



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

JOEL OLIVEIRA BARRETO

**Avaliação de diferentes aplicações do óleo essencial de *Lippia sidoides*
em prótese dentária**

Fortaleza

2023

JOEL OLIVEIRA BARRETO

**Avaliação de diferentes aplicações do óleo essencial de *Lippia sidoides*
em prótese dentária**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Rocha Regis.

FORTALEZA

2023

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)

B263 Barreto, Joel Oliveira.

Avaliação de diferentes aplicações do óleo essencial de Lippia sidoides em prótese dentária / Joel Oliveira Barreto. – 2023.
137 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Romulo Rocha Regis.

1. Biofilme. 2. Lippia. 3. Prótese dentária. 4. Propriedades de superfície. I. Título.

CDD 615

JOEL OLIVEIRA BARRETO

**Exame de defesa
Curso de Doutorado em Odontologia.**

Aprovada em _____ / _____ / _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Romulo Rocha Regis

Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Raniel Fernandes Peixoto

Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dra. Bruna Marjorie Dias Frota de Carvalho

Centro Universitário Christus – UniChristus

Prof. Dra. Ramille Araújo Lima

Centro Universitário Christus – UniChristus

Prof. Dr. Victor Pinheiro Feitosa

Faculdade Paulo Picanço - FACPP

A Deus.

Agradecimento Especial

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Rômulo Rocha Régis**, pela atenção, dedicação, paciência e esmero em ensinar, tornando essa caminhada menos sinuosa, repleta de ensinamentos científicos e pessoais. Obrigado pela confiança, pelas oportunidades, carinho e momentos de alegria. A você, meu querido orientador, todo meu respeito e admiração. Com você, aprendi a profissão de mestre e, também, cresci como pessoa.

Agradecimentos

Em especial, à minha namorada **Anne Gabryelle**, pela firmeza, respeito e admiração, pelos momentos de estudos e dificuldades compartilhados, pelos sentimentos de altruísmo, cuidado e companheirismo.

Ao **Prof. Dr. Victor Feitosa, Prof. Dr. Diego Martins, Prof. Dr. João Esmeraldo, Prof. Dr. Cássio Pontes** e à **Prof. Dra. Claudia Helena Lovato**, pelos quais tenho profunda admiração; pelos ensinamentos transmitidos, exemplos de vida pessoal e profissional, e pelas palavras de carinho e cuidado sempre presentes.

À **Universidade Federal do Ceará**, pelo ambiente acadêmico oferecido, viabilizando e contribuindo para esta conquista.

Aos **funcionários do Programa de Pós-graduação em Odontologia**, pela convivência e auxílios prestados durante o período do Mestrado e Doutorado.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP – USP) e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da **Profª. Drª. Cláudia Helena Silva-Lovato**, pela oportunidade de desenvolver parte desta pesquisa sob sua orientação.

Aos funcionários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da FORP-USP, principalmente à **Viviane de Cássia Oliveira**, por todo auxílio prestado.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da minha bolsa de Doutorado.

E a todos que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho, meus sinceros e carinhosos agradecimentos.

RESUMO

Foi avaliada a atividade antimicrobiana de uma solução experimental contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS), seu efeito em propriedades físico-mecânicas de uma resina acrílica para base de próteses e o potencial antimicrobiano de um reembasador resiliente para prótese dentária incorporado de OELS. Determinou-se as concentrações inibitória (CIM) e fungicida/bactericida (CFM/CBM) mínimas da solução contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, e o efeito na atividade metabólica do biofilme de *C. albicans*, através do método de redução do XTT, em comparação a soluções de hipoclorito de sódio 1% (NaOCl 1%) e digluconato de clorexidina 0,2% (CHX 0,2%). A morfologia do biofilme foi avaliada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A solução apresentou boa ação antimicrobiana contra os patógenos testados (*C. albicans* - CIM e CFM: 19,53 µg/ml; *S. aureus* - CIM e CFM: 78,12 µg/ml; *P. aeruginosa* - CIM: 625 µg/ml e CBM: 2.500 µg/ml). Após 20 minutos e 8 horas de imersão nas soluções de OELS com concentrações 10×(195,3 µg/mL) e 20×CFM (390,6 µg/mL), a atividade metabólica do biofilme sobre a resina acrílica foi reduzida em aproximadamente 70% e 93%, respectivamente. Depois, espécimes de resina acrílica foram divididos em 5 grupos, de acordo com a solução de imersão: água destilada, NaOCl 1%, CHX 0,2%, solução de OELS 0,02% (10xCFM) e solução de OELS 0,2% (100xCFM). No *baseline* e após 15, 25 e 50 dias de imersão, foram avaliadas a rugosidade de superfície, microdureza, estabilidade de cor, massa e resistência à flexão. A superfície do material foi avaliada por meio de MEV. As soluções de OELS geraram alterações controladas na rugosidade, microdureza e massa, semelhantes às causadas pela água destilada. Na concentração de 0,2%, a alteração na estabilidade de cor e a redução na resistência flexural assemelha-se ao NaOCl 1% e à CHX 0,2%, ocorrendo, entretanto, dentro dos limites de aceitabilidade clínica e manutenção da resistência do material. Por fim, espécimes de um material reembasador resiliente temporário foram divididos em quatro grupos de acordo com o agente antimicrobiano incorporado: 1 - sem adição de antimicrobiano; 2 e 3 - OELS nas concentrações de 0,01g/mL (1%) e 0,02g/mL (2%), respectivamente (grupos-teste); 4 - Nistatina 0,032g/mL. Após a formação de biofilmes multiespécies de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* sobre os espécimes, foram avaliadas a carga microbiana dos micro-organismos por meio da contagem do número de unidades formadoras de colônicas (UFC/mL), a atividade metabólica do biofilme misto pela redução do XTT e a estrutura do biofilme por meio da identificação de células vivas e mortas em Microscopia de Fluorescência. Na concentração de 2%, a incorporação do OELS reduziu de forma significativa a carga microbiana do *S. aureus*, a

