

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**ESTUDO *in situ*, CEGO, PAREADO,  
RANDOMIZADO DO CINAMALDEÍDO NA  
DESINFECÇÃO DE PRÓTESES REMOVÍVEIS**

**MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA**

**SAPIENTIA AEDIFICAT**

**2018**

**MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA**

**ESTUDO *in situ*, CEGO, PAREADO, RANDOMIZADO DO  
CINAMALDEÍDO NA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES REMOVÍVEIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

Coorientador: Prof. Dr. André Ulisses Dantas Batista

João Pessoa

2018

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

A447e Almeida, Marco Antonio Lavorato de.

Estudo in situ, cego, pareado, randomizado do cinamaldeído na desinfecção de próteses removíveis / Marco Antonio Lavorato de Almeida. - João Pessoa, 2018. 45 f. : il.

Orientação: Ricardo Dias de Castro.

Coorientação: André Ulisses Dantas Batista.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. biofilme. 2. desinfecção. 3. Candida albicans. 4. prótese total. 5. randomizado. I. Castro, Ricardo Dias de. II. Batista, André Ulisses Dantas. III. Título.

UFPB/BC

MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA

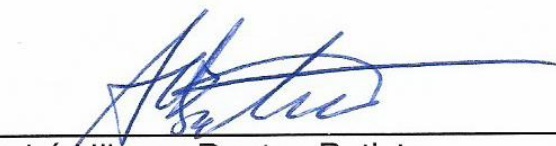
**ESTUDO *in situ*, CEGO, PAREADO, RANDOMIