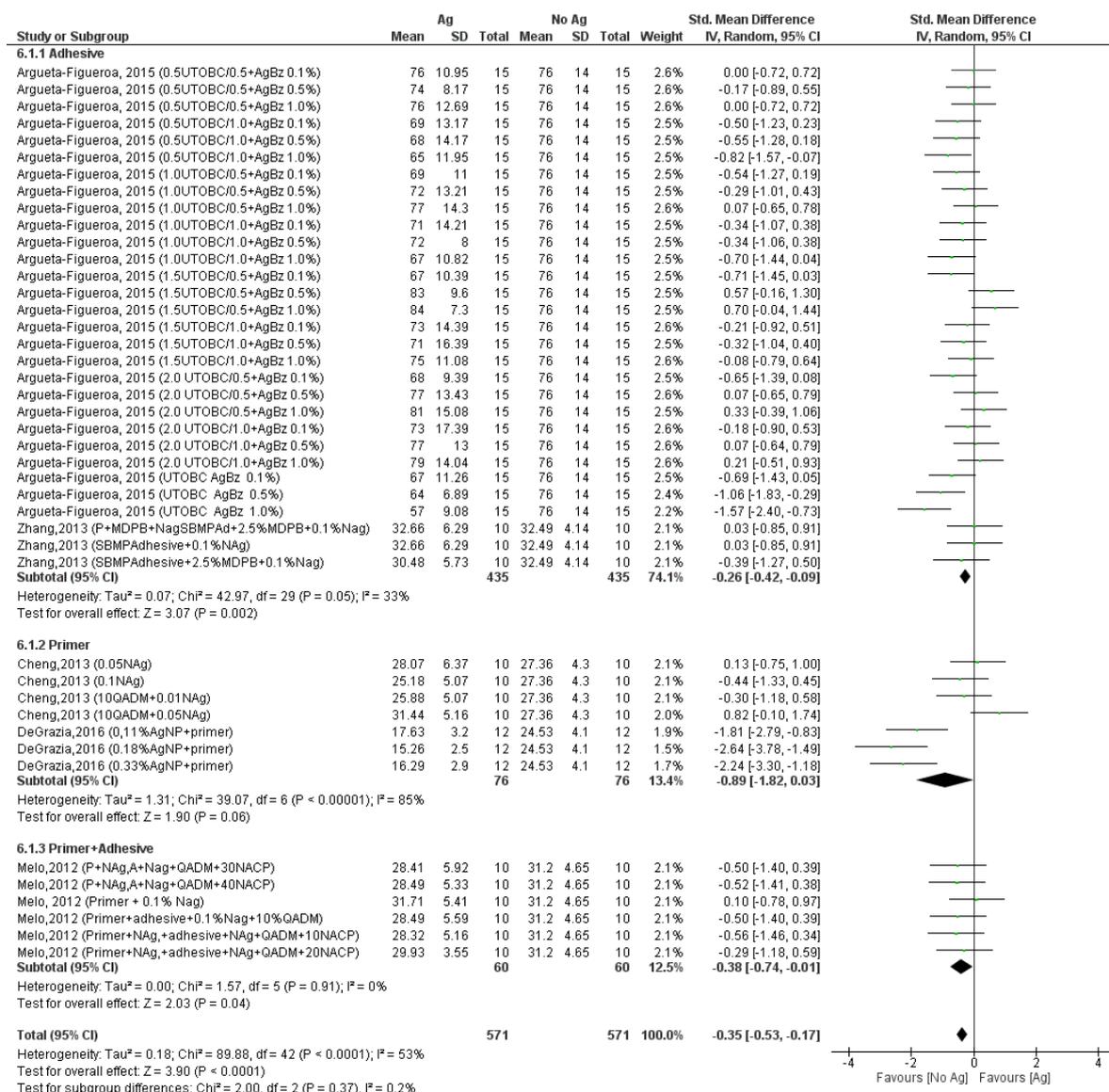


Gráfico 8. Forest plot da resistência ao cisalhamento em materiais com a incorporação de Ag.

### Metanálise dos ensaios de outras propriedades físicas: grau de conversão

Na metanálise avaliando o grau de conversão, 4 estudos incorporando Ti, Ag ou Ti-Ag foram incluídos, com 1018 amostras testes e 1021 amostras controles. A incorporação de nanopartículas não interferiu no grau de conversão ( $p=0,080$ ), nem houve diferença nos subgrupos de nanopartículas ( $p=0,560$ ), mas ocorreu heterogeneidade significativa ( $p<0,001$ ,  $I^2 = 96\%$ ) (gráfico 9). A análise *one-of-out* demonstrou que a remoção dos dados de Dias [45] reduziu significativamente o grau de conversão ( $p<0,001$ ). O teste de Egger ( $p<0,001$ ), mas não o de Beggs ( $p=0,189$ ), demonstrou risco de viés de publicação significativo (Material suplementar 9).

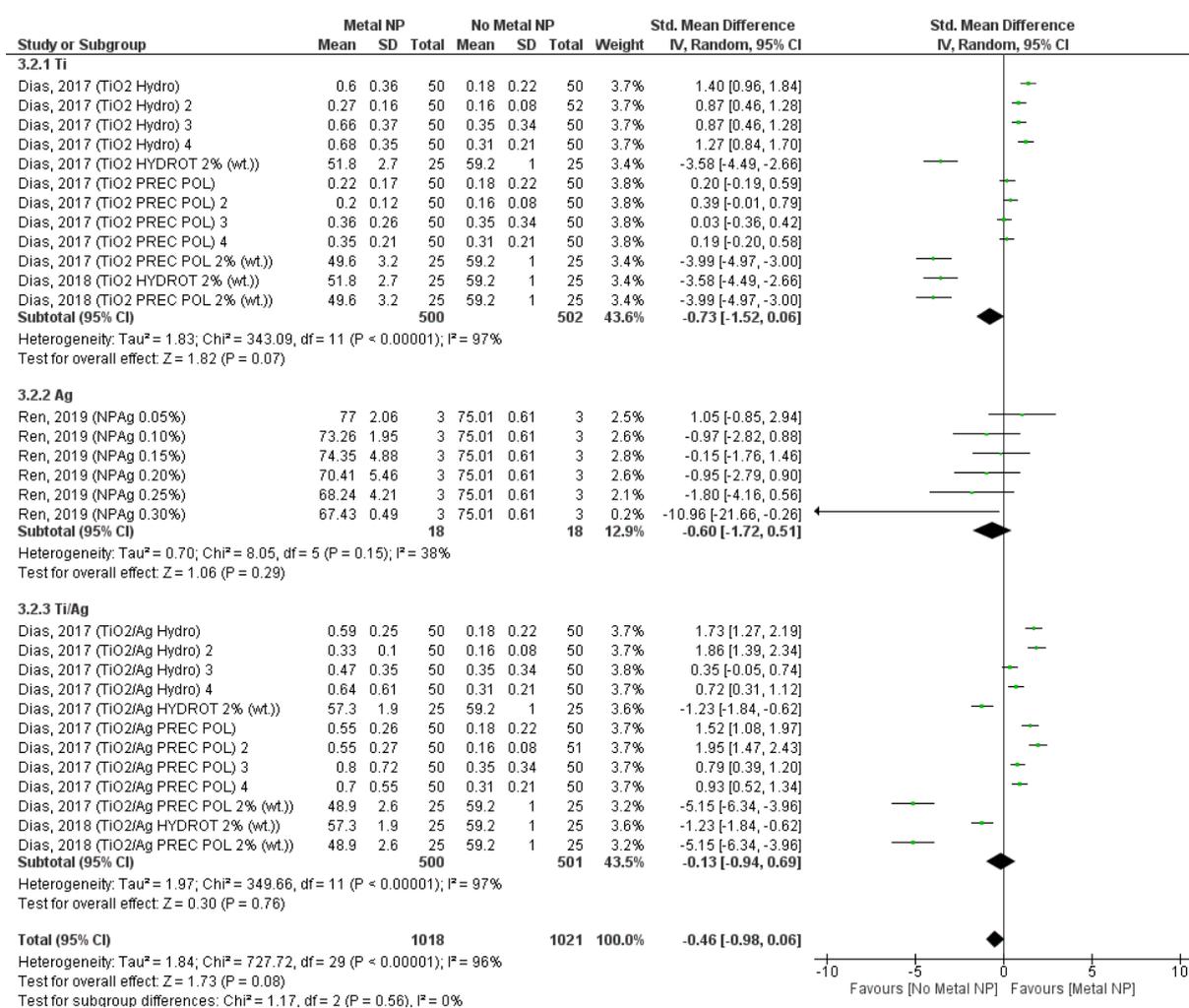


Gráfico 9. Forest plot do grau de conversão em materiais com a incorporação de Ti.

## Discussão

Diversos estudos foram realizados para avaliar as propriedades antimicrobianas e mecânicas de materiais odontológicos com a incorporação de nanopartículas metálicas. Não há revisões sistemáticas que avaliem a eficácia antimicrobiana e mecânica de materiais dentários modificados por nanopartículas metálicas, para obter um material com propriedades mais promissoras. A presente revisão sistemática com metanálise foi realizada com o objetivo de analisar dados publicados de estudos *in vitro* e *in situ*, a fim de avaliar seus efeitos combinados e compreender se materiais dentários modificados por incorporação de nanopartículas metálicas apresentam efeito antimicrobiano e não alteram as propriedades mecânicas, quando comparados a materiais não modificados. Assim, a hipótese de trabalho de que a incorporação de nanopartículas metálicas Ag, Cu, Ti, Zn e o Fe apresenta efeito antimicrobiano, quando em comparação com materiais não modificados por nanopartículas, sem prejudicar propriedades mecânicas dos materiais, foi confirmada.

Os resultados desta metanálise mostram que a incorporação de nanopartículas metálicas foi realizada especialmente com Ag, Cu, Ti, Zn e o Fe. Todos os metais possuem cargas positivas e nanopartículas carregadas positivamente são atraídas eletrostaticamente para a membrana celular bacteriana carregada negativamente. Essa atração altera a permeabilidade da parede celular, resultando em uma ruptura da membrana e no vazamento de organelas intracelulares [54].

A incorporação de AgNP demonstrou resultados promissores nas propriedades microbiológicas, mas resultou em malefícios nas propriedades mecânicas [6, 13, 21]. A prata exibe um amplo espectro antimicrobiano, especialmente para bactérias [55, 56]. Um dos mecanismos de ação mais aceitos baseia-se na ruptura da membrana celular ao contato com uma superfície do metal e na formação de espécies reativas de oxigênio, após a captação de AgNP ou a penetração de íons no núcleo e a consequente interação com o DNA bacteriano, resultando na inibição da reprodução celular [56, 57].

O resultado observado na metanálise do presente estudo demonstrou que a atividade antimicrobiana da Ag aumentou o halo de inibição ao ser incorporada ao *primer* e ao CIV [30, 34] e reduziu a viabilidade celular de bactérias, analisadas pelo ensaio de viabilidade celular (análise vivo/morto) [25, 27, 33], quando incorporada em cimento de ionômero de vidro (CIV), *primer* e adesivo, adesivo, *primer* e resina. Além disso, dos estudos que avaliaram a incorporação de AgNP em resina composta [7, 28, 29], *primer* e adesivo [21], *primer* [6, 12,

21, 22], adesivo [14, 24, 25, 35] e CIV [25, 26, 27], somente a incorporação em *primer* foi estatisticamente significativa na diminuição do número de UFC, apresentando um *d* de Cohen de altíssimo impacto clínico, que consiste em uma medida de tamanho de efeito, usada para comparação entre duas médias, mostrando a quantidade de desvios-padrão de diferença que existem entre os resultados dos dois grupos comparados. Todos os outros materiais não apresentaram benefícios em relação à redução das UFC com a incorporação do metal.

Ademais, componentes podem ser incorporados juntamente com nanopartículas, como o antibiótico, a amoxicilina. Na incorporação de AgNP 0,5% e amoxicilina em CIV, foi observado um aumento no halo de inibição, quando em comparação ao grupo inalterado (CIV). A análise de UFC do mesmo estudo não adentrou na metanálise, por não apresentar o valor de *n* e, conseqüentemente, não houve como validar o resultado. Relata-se que o efeito antimicrobiano foi decorrente da destruição da membrana celular [34]. Da mesma forma, com a adição de metacriloil oxietil fosforilcolina (MPC) 3% e AgNP 0,1% em CIV, que apresentou redução da contagem de UFC, relataram que a biocompatibilidade e eficácia dos biomateriais contendo MPC, um agente repelente de proteínas, foram confirmadas por sua inércia para sistemas biológicos e sua redução da absorção de proteínas, adesão bacteriana e fixação celular [25].

No entanto, a incorporação de AgNP resulta em piora das propriedades mecânicas ou não gera benefícios em determinados materiais, reduzindo a microdureza em adesivo [43], apesar de não ter alterado significativamente, quando avaliada em CIV [52] e resina [31]. Um baixo valor de microdureza pode propiciar a ocorrência de degradação superficial, facilitando, dessa forma, o acúmulo de biofilme na restauração [58]. Além disso, resistência à compressão e o grau de conversão em resinas compostas modificadas com AgNP não alteraram estatisticamente [28, 29, 31]. No entanto, no CIV, observou-se um aumento da resistência à compressão [27, 33, 34].

A metanálise também constatou que houve diferença significativa com a incorporação de CuNP em CIV, com a redução de UFC e em adesivo com o aumento do halo de inibição, confirmando os efeitos antimicrobianos contra bactérias patogênicas. Um dos mecanismos de ação mais importantes do Cu é a destruição da membrana dos microrganismos. Efeitos antimicrobianos através das análises de UFC e do halo de inibição de CuNP adicionados em adesivos foram observados e consta-se que os compósitos modificados apresentaram efeitos inibitórios significativos sobre os microrganismos estudados [43]. No entanto, as análises de

UFC e halo de inibição não adentraram na metanálise, porque não apresentaram valores de dispersão, como média e desvio-padrão e, conseqüentemente, não houve como validar o resultado. Entretanto, CuNP incorporada em adesivo proporcionou uma inferior redução de unidades formadoras de colônias, em comparação ao adesivo não modificado [35].

A incorporação de Cu não aumentou a rugosidade de superfície de resinas compostas [28], ou seja, não resultou em uma maior propensão ao acúmulo de biofilme, à descoloração da superfície e à falha da restauração [59].

A incorporação de TiNP em adesivo [35], CIV [47] e resina composta [45, 46] apresentou eficácia antimicrobiana, aumentando significativamente o halo de inibição frente aos microrganismos estudados. Além disso, não alterou estatisticamente o grau de conversão das resinas compostas modificadas com a nanopartícula [45, 46]. O grau de conversão é associado ao processo de polimerização do compósito, relacionado à quantidade de monômero da resina composta que se converte na cadeia polimérica e está diretamente relacionado à resistência à fratura, à dureza e à solubilidade do material [60]. Ademais, constatou-se que a incorporação de TiNP em sistema adesivo [48] e resina composta [46] não resultou em diferença estatística na análise de rugosidade de superfície. Além disso, embora a AgNP tenham sido associadas a TiNP com o intuito de melhorar as propriedades físicas, não houve alteração significativa na análise de rugosidade [46].

A metanálise apresentou que não houve diferença significativa nas propriedades antimicrobianas com a incorporação de ZnNP em resina composta [35], não favorecendo a redução de UFC. Além disso, o metal também não apresentou benefício à resistência à compressão [49].

A maior fragilidade dos estudos descritos no presente artigo consiste na falta de cegamento e de randomização. Todos os estudos avaliados na metanálise demonstraram alto risco de viés de publicação, o que pode resultar da falta de cegamento e randomização de amostras, observado no risco de viés coletivo, favorecendo ao risco de viés de publicação. Além disso, há bastante heterogeneidade nos resultados, em decorrência das heterogeneidades metodológicas; isso, todavia, é natural de estudos de inovação, visto que buscam melhores maneiras de modificar as nanopartículas. Por conseguinte, sugere-se que, para estudos futuros, essas abordagens metodológicas sejam utilizadas como forma de minimizar viés de publicação que tende à superioridade das nanopartículas.

O material antimicrobiano promissor não se baseia exclusivamente em suas propriedades antibacterianas, mas em suas interações mecânicas; portanto, outros estudos

devem ser realizados para estabelecer a incorporação de nanopartículas adequadas para determinados materiais. Por esta razão, posteriores estudos *in vitro*, *in situ* e estudos clínicos devem ser realizados para dar maior validade externa aos presentes achados.

### **Conclusões**

Os achados obtidos nesta revisão sistemática e metanálise sugerem que nanopartículas metálicas podem apresentar propriedades antimicrobianas quando incorporadas em materiais odontológicos. A incorporação de Ag gera potencial antimicrobiano, no entanto, precisa de cuidado em relação às propriedades mecânicas de determinados materiais, como adesivo, *primer*, CIV e resina. Nanopartículas de Cu, incorporadas em CIV, *primer* e adesivo, apresentam efeito antimicrobiano e não resultam em malefícios nas propriedades físicas e mecânicas avaliadas. O Ti apresenta melhora na atividade antimicrobiana dos materiais estudados, como adesivo, resina e CIV, sem prejuízos às propriedades mecânicas avaliadas. Mais estudos são necessários para a comprovação da eficácia clínica e da utilização de materiais restauradores modificados com a incorporação de nanopartículas metálicas.

## Referências

1. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. (Eds.). Dental caries: the disease and its clinical management. *John Wiley & Sons*. 2015.
2. Chattopadhyay I, Verma M, Panda M. Role of oral microbiome signatures in diagnosis and prognosis of oral cancer. *Technol Cancer Res Treat*. 2019;18:1533033819867354. doi:10.1177/1533033819867354 [PubMed]
3. Chen L, Shen H, Suh BI. Antibacterial dental restorative materials: a state-of-the-art review. *Am J Dent*. 2012;25(6):337-346. Pmid: 23409624
4. Imazato S, Ma S, Chen JH, *et al*. Therapeutic polymers for dental adhesives: loading resins with bio-active components. *Dent Mater*. 2014;30(1):97-104. doi:10.1016/j.dental.2013.06.003 [PubMed]
5. Zhou W, Liu S, Zhou X, *et al*. Modifying adhesive materials to improve the longevity of resinous restorations. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3):723. Published 2019 Feb 8. doi:10.3390/ijms20030723 [PubMed]
6. Degrazia FW, Leitune VC, Garcia IM, *et al*. Effect of silver nanoparticles on the physicochemical and antimicrobial properties of an orthodontic adhesive. *J Appl Oral Sci*. 2016;24(4):404-410. doi:10.1590/1678-775720160154 [PubMed]
7. Ardestani SS, Bonan RF, Mota MF, *et al*. Effect of the incorporation of silica blow spun nanofibers containing silver nanoparticles (SiO<sub>2</sub>/Ag) on the mechanical, physicochemical, and biological properties of a low-viscosity bulk-fill composite resin. *Dent Mater*. 2021;37(10):1615-1629. doi:10.1016/j.dental.2021.08.012 [PubMed]
8. Moynihan PJ, Kelly SA. Effect on caries of restricting sugars intake: systematic review to inform WHO guidelines. *J Dent Res*. 2014;93(1):8-18. doi:10.1177/0022034513508954 [PubMed]
9. Belli R, Wendler M, Zorzini JI, & Lohbauer U. Practical and theoretical considerations on the fracture toughness testing of dental restorative materials. *Dental Materials*. 2018; 34(1), 97-119. doi: 10.1016/j.dental.2017.11.016 [PubMed]
10. Bapat RA, Joshi CP, Bapat P, *et al*. The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. *Drug Discov Today*. 2019 Jan;24(1):85-98. doi: 10.1016/j.drudis.2018.08.012. [PubMed]

11. DeFrates K, Markiewicz T, Gallo P, *et al.* Protein polymer-based nanoparticles: fabrication and medical applications. *Int J Mol Sci.* 2018 Jun 9;19(6):1717. doi: 10.3390/ijms19061717. [PubMed]
12. Cheng L, Zhang K, Weir MD, *et al.* Effects of antibacterial *primer s* with quaternary ammonium and nano-silver on *Streptococcus mutans* impregnated in human dentin blocks. *Dent Mater.* 2013;29(4):462-472. doi:10.1016/j.dental.2013.01.011 [PubMed]
13. Gutiérrez MF, Malaquias P, Hass V, *et al.* The role of copper nanoparticles in an etch-and-rinse adhesive on antimicrobial activity, mechanical properties and the durability of resin-dentine interfaces. *J Dent.* 2017;61:12-20. doi:10.1016/j.jdent.2017.04.007 [PubMed]
14. Li Y, Hu X, Xia Y, *et al.* Novel magnetic nanoparticle-containing adhesive with greater dentin bond strength and antibacterial and remineralizing capabilities. *Dent Mater.* 2018;34(9):1310-1322. doi:10.1016/j.dental.2018.06.001[PubMed]
15. Garcia-Contreras R., Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R., *et al.* Mechanical, antibacterial and bond strength properties of nano-titanium-enriched glass ionomer cement. *J Appl Oral Sci.* 2015; 23, 321-328. doi: 10.1590/1678-775720140496 [PubMed]
16. Elsaka SE, Hamouda IM, Swain MV. Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: influence on physical and antibacterial properties. *J Dent.* 2011;39(9):589-598. doi:10.1016/j.jdent.2011.05.006 [PubMed]
17. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009;6(7):e1000097. doi:10.1371/journal.pmed.1000097 [PubMed]
18. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, *et al.* Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016;5(1):210. Published 2016 Dec 5. doi:10.1186/s13643-016-0384-4 [PubMed]
19. Soveral M, Machado V, Botelho J, *et al.* Effect of resin infiltration on enamel: a systematic review and meta-analysis. *J Funct Biomater.* 2021;12(3):48. Published 2021 Aug 16. doi:10.3390/jfb12030048 [PubMed]
20. Andrade C. Mean difference, standardized mean difference (smd), and their use in meta-analysis: as simple as it gets. *J Clin Psychiatry.* 2020;81(5):20f13681. Published 2020 Sep 22. doi:10.4088/JCP.20f13681 [PubMed]

21. Melo MA, Cheng L, Weir MD, *et al.* Novel dental adhesive containing antibacterial agents and calcium phosphate nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013;101(4):620-629. doi:10.1002/jbm.b.32864 [PubMed]
22. Mariel MH, Centeno SR, Sánchez MW, *et al.* Eficacia antimicrobiana del primer ortodóncico adicionado con nanopartículas de plata. Estudio transversal *in vitro* [Antimicrobial efficacy of orthodontic primer added with silver nanoparticles. Cross-sectional *in vitro* study]. *Invest Clin.* 2016;57(4):321-329. Pmid:2993880 [PubMed]
23. Zhang K, Li F, Imazato S, *et al.* Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013;101(6):929-938. doi:10.1002/jbm.b.32898 [PubMed]
24. Li F, Weir MD, Chen J, *et al.* Comparison of quaternary ammonium-containing with nano-silver-containing adhesive in antibacterial properties and cytotoxicity. *Dent Mater.* 2013;29(4):450-461. doi:10.1016/j.dental.2013.01.012 [PubMed]
25. Zhang N, Chen C, Weir MD, *et al.* Antibacterial and protein-repellent orthodontic cement to combat biofilms and white spot lesions. *J Dent.* 2015;43(12):1529-1538. doi:10.1016/j.jdent.2015.09.006 [PubMed]
26. Wang X, Wang B, Wang Y. Antibacterial orthodontic cement to combat biofilm and white spot lesions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015;148(6):974-981. doi:10.1016/j.ajodo.2015.06.017 [PubMed]
27. Porter GC, Tompkins GR, Schwass DR, *et al.* Anti-biofilm activity of silver nanoparticle-containing glass ionomer cements. *Dent Mater.* 2020;36(8):1096-1107. doi:10.1016/j.dental.2020.05.001 [PubMed]
28. Neves PB, Agnelli JA, Kurachi C, *et al.* Addition of silver nanoparticles to composite resin: effect on physical and bactericidal properties *in vitro*. *Braz Dent J.* 2014;25(2):141-145. doi:10.1590/0103-6440201302398 [PubMed]
29. [Dataset] Agnelli PB. Redução do biofilme de *Streptococcus mutans* sobre um material restaurador dentário modificado com nanopartículas de prata estudo *in vitro*. Repositório UFSCAR. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo 2011.
30. Dutra-Correa M, Leite AABV, Cara SPHM, *et al.* Antibacterial effects and cytotoxicity of an adhesive containing low concentration of silver nanoparticles. *J Dent.* 2018;77:66-71. doi:10.1016/j.jdent.2018.07.010 [PubMed]

31. Ren L, Pan Y, Liang Q, *et al.* *In situ* synthesis of dental resin matrix containing silver nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol.* 2019;19(9):5774-5782.  
doi:10.1166/jnn.2019.16507 [PubMed]
32. Lee SJ, Heo M, Lee D, *et al.* Preparation and characterization of antibacterial orthodontic resin containing silver nanoparticles. *Applied Surface Science.* 2018;432, 317-323. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.04.030> [Google Scholar]
33. Paiva L, Fidalgo TKS, Costa LP, *et al.* Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *J Dent.* 2018;69:102-109. doi:10.1016/j.jdent.2017.12.003 [PubMed]
34. Enan ET, Ashour AA, Basha S, *et al.* Antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles, amoxicillin, and glass-ionomer cement against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. *Nanotechnology.* 2021;32(21):10.1088/1361-6528/abe577. Published 2021 Mar 3. doi:10.1088/1361-6528/abe577 [PubMed]
35. Yassaei S, Nasr A, Zandi H, *et al.* Comparison of antibacterial effects of orthodontic composites containing different nanoparticles on *Streptococcus mutans* at different times. *Dental Press J Orthod.* 2020;25(2):52-60. doi:10.1590/2177-6709.25.2.052-060.oar [PubMed]
36. Yang Y, *et al.* Application of silver nanoparticles *in situ* synthesized in dental adhesive resin. *Int J Adhes Adhes.* 2021;108: 102890.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2021.102890> [Google Scholar]
37. Ai M, Du Z, Zhu S, *et al.* Composite resin reinforced with silver nanoparticles-laden hydroxyapatite nanowires for dental application. *Dent Mater.* 2017;33(1):12-22.  
doi:10.1016/j.dental.2016.09.038 024 [PubMed]
38. Ghorbanzadeh R, Pourakbari B, Bahador A. Effects of Baseplates of Orthodontic Appliances with *in situ* generated Silver Nanoparticles on Cariogenic Bacteria: A Randomized, Double-blind Cross-over Clinical Trial. *J Contemp Dent Pract.* 2015;16(4):291-298. Published 2015 Apr 1. doi:10.5005/jp-journals-10024-1678 [PubMed]
39. Ionescu AC, Brambilla E, Travan A, *et al.* Silver-polysaccharide antimicrobial nanocomposite coating for methacrylic surfaces reduces *Streptococcus mutans* biofilm formation *in vitro*. *J Dent.* 2015;43(12):1483-1490. doi:10.1016/j.jdent.2015.10.006 [PubMed]

40. Aguilar PD, Vargas CR, Cervantes UJM, *et al.* Antibacterial activity of a glass ionomer cement doped with copper nanoparticles. *Dent Mater J.* 2020;39(3):389-396. doi:10.4012/dmj.2019-046 [PubMed]
41. [Dataset] Aguilar PDA. Evaluación de las propiedades físico químicas, mecánicas y adhesivas de un cemento de ionómero de vidrio modificado con nanopartículas de cobre como agente antibacterial. Repositorio CICY. Mérida Yucatán, México, Enero. 2020; 1003/ 1648.
42. Gutiérrez MF, Bermudez J, Dávila-Sánchez A, *et al.* Zinc oxide and copper nanoparticles addition in universal adhesive systems improve interface stability on caries-affected dentin. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019;100:103366. doi:10.1016/j.jmbbm.2019.07.024 [PubMed]
43. Argueta-Figueroa L, Scougall-Vilchis RJ, Morales-Luckie RA, *et al.* An evaluation of the antibacterial properties and shear bond strength of copper nanoparticles as a nanofiller in orthodontic adhesive. *Aust Orthod J.* 2015;31(1):42-48.
44. Torres-Rosas R, Torres-Gómez N, García-Contreras R, *et al.* Copper nanoparticles as nanofillers in an adhesive resin system: An *in vitro* study. *Dent Med Probl.* 2020;57(3):239-246. doi:10.17219/dmp/121973
45. [Dataset] Dias BH. Antibacterial, physical and mechanical properties of a composite resin modified with ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles, pure and decorated with silver, obtained by different syntheses. Repositório UNESP. Faculdade de Odontologia de Araraquara, São Paulo. 2017; 14012015-151052.
46. Dias HB, Bernardi MIB, Bauab TM, *et al.* Titanium dioxide and modified titanium dioxide by silver nanoparticles as an anti biofilm filler content for composite resins. *Dent Mater.* 2019;35(2):e36-e46. doi:10.1016/j.dental.2018.11.002 [PubMed]
47. Hamid N, Telgi RL, Tirth A, *et al.* Titanium dioxide nanoparticles and cetylpyridinium chloride enriched glass-ionomer restorative cement: a comparative study assessing compressive strength and antibacterial activity. *J Clin Pediatr Dent.* 2019;43(1):42-45. doi:10.17796/1053-4625-43.1.8 [PubMed]
48. [Dataset] Smitha RR. An *in vitro* study to evaluate the antibacterial property and shear bond strength of an orthodontic adhesive combined with two different nanoparticles. Repository The Tamil Nadu MGR Medical University. Sree Mookambika Institute of Dental Sciences, Kulasekharam. 2016; 629161.

