



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM  
CURSO DE ODONTOLOGIA

**PAULO MATHEUS MARINHO MOREIRA DE MOURA**

EFEITO DE UMA SOLUÇÃO HIGIENIZADORA A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DE  
*LIPPIA SIDOIDES* NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE SUPERFÍCIE DE UMA  
RESINA ACRÍLICA PARA BASE DE PRÓTESE

Fortaleza

2018

**PAULO MATHEUS MARINHO MOREIRA DE MOURA**

**EFEITO DE UMA SOLUÇÃO HIGIENIZADORA A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DE  
*LIPPIA SIDOIDES* NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE SUPERFÍCIE DE UMA  
RESINA ACRÍLICA PARA BASE DE PRÓTESE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Rocha Regis.

Fortaleza

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

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

---

M1e MOURA, PAULO MATHEUS MARINHO MOREIRA DE.  
EFEITO DE UMA SOLUÇÃO HIGIENIZADORA A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA  
SIDOIDES NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE SUPERFÍCIE DE UMA RESINA ACRÍLICA  
PARA BASE DE PRÓTESE / PAULO MATHEUS MARINHO MOREIRA DE MOURA. – 2018.  
32 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,  
Odontologia e Enfermagem, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Rômulo Rocha Regis.

1. Desinfecção. 2. Lippia. 3. Medicamentos fitoterápicos. 4. Propriedades de superfície. 5. Prótese  
dentária. I. Título.

CDD 617.6

---

**PAULO MATHEUS MARINHO MOREIRA DE MOURA**

**EFEITO DE UMA SOLUÇÃO HIGIENIZADORA A BASE DE ÓLEO ESSENCIAL DE  
*LIPPIA SIDOIDES* NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E DE SUPERFÍCIE DE UMA  
RESINA ACRÍLICA PARA BASE DE PRÓTESE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Rocha Regis.

Avaliado em: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rômulo Rocha Regis  
Universidade Federal do Ceará

---

Talita Arrais Daniel Mendes  
Universidade Federal do Ceará

---

Ellen Lima de Assis  
Universidade Federal do Ceará

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Silvana, por me apoiar em absolutamente todas as minhas escolhas e condições, por ser minha referência de ser humano, por compartilhar comigo os momentos mais felizes e difíceis da minha vida, por ter abdicado dos seus próprios sonhos pelos meus e por todo amor e esforço para que eu pudesse ter a melhor formação, como a que concretizo hoje.

À minha avó e segunda mãe Odalea que cuidou de mim com tanto carinho até aqui. Minha base e um dos motivos pelos quais lutei tanto pra alcançar o que alcancei. Te amo!

Ao meu pai, Sergio, que contribuiu na minha formação de caráter e ética.

Aos meus padrinhos, João e Leila, pelo exemplo e apoio durante a minha formação.

Ao meu Orientador e amigo, Professor Dr. Rômulo Rocha Regis, que esteve comigo desde o primeiro semestre e foi peça fundamental na minha formação acadêmica. Todos os puxões de orelha me fizeram crescer, a postura calma e paciente me tranquilizou e as conversas informais me fizeram uma pessoa melhor.

A minha mãe acadêmica e referência como profissional, Professora Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves pelo exemplo de força e competência e pela oportunidade de enfrentar com êxito o maior desafio da minha vida acadêmica na Presidência Discente da XV Jornada Odontopet. Serei eternamente grato pela confiança.

A minha Turma “Odontossérios” por todo apoio e momentos compartilhados. Apesar das diferenças seremos sempre ligados por tudo que vivemos juntos. Tenho muito orgulho de ter aprendido com todos que estiveram conosco desde o primeiro semestre,

com os que nos deixaram por algum motivo e com os que entraram na nossa turma no decorrer da jornada. Todos fora essenciais.

À minha dupla e irmã de alma, Lívia Mesquita, que dividiu cada segundo desse caminho comigo sendo meu apoio e incentivo. Se não fosse por você eu não estaria aqui. Serei grato eternamente pelas lágrimas, risos e patadas. Te amo!

Ao meu amigo, Emanuel Alcântara, pelo companheirismo e entrega na intensa relação de amizade que construímos nos últimos anos de graduação. Obrigado por me ouvir, mesmo sem saber bem o que falar, e por topa tudo comigo.

À minha amiga, Marianna Landim, pela conexão e confiança nessa recente amizade que quero levar para a vida.

Ao doutorando, Joel Barreto, pelo empenho e dedicação ao trabalho. Sem ele esse TCC não seria apresentado hoje.

Ao grupo PET Odontologia, por todo o crescimento e amadurecimento profissional, acadêmico e pessoal que construí. Um agradecimento especial aos integrantes Guilherme Costa, Geibson Góis, Mikael Mendes, Daniela Gomes, Juliana Mara, Rebecca Dias, Joyce Marques e Rocharles Fontenele, por serem meus exemplos de Petianos e por terem me ajudado em diversos percalços dessa missão que é o programa.

Ao Projeto Sorriso Grisalho, na pessoa da Fundadora, Professora Dra. Walda Viana Brígido de Moura, e da contemporânea, Giovanna Guimarães, por ter sido minha porta de entrada na Odontologia e por toda a sensibilidade adquirida com a história de pessoas que já viveram tanto e tem tanto a ensinar.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A aplicação de uma ampla variedade de fitoterápicos na Odontologia tem sido apresentada na literatura. Dentre as plantas estudadas, destaca-se a *Lippia sidoides* Cham., popularmente conhecida como “alecrim-pimenta”, cujo óleo essencial é rico em compostos como o timol e o carvacrol, os quais apresentam um amplo espectro de ação contra leveduras e bactérias. Entretanto, nenhum estudo investigou a aplicação de soluções a base de óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) como meio auxiliar para higienização de próteses dentárias.

**OBJETIVO:** Investigar a influência de uma solução higienizadora experimental a base de OELS na estabilidade de cor, rugosidade de superfície, microdureza, resistência flexural e alteração de massa de uma resina acrílica para base de prótese dentária.

**MATERIAL E MÉTODO:** Espécimes retangulares foram divididos aleatoriamente em 5 grupos (n=10) de acordo com a solução de imersão: água destilada, hipoclorito de sódio 1%, digluconato de clorexidina 0,2%, solução de OELS 0,02% e solução de OELS 0,2%. Antes e após 15, 25 e 50 dias de imersão nas soluções, a rugosidade foi avaliada por meio de um rugosímetro digital, a microdureza por meio de um durômetro com ponta Knoop, a alteração de cor utilizando-se um espectrofotômetro portátil, a variação de massa por meio de balança analítica, e a resistência a flexão por meio de uma máquina de ensaio universal. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e comparados por meio de ANOVA-2-way/Bonferroni ( $\alpha=0,05$ ), utilizando o software GraphPad Prism 5.0.