formação de biofilme, bem como sua viabilidade celular. Concluiu-se que a solução experimental contendo OELS em concentrações acima de 195,3 μ g/mL apresenta potencial de ser utilizado como higienizador de próteses dentárias, sem provocar alterações clinicamente relevantes nas propriedades físico-mecânicas testadas. Além disso, a incorporação do OELS na concentração 2% aumenta a atividade antimicrobiana do material reembasador resiliente frente aos micro-organismos avaliados.

Palavras-chave: Biofilme. *Candida albicans*. Estomatite sob prótese. Higienizadores de Dentadura. *Lippia*. Propriedades de superfície. Prótese dentária. Reembasadores de dentadura. Resinas acrílicas.

ABSTRACT

The antimicrobial activity of an experimental solution containing *Lippia sidoides* essential oil (LSEO), its effect on physical-mechanical properties of a denture base acrylic resin, and the antimicrobial potential of an OELS-incorporated resilient denture reline were evaluated. The minimum inhibitory (MIC) and fungicidal/bactericidal (MFC/MBC) concentrations of the solution were determined against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomona aeruginosa*, as well as the effect on the metabolic activity of the *C. albicans* biofilm, through the XTT reduction method, in comparison to 1% sodium hypochlorite (NaOCl 1%) and 0.2% chlorhexidine digluconate (CHX 0.2%). Biofilm morphology was evaluated using Scanning Electron Microscopy (SEM). The solution showed good antimicrobial action against the tested pathogens (*C. albicans* - MIC and MFC: 19.53 µg/ml; *S. aureus* - MIC and MBC: 78.12 µg/ml; *P. aeruginosa* - MIC: 625 µg/ml and MBC: 2.500 µg/ml). After 20 minutes and 8 hours of immersion in the solutions with concentrations 10×(195.3 µg/mL) and 20×CFM (390.6 µg/mL), the metabolic activity of the biofilm was reduced by approximately 70% and 93%, respectively. Afterwards, acrylic resin specimens were divided into five groups according to the immersion solution: distilled water, 1% NaOCl, 0.2% CHX, 0.02% OELS solution (10xMFC), and 0.2% OELS solution (100xMFC). At baseline and after 15, 25 and 50 days of immersion, surface roughness, microhardness, color stability, mass, and flexural strength were evaluated. The surface of the material was evaluated by SEM. The OELS solutions generated controlled changes in roughness, microhardness and mass, similar to those caused by distilled water. At the 0.2% concentration, the change in color stability and the reduction in flexural strength resembled that of 1% NaOCl and 0.2% CHX, occurring, however, within the limits of clinical acceptability and maintenance of material strength. Finally, specimens of a temporary resilient material were divided into four groups according to the antimicrobial agent incorporated: 1 - no antimicrobial agent added; 2 and 3 - OELS at concentrations of 0.01g/mL (1%) and 0.02g/mL (2%), respectively (test groups); 4 - Nystatin 0.032g/mL. After the formation of multispecies biofilms of *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* on the specimens, the microbial load of the microorganisms were evaluated by counting the number of colony forming units (CFU/mL), the metabolic activity of the mixed biofilm by reducing XTT, and the structure of the biofilm by identifying live and dead cells in Fluorescence Microscopy. At the 2% concentration, the incorporation of OELS significantly reduced the microbial load of *S. aureus*, biofilm formation, as well as its cell viability. It was concluded that the experimental solution containing OELS in concentrations above 195.3µg/mL has the potential to be used as a sanitizer for dental

prostheses, without causing clinically relevant changes in the physical-mechanical properties tested. Moreover, the incorporation of OELS in a 2% concentration increases the antimicrobial activity of the resilient relining material against the evaluated microorganisms.

Keywords: Dental prosthesis. Surface properties. Acrylic resins. Biofilms. *Candida albicans*. Denture cleansers. Denture liners. *Lippia*. Stomatitis. Denture.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2. PROPOSIÇÃO.....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. CAPÍTULOS	20
3.1 Capítulo 1.....	21
3.2 Capítulo 2.....	57
3.3 Capítulo 3.....	77
4. CONCLUSÃO GERAL.....	104
5. REFERÊNCIAS.....	105
6. ANEXO A: NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS NO PERIÓDICO <i>BIOFOULING</i>	114
7. ANEXO B: NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS NO PERIÓDICO <i>JOURNAL OF PROSTHODONTICS</i>.....	123