49. Nguyen TMT, Wang PW, Hsu HM, *et al.* Dental cement's biological and mechanical properties improved by ZnO nanospheres. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;97:116-123. doi:10.1016/j.msec.2018.12.007 [PubMed]
50. Javed R, Rais F, Fatima H, *et al.* Chitosan encapsulated ZnO nanocomposites: Fabrication, characterization, and functionalization of bio-dental approaches. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;116:111184. doi:10.1016/j.msec.2020.111184 [PubMed]
51. Angel VN, Silvero CMJ, Sainz AM, *et al.* Novel Antibacterial Resin-Based Filling Material Containing Nanoparticles for the Potential One-Step Treatment of Caries. *J Healthc Eng.* 2019;2019:6367919. Published 2019 Mar 13. doi:10.1155/2019/6367919 [PubMed]
52. Chen J, Zhao Q, Peng J, *et al.* Antibacterial and mechanical properties of reduced graphene-silver nanoparticle nanocomposite modified glass ionomer cements. *J Dent.* 2020;96:103332. doi:10.1016/j.jdent.2020.103332 [PubMed]
53. Wu Z, Xu H, Xie W, *et al.* Study on a novel antibacterial light-cured resin composite containing nano-MgO. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020;188:110774. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.110774 [PubMed]
54. Liao C, Li Y, Tjong SC. Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan 21;20(2):449. doi: 10.3390/ijms20020449. PMID: 30669621; PMCID: PMC6359645. [PubMed]
55. Ge L, Li Q, Wang M, *et al.* Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:2399-2407. Published 2014 May 16. doi:10.2147/IJN.S55015 [PubMed]
56. Lin JJ, Lin WC, Dong RX, *et al.* The cellular responses and antibacterial activities of silver nanoparticles stabilized by different polymers. *Nanotechnology.* 2012;23(6):065102. doi:10.1088/0957-4484/23/6/065102 [PubMed]
57. Marambio-Jones C, Hoek E. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010;12(5), 1531-1551. <https://doi.org/10.1007/s11051-010-9900-y> [Google Scholar]
58. Lopes CMCDF, Schubert EW, Reis A, *et al.* Analysis of the hardness of a new restorative material for ART: Glass Carbomer. *Revista de Odontologia da UNESP.* 2016;45, 65-70. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.10915>[Google Scholar]

59. Mallya PL, Acharya S, Ballal V, *et al.* Profilometric study to compare the effectiveness of various finishing and polishing techniques on different restorative glass ionomer cements. *J. Interdiscip. Dent.* 2013;3(2), 86. doi: 10.4103/2229-5194.126867 [Google Scholar]
60. Rastelli ANS, Jacomassi DP, Bagnato VS. Effect of power densities and irradiation times on the degree of conversion and temperature increase of a microhybrid dental composite resin. *Laser Physics.* 2008;18(9), 1074-1079.  
<https://doi.org/10.1134/S1054660X08090132> [Google Scholar]

### 3.2 CAPÍTULO 2

#### **EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE E PRATA EM PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS, COR, RUGOSIDADE E TEMPO DE PRESA DE CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO**

Laís Aragão Lima (laisaragaoo@hotmail.com, 0000-0002-1934-9603)<sup>1</sup>

Wanessa Fernandes Matias Regis (wanessaregis1@gmail.com, 0000-0002-1934-9603)<sup>1</sup>

Ruan Luzeiros Lima (ruanlouzeirolima@gmail.com, 0000-0002-2569-1640)<sup>1</sup>

Victor Teixeira Noronha (victor.noronha@fisica.ufc.br, 0000-0002-9643-5812)<sup>2</sup>

Amauri Jardim de Paula (amaurijp@fisica.ufc.br, 0000-0002-3113-2597)<sup>3</sup>

Fernanda Freitas Sousa (fernanda.freitas.sousa@hotmail.com, 0000-0003-2136-2409)<sup>4</sup>

Paulo Goberlânio Barros Silva (paulo\_goberlanio@yahoo.com.br, 0000-0002-1513-9027)<sup>4</sup>

Rafael Melo Freire (Rafael.m.freire@gmail.com), 0000-0002-0914-4962)<sup>5</sup>

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues (lidianykarla@ufc.br, 0000-0001-8060-8531)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

<sup>3</sup>Ilum Escola de Ciências, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais, Campinas, São Paulo, Brasil

<sup>4</sup>Centro Universitário Christus, Fortaleza, Ceará, Brasil

<sup>5</sup>Instituto de Pesquisa Agropecuária, La Platina, Santiago, Chile

**Resumo**

O uso de nanopartículas foi introduzido com o intuito de melhorar a eficácia restauradora dos materiais dentários, atuando em suas propriedades antimicrobianas e físicas. Este estudo investigou o potencial antimicrobiano, a inibição da formação de biofilmes duo-espécies *in vitro* de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* e a rugosidade de superfície, a variação de cor e o tempo de presa de um cimento de ionômero de vidro (CIV) incorporado com nanopartículas de cobre e prata (CuAgNP), em três concentrações diferentes: CIV 0,01 % CuAgNP, CIV 0,05% CuAgNP e CIV 0,1% CuAgNP; além do CIV inalterado. Biofilmes duo-espécies foram crescidos sobre espécimes do material em meio de cultura, por 72 h. Foram coletados e semeados em ágar *Mitis Salivarius*-Bacitracina (MSB) e ágar *Sabouraud* Dextrose (ASD). Foi realizada a análise da viabilidade bacteriana e do peso seco. Foram analisadas a rugosidade de superfície, a variação de cor e o tempo de presa dos materiais. Os testes Kolmogorov-Smirnov, ANOVA e Tukey foram realizados com os dados das análises antibacterianas e físicas. Observou-se que a incorporação das CuAgNP no CIV não apresentou um efeito antimicrobiano significativo e proporcionou piora nas propriedades de rugosidade de superfície, variação de cor e tempo de presa do material. A incorporação de CuAgNP não conferiu melhorias ao desempenho do CIV estudado.

**Palavras-chave:** Cárie dentária; Antimicrobianos; Nanopartículas Metálicas; Biofilmes; Materiais dentários.

## Introdução

A cárie dentária é um distúrbio progressivo, decorrente do consumo de açúcar, caracterizada pela desmineralização dos substratos dentários, resultante da disbiose na microbiota presente no biofilme dentário [1].

O microbioma oral está em contínua interação com fatores ambientais e de seu hospedeiro, permanecendo estável e sob condições homeostáticas [2]. No entanto, alterações ambientais podem levar à ocorrência de biofilmes disbióticos, o que pode ser um fator causador de doenças bucais, como cárie dentária e periodontite [3]. Para que ocorra esse desequilíbrio, fatores como a ação de bactérias acidogênicas, a inibição da função salivar, a frequência de ingestão de carboidratos fermentáveis, em especial a sacarose, e a consequente queda do pH salivar devem se sobressair aos fatores protetores [4]. Com o desequilíbrio desses fatores, se não houver intervenção, o biofilme dental disbiótico progride, levando à perda das estruturas dentárias [5].

O biofilme cariogênico é composto por diversos microrganismos, sendo o *Streptococcus mutans* o microrganismo relacionado à cárie mais estudado [6]. Esse protagonismo acontece por sua capacidade de produzir ácidos orgânicos que ocasionam a queda do pH e a virulência do biofilme [7], bem como por produzir polissacáridos, contribuindo com a composição da matriz [8]. Embora o *S. mutans* tenha sido considerado a principal espécie cariogênica, evidências recentes atribuem um papel potencial também importante à espécie fúngica *Candida albicans*, via interações com *S. mutans* [9-11]. Portanto, o desenvolvimento de estratégias anticárie que foquem no controle dessas duas espécies microbianas pode ser uma ferramenta promissora na inibição da doença.

Por sua peculiar capacidade de liberação de fluoretos (íon reconhecidamente relevante no controle da cárie dentária), os cimentos de ionômero de vidro têm sido apontados como materiais de escolha para o tratamento de lesões cariosas em pacientes com alta atividade e risco de cárie. Outras propriedades – como adesão química aos tecidos dentários, baixo coeficiente de expansão térmica, estética aceitável e boa compatibilidade biológica – contribuem para o bom desempenho clínico desses materiais [12, 13]. Entretanto, apresentam baixa resistência ao desgaste, baixa tenacidade à fratura e alta dissolução na absorção de água, resultando em porosidade da superfície, o que pode levar ao crescimento e acúmulo de bactérias, cáries adjacentes às restaurações e, eventualmente, falha da restauração [14]. Em adição, não há evidências científicas que mostrem que esse material, mesmo liberando

fluoretos, tenha capacidade de combater um dos fatores essenciais para o desenvolvimento de lesões de cárie, o biofilme dentário [15].

O crescente estudo de nanotecnologias desperta cada vez mais o interesse nas ciências médicas e odontológicas, pelo poder de alterar as propriedades químicas, físicas, ópticas, elétricas e mecânicas de substâncias. As nanopartículas consistem em materiais que possuem propriedades químicas e mecânicas superiores às usadas em uma maior escala, segundo Richard Feynman [16].

Nesse sentido, tais partículas podem aumentar as propriedades mecânicas dos materiais [14,15] e esforços também são realizados para combater a invasão e o crescimento bacteriano, como a incorporação de agentes antibacterianos nos materiais. Estudos prévios relatam estratégias preventivas e terapêuticas para a cárie dentária, por meio da incorporação de nanopartículas, com o intuito de reduzir e controlar a formação de biofilmes dentários, melhorando as propriedades antibacterianas dos materiais [17].

Nanopartículas metálicas têm se mostrado agentes promissores, apresentando propriedades antibacterianas que exibem maior atividade química e eficácia de biocidas [20]. A incorporação de nanopartículas de prata em cimento resinoso e adesivos dentários mostrou alta atividade antimicrobiana, como também melhorou as propriedades mecânicas e adesivas desses materiais [18,19]. Adicionalmente, nanopartículas de cobre (CuNP) e prata (AgNP) (CuAgNP) [21-24] tem atraído bastante interesse por suas propriedades antimicrobianas. O cobre apresenta atividade antibacteriana [25] e, além de possuir superior atividade antimicrobiana, é mais barato e mais disponível que a prata [26]. Estudos mostraram que o cobre tem a capacidade de inibir na dentina a MMP-2 e estimular a secreção de inibidores teciduais das MMPs, causando menor padrão de degradação na interface resina/dentina [27,28].

Desse modo, a compreensão das propriedades antibacteriana e física do cimento de ionômero de vidro e a incorporação de nanopartículas metálicas são relevantes para melhorias terapêuticas direcionadas à cárie dentária. Nessa perspectiva, o presente estudo tem como objetivo avaliar *in vitro* o efeito antimicrobiano e as propriedades físicas – como variação de cor, tempo de presa, rugosidade de superfície – da incorporação de CuAgNP em um cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado.

## **Materiais e Métodos**

### **Tipo de estudo**

Trata-se de um estudo quantitativo, do tipo investigação experimental ou *in vitro*. Os procedimentos laboratoriais foram executados nos Laboratórios de Pesquisa e Microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem e no Laboratório de Física do Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará.

### **Preparação e síntese das nanopartículas de cobre e de prata**

As nanopartículas foram sintetizadas a partir da mistura de 0,25 mmol de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ , 0,25 mmol de  $\text{AgNO}_3$  e 10 ml de OAm (oleilamina), que foram inicialmente misturados a  $27^\circ\text{C}$ . Posteriormente, a solução foi transferida para um balão de vidro de três bocas e a temperatura aumentada até  $300^\circ\text{C}$ , por 1 h, sob atmosfera de nitrogênio. No final desse período, a fonte de calor foi removida e a dispersão naturalmente resfriada. Finalmente, as nanopartículas foram separadas por centrifugação, lavadas e re-dispersas em hexano, para posterior caracterização [29].

As nanopartículas de cobre e prata (CuAgNP) foram incorporadas ao pó do CIV quimicamente ativado Gold Label 9 (Cor A3, Lote: 1801101; GC Corporation, Tóquio, Japão), de acordo com os grupos experimentais, em três concentrações diferentes: 0,01%, 0,05% e 0,1% (m/m). Em seguida, o sistema foi misturado manualmente por uma espátula, até todo o solvente orgânico, hexano, evaporar.

### **Delineamento Experimental**

Foram utilizados espécimes em formato de discos (2 mm de diâmetro e 2 mm de altura), sendo utilizadas três unidades amostrais em cada grupo, por triplicata. Os grupos estudados estão descritos na Tabela 1. Na Tabela 2, está descrita a especificação do material testado.