**RESULTADOS:** Ao final do estudo, a variação causada na rugosidade de superfície, microdureza e massa pelas soluções de OELS, em ambas concentrações testadas, foi semelhante à água destilada. Quando na maior concentração, a solução experimental gerou alterações comparáveis ao hipoclorito de sódio 1% e clorexidina 0,2% na

estabilidade de cor e resistência flexural, entretanto, essas alterações ocorreram dentro dos limites de aceitabilidade clínica e manutenção da resistência do material.

**CONCLUSÃO:** De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que, no geral, a solução a base de OELS na concentração 0,02% gera alterações controladas nas propriedades avaliadas, semelhantes à água destilada. Quando em concentração maior (0,2%), as alterações na estabilidade de cor e resistência a flexão foram potencializadas.

**Palavras-chave:** Desinfecção, lippia, medicamentos fitoterápicos, propriedades de superfície, prótese dentária.

## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** The application of a wide variety of herbal medicines in Dentistry has been presented in the literature. Among the plants studied, *Lippia sidoides Cham.*, popularly known as "alecrim-pimenta", whose essential oil main components thymol and carvacrol, present a broad spectrum of action against yeasts and bacteria. However, no study has investigated the application of essential oil-based solutions of *Lippia sidoides* (OELS) as an aid to cleaning of dentures.

**PURPOSE:** Investigate the influence of an experimental OELS solution for denture hygiene on the color stability, surface roughness, microhardness, flexural strength and mass change of a denture base acrylic resin.

**MATERIAL AND METHODS:** Rectangular specimens were randomly divided in 5 groups (n = 10) according to the immersion solution: distilled water, 1% sodium hypochlorite, chlorhexidine digluconate 0.2%, 0.02% OELS solution and 0.2% OELS solution. Before and after 15, 25 and 50 days of immersion, the roughness was measured by means of a digital roughness tester, microhardness by means of a Knoop durometer, the color change using a portable spectrophotometer, mass variation by means of an analytical balance, and flexural strength by means of an universal testing machine. Normality of data was tested by the Kolmogorov-Smirnov test and groups were compared by means of 2-way-ANOVA/Bonferroni ( $\alpha = 0.05$ ) using the software GraphPad Prism 5.0.

**RESULTS:** At the end of the study, the variations in surface roughness, microhardness and mass caused by the immersions in OELS solutions, for both tested concentrations, were similar to distilled water. When in higher concentration, the experimental solution led to changes comparable to 1% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine on color

stainability and flexural strength, however within acceptable thresholds for clinical maintenance of the tested material.

**CONCLUSIONS:** According to the overall results, controlled changes in the tested properties were observed for the groups immersed in the 0.02% OELS solution, similar to distilled water. For the higher concentration (0.2%), changes in color stainability and flexural strength were similar to immersion in 1% sodium hypochlorite.

**Key Words:** Disinfection, lippia, natural products, surface properties and dental prosthesis.

## SUMÁRIO

1. Introdução -----	12
2. Materiais e Métodos -----	15
2.1 Preparo dos espécimes-----	15
2.2 Avaliações -----	17
2.3 Rugosidade de superfície -----	17
2.4 Estabilidade de cor -----	17
2.5 Microdureza -----	18
2.6 Variação de massa -----	18
2.7 Resistência à flexão -----	19
2.8 Microscopia eletrônica de varredura -----	19
2.9 Análise de dados -----	19
3. Resultados -----	20
4. Discussão -----	24
5. Conclusão -----	28
6. Referências -----	29

## 1. INTRODUÇÃO

A perda severa dos dentes é apontada dentre as principais doenças crônicas que afetam a expectativa de vida dos indivíduos, se caracterizando como um problema de saúde pública. (Kassebaum et al., 2017) Em torno de 4,1% da população mundial encontra-se totalmente desdentada, necessitando de próteses dentárias para restabelecer função e estética (Kassebaum et al., 2017). A forma mais frequente de reabilitação desses indivíduos é através de próteses removíveis em resina acrílica (Loster et al., 2016), as quais atuam como reservatórios de microrganismos, podendo levar a infecções locais ou sistêmicas (Duyck et al., 2013), sendo a estomatite protética a lesão da mucosa bucal mais comumente associada ao seu uso (Gueto et al., 2013), com incidência variando de 10 a 60% dos seus usuários (Josefina et al., 2015; Ercalik-Yalcinkaya et al., 2015; Loster et al., 2016). A estomatite protética consiste em uma condição inflamatória crônica em diferentes graus da mucosa oral em resposta a estímulos nocivos (Gendreau e Loewy, 2011), podendo, ocasionalmente, acarretar desconforto, dor e sensação de queimação (Tarçin, 2011), afetando qualidade de vida do indivíduo de forma significativa (Ferreira et al., 2015).

Os principais microrganismos associados a etiopatogenia da estomatite protética são as espécies do gênero *Candida*, as quais são frequentemente isoladas da mucosa palatal e das superfícies protéticas, além de algumas espécies bacterianas, as quais atuam na colonização inicial das superfícies protéticas e formação de biofilmes orais previamente à adesão das espécies fúngicas (Valentini et al., 2013). Como esses microrganismos já estão presentes na flora normal da cavidade bucal, a estomatite protética só irá ocorrer quando houver algum tipo de desequilíbrio sistêmico ou local com o hospedeiro (Valentini et al., 2013). Diante disso, condições sistêmicas que

deprimam o sistema imunológico do indivíduo, como diabetes, doenças imunossupressoras, o uso contínuo de medicamentos (Tarçin, 2011), bem como a má higiene das próteses (Yarborough et al., 2016) e o seu uso contínuo e noturno (Evren et al., 2011) estão relacionadas à etiologia dessa doença. Dentre as causas locais, a má higienização das próteses é considerada fator determinante no desencadeamento da doença (Yarborough et al., 2016).

Embora a desinfecção mecânica seja o método mais recomendado para controle de biofilme, sua aplicação efetiva requer adequada destreza manual, muitas vezes inexistente entre idosos (Paranhos et al., 2013a). A literatura aponta que a escovação regular da prótese com creme dental reduz a massa do biofilme, mas não tem impacto sobre colonização por *Candida spp.* (Felton et al., 2011). Assim, combinação de protocolos mecânicos e químicos pode ser necessária para reduzir a colonização de alguns microrganismos e manter o ambiente oral livre de doenças.

Entretanto, os produtos químicos de ação detergente e antimicrobiana comercialmente disponíveis para higienização de próteses dentárias, como o hipoclorito de sódio, digluconato de clorexidina, perborato de sódio, dentre outros, têm o potencial de degradar a superfície protética, com efeitos adversos em propriedades mecânicas, como dureza, resistência flexural, rugosidade e estabilidade de cor (Pisani et al., 2010; Paranhos et al., 2013b; Hollis et al., 2015). Assim, o uso contínuo dessas soluções pode levar a uma redução da longevidade dos aparelhos protéticos.

Diversos estudos comprovam a eficácia de extratos de plantas consideradas medicinais no combate a diversos tipos de microrganismos, como vírus, bactérias e fungos (Botelho et al., 2007) além de apresentarem baixo custo e serem isentos de reações adversas significantes (Ferreira et al., 2015). Nessa perspectiva, o interesse da comunidade científica odontológica sobre os fitoterápicos está crescendo. A *Lippia*

*sidoides* Cham., planta da família *verbenaceae*, popularmente conhecida como “alecrim-pimenta”, é um arbusto com caule e folhas odoríferas, tipicamente encontradas no Nordeste do Brasil (Lobo et al., 2014). Os dois principais constituintes do óleo essencial são o timol (84,9%) e o carvacrol (5,33%) (Veras et al., 2012), ambos compostos fenólicos com amplo espectro de ação antimicrobiana contra leveduras e bactérias (Veras et al., 2012; Nostro et al., 2007). Diante disso, essa planta tem sido utilizada na medicina popular em diversas finalidades como antisséptico e antimicrobiano. (Botelho et al., 2007;)

A literatura apresenta alguns estudos referentes à aplicação da *Lippia sidoides* na Odontologia mostrando resultados satisfatórios, especialmente no controle do biofilme dentário supragengival, gengivite, cáries e infecções endodônticas, quando seu óleo essencial foi utilizado em diferentes formulações como géis, enxaguatórios e dentifrícios (Lobo et al., 2014; Veras et al., 2014). Também foi demonstrado o efeito antimicrobiano do OELS contra *Candida albicans* (Botelho et al., 2007); no entanto, a nenhum estudo avaliando a aplicação de um agente antisséptico à base desse óleo essencial como meio de higienização de próteses dentárias foi identificado. Portanto, o objetivo desse estudo é avaliar *in vitro* o efeito de uma solução experimental a base de óleo essencial de *Lippia sidoides* para higienização de próteses dentárias, na estabilidade de cor, rugosidade de superfície, microdureza, resistência flexural e alteração de massa de uma resina acrílica para base de prótese dentária. A hipótese nula do estudo foi as soluções a base de OELS não exerceria efeito significativo nas propriedades avaliadas.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Preparo dos espécimes

Cinquenta espécimes retangulares (65 mm × 10 mm × 3,3 mm) de resina acrílica para base de prótese dentária (PMMA, Vipi Wave®, Vipi Produtos Odontológicos, São Paulo, Brasil), na cor rosa, foram confeccionados a partir de moldes de mesmo formato em silicone de condensação denso (Zetalabor, Zermack, S.p.A., Labordental Ltda, São Paulo, SP), incluídos em muflas para microondas (VIPI Produtos Odontológicos, São Paulo, Brasil), por meio de gesso tipo III (Herodent®, Vigodent S/A Ind. Com., Rio de Janeiro, Brasil) espatulado na proporção de 30 mL de água para cada 100 g de pó. O proporcionamento da resina acrílica se deu conforme as recomendações do fabricante (14 g do polímero para cada 6,5 mL de monômero), e a mesma foi acomodada no interior dos moldes após devido isolamento da mufla com isolante líquido para resina acrílica (Cel-lac®, SS White Artigos Dentários Ltda).

Prensagem das muflas em prensa hidráulica (Maxx 1, Fabricante Essence Dental, Araraquara, SP, Brasil) foi realizada de forma lenta e gradual e, após atingir 1,25 tonelada, as mesmas foram mantidas sob prensagem por 30 minutos. Após, os espécimes foram polimerizados em microondas (BMH 45 – ABBNA, Brastemp, Manaus, Amazonas), conforme ciclo preconizado pelo fabricante (potência em 10% por 20 minutos; potência de 30 a 40% por 5 minutos). Após o resfriamento em bancada, as muflas foram abertas, os espécimes retirados e os excessos removidos com fresas de carboneto de tungstênio (Edenta®, labordental Ltda, São Paulo, Brasil). Por fim, polimento em politriz elétrica (Arotec, modelo Aropol 2v) com lixas d'água (Norton Indústria Brasileira, São Paulo, São Paulo, Brasil) de granulações 400 e 600, foi realizado por 30 segundos em cada face, e as medidas finais confirmadas por meio de

paquímetro digital (Model CD-6'' CSX-B; Mitutoyo Sul Americana LTDA., Suzano, Brasil). Após, raspas do material foram removidas da superfície dos espécimes por sonicação em água destilada em cuba ultrassônica (Ultracleaner 1400;Unique) por 5 minutos e após, mantidos em estufa (Tecnal, TE-393/1, Piracicaba, São Paulo) a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 1 semana, para liberação de monômero residual, com substituição diária do meio aquoso.

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (n=10) de acordo com a solução de imersão: água destilada (controle negativo) (pH – 5,5); hipoclorito de sódio 1% (Delta, São José do Mipibu, Rio Grande do Norte) (controle positivo) (pH – 11,8), digluconato de clorexidina 0,2% (Riohex, Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo) (controle positivo) (pH – 6,02), solução de OELS 0,02% (pH – 5,62) e solução OELS 0,2% (pH – 6,48). Os espécimes de cada grupo ficaram acondicionados em recipientes plásticos contendo 200 mL de cada solução, mantidos em estufa a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , sendo realizadas trocas das soluções a cada 48 horas.

Diferentes formulações para a solução experimental a base de OELS frente a patógenos orais foram avaliadas por meio de testes de sensibilidade microbiana. Dentre os diluentes testados, o lauril sulfato de sódio foi definido como diluente do óleo essencial em água destilada a ser utilizado. Essa formulação demonstrou uma concentração inibitória mínima (CIM) de  $19,53 \mu\text{g/mL}$  frente a células planctônicas de *Candida albicans*. Testes de sensibilidade de biofilme de *Candida albicans* à solução experimental demonstraram que a solução na concentração de  $10 \times \text{CIM}$  ( $195,3 \mu\text{g/mL}$ ) resultou em redução da viabilidade do biofilme em até 97% quando em contato por um período de 20 minutos, mantendo-se constante a medida que a concentração de OELS aumentava na solução. Assim, o presente estudo foi conduzidos testando-se a solução experimental nas concentrações de  $10 \times \text{CIM}$  (0,02%) e  $100 \times \text{CIM}$  (0,2%).

## 2.2 Avaliações

As propriedades da resina acrílica foram avaliadas antes e após 15, 25 e 50 dias das imersões nas soluções. Considerando-se um tempo diário de 20 minutos de imersão nas soluções, os períodos considerados simulariam o uso das mesmas por 3, 5 e 10 anos. Diante do tempo médio de uso de próteses totais de 5 anos (Zarb, Bolender e Carlsson, 2000), o efeito das soluções foi acompanhado a curto, médio e longo prazo. Previamente a cada avaliação, os espécimes foram sonicados em água destilada em cuba ultrassônica por 5 minutos para remoção de componentes das soluções fracamente aderidos à superfície do material.

## 2.3 Rugosidade de superfície

A rugosidade de superfície foi mensurada através de um rugosímetro portátil (Hommel Tester T1000, Santo André, São Paulo, Brasil), com resolução vertical de  $0,01\mu\text{m}$ , programado para mover uma ponta de diamante ( $5\ \mu\text{m}$  de raio), com carga constante de 4 mN pela superfície de cada espécime, seguindo um trajeto retilíneo de 4,8 mm de comprimento, durante dez segundos, numa velocidade de 0,5 mm/segundo. Foram realizadas três leituras distantes entre si em 1 mm e o valor de rugosidade do espécime ( $R_a$ ) foi definido como a média dos valores obtidos nas três leituras (Barreto et al., 2018). No período  $T_0$ , os espécimes com valor de rugosidade final diferente  $\pm 30\%$  do valor médio dos demais foram repolidos ou excluídos, e novos espécimes foram obtidos.

## 2.4 Estabilidade de cor

As alterações de cor foram avaliadas utilizando-se um espectrofotômetro portátil (Vita Easyshade, Vita Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co, Alemanha). A ponta do

aparelho foi envolvida em um dispositivo de silicone denso (Zetalabor, Zermack, S.p.A., Labordental Ltda, São Paulo, SP) confeccionado para padronizar o local e posição perpendicular da leitura, bem como minimizar o efeito da luz ambiente. As leituras foram realizadas posicionando os espécimes contra um anteparo branco. A partir da região central da amostra, foram obtidas três medidas repetidas e o valor médio para os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram aplicados na fórmula de diferença colorimétrica CIEDE 2000 ( $\Delta E_{00}$ ) (Sharma et al., 2005). Os fatores  $K_L$ ,  $K_C$  e  $K_H$  foram definidos como 1 para ajuste da fórmula  $\Delta E_{00}$ . Foi considerado  $\Delta E_{00}=1,30$  como limite de perceptibilidade e  $\Delta E_{00}=2,25$ , de aceitabilidade clínica. (Koroglu et al., 2016; Sahin et al., 2016)

## 2.5 Microdureza

A análise micromecânica foi realizada empregando-se um microdurômetro Future-Tech (FM-ARS 9000 e FM-100, Japão) equipado com um diamante Knoop. Em uma das faces de cada espécime, 3 medidas aleatórias foram realizadas em superfícies uniformes de acordo com a qualidade do polimento da superfície, utilizando-se a objetiva do equipamento, distantes entre si de 150  $\mu\text{m}$ , com carga de 50 gF e 10 segundos de contato (Consani et al. 2016). Assim, a leitura das distâncias entre as margens estabelecidas após a impressão do diamante sobre a superfície do material foi realizada para cada marcação, e o valor médio das três aferições foi considerado como o valor individual de dureza (KHN) de cada espécime.

## 2.6 Massa

Para avaliar se a imersão testada levaria à alteração de massa, os espécimes foram pesados em balança analítica de precisão (Bel Engineering, Piracicaba, São Paulo,

Brasil), em todos os períodos de avaliação, sendo previamente secos com folhas de papel absorvente, para eliminação de umidade presente na superfície (Barreto et al., 2018).

## **2.7 Resistência à flexão**

Após a finalização de todas as análises prévias, o teste de resistência à flexão em três pontos foi realizado, por meio de uma máquina universal de ensaios (Instron 3345, Washington DC, EUA) com velocidade do atuador em 5 mm/min e 50 mm de distância entre os suportes. A tensão foi aplicada até a fratura de cada espécime por meio de um bastão centralizado e conectado a uma célula de carga de 50 kgf (Madeira et al., 2016). A resistência flexural foi calculada por meio da fórmula:  $TS = 3WL / 2bd^2$ , onde W é a força máxima antes da fratura, L é a distância entre os suportes (50 mm), b é a largura do espécime (10 mm) e d é a sua altura (3,3 mm).

## **2.8 Microscopia eletrônica de varredura**

Ao final do estudo, dois espécimes de cada grupo foram devidamente processados por meio de revestimento com uma camada de ouro, e imagens foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (Inspect 50 FEI, Amsterdã, Holanda).

## **2.9 Análise dos dados**

Para cada propriedade avaliada, os fatores de variação foram as diferentes soluções e tempos de imersão. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov, expressos em forma de média e desvio-padrão da média, comparados por meio de ANOVA-2-way, seguido do pós-teste de Bonferroni, conduzidos com nível de significância de 5%, utilizando o software GraphPad Prism 5.0.

### 3. RESULTADOS

De acordo com o ANOVA-2-way, os fatores isolados tempo e solução influenciaram todas as propriedades avaliadas ( $p < 0.0001$ ), exceto a massa, onde efeito do fator solução não foi significativo ( $p = 0.8455$ ). A interação entre os fatores foi significativa ( $p < 0.0001$ ) para rugosidade, massa e dureza, não sendo observado na estabilidade de cor ( $p = 0.5624$ ).

A imersão em água destilada reduziu a rugosidade de superfície de forma significativa após 15 dias, a qual manteve-se constante nos demais períodos (Tabela 1). Comportamento semelhante foi observado após imersão em ambas as soluções a base de OELS. O hipoclorito de sódio 1% e a clorexidina 0,2% causaram aumento significativo dessa propriedade ao longo das avaliações. A análise das variações médias de rugosidade ao final do período experimental demonstrou aumento comparável entre as soluções comerciais (controles positivo), bem como redução semelhante entre as soluções experimentais e a água destilada.

A imersão nas soluções testadas levou a redução dos valores de microdureza, com exceção do grupo imerso em Lippia 0,02%, cuja dureza média manteve-se constante ao longo das avaliações (Tabela 1). Ao final do estudo, a variação total na dureza foi menor para as soluções a base de OELS, semelhantes entre si.

Em relação às alterações de massa, a imersão em todas as soluções levou ao aumento gradativo ao longo dos períodos de avaliação, sendo a variação final estatisticamente menor para o grupo hipoclorito de sódio 1% (Tabela 1).

Tabela 1. Média  $\pm$ desvio-padrão para rugosidade de superfície ( $\mu\text{m}$ ), microdureza (KHN), massa (g) antes e após as imersões, e variação ( $\Delta$ ) total.