**Tabela 1.** Concentrações utilizadas por grupo

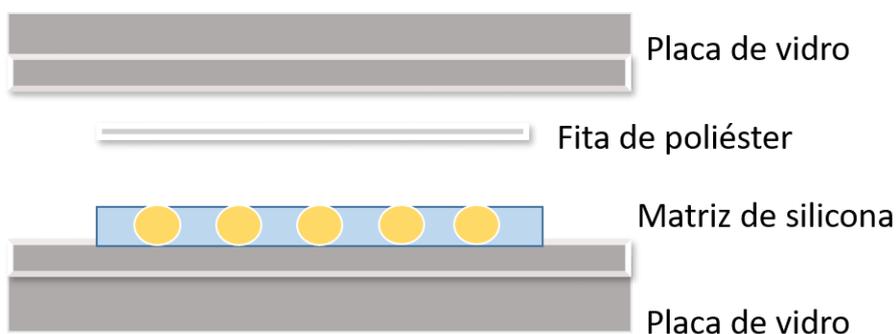
| GRUPOS              | DESCRIÇÃO  |
|---------------------|--|
| CIV inalterado      | CIV Convencional   |
| CIV + 0,01 % CuAgNP | CIV Convencional com 0,01 % (m/m) de nanopartículas de cobre e prata |
| CIV + 0,05 % CuAgNP | CIV Convencional com 0,05 % (m/m) de nanopartículas de cobre e prata |
| CIV + 0,1 % CuAgNP  | CIV Convencional com 0,1 % (m/m) de nanopartículas de cobre e prata  |

**Tabela 2.** Composição do CIV testado

| CIV                          | COMPOSIÇÃO  | FABRICANTE                    | CLASSIFICAÇÃO    |
|------------------------------|---|-------------------------------|------------------|
| Gold Label 9 (Lote: 1801101) | Pó: vidro silicato de flúor-alumínio e ácido poliacrílico em pó<br>Líquido: ácido poliacrílico e água destilada | GC Corporation, Tóquio, Japão | Alta viscosidade |

### Preparo dos Espécimes

Os cimentos foram dispensados em placa de vidro, pó e líquido, e manipulados por uma espátula simples nº 36 (Golgran, São Paulo, SP, Brasil), de acordo com as especificações do fabricante e de acordo com os grupos experimentais. Em seguida, foram colocados em uma matriz de silicona com poços em formato circular sobre uma nova placa de vidro e, então, pressionados por uma fita de poliéster para padronização em (2 mm x 2 mm), conforme mostra a figura 1. Os espécimes foram removidos da matriz após 15 min e armazenados por 24 h, em ambiente úmido, aguardando-se o tempo de presa total do material. Os excedentes foram retirados com a ajuda de uma lâmina de bisturi nº 15. Posteriormente os espécimes foram expostos à luz ultravioleta (que consiste em um processo físico de esterilização) e somente foram introduzidos no modelo microbiológico de indução da formação de biofilme após esse período.



**Figura 1.** Preparo dos espécimes

### Preparação de inóculo de *S. mutans* e *C. albicans*

Neste estudo, foram utilizadas cepas de referência de *Candida albicans* (ATCC40119) e *Streptococcus mutans* (UA159) mantidas em freezer a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As células de *C. albicans* e *S. mutans*, mantidas em estoque de glicerol, foram descongeladas e cultivadas por 18h a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  em 10 ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) + glicose. Após as colônias (5-10 colônias de *S. mutans* e 5 colônias de *C. albicans*) estriarem, foram transferidas para caldo de cultura tripton caseína soja, suplementado com extrato de leveduras (TSB + EL) (Difco Detroit, Michigan, USA), em proporção de 1:20 de microrganismos para meio por volume, suplementado com 1% de sacarose, crescidos por 18 h em uma atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$  (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, Massachusetts, EUA). Após esse período, foi realizado o ajuste do meio de acordo com a escala de Mc Farland [30].

### Desenvolvimento de biofilme *in vitro*

Para a formação de biofilme de espécies mistas, aproximadamente  $10^6$  UFC/ml de células de levedura de *C. albicans* e  $10^8$  UFC de células de *S. mutans* foram diluídas em caldo TSB, suplementado com extrato de leveduras, contendo 1% peso/volume (p/v) de sacarose. Os biofilmes foram formados na superfície dos espécimes imersos em 2ml do meio de cultura TSB + EL, em placas de 24 poços (Biofil TCP011024, Guangdong, Mainland, China) de fundo plano, estéreis. A inoculação das cepas foi realizada uma única vez, no primeiro dia do experimento, e a placa foi incubada em estufa bacteriológica com 5% de  $\text{CO}_2$ , a  $37^{\circ}\text{C}$ , durante 3 dias (72 h). O meio de cultura foi trocado a cada 24 h e cada poço lavado com NaCl 0,89%, para remoção do biofilme aderido fracamente [31].

### **Coleta do biofilme**

No terceiro dia, foi realizada a coleta do biofilme formado na superfície dos espécimes, utilizando uma espátula Hollembach 3S estéril para removê-lo. Posteriormente, foram colocados em microtubos tipo eppendorf (Prolab, São Paulo, SP, Brasil), com solução salina NaCl a 0,89% e sonicados em sonicador de alta potência (Branson Ultrasonics 250, USA), por três pulsos de 15 s. Foi então realizada a diluição em série decimal (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1.000.000 e 1:10.000.000) e a semeadura em ágar Sabouraud dextrose (Kasvi, São Paulo, SP, Brasil) para *C. albicans* e em ágar Mitis salivarius-bacitracin (Prolab, São Paulo, SP, Brasil) para *S. mutans*. As placas foram incubadas em estufa por 48 h.

### **Contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC)**

Após 48 h de incubação, a viabilidade celular bacteriana foi mensurada pela contagem de UFC e os valores finais foram expressos em UFC/ml/mg de biofilme.

### **Análise do Peso Seco**

Para a determinação do peso seco de biofilme, no terceiro dia, em uma proporção de 1:3 de etanol frio 99,9% (-20 °C) e alíquotas de suspensão de biofilme, foram adicionados em microtubos tipo eppendorfs pré-pesados e armazenados a -20 °C. Após 24 h, as suspensões foram homogeneizadas, utilizando um agitador vortex (Biomixer QL-901, São Paulo, SP, Brasil). Posteriormente, foram centrifugadas a 10.000 g, durante 10 min, a 4 °C (modelo: 5418, Eppendorf SE, São Paulo, Brasil). O sobrenadante foi descartado e 500 µl de etanol a 70% foram adicionados. Em seguida, a suspensão foi novamente homogeneizada em vortex, centrifugada por 5 min, e o precipitado foi armazenado em dissecadora para, passadas 72 h, ser pesado em balança com precisão (Auw220D, Shimadzu, Tóquio, Japão) [32,33].

### **Análise da Rugosidade de Superfície**

Três novos espécimes em forma de disco (10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura) foram preparados para cada grupo, em triplicata, em um molde de silicona. O molde de silicona foi colocado em uma placa de vidro com uma matriz de poliéster sobre ele. Os corpos de prova foram analisados quanto ao seu padrão de rugosidade de superfície, por meio do rugosímetro Hommel Tester T 1000 (Hommelwerke, GmbH, AlteTuttingerStrebe 20 D-7730 VS, Schwenningen, Alemanha). A ponta sensora de 1,6 µm de diâmetro realiza traçados em

uma velocidade de 0,100 mm/s, totalizando 3 leituras por corpo de prova. Mensurações foram realizadas através do parâmetro que se baseia em medida vertical ( $Ra/\mu\text{m}$ ) [34].

### **Tempo de Presa**

Espécimes (5 mm diâmetro x 2 mm espessura) foram confeccionados para determinar o tempo de presa dos espécimes de cada grupo ( $n=3$ ). Os testes foram realizados como indicado no padrão das especificações ISO 9917-1 [35]. Após a mistura, o material foi dispensado em uma matriz de silicone e, logo após, um penetrador com agulha de massa  $400\text{ g} \pm 5\text{ g}$  e extremidade plana de diâmetro  $1,0 \pm 0,1\text{ g}$  foi introduzido verticalmente na superfície do espécime durante 5 s. As penetrações foram repetidas em intervalos de 10 s, até que a agulha não conseguisse mais marcar o material. Com o intuito de padronizar os movimentos, adaptou-se o penetrador a um delineador, para não mudança na angulação, mantendo-o sempre na mesma direção. O tempo de presa foi determinado como sendo o tempo entre o instante do fim da mistura e o instante em que o penetrador não marcou mais [36].

### **Variação de Cor**

Para registrar a cor de cada espécime (10 mm x 1 mm), foi utilizado um espectrofotômetro digital portátil (VITA Easyshade; VITA ZahnfabrikH. RauterGmbH&Co, BadSäckingen, Alemanha). A ponta da sonda foi posicionada a  $90^\circ$ , ou seja, perpendicular à superfície do espécime, a fim de padronizar o local de avaliação e evitar a luz ambiente. Posteriormente, o dispositivo foi alinhado, incorporando as amostras e a ponta da sonda em silicone de condensação de alta viscosidade (Clonagem; DFL, Rio de Janeiro, Brasil). Os corpos-de-prova foram posicionados contra um fundo branco não reflexivo. Em uma área central do espectrofotômetro, três medidas foram realizadas e o valor médio dos parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (vermelho-verde) e  $b^*$  (amarelo-azul) foi aplicado na fórmula CIEDE2000 ( $\Delta E_{00}$ ) [37], possibilitando a detecção de diferenças de cores decorrentes dos grupos experimentais. Os fatores KL (brilho), KC (croma) e KH (matiz) foram definidos como 1 para ajuste da fórmula  $\Delta E_{00}$ . Foi considerado  $\Delta E_{00} = 1,30$  como limite de perceptibilidade e  $\Delta E_{00} = 2,25$  como limite de aceitabilidade clínica [38].

### **Análise da incorporação das nanopartículas de Cu e Ag ao CIV**

A fim de analisar a incorporação de nanopartículas no pó do material, foi realizada uma radiação eletromagnética na região do infravermelho sobre as amostras de CIV, de acordo com os respectivos grupos, havendo absorção dessa radiação pela amostra, obtendo-se um espectro de infravermelho, o qual apresenta picos e/ou bandas de absorção característicos do composto analisado pelo Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) (Thermo Scientific Nicolet 6700 (Madison, EUA)).

### **Análise Estatística**

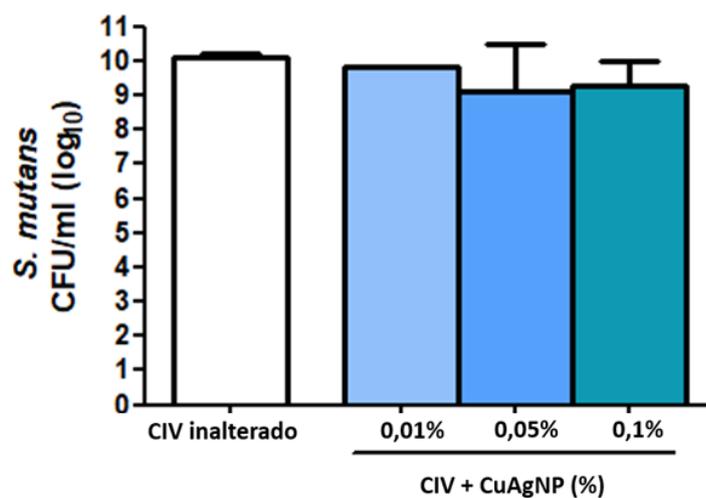
Os resultados de UFC foram transformados para logaritmo na base dez e foram calculados médias e desvios padrões de cada grupo experimental. Os dados foram analisados utilizando o programa estatístico SSP GraphPrism 5.0,  $p < 0,05$ , para análise dos dados. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov (dados paramétricos) e foi realizado o teste ANOVA *OneWay*, seguido do pós-teste de Tukey.

### **Resultados**

#### **Atividade Antibacteriana**

#### **Contagem das Unidades Formadoras de Colônias de *S. mutans***

Na análise dos dados para efeito antibacteriano, determinado através da contagem de UFC, notou-se, através da média e do desvio padrão, que não houve redução de *S. mutans* no biofilme crescido na superfície de CIV nanoparticulado com CuAgNP a 0,01 % ( $9,810 \pm 0,017$ ), a 0,05% ( $9,137 \pm 1,344$ ) e a 0,1 % ( $9,257 \pm 0,726$ ), quando comparado ao grupo inalterado ( $10,08 \pm 0,130$ ), como observado no gráfico 1.

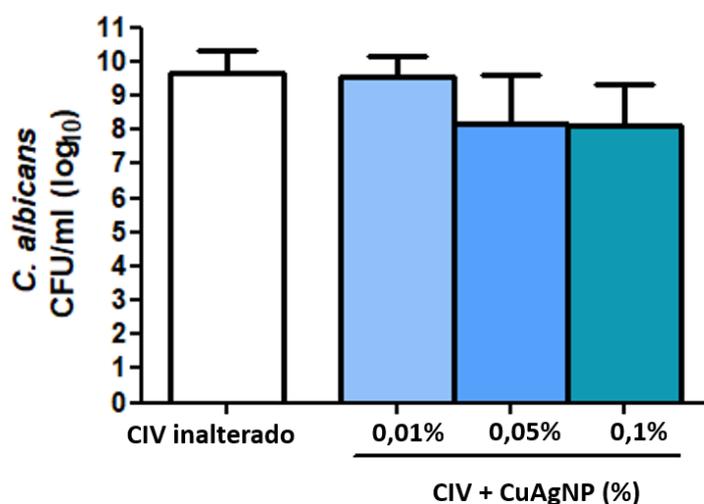


**Gráfico. 1** Média e desvio-padrão das unidades formadoras de colônias de *S. mutans* em relação aos diferentes grupos testados.

### Contagem das Unidades Formadores de Colônias de *S. mutans*

Na análise dos dados para efeito antibacteriano, determinado através da contagem de UFC, observou-se que não houve redução de *C. albicans* no biofilme crescido na superfície de CIV nanoparticulado com CuAgNP a 0,01 % ( $9,577 \pm 0,575$ ), a 0,05 % ( $8,187 \pm 1,423$ ) e a 0,1 % ( $8,113 \pm 1,229$ ), quando em comparação ao grupo inalterado ( $9,680 \pm 0,636$ ), como observado no gráfico 2.

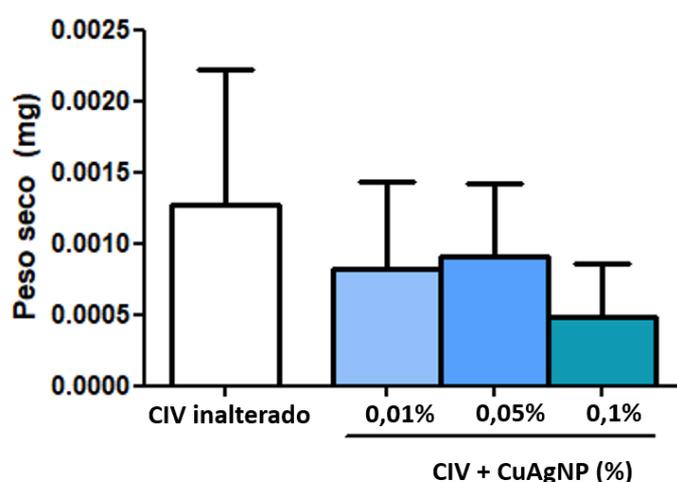
Ademais, mesmo com uma redução numérica na contagem de *C. albicans*, não foi observada diferença estatisticamente significante entre os grupos testados e o grupo inalterado ( $p = 0,184$ ), não apresentando efeito antimicrobiano contra as células de *C. albicans*.



**Gráfico 2.** Média e desvio padrão das unidades formadoras de colônias de *C. albicans*, em relação aos diferentes grupos testados, mostrando que não houve diferença significativa entre os grupos testados de *C. albicans* ( $p = 0,184$ ).

### Análise do peso seco de biofilme

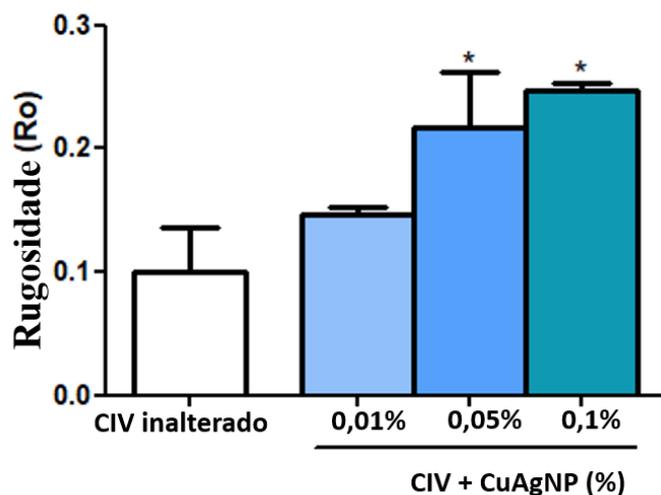
As médias dos valores referentes ao peso seco do biofilme coletado após três dias não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados ( $p = 0,557$ ), como pode ser observado no gráfico 3. No entanto, mesmo sem diferença significativa, houve uma diminuição do peso seco do biofilme no grupo CIV CuAgNP 0,1 % ( $0,0004833 \pm 0,0003807$ ), quando comparado ao grupo inalterado ( $0,001267 \pm 0,0009500$ ).



**Gráfico 3.** Média e desvio padrão do peso seco (mg) do biofilme acumulado pelos respectivos grupos avaliados. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos testados.

### Análise de rugosidade da superfície

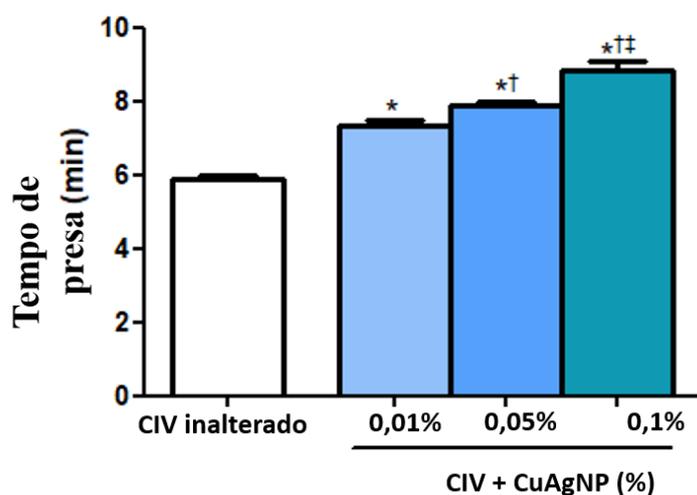
Na análise de rugosidade da superfície, observou-se diferença significativa entre o grupo CIV inalterado e os grupos testes CIV + CuAgNP 0,05 % e CIV + CuAgNP 0,1 % ( $p = 0,001$ ), sendo apresentado um aumento na rugosidade de superfície dos grupos nanoparticulados.



**Gráfico 4.** Média e desvio padrão da análise de rugosidade de superfície, resultando em diferença significativa entre os grupos CIV + CuAgNP 0,05 % e CIV + CuAgNP 0,1 %, quando comparados ao grupo CIV inalterado\*.

### Análise do tempo de presa

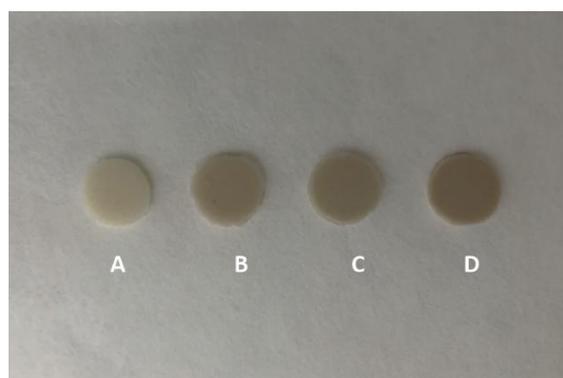
Analisando os dados do tempo de presa, observou-se que houve diferença estatística significativa entre os grupos testes, quando comparados entre si e ao grupo inalterado ( $p < 0,0001$ ). Com o aumento da concentração das nanopartículas CuAgNP, houve um aumento do tempo de presa do material.



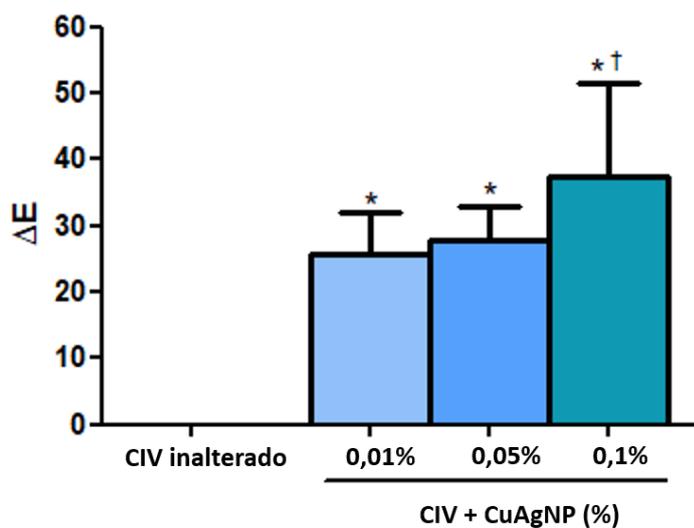
**Gráfico 5.** Média e desvio padrão da análise do tempo de presa, resultando em diferença significativa entre os grupos testes, quando comparados ao grupo CIV inalterado ( $p < 0,0001$ ); mas não houve diferença estatística entre os grupos testes nanoparticulados †.

### Análise da Variação de Cor

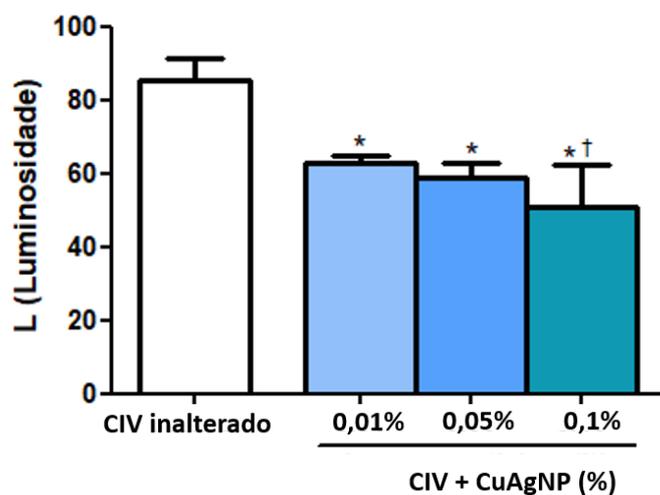
Em relação à variação de cor ( $\Delta E$ ) – calculada a partir dos valores médios dos parâmetros  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (vermelho-verde) e  $b^*$  (amarelo-azul), aplicados na fórmula CIEDE2000 ( $\Delta E_{00}$ ) – observou-se que não houve diferença significativa entre os 3 grupos testes ( $p < 0,001$ ); eles, entretanto, apresentaram diferença estatística quando comparados ao grupo inalterado ( $p = 0,0025$ ), como observado no gráfico 6, pois apresentaram escurecimento dos espécimes, de acordo com o aumento da concentração das nanopartículas, como observado na figura 2.



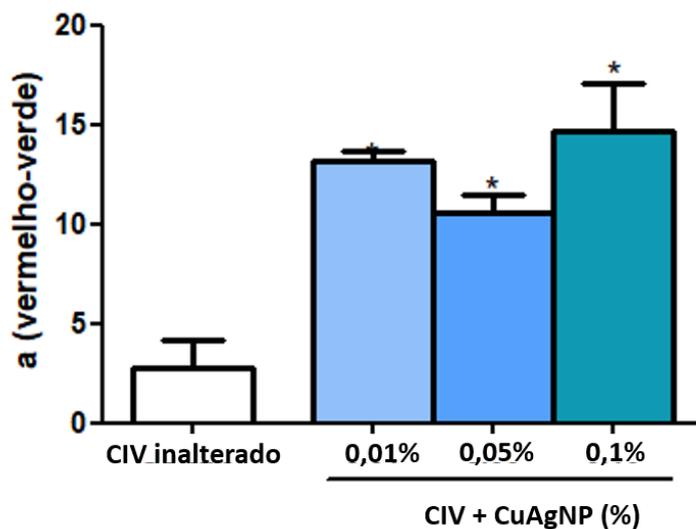
**Figura 2.** Aparência dos espécimes – A (CIV inalterado); B (CIV + CuAgNP 0,01 %); C (CIV + CuAgNP 0,05 %); e D (CIV + CuAgNP 0,1 %).



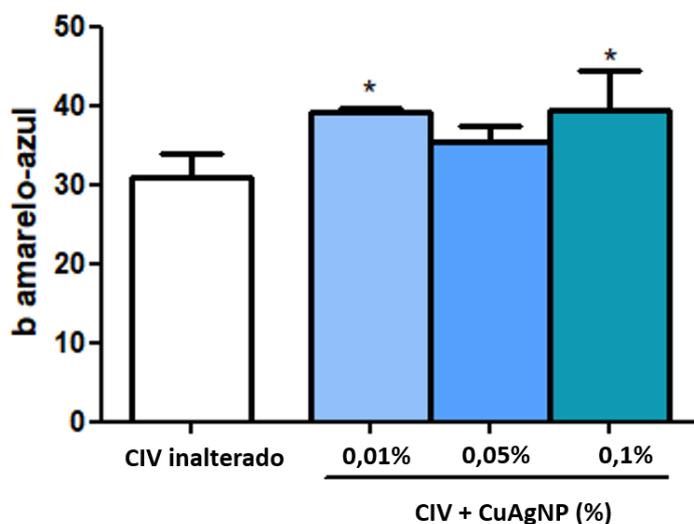
**Gráfico 6.** Média e desvio padrão da análise de variação de cor, valor de  $\Delta E$ , mostrando diferença estatística entre os grupos testes ( $p = 0,0025$ ), quando comparados ao grupo controle. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos testes.



**Gráfico 7.** Média e desvio-padrão da análise dos valores médios do parâmetro  $L^*$  (luminosidade), mostrando que o grupo inalterado apresentou maior luminosidade, maior valor de  $L$ , quando comparado aos grupos testes.



**Gráfico 8.** Média e desvio padrão dos valores médios do parâmetro a\* (vermelho-verde), mostrando que o grupo com maior concentração de nanopartículas (0,1 %,) apresentou maior valor de a e mostrando a diferença estatística dos grupos testes, em relação ao grupo controle.

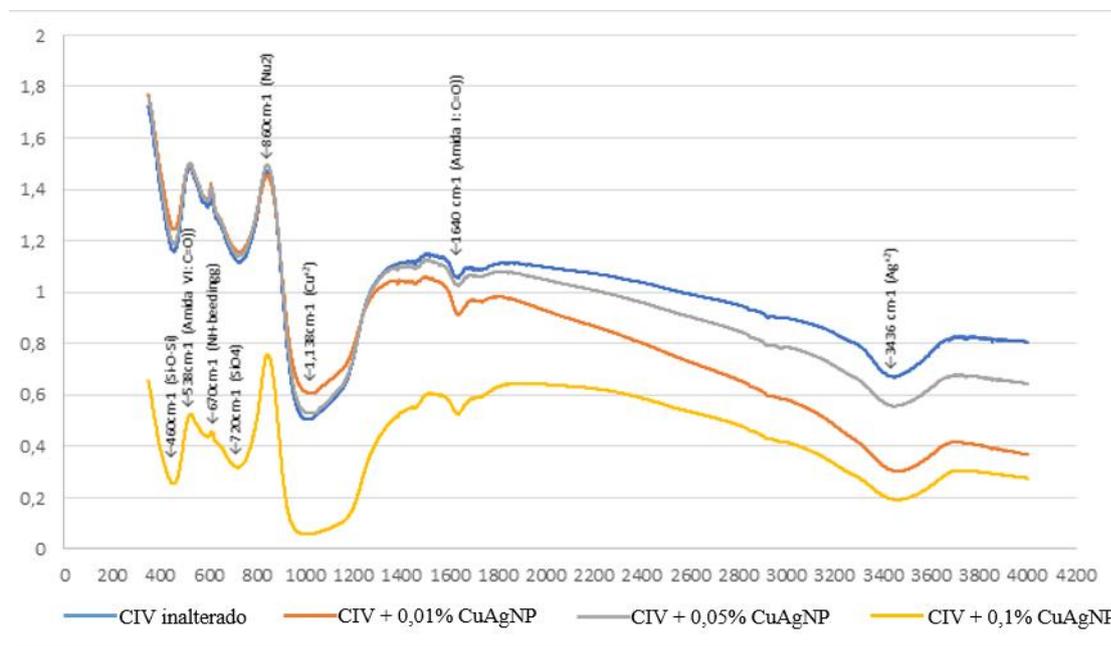


**Gráfico 9.** Média e desvio padrão dos valores médios do parâmetro b\* (amarelo-azul), observando que houve diferença estatística entre os grupos do estudo ( $p = 0,0317$ ).