Grupos	Início	15 dias	25 dias	50 dias	$\Delta$
<b>Rugosidade</b>					
Água	0,122 $\pm$ 0,025 <sup>Aa</sup>	0,093 $\pm$ 0,033 <sup>Bab</sup>	0,090 $\pm$ 0,032 <sup>Bab</sup>	0,101 $\pm$ 0,048 <sup>Bab</sup>	-0,021 $\pm$ 0,029 <sup>a</sup>
NaOCl 1%	0,142 $\pm$ 0,008 <sup>Aa</sup>	0,170 $\pm$ 0,014 <sup>Bc</sup>	0,170 $\pm$ 0,014 <sup>Bcd</sup>	0,221 $\pm$ 0,032 <sup>Ccd</sup>	0,078 $\pm$ 0,037 <sup>b</sup>
Clorexidina 0,2%	0,137 $\pm$ 0,009 <sup>Aa</sup>	0,137 $\pm$ 0,010 <sup>Ad</sup>	0,145 $\pm$ 0,013 <sup>Ade</sup>	0,195 $\pm$ 0,014 <sup>Bc</sup>	0,058 $\pm$ 0,016 <sup>b</sup>
Lippia 0,02%	0,136 $\pm$ 0,028 <sup>Aa</sup>	0,117 $\pm$ 0,029 <sup>Bad</sup>	0,116 $\pm$ 0,031 <sup>Bae</sup>	0,130 $\pm$ 0,035 <sup>ABa</sup>	-0,006 $\pm$ 0,020 <sup>a</sup>
Lippia 0,2%	0,121 $\pm$ 0,017 <sup>Aa</sup>	0,086 $\pm$ 0,020 <sup>Bb</sup>	0,084 $\pm$ 0,029 <sup>Bb</sup>	0,090 $\pm$ 0,030 <sup>Bb</sup>	-0,030 $\pm$ 0,019 <sup>a</sup>
<b>Dureza</b>					
Água	17,52 $\pm$ 1,15 <sup>Aa</sup>	15,39 $\pm$ 0,40 <sup>Ba</sup>	17,27 $\pm$ 0,69 <sup>Aa</sup>	16,21 $\pm$ 0,46 <sup>Bac</sup>	-1,31 $\pm$ 1,09 <sup>ab</sup>
NaOCl 1%	17,54 $\pm$ 1,15 <sup>Aa</sup>	16,18 $\pm$ 0,496 <sup>Bab</sup>	15,56 $\pm$ 0,60 <sup>BCb</sup>	14,80 $\pm$ 0,32 <sup>Cb</sup>	-2,74 $\pm$ 1,22 <sup>a</sup>
Clorexidina 0,2%	17,28 $\pm$ 1,04 <sup>Aa</sup>	15,85 $\pm$ 0,50 <sup>Ba</sup>	15,62 $\pm$ 0,42 <sup>Bb</sup>	15,47 $\pm$ 0,48 <sup>Bab</sup>	-1,82 $\pm$ 0,92 <sup>ab</sup>
Lippia 0,02%	17,55 $\pm$ 0,60 <sup>Aa</sup>	16,70 $\pm$ 1,20 <sup>Ab</sup>	16,94 $\pm$ 1,03 <sup>Aa</sup>	16,87 $\pm$ 0,69 <sup>Ac</sup>	-0,68 $\pm$ 1,02 <sup>b</sup>
Lippia 0,2%	17,61 $\pm$ 0,83 <sup>Aa</sup>	16,71 $\pm$ 0,81 <sup>Bb</sup>	16,86 $\pm$ 0,44 <sup>ABa</sup>	16,40 $\pm$ 0,45 <sup>Bc</sup>	-1,21 $\pm$ 1,13 <sup>b</sup>
<b>Massa</b>					
Água	2,4012 $\pm$ 0,139 <sup>Aa</sup>	2,4124 $\pm$ 0,139 <sup>Ba</sup>	2,4170 $\pm$ 0,139 <sup>Ca</sup>	2,4222 $\pm$ 0,140 <sup>Da</sup>	0,0209 $\pm$ 0,0021 <sup>a</sup>
NaOCl 1%	2,4050 $\pm$ 0,136 <sup>Aa</sup>	2,4135 $\pm$ 0,136 <sup>Ba</sup>	2,4173 $\pm$ 0,136 <sup>Ca</sup>	2,4211 $\pm$ 0,136 <sup>Da</sup>	0,0161 $\pm$ 0,0010 <sup>b</sup>
Clorexidina 0,2%	2,4248 $\pm$ 0,106 <sup>Aa</sup>	2,4376 $\pm$ 0,105 <sup>Ba</sup>	2,4420 $\pm$ 0,106 <sup>Ca</sup>	2,4457 $\pm$ 0,106 <sup>Da</sup>	0,0209 $\pm$ 0,0017 <sup>a</sup>
Lippia 0,02%	2,4637 $\pm$ 0,146 <sup>Aa</sup>	2,4760 $\pm$ 0,146 <sup>Ba</sup>	2,4804 $\pm$ 0,147 <sup>Ca</sup>	2,4843 $\pm$ 0,147 <sup>Da</sup>	0,0200 $\pm$ 0,0000 <sup>a</sup>
Lippia 0,2%	2,4243 $\pm$ 0,116 <sup>Aa</sup>	2,4365 $\pm$ 0,117 <sup>Ba</sup>	2,4406 $\pm$ 0,117 <sup>Ca</sup>	2,4446 $\pm$ 0,117 <sup>Da</sup>	0,0202 $\pm$ 0,0018 <sup>a</sup>

Para cada propriedade, médias com letras maiúsculas diferentes horizontalmente e minúsculas diferentes verticalmente indicam diferenças significantes (Bonferroni;  $p < 0,05$ ). Para variação ( $\Delta$ ) em cada propriedade, médias com letras minúsculas diferentes verticalmente indicam diferenças significantes (ANOVA-1-way/Bonferroni,  $p < 0,05$ ).

A variação de estabilidade de cor após imersão em água destilada foi constante ao longo do período do estudo e abaixo do limite de perceptibilidade ( $\Delta E_{00} < 1,33$ ) (Tabela 2). O hipoclorito de sódio 1% foi responsável pela maior alteração de cor, sendo estatisticamente superior ao grupo imerso em água em todos os períodos avaliados. Já após 15 dias de imersão, a alteração de cor ultrapassou o limite de perceptibilidade, e aos 50 dias, valor médio acima do limite de aceitabilidade clínica ( $\Delta E_{00} > 2,25$ ) foi observado. Após 25 dias de imersão, as variações observadas nas demais soluções ocorreram entre os limites de perceptibilidade e aceitabilidade e, em geral, semelhantes entre si. Ao final do estudo, a solução de OELS 0,02% e a clorexidina 0,2% apresentaram valores de  $\Delta E_{00}$  semelhantes entre si e ao grupo imerso em água destilada. Já na concentração 0,2%, a média de  $\Delta E_{00}$  foi semelhante ao grupo imerso em hipoclorito de sódio 1%, porém, dentro do limite de aceitabilidade clínica.

Tabela 2. Média  $\pm$ desvio-padrão para variação de estabilidade de cor ( $\Delta E_{00}$ ) após as imersões.

	15 dias	25 dias	50 dias
Água	0,88 $\pm$ 0,60 <sup>Aa</sup>	0,97 $\pm$ 0,50 <sup>Aa</sup>	1,17 $\pm$ 0,43 <sup>Aa</sup>
NaOCl 1%	1,61 $\pm$ 0,38 <sup>Ab</sup>	2,01 $\pm$ 0,52 <sup>ABb</sup>	2,60 $\pm$ 0,48 <sup>Bb</sup>
Clorexidina 0,2%	1,03 $\pm$ 0,39 <sup>Aab</sup>	1,33 $\pm$ 0,46 <sup>Aac</sup>	1,64 $\pm$ 0,73 <sup>Aac</sup>
Lippia 0,02%	1,13 $\pm$ 0,51 <sup>Aab</sup>	1,36 $\pm$ 0,65 <sup>ABad</sup>	1,72 $\pm$ 0,69 <sup>Bad</sup>
Lippia 0,2%	1,32 $\pm$ 0,36 <sup>Aab</sup>	1,81 $\pm$ 0,84 <sup>Bbcd</sup>	2,08 $\pm$ 0,58 <sup>Bbcd</sup>

Médias com letras maiúsculas diferentes horizontalmente e minúsculas diferentes verticalmente indicam diferenças significantes (Bonferroni;  $p < 0,05$ ).