### **Análise de Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)**

Na análise de absorção das nanopartículas, por meio da análise de FT-IR, observa-se que houve absorção das nanopartículas estudadas no material testado, apresentando picos de AgNP ( $3436 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{Ag}^{+2}$ ), CuNP ( $1,138 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{Cu}^{+2}$ ). Adicionalmente, observam-se possíveis interações químicas decorrentes da incorporação, apresentando picos de hexano ( $860 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{Nu}^2$ ), amida I ( $1640 \text{ cm}^{-1}$  (Amida I: C=O), amida VI ( $538 \text{ cm}^{-1}$  (Amida VI: C=O), ligações

de nitrogênio  $670\text{ cm}^{-1}$  (NH-beedingg), sílica Si-O-Si ( $460\text{ cm}^{-1}$ ) e sílica  $\text{SiO}_4$  ( $720\text{ cm}^{-1}$ ). O gráfico 10 mostra um teor de Ag inferior ao de Cu.



**Gráfico 10.** Picos de absorção das nanopartículas de AgNP ( $3436\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{Ag}^{+2}$ ), CuNP ( $1138\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{Cu}^{+2}$ )). Adicionalmente, picos de hexano ( $860\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{Nu}^2$ ), amida I ( $1640\text{ cm}^{-1}$  (Amida I: C=O), amida VI ( $538\text{ cm}^{-1}$  (Amida VI: C=O), ligações de nitrogênio  $670\text{ cm}^{-1}$  (NH-beedingg), sílica Si-O-Si ( $460\text{ cm}^{-1}$ ) e sílica  $\text{SiO}_4$  ( $720\text{ cm}^{-1}$ ).

## Discussão

A adesão bacteriana e a formação de biofilme na superfície dentária restaurada podem acarretar falha do material, resultante do desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes às restaurações [39]. O cimento de ionômero de vidro apresenta atividade cariostática decorrente da liberação de flúor, uma vez que o íon de fluoreto possui a capacidade de induzir a remineralização, a prevenção da desmineralização do esmalte dentário e a redução do crescimento bacteriano [40]. No entanto, um ensaio clínico observou que cáries adjacentes às restaurações ainda eram a principal consequência de falhas em restaurações com o CIV, considerando a reduzida eficácia antibacteriana da liberação de flúor [41].

Com o progresso da farmacocinética, métodos de incorporação de nanopartículas foram realizados, buscando melhorar a eficácia dos materiais, atuando em suas propriedades química, mecânica, física, elétrica e ótica [16]. As nanopartículas possuem uma composição estrutural que varia entre 1 e 100 nm de diâmetro, atingindo mais de 1.000 nm. As

nanopartículas possibilitam uma melhor relação superfície-volume, proporcionando um aumento da ação antibacteriana, decorrente do contato direto com a parede celular da bactéria [16, 42]. No presente estudo *in vitro*, nanopartículas de cobre e prata foram avaliadas em diferentes concentrações, incorporadas em CIV, buscando aumentar o efeito antimicrobiano deste e não prejudicar suas propriedades físicas. As concentrações de escolha foram baseadas nas mudanças de cores observadas em estudos prévios que incorporaram nanopartículas de prata ou de cobre em CIV e observaram escurecimento na cor do material [43,44].

A incorporação de nanopartículas metálicas em materiais odontológicos busca reduzir significativamente o acúmulo do biofilme na superfície do dente/restauração. Uma vez que o biofilme dental é fundamental no desenvolvimento da cárie dentária e que a sua presença pode acarretar danos à superfície restaurada, estudos que avaliam as modificações no CIV – o desenvolvimento de um material com melhor atividade antibacteriana, sem que haja alterações em suas propriedades físicas – são cada vez mais frequentes [45]. Nessa perspectiva, o presente estudo, *in vitro*, teve como objetivo avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de Ag e Cu concomitantemente, em diferentes concentrações, nas propriedades antimicrobianas e físicas de um CIV quimicamente ativado.

Os resultados do presente estudo mostraram que a incorporação de CuAgNP em CIV não conferiu efeito antimicrobiano relevante contra *S. mutans* e *C. albicans*, pois não foi observada a redução significativa da contagem de UFC ou na mensuração de peso seco dos biofilmes crescidos sobre os espécimes dos grupos testados, quando comparados aos encontrados no grupo controle. Os resultados corroboram com o estudo de Enan e colaboradores (2021) [46], que avaliaram a ação antibacteriana de nanopartículas de prata e amoxicilina incorporadas, sozinhas ou concomitantemente, ao pó do CIV, em concentrações de 0,5% de AgNP e 1,5% de amoxicilina, contra *Staphylococcus aureus* e *S. mutans*. Os autores observaram efetiva atividade antimicrobiana nos discos de CIV, 0,5% de AgNP e 1,5% de amoxicilina. No entanto, os discos confeccionados apenas com o CIV e as AgNP não inibiram o crescimento dos microrganismos de forma significativa. Relata-se que o efeito antimicrobiano presente no grupo CIV, AgNP e amoxicilina foi resultante da destruição da membrana celular [47].

Estudos prévios avaliaram o efeito antibacteriano de espécimes de CIV com a incorporação de nanopartículas de cobre a 1%, 2%, 3% e 4%, relatando eficácia na redução do crescimento em peso de *S. mutans* e *S. sanguinis* entre as concentrações 2 a 4% [48]. Com a incorporação de nanopartículas de Ag, em concentrações de 6, 10 e 24 µg, na fase líquida de

CIV quimicamente ativado (6 µg) e fotopolimerizável (10 e 24 µg), demonstrou-se eficácia na capacidade de reduzir o acúmulo de biofilme de *S. mutans* (72 h), principalmente no grupo com maior concentração de Ag [43]. Entretanto, diferindo dos resultados acima expostos, no presente estudo não foi observada redução significativa da formação de biofilme. Não obstante, ao analisar os dados do peso seco do biofilme do presente estudo, mesmo sem diferença estatística significativa, observa-se uma coerência com os resultados, demonstrando uma redução de biofilme proporcional ao aumento da concentração de nanopartículas, em relação ao grupo CIV inalterado e o grupo CIV CuAgNP 0,1%.

Uma variação significativa foi observada no presente estudo, na cor do CIV contendo CuAgNP, quando comparado ao grupo inalterado; através do espectrofotômetro, observou-se um escurecimento nos espécimes dos grupos modificados. Este resultado corrobora com o estudo de Aguilar-Perez e colaboradores (2020) [48], em que foram incorporadas nanopartículas de Cu a 1%, 2%, 3% e 4% ao cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado (Fuji IX), sendo realizada a análise de variação de cor. Através da inspeção visual, foi observado que os espécimes de CIV Fuji IX modificados com a incorporação de CuNP apresentaram uma coloração laranja que, com o tempo e a exposição ao oxigênio, escureceram. Além disso, em outro estudo prévio que utilizou AgNP incorporadas a diferentes CIVs, observa-se, através do espectrofotômetro, que a tonalidade da cor do CIV tornou-se mais amarela para Fuji IX e Ketac Molar, enquanto o Riva Selfcure ficou mais acinzentado [43].

No presente estudo, a incorporação de nanopartículas de cobre e prata afetou a rugosidade de superfície dos espécimes. O aumento da rugosidade foi proporcional ao aumento da concentração de nanopartículas em relação ao grupo CIV inalterado ( $0,1100 \pm 0,03606$ ) e ao grupo CuAgNP 0,1 % ( $0,2467 \pm 0,005774$ ). O valor da maior concentração do presente estudo CuAgNP 0,1 % foi superior ao considerado limite para facilitar o acúmulo de biofilme, que é de 0,15 µm [44]. A rugosidade de superfície favorece a adesão bacteriana, podendo resultar em maior acúmulo de microrganismos e consequente formação de biofilme com posterior falha do material [49]. Vários fatores podem estar relacionados à rugosidade superficial dos CIV, como o tamanho e a forma das partículas de vidro, a adesão entre as partículas e a matriz, a resistência inerente aos constituintes dos cimentos e a reação de presa de cada material [50].

Baseado nos resultados encontrados pode-se questionar se a insignificante atividade antimicrobiana do CIV incorporado com CuAgNP está relacionada com a deficiente

capacidade de liberação das nanopartículas; conseqüentemente, se há alguma retenção dessas moléculas no CIV, impedindo a ação dessas. Adicionalmente, a incorporação de CuAgNP na composição do CIV não garante eficaz atividade antimicrobiana e proporcionou alterações nas propriedades físicas que foram avaliadas do material. No entanto, mais estudos *in vitro* e *in situ* precisam ser realizados para a comprovação da eficácia e da segurança da utilização de materiais modificados e desenvolvidos com a incorporação de nanopartículas metálicas.

### **Agradecimentos**

Agradecemos ao laboratório de espectroscopia vibracional e microscopia (LEVM) pelo suporte e aos laboratórios de pesquisa e microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem e ao Laboratório de Física do Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará (UFC).

### **Declarações**

Todos os autores contribuíram para a concepção e desenho do estudo. A preparação do material, a coleta e a análise dos dados foram realizadas por todos os autores. A primeira versão do manuscrito foi escrita por Laís Aragão Lima e todos os autores comentaram as versões anteriores do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

### **Interesses Concorrentes**

Sem conflito de interesse

### **Referências**

1. Tanner, A.C.R., Kressirer, C.A., Rothmiller, S., Johansson, I., & Chalmers, N.I. (2018). The caries microbiome: implications for reversing dysbiosis. *Advances in Dental Research*, 29(1), 78-85.
2. Hezel, M.P., & Weitzberg, E. (2015). The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. *Oral Diseases*, 21(1), 7-16.
3. Moynihan, P.J., Kelly, S.A.M. (2014). Effect on caries of restricting sugars intake: systematic review to inform WHO guidelines. *Journal of dental research*, 93(1), 8-18.
4. Karsten, J.K., Heins, S. E., Madden, G.D., Sokhatski, M.P. (2015). Dental health and the transition to agriculture in prehistoric Ukraine: A study of dental caries. *European Journal of Archaeology*, 18(4), 562-579.

5. Pinto, A.B.S. (2014). Family environment, quality of life and prevalence of dental caries in preschool children in Uberlândia MG. Repositório UNB. Univerdade de Uberlândia, Minas Gerais.
6. Wassel, M.O., Khattab, M.A. (2017). Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and inhibition of bacterial induced enamel demineralization of propolis, miswak, and chitosan nanoparticles based dental varnishes. *Journal of Advanced Research*, 8(4), 387-392.
7. Diaz-Garrido, N., Lozano, C., Giacaman, R.A. (2016). Frequency of sucrose exposure on the cariogenicity of a biofilm-caries model. *European Journal of Dentistry*, 10(03), 345-350.
8. Garcia, B. A., Costa, N.C., Tomar, S.L., Roesch, L.F.W., Lemnos, J.A, Muggayar, L.R.F., Abranches, J. (2021). Association of *Candida albicans* and Cbp+ *Streptococcus mutans* with early childhood caries recurrence. *Scientific Reports*, 11, 10802.
9. Metwalli, K.H., Khan, S.A., Krom, B.P., Jabra-Rizk, M.A. (2013). *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation. *PLoS Pathogens*, 9(10), e1003616.
10. Falsetta, M.L., Klein, M.I., Colonne, P.M., Scott-Anne, K., Gregoire, S., Pai, C. H., & Koo, H. (2014). Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms *In vivo*. *Infection and Immunity*, 82(5), 1968-1981.
11. Regis, W. F. M., Reis, A. C. M., Rocha, F. R., Guedes, S. F. F., Maia, D. C. B. S., Rodrigues, L. K. A. (2019). The role of *Candida Albicans* and *Streptococcus Mutans* spent culture supernatant in single and dual-species biofilm. *Biomed J Sci & Tech Res* 14(4).
12. Griffin, S.G., & Hill, R.G. (2000). Influence of glass composition on the properties of glass polyalkenoate cements. Part II: influence of phosphate content. *Biomaterials*, 21(4), 399-403.
13. Nicholson, J.W. (1998). Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials*, 19(6), 485-494.
14. Garcia-Contreras, R., Scougall-Vilchis, R.J., Contreras-Bulnes, R., Sakagami, H., Morales-Luckie, R.A., Nakajima, H. (2015). Mechanical, antibacterial and bond

- strength properties of nano-titanium-enriched glass ionomer cement. *Journal of Applied Oral Science*, 23, 321-328.
15. Marinho, V.C.C. (2008). Evidence-based effectiveness of topical fluorides. *Advances In Dental Research*, 20(1), 3-7.
  16. Bapat, R.A., Joshi, C.P., Bapat, P., Chaubal, T.V., Pandurangappa, R., Jnanendrappa, N., Kesharwani, P. (2019). The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. *Drug Discovery Today*, 24(1), 85-98.
  17. Hannig, M., Hannig, C. (2010). Nanomaterials in preventive dentistry. *Nature Nanotechnology*, 5(8), 565-569.
  18. Melo, M.A.S., Cheng, L., Zhang, K., Weir, M.D., Rodrigues, L.K., Xu, H.H. (2013). Novel dental adhesives containing nanoparticles of silver and amorphous calcium phosphate. *Dental Materials*, 29(2), 199-210.
  19. Zhang, K., Melo, M.A.S., Cheng, L., Weir, M.D., Bai, Y., Xu, H.H. (2012). Effect of quaternary ammonium and silver nanoparticle-containing adhesives on dentin bond strength and dental plaque microcosm biofilms. *Dental Materials*, 28(8), 842-852.
  20. Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M.J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346.
  21. Chatterjee, A.K., Sarkar, R.K., Chattopadhyay, A.P., Aich, P., Chakraborty, R., Basu, T. (2012). A simple robust method for synthesis of metallic copper nanoparticles of high antibacterial potency against *E. coli*. *Nanotechnology*, 23(8), 085103.
  22. Zakharova, O.V., Godymchuk, A.Y., Gusev, A.A., Gulchenko, S.I., Vasyukova, I. A., Kuznetsov, D.V. (2015). Considerable variation of antibacterial activity of Cu nanoparticles suspensions depending on the storage time, dispersive medium, and particle sizes. *BioMed Research International*, 2015, 412530.
  23. Chowdhury, N.R., MacGregor-Ramiasa, M., Zilm, P., Majewski, P., Vasilev, K. (2016). 'Chocolate' silver nanoparticles: Synthesis, antibacterial activity and cytotoxicity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 482, 151-158.
  24. Składanowski, M., Golinska, P., Rudnicka, K., Dahm, H., Rai, M. (2016). Evaluation of cytotoxicity, immune compatibility and antibacterial activity of biogenic silver nanoparticles. *Medical Microbiology and Immunology*, 205(6), 603-613.

25. Ruparelia, J.P., Chatterjee, A.K., Duttagupta, S.P., Mukherji, S. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, 4(3), 707-716.
26. Ingle, A.P., Duran, N., Rai, M. (2014). Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: A review *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(3), 1001–1009.
27. De Souza, A.P., Gerlach, R.F., & Line, S.R.P. (2000). Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts. *Dental Materials*, 16(2), 103-108.
28. Siméon, A., Emonard, H., Hornebeck, W., Maquart, F.X. (2000). The tripeptide-copper complex glycyl-L-histidyl-L-lysine-Cu<sup>2+</sup> stimulates matrix metalloproteinase-2 expression by fibroblast cultures. *Life Sciences*, 67(18), 2257-2265.
29. Freire, R.M., Rojas-Nunez, J., Elias-Arriaga, A.L., Fujisawa, K., Troncoso, L., Denardin, J.C., Baltazar, S.E. (2020). Natural arrangement of AgCu bimetallic nanostructures through oleylamine reduction. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 7(24), 4902-4912.
30. Wayne, P.A. (2010). Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement. *CLSI Document M100-S20*.
31. Barbieri, D.D.S.A.V., Vicente, V.A., Fraiz, F.C., Lavoranti, O.J., Svidzinski, T.I. E., Pinheiro, R.L. (2007). Analysis of the *in vitro* adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(4), 624-631.
32. Duarte, S., Gregoire, S., Singh, A.P., Vorsa, N., Schaich, K., Bowen, W.H., Koo, H. (2006). Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 257(1), 50-56.
33. Xiao, J., Klein, M.I., Falsetta, M. L., Lu, B., Delahunty, C.M., Yates III, J.R., Koo, H. (2012). The exopolysaccharide matrix modulates the interaction between 3D architecture and virulence of a mixed-species oral biofilm. *PLoS Pathogens*, 8(4), e1002623.
34. Wang, L., Cefaly, D.F.G., Santos, J.L.D., Santos, J.R.D., Lauris, J.R.P., Mondelli, R.F.L., Atta, M.T. (2009). *In vitro* interactions between lactic acid solution and art glass-ionomer cements. *Journal of Applied Oral Science*, 17(4), 274-279.

35. International Standards Organization. (2007). Dentistry–water-based cements–Part 1: Powder/liquid acid-base cements. *International Standards Organization, ISO, 9917-1,1*.
36. Kim, D.A., Lee, J.H., Jun, S.K., Kim, H.W., Eltohamy, M., Lee, H.H. (2017). Sol–gel-derived bioactive glass nanoparticle-incorporated glass ionomer cement with or without chitosan for enhanced mechanical and biomineralization properties. *Dental Materials*, 33(7), 805-817.
37. Sharma, G., Wu, W., Dalal, E.N. (2005). The CIEDE2000 color-difference formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Centre Français de la Couleur*, 30(1), 21-30.
38. Jafarpour, D., Mese, A., Ferooz, M., Bagheri, R. (2019). The effects of nanofilled resin-based coatings on the physical properties of glass ionomer cement restorative materials. *Journal of Dentistry*, 89, 103177.
39. Ferracane, J.L. (2017). Models of caries formation around dental composite restorations. *Journal of Dental Research*, 96(4), 364-371.
40. Herrera, M., Carrion, P., Baca, P., Liebana, J., Castillo, A. (2001). *In vitro* antibacterial activity of glass-ionomer cements. *Microbios*, 104(409), 141-148.
41. Forss, H., Widström, E. (2004). Reasons for restorative therapy and the longevity of restorations in adults. *Acta Odontologica Scandinavica*, 62(2), 82-86.
42. DeFrates, K., Markiewicz, T., Gallo, P., Rack, A., Weyhmiller, A., Jarmusik, B., Hu, X. (2018). Protein polymer-based nanoparticles: Fabrication and medical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1717.
43. Aguilar-Perez, D., Vargas-Coronado, R., Cervantes-Uc, J. M., Rodriguez-Fuentes, N., Aparicio, C., Covarrubias, C. & Cauich-Rodriguez, J. V. (2020). Antibacterial activity of a glass ionomer cement doped with copper nanoparticles. *Dental Materials Journal*, 2019-046.
44. Porter, G.C., Tompkins, G.R., Schwass, D.R., Li, K.C., Waddell, J.N., Meledandri, C.J. (2020). Anti-biofilm activity of silver nanoparticle-containing glass ionomer cements. *Dental Materials*, 36(8), 1096-1107.
45. Chen, J., Zhao, Q., Peng, J., Yang, X., Yu, D., Zhao, W. (2020). Antibacterial and mechanical properties of reduced graphene-silver nanoparticle nanocomposite modified glass ionomer cements. *Journal of Dentistry*, 96, 103332.

46. Enan, E.T., Ashour, A.A., Basha, S., Felemban, N.H., & El-Rab, S.M.G. (2021). Antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles, amoxicillin, and glass-ionomer cement against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. *Nanotechnology*, 32(21), 215101.
47. Fayaz, A.M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P.T., Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(1), 103-109.
48. Park, J.W., An, J.S., Lim, W.H., Lim, B.S., Ahn, S.J. (2019). Microbial changes in biofilms on composite resins with different surface roughness: An *in vitro* study with a multispecies biofilm model. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 122(5), 493-e1.
49. Yip, K.H.K., Peng, D., Smales, RJ (2001). Efeitos do gel APF na estrutura física de compômeros e cimentos de ionômero de vidro. *Odontologia Operatória*, 26(3), 231-238.
50. Almeida, J.R.M.D., Medeiros, T.C.D., Araújo, D.F.G.D., Caldas, S.G.F.R., Galvão, M.R. (2017). Avaliação de rugosidade, dureza e superfície dos cimentos de ionômero de vidro após diferentes sistemas de acabamento e polimento. *Revista de Odontologia da UNESP*, 46, 330-335.

#### 4. CONCLUSÃO GERAL

Os achados obtidos na revisão sistemática e na metanálise sugerem que a incorporação de Ag gera excelentes benefícios antimicrobianos, mas acarreta alterações nas propriedades mecânicas de determinados materiais, como adesivo, *primer*, cimento de iômero de vidro e resina.

A incorporação de Cu possui efeito antimicrobiano quando incorporado em cimento de iômero de vidro, *primer* e adesivo e não resulta em prejuízos nas propriedades mecânicas dos materiais.

O Ti apresenta melhora na atividade bacteriana dos materiais estudados, como adesivo, resina, adesivo e cimento de iômero de vidro, não afetando as propriedades mecânicas estudadas.

A adição de nanopartículas de cobre e prata em concentrações de 0,01%, 0,05% e 0,1% não alterou a atividade antibacteriana do cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado.

A adição de nanopartículas de cobre e prata em concentrações de 0,01%, 0,05% e 0,1% prejudicou o tempo de presa, a variação de cor e a rugosidade de superfície do cimento de ionômero de vidro quimicamente ativado.

## REFERÊNCIAS

AGUILAR-PEREZ, D. *et al.* Antibacterial activity of a glass ionomer cement doped with copper nanoparticles. **Dental Materials Journal**, p. 2019-046, 2020.

ARDESTANI, S. S. *et al.* Effect of the incorporation of silica blow spun nanofibers containing silver nanoparticles (SiO<sub>2</sub>/Ag) on the mechanical, physicochemical, and biological properties of a low-viscosity bulk-fill composite resin. **Dental Materials**, v. 37, n. 10, p. 1615-1629, 2021.

ARGUETA-FIGUEROA, L. *et al.* An evaluation of the antibacterial properties and shear bond strength of copper nanoparticles as a nanofiller in orthodontic adhesive. **Australian Orthodontic Journal**, v. 31, n. 1, p. 42-48, 2015.

BAPAT, R. A. *et al.* The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 1, p. 85-98, 2019.

BEYTH, N. *et al.* An *in vitro* quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. **Journal of Dentistry**, v. 35, n. 3, p. 201-206, 2007.

CARUSO, F. *et al.* Nanomedicine themed issue. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2537-2538, 2012.

CASSANHO, A. C. A. *et al.* *In vitro* activity of zinc oxide-eugenol and glass ionomer cements on *Candida albicans*. **Brazilian Oral Research**, v. 19, p. 134-138, 2005.

CHALOUPKA, K. *et al.* Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 11, p. 580-588, 2010.

CHEN, L. *et al.* Antibacterial dental restorative materials: a state-of-the-art review. **American Journal of Dentistry**, v. 25, n. 6, p. 337-346, 2012.

CHEN, J. *et al.* Antibacterial and mechanical properties of reduced graphene-silver nanoparticle nanocomposite modified glass ionomer cements. **Journal of Dentistry**, v. 96, p. 103332, 2020.

CURY, J. A. *et al.* Are fluoride releasing dental materials clinically effective on caries control? **Dental Materials**, v. 32, n. 3, p. 323-333, 2016.

DE CASTILHO, A. R. F. *et al.* *In vitro* and *In vivo* investigation of the biological and mechanical behaviour of resin-modified glass-ionomer cement containing chlorhexidine. **Journal of Dentistry**, v. 41, n. 2, p. 155-163, 2013.

DEFRATES, K. *et al.* Protein polymer-based nanoparticles: fabrication and medical applications. **International Journal of Molecular Science**, 19, 1717, 2018.

DEMARCO, F. F. *et al.* Longevity of posterior composite restorations: not only a matter of materials. **Dental Materials**, v. 28, n. 1, p. 87-101, 2012.

DUTRA-CORREA, M. *et al.* Antibacterial effects and cytotoxicity of an adhesive containing low concentration of silver nanoparticles. **Journal of Dentistry**, v. 77, p. 66-71, 2018.

DODES, J. E. The amalgam controversy: an evidence-based analysis. **The Journal of the American Dental Association**, v. 132, n. 3, p. 348-356, 2001.

ELSAKA, S. E. *et al.* Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: influence on physical and antibacterial properties. **Journal of Dentistry**, v. 39, n. 9, p. 589-598, 2011.

ENAN, E. T. *et al.* Antimicrobial activity of biosynthesized silver nanoparticles, amoxicillin, and glass-ionomer cement against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. **Nanotechnology**, v. 32, n. 21, p. 215101, 2021.

FALSETTA, M. L. *et al.* Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms *In vivo*. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 5, p. 1968-1981, 2014.

FEJERSKOV, O.; NYVAD, B.; KIDD, E. Cárie dentária: fisiopatologia e tratamento. **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, v. 7, p. 78-91, 2017.

FERRACANE, J. L. Composite resin-state of the art. **Dental Materials**, v. 27, n. 1, p. 29-38, 2011.

GARCIA, B. A. *et al.* Association of *Candida albicans* and Cbp+ *Streptococcus mutans* with early childhood caries recurrence. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2021.

GARCIA-CONTRERAS, R. *et al.* Mechanical, antibacterial and bond strength properties of nano-titanium-enriched glass ionomer cement. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 3, p. 321-328, 2015.

HANNIG, M.; HANNIG, C. Nanomaterials in preventive dentistry. **Nature Nanotechnology**, v. 5, n. 8, p. 565-569, 2010.

IMAZATO, S. *et al.* Therapeutic polymers for dental adhesives: loading resins with bio-active components. **Dental Materials**, v. 30, n. 1, p. 97-104, 2014.

KLEIN, M. I. *et al.* *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, p. 10, 2015.

LI, Y. *et al.* Novel magnetic nanoparticle-containing adhesive with greater dentin bond strength and antibacterial and remineralizing capabilities. **Dental Materials**, v. 34, n. 9, p. 1310-1322, 2018.

LOHCHAROENKAL, W. *et al.* Protein nanoparticles as drug delivery carriers for cancer therapy. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

MARCENES, W. *et al.* Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. **Journal of Dental Research**, v. 92, n. 7, p. 592-597, 2013.

MARINHO, V. C. C. Evidence-based effectiveness of topical fluorides. **Advances in Dental Research**, v. 20, n. 1, p. 3-7, 2008.

MARSH, P. D. Dental biofilms in health and disease. In: **Understanding Dental Caries**. Springer, Cham, 2016. p. 41-52.

MATSUMURA, Y. *et al.* Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 4278-4281, 2003.

MELO, M. A. S. *et al.* Novel dental adhesive containing antibacterial agents and calcium phosphate nanoparticles. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 101, n. 4, p. 620-629, 2013.

NEVES, P. B. A. *et al.* Addition of silver nanoparticles to composite resin: effect on physical and bactericidal properties *in vitro*. **Brazilian dental journal**, v. 25, p. 141-145, 2014.

OGUNSONA, E. O. *et al.* Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review. **Applied Materials Today**, v. 18, p. 100473, 2020.

PANDIYARAJAN, T. *et al.* Synthesis and concentration dependent antibacterial activities of CuO nanoflakes. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 4, p. 2020-2024, 2013.

PRABHAKAR, A. R. *et al.* Antibacterial activity, fluoride release, and physical properties of an antibiotic-modified glass ionomer cement. **Pediatric Dentistry**, v. 35, n. 5, p. 411-415, 2013.

PEREIRA, D. F. A. *et al.* Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen?. **Oral Diseases**, v. 24, n. 4, p. 518-526, 2018.

- PITTS, N. B. *et al.* Dental caries. **Nature reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2017.
- PORTER, G. C. *et al.* Anti-biofilm activity of silver nanoparticle-containing glass ionomer cements. **Dental Materials**, v. 36, n. 8, p. 1096-1107, 2020.
- REN, G. *et al.* Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 6, p. 587-590, 2009.
- REN, L. *et al.* *In situ* synthesis of dental resin matrix containing silver nanoparticles. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 19, n. 9, p. 5774-5782, 2019.
- SHAH, Y. R. *et al.* Long-term survival and reasons for failure in direct anterior composite restorations: A systematic review. **Journal of Conservative Dentistry: JCD**, v. 24, n. 5, p. 415, 2021.
- SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, n. 1, p. 177-182, 2004.
- SCHRAND, A. M. *et al.* Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. **Wiley interdisciplinary reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 5, p. 544-568, 2010.
- TAKAHASHI, Y. *et al.* Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. **Dental Materials**, v. 22, n. 7, p. 647-652, 2006.
- WANG, X.; WANG, B.; WANG, Y. Antibacterial orthodontic cement to combat biofilm and white spot lesions. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 148, n. 6, p. 974-981, 2015.