A média da resistência flexural após imersão em clorexidina 0,2% e Lippia 0,02% foi semelhante ao grupo imerso em água destilada (Tabela 3). Valores semelhantes foram observados nos grupos imersos em hipoclorito de sódio 1% e Lippia 0,2%, estaticamente menores aos demais grupos ( $p=0.008$ ).

Tabela 3. Média ( $\pm$ desvio-padrão) para os valores de resistência a flexão, em Mpa, ao final das imersões.

	Resistência a flexão
Água	78,27 $\pm$ 3,20 <sup>a</sup>
NaOCl 1%	67,44 $\pm$ 6,57 <sup>b</sup>
Clorexidina 0,2%	71,05 $\pm$ 8,25 <sup>ab</sup>
Lippia 0,02%	72,42 $\pm$ 6,20 <sup>ab</sup>
Lippia 0,2%	64,56 $\pm$ 8,73 <sup>b</sup>
$p^{\dagger}$	0.008*

Médias com letras minúsculas diferentes verticalmente indicam diferenças significantes ( $p < 0,05$ ). ANOVA-1-way/Bonferroni.

A figura 1 representa imagens obtidas pela microscopia eletrônica após 50 dias de imersão nas soluções testadas. A ação dos líquidos na superfície do material se deu em torno dos defeitos inerentes do procedimento de polimento (linhas), tornando-os mais evidentes, sendo mais discreto no grupo imerso em água destilada e mais acentuado no grupo Lippia 100xMIC. Já no grupo imerso em hipoclorito de sódio 1%, características de corrosão podem ser observadas, não se limitando aos traçados do polimento.

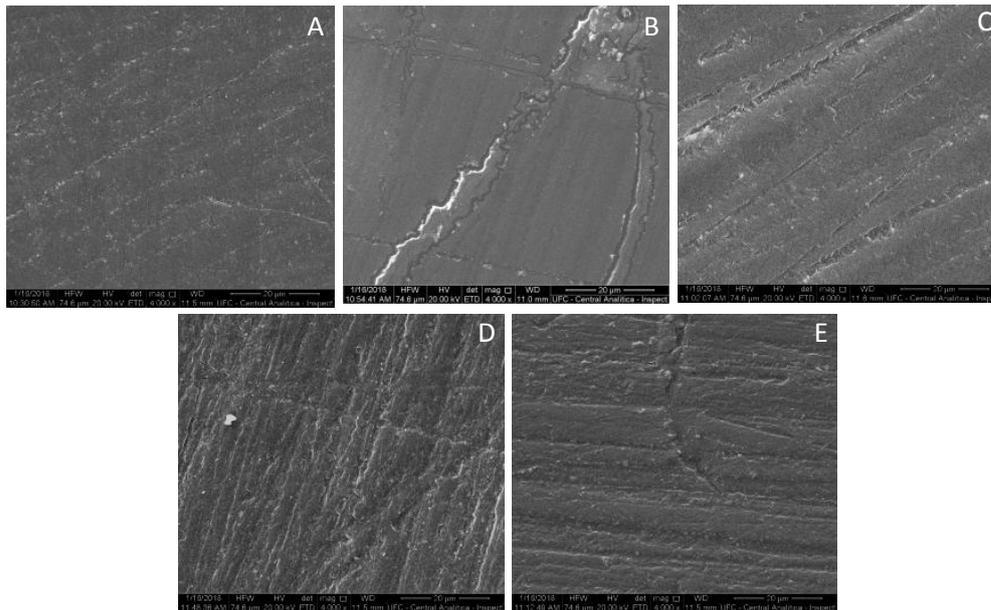


Figura 1. Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície da resina acrílica após 50 dias de contato com as soluções A – água destilada; B – hipoclorito de sódio 1%; C – clorexidina 0,2%; D – OELS 0,02%; E – OELS 0,2%.

## 4. DISCUSSÃO

Foi avaliado o efeito de uma solução experimental a base de óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) para higienização de próteses dentárias, na estabilidade de cor, rugosidade de superfície, microdureza, resistência flexural e alteração de massa de uma resina acrílica para base de prótese dentária. No geral, a imersão na solução de menor concentração de OELS levou a alterações nas propriedades avaliadas semelhantes ao efeito da água destilada, expressando menor alteração de resistência flexural em relação às demais soluções antimicrobianas testadas. Já para a solução de maior concentração, alterações em diversos níveis e de diferentes formas foram observadas de acordo com o tempo de contato com o material, por vezes semelhantes às soluções comercialmente disponíveis. Assim, a hipótese nula do estudo foi rejeitada.

A resina acrílica quando em contato com soluções aquosas sofre interferência das moléculas de água na cadeia polimérica por fenômenos de absorção e adsorção, que atuam como plastificantes, levando a degradação estrutural e formação de microfissuras (Pisani et al., 2010), justificando as alterações observadas mesmo após imersão em água destilada. No geral, os grupos imersos nas soluções comercialmente disponíveis demonstraram maiores alterações nas suas propriedades, principalmente o hipoclorito de sódio 1%, demonstrando o potencial de degradação de resina acrílica por esses produtos (Paranhos et al., 2013b).

Semelhante à imersão em água destilada, as soluções à base de OELS levaram a uma redução inicial da rugosidade, mantendo-se constante ao longo do estudo. Ao contrário, as soluções comerciais levaram ao aumento progressivo desse parâmetro, evidenciando o efeito corrosivo dos seus componentes químicos amplamente discutidos na literatura (Fernandes, et al., 2013; Sharma et al., 2017; Porwal et al., 2017), o que

não foi observado nas soluções experimentais. A literatura aponta que a rugosidade da superfície de um material odontológico deve ser idealmente inferior a  $0,2\mu\text{m}$  (Bollen et al., 1997), no intuito de dificultar a adesão bacteriana e a retenção mecânica de substâncias extrínsecas bem como controlar o coeficiente de atrito do material, sua abrasividade e potencial de desgaste de superfície antagonista (Satpathy et al., 2013; Amaya-Pajares et al., 2016). Diferente das soluções a base de OELS, as imersões nas soluções comerciais aumentaram a rugosidade a valores próximos desse limite, o qual foi superado pela imersão em hipoclorito de sódio 1%.

Outros agentes fitoterápicos testados com a mesma finalidade demonstraram efeito oposto. Em estudos prévios (Silva et al. 2008; Pisani et al. 2010), soluções a base de própolis e *Ricinus communis* para imersão de próteses dentárias levaram a um aumento considerável da rugosidade, tendo sido atribuído esse efeito à deposição dos princípios ativos na superfície do material. Tal deposição não foi observada na superfície dos espécimes desse estudo, provavelmente pela baixa concentração do princípio ativo utilizado, bem como pela presença do lauril sulfato de sódio como diluente que confere uma natureza adstringente à solução, evitando tal efeito.