World Health Organization. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. **World Health Organization**. 2018.

XU, H. *et al.* Streptococcal co-infection augments *Candida* pathogenicity by amplifying the mucosal inflammatory response. **Cellular Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 214-231, 2014.

YANG, Y. *et al.* Application of silver nanoparticles *in situ* synthesized in dental adhesive resin. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 108, p. 102890, 2021.

ZHANG, K. *et al.* Effect of quaternary ammonium and silver nanoparticle-containing adhesive on dentin bond strength and dental plaque microcosm biofilms. **Dental Materials**, v. 28, n. 8, p. 842-852, 2012.

## ANEXO 1

### Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas sujeitas a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado, intitulada "Efeito da incorporação de nanopartículas metálicas nas propriedades antimicrobianas, físicas e mecânicas de cimento de ionômero de vidro: revisão sistemática e análise e estudo *in vitro*", não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Fortaleza, 10/05/2022.

Autor RG n.º 2008010199515

Orientador RG n.º 96002272894

**APÊNDICE A - Termos de pesquisa específicos para cada banco de dados e  
truncamentos**

| Banco de dados eletrônico | Estratégia de pesquisa usada  | Itens encontrados |
|---------------------------|---|-------------------|
| <b>Palavras-chave</b>     | <b>Dental materials; Metal Nanoparticles</b>  |                   |
|                           | <p><b>"Dental Materials"[Mesh] = "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental"</b></p> <p><b>"Metal Nanoparticles"[Mesh] = "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic"</b></p>                     |                   |
| PubMed                    | <p>((("Dental Materials"[Mesh]) OR "Materials, Dental") OR "Dental Material") OR "Material, Dental") AND (((((((((((("Metal Nanoparticles"[Mesh]) OR "Metal Nanoparticle") OR "Nanoparticle, Metal") OR "Nanoparticles, Metal") OR "Metallic Nanoparticles") OR "Metallic Nanoparticle") OR "Nanoparticle, Metallic") OR "Nanoparticles, Metallic") OR "Metal Nanocrystals") OR "Metal Nanocrystal") OR "Nanocrystal, Metal") OR "Nanocrystals, Metal") OR "Metallic Nanocrystals") OR "Metallic Nanocrystal") OR "Nanocrystal, Metallic") OR "Nanocrystals, Metallic")</p> | 233               |
| Scopus                    | <p>(TITLE-ABS-KEY ("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental") AND TITLE-ABS-KEY ("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic"</p>   | 99                |

OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic" )

Web of Science (TOPIC: ("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental") AND TOPIC: ("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic" )

85

LILACS (tw:("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental")) AND (tw:("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic"))

51

EBSCOhost (DOSS) ("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental") AND ("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic")

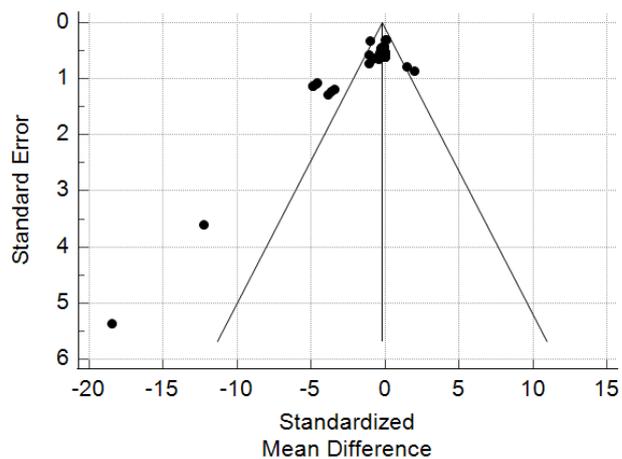
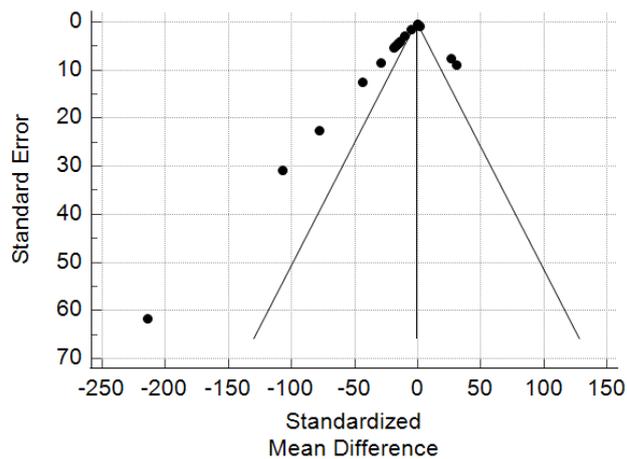
7

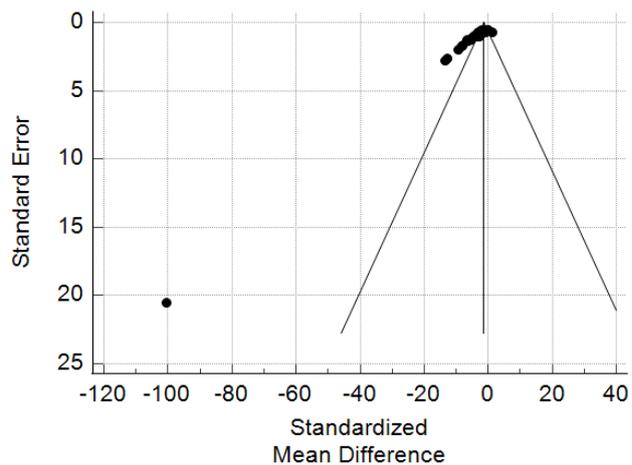
|                               |  |             |
|-------------------------------|--|-------------|
| LIVIVO                        | <p>("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental") AND ("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic")</p>                             | 54          |
| Embase                        | <p>(All fields: ('dental materials' OR 'materials, dental' OR 'dental material' OR 'material, dental')) AND (All fields: ('metal nanoparticles' OR 'metal nanoparticle' OR 'nanoparticle, metal' OR 'nanoparticles, metal' OR 'metallic nanoparticles' OR 'metallic nanoparticle' OR 'nanoparticle, metallic' OR 'nanoparticles, metallic' OR 'metal nanocrystals' OR 'metal nanocrystal' OR 'nanocrystal, metal' OR 'nanocrystals, metal' OR 'metallic nanocrystals' OR 'metallic nanocrystal' OR 'nanocrystal, metallic' OR 'nanocrystals, metallic'))</p> | 94          |
| <p><i>Grey literature</i></p> |  |             |
| Google Scholar                | <p>("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental") AND ("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic")</p>                             | 482<br>>180 |

ProQuest                    noft("Dental Materials" OR "Materials, Dental" OR "Dental Material" OR "Material, Dental") AND noft("Metal Nanoparticles" OR "Metal Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metal" OR "Nanoparticles, Metal" OR "Metallic Nanoparticles" OR "Metallic Nanoparticle" OR "Nanoparticle, Metallic" OR "Nanoparticles, Metallic" OR "Metal Nanocrystals" OR "Metal Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metal" OR "Nanocrystals, Metal" OR "Metallic Nanocrystals" OR "Metallic Nanocrystal" OR "Nanocrystal, Metallic" OR "Nanocrystals, Metallic")                    9

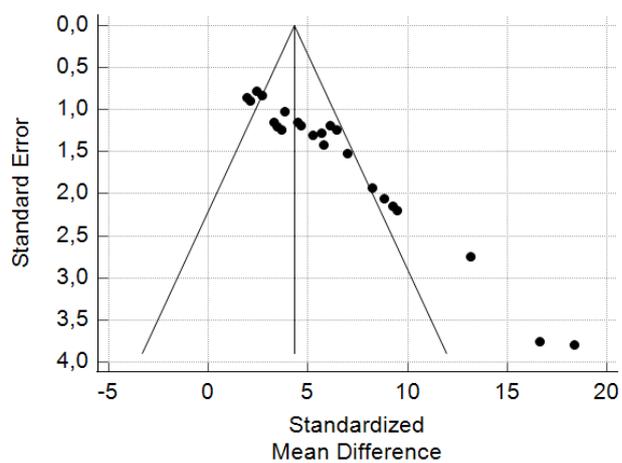
OpenGrey                    (Dental materials\*) AND (Metal Nanoparticles\*)                    54

---

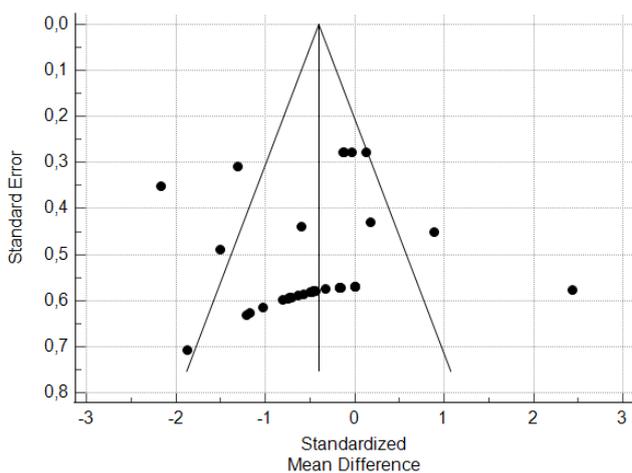
**MATERIAL SUPLEMENTAR–GRÁFICOS FUNNEL PLOT****Material suplementar 1. Funnel plot de CFU para Ag.****Material suplementar 2. Funnel plot de CFU para Cu.**



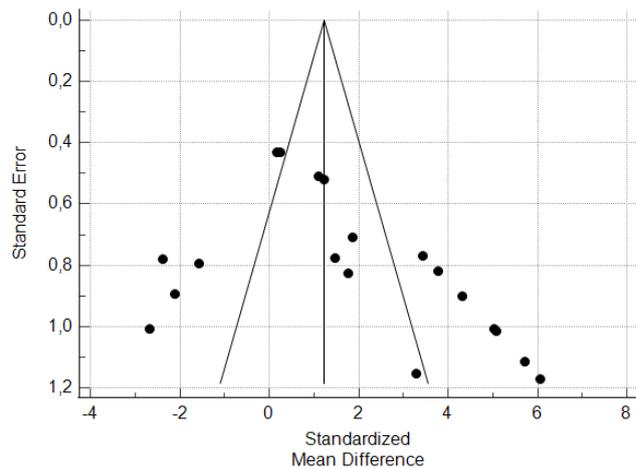
**Material suplementar 3. Funnel plot de viabilidade celular para Ag.**



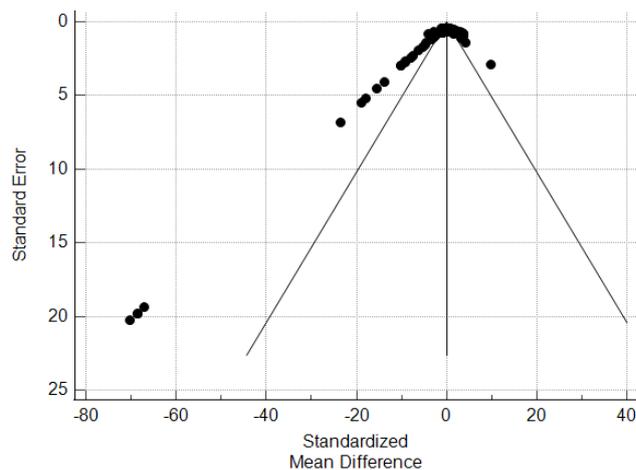
**Material suplementar 4. Funnel plot de halo de inibição para Ag.**



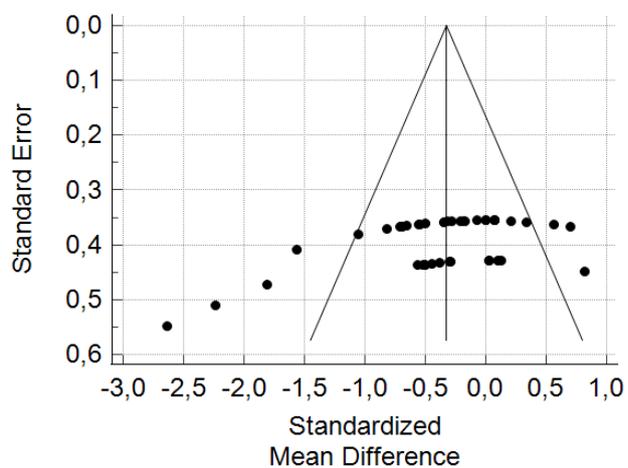
**Material suplementar 5. Funnel plot de microdureza de superfície para Ag.**



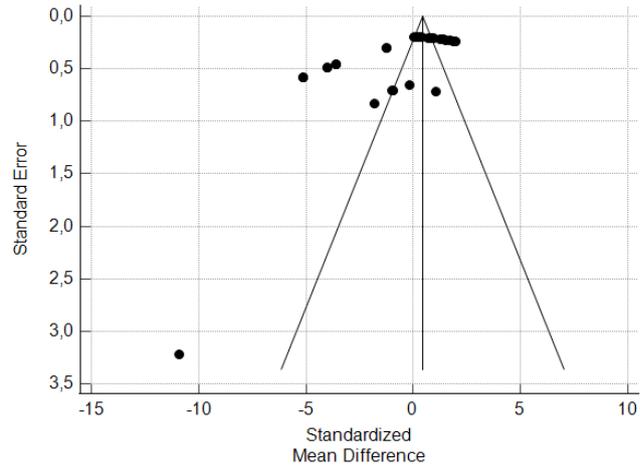
**Material suplementar 6. Funnel plot de resistência à compressão para Ag.**



**Material suplementar 7. Funnel plot de resistência à flexão para Ag.**



**Material suplementar 8. Funnel plot de resistência ao cisalhamento para Ag.**



**Material suplementar 9. Funnel plot do grau de conversão para Ti.**