A estabilidade de cor é uma propriedade de superfície extremamente importante, funcionando como indicador das condições de uso das próteses e influenciando a satisfação dos pacientes (Hollis et al., 2015). As soluções à base de OELS apresentam uma coloração amarelada decorrente do aspecto organoléptico do seu óleo essencial, de intensidade dependente da concentração do extrato. No decorrer dos períodos de avaliação, os valores de  $\Delta E_{00}$  encontrados para o grupo imerso na solução de menor concentração de OELS foram semelhantes aos grupos imersos em água destilada e clorexidina 0,2%. Já a solução de OELS na maior concentração levou a alteração de cor próxima ao grupo imerso em hipoclorito de sódio 1%, ambos superiores água destilada.

Entretanto, o hipoclorito de sódio 1% foi a única solução a causar alterações acima do limite de aceitabilidade clínica ( $\Delta E_{00} > 2,25$ ) (Koroglu et al., 2016; Sahin et al., 2016). Estudos prévios demonstraram o elevado potencial de alteração de cor da resina acrílica pela imersão em hipoclorito de sódio 1% (Pisani et al., 2010; Pisani et al., 2012a; Silva et al., 2011; Paranhos et al., 2013b). Pisani e cols. (2010, 2012a e 2012b), investigando um extrato da planta *Ricinus communis* para aplicação na higienização de próteses dentárias, encontraram alterações expressivas na cor, sendo os achados atribuídos à formação de uma película grossa e aderida à superfície do material, o que não ocorreu no presente estudo.

A análise da microdureza após imersões permitiria identificar se a resina acrílica sofre “amolecimento”, plastificação ou alterações na rigidez. Redução dos valores pode facilitar a perda estrutural pela corrosão de diversos agentes na superfície do material (Yiu et al., 2004), bem como pela ação da mastigação e escovação. O efeito plastificante sofrido pela resina acrílica devido aos fenômenos de absorção e adsorção quando em contato com as soluções aquosas é esperado. Estudos prévios testando extratos de outras plantas como solução de imersão, observam o efeito de redução nessa propriedade (Pisani et al., 2010; Pisani et al., 2012b). No geral, a imersão nas soluções testadas no presente estudo levou a redução significativa da microdureza ao longo do tempo, exceto pela solução contendo a menor concentração de OELS, o que não era esperado. Ao final do estudo, as soluções contendo OELS levaram a variações na microdureza semelhantes ao grupo imerso em água destilada, e estatisticamente inferior ao hipoclorito de sódio 1%, demonstrando a segurança da sua utilização.

Através do acompanhamento da massa dos grupos, foi possível avaliar possíveis perdas estruturais pelo efeito corrosivo ou ganhos de massa decorrente da absorção de líquidos das soluções. Aumento progressivo na massa foi observado em todas as

soluções testadas, semelhante à água destilada, evidenciando o efeito da absorção de água pelo material polimérico (Fernandes et al., 2013). No entanto, variação estatisticamente menor foi observada no grupo imerso em hipoclorito de sódio 1%, provavelmente decorre do efeito corrosivo dessa solução, também demonstrado em estudos prévios (Fernandes et al., 2013; Pisani et al., 2010).

O uso crônico de soluções com efeito plastificante pode ter influência direta na resistência à flexão dos materiais poliméricos, favorecendo maior incidência de fraturas do material tanto dentro como fora da boca (Paranhos et al., 2013b). Apesar da diferença estatística que os grupos hipoclorito de sódio 1% e OELS 0,2% apresentaram dos demais, os valores de resistência flexural apresentados permaneceram dentro do aceitável, não devendo ser inferior a 64 Mpa (ISO 1567 para as resinas acrílicas termopolimerizáveis de forma convencional ou por energia de microondas). Os achados referentes à resistência à flexão corroboram com demais estudos que utilizaram soluções a base de óleos essenciais de outras plantas (Madeira et al., 2016; Pisani et al., 2010).

Embora do estudo ter demonstrado o potencial de uso da solução experimental testada, os resultados devem ser interpretados com cautela tendo em vista as limitações inerentes do estudo *in vitro* em reproduzir a complexidade da cavidade oral. Outros aspectos devem ser avaliados simultaneamente, como a realização da escovação simultaneamente as imersões. Futuros estudos deverão investigar a ação dessas soluções em outros materiais utilizados em próteses dentárias como dentes artificiais, materiais reembasadores, ligas metálicas, dentre outros.

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- A solução a base de OELS, em ambas as concentrações testadas (0,02% e 0,2%) reduziram a rugosidade de superfície e a microdureza da resina acrílica de forma semelhante água destilada;

- A variação na estabilidade de cor da resina acrílica foi superior para a solução de maior concentração, entretanto, as alterações ocorreram dentro do limite de aceitabilidade clínica, ao contrário do hipoclorito de sódio 1%.

- A imersão nas soluções experimentais, em ambas as concentrações, dentro do período avaliado, não prejudicou a resistência a flexão da resina acrílica, a qual se manteve dentro do limite ideal;

- O aumento de massa observado após imersão nas soluções experimentais foi semelhante às demais soluções.

- No geral, o hipoclorito de sódio 1% causou as maiores alterações nas propriedades avaliadas.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Kassebaum NJ1, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, Murray CJL, Marcenes W; GBD 2015 Oral Health Collaborators. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *J Dent Res* 2017 Apr;96(4):380-387.
2. Loster JE, Wieczorek A, Loster BW. Correlation between age and gender in *Candida* species infections of complete denture wearers: a retrospective analysis. *Clin Interv Aging* 2016 Nov 21;11:1707-1714.
3. Duyck J, Vandamme K, Muller P, Teughels W. Overnight storage of removable dentures in alkaline peroxide-based tablets affects biofilm mass and composition. *J Dent* 2013;4:1281-1288.
4. Gueto A, Martínez R, Niklander S, Deichler J, Barraza A, Esguep A. Prevalence of oral mucosal lesions in an elderly population in the city of Valparaiso, Chile. *Gerodontology* 2013;30(3):201–206.
5. Josefina Angulo-Núñez J, Rodríguez-Archilla A. Oral mucosal lesions in patients of Mérida, Venezuela. *Invest Clin* 2015 Dec;56(4):367-376.
6. Ercalik-Yalcinkaya S, Ozcan M. Association between oral mucosal lesions and hygiene habits in a population of removable prosthesis wearers. *J Prosthodont* 2015;24(4):271–278.
7. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont* 2011 Jun;20(4):251-260.
8. Tarçın, BG. Oral candidosis: aetiology, clinical manifestations, diagnosis and management. *MÜSBED* 2011;1(2),140-148.

9. Ferreira GLS, Pérez AL, Rocha IM, Pinheiro MA, Castro RD, Carlo HL, Lima EO, Castellano LR. Does scientific evidence for the use of natural products in the treatment of oral candidiasis exist? A systematic review. *Evidence Evid Based Complement Alternat Med* 2015;2015:147804.
10. Valentini F, Luz MS, Boscato N. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *J Dent* 2013;41(5):420-427.
11. Yarborough A, Cooper L, Duqum I, Mendonça G, McGraw K, Stoner L. Evidence regarding the treatment of denture stomatitis. *J Prosthodont* 2016;25(4):288-301.
12. Evren BA, Uludamar A, Iseri U, Ozkan YK. The association between socioeconomic status, oral hygiene practice, denture stomatitis and oral status in elderly people living different residential homes. *Arch Gerontol Geriatr* 2011;53(3):252–257.
13. Paranhos H de F, Salles AE, Macedo LD, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Watanabe E. Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. *Braz Dent J* 2013a;24(1):47-52.
14. Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S, Meredith P, Solie C, Avery D, Deal Chandler N. Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Prosthodont* 2011;20:S1-S12
15. Pisani MX, Silva CHL, Paranhos HFO, Souza RF, Macedo AP. The effect of experimental solution *Ricinus communis* on acrylic resin acrylic properties. *Mater Res* 2010;13:369-373.
16. Paranhos H de F, Peracini A, Pisani MX, Oliveira Vde C, de Souza RF, Silva-Lovato CH. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Braz Dent J* 2013b;24(2):152-156.

17. Hollis S, Eisenbeisz E, Versluis A. Color stability of denture resins after staining and exposure to cleansing agents. *J Prosthet Dent* 2015 Nov;114(5):709-714.
18. Botelho MA, Nogueira NA, Bastos GM, Fonseca SG, Lemos TL, Matos FJ, Montenegro D, Heukelbach J, Rao VS, Brito GA. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz J Med Biol Res* 2007; Mar;40(3):349-356.
19. Lobo PL, Fonteles CS, Marques LA, Jamacaru FV, Fonseca SG, de Carvalho CB, de Moraes ME. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: a randomized, double-blind, controlled study. *Phytomedicine* 2014; Jul-Aug;21(8-9):1043-1047.
20. Veras HN, Rodrigues FF, Colares AV, Menezes IR, Coutinho HD, Botelho MA, Costa JG. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. *Fitoterapia* 2012; Apr;83(3):508-512.
21. Nostro A, Roccaro AS, Bisignano G, Marino A, Cannatelli MA, Pizzimenti, FC, Cioni PL, Procopio F, Blanco AR. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Med Microbiol* 2007;56:519–523.
22. Veras HNH, Rodrigues FFG, Botelho MA, Menezes IRA, Coutinho HDM, da Costa JGM. Antimicrobial effect of *Lippia sidoides* and thymol on *Enterococcus faecalis* biofilm of the bacterium isolated from root canals. *ScientificWorldJournal* 2014;2014:471580.
23. Zarb GA, Hobkirk J, Eckert S, Jacob R. *Prosthodontic treatment for edentulous patients-e-book: complete dentures and implant-supported prostheses*. Elsevier Health Science 2013.

24. Barreto JO, de Alencar-Silva FJ, Oliveira VC, Silva-Lovato CH, Silva PG, Regis RR. The effect of a continuous mechanical polishing protocol on surface roughness, biofilm adhesion, and color stability of acrylic resin artificial teeth. *J Prosthodont*. 2018 Jun 10.
25. Sharma G, Wu W, Dalal E. The CIEDE2000 color-difference formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Col Res Appl* 2005;30:21-30.
26. Koroğlu A, Sahin O, Dede DÖ, Yilmaz B. Effect of different surface treatment methods on the surface roughness and color stability of interim prosthodontic materials. *J Prosthet Dent* 2016 Apr;115(4):447-455.
27. Sahin O, Koroglu A, Dede DÖ, Yilmaz B. Effect of surface sealant agents on the surface roughness and color stability of denture base materials. *J Prosthet Dent* 2016; Oct 116(4):610-616.
28. Consani RL, Folli BL, Nogueira MC, Correr AB, Mesquita MF. Effect of polymerization cycles on gloss, roughness, hardness and impact strength of acrylic resins. *Braz Dent J* 2016;27(2):176-180.
29. Madeira PL, Carvalho LT, Paschoal MA, de Sousa EM, Moffa EB, da Silva MA, Tavarez RJ, Gonçalves LM. In vitro effects of lemongrass extract on candida albicans biofilms, human cells viability, and denture surface. *Front Cell Infect Microbiol* 2016 Jun 28;6:71.
30. Fernandes FHCV, Orsi IA, Villabona CA. Effects of the peracetic acid and sodium hypochlorite on the colour stability and surface roughness of the denture base acrylic resins polymerised by microwave and water bath methods. *Gerodontology* 2013;30:18–25.

31. Sharma P, Garg S, Kalra NM. Effect of denture cleansers on surface roughness and flexural strength of heat cure denture base resin-an in vitro study. *J Clin Diagn Res* 2017; Aug;11(8):ZC94-ZC97.
32. Porwal A, Khandelwal M, Punia V, Sharma V. Effect of denture cleansers on color stability, surface roughness, and hardness of different denture base resins. *J Indian Prosthodont Soc* 2017; Jan-Mar 17(1):61-67.
33. Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater* 1997;13(4):258-269.
34. Satpathy A, Dhakshaini MR, Gujjari AK. An evaluation of the adherence of *Candida albicans* on the surface of heat cure denture base material subjected to different stages of polishing. *J Clin Diagn Res* 2013;7(10):2360-2363.
35. Amaya-Pajares SP, Ritter AV, Vera Resendiz C, Henson BR, Culp L, Donovan TE. Effect of finishing and polishing on the surface roughness of four ceramic materials after occlusal adjustment. *J Esthet Restor Dent* 2016;28(6):382-396.
36. da Silva WJ, Rached RN, Rosalen PL, Del bel Cury AA. Effects of nystatin, fluconazole and propolis on poly(methyl methacrylate) resin surface. *Braz Dent J* 2008;19(3):190-196.
37. Da Silva PMB, Acosta EJTR, Pinto LR, Graeff M, Spolidorio DMP, Almeida RS, Porto VC. Microscopical analysis of *Candida albicans* biofilms on heat-polymerised acrylic resin after chlorhexidine gluconate and sodium hypochlorite treatments. *Mycoses* 2011; 54:e712–e717.
38. Pisani MX, Macedo AP, Paranhos HFO, Silva CHL. Effect of experimental ricinus communis solution for denture cleaning on the properties of acrylic resin teeth. *Braz Dent J* 2012a; 23(1):15-21.

39. Pisani MX, da Silva CH, Paranhos HF, Souza RF, Macedo AP. Evaluation of experimental cleanser solution of *Ricinus communis*: effect on soft denture liner properties. *Gerodontology* 2012b; Jun 29(2):e179-185.
40. Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, Tay FR. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials* 2004 Nov;25(26):5789-5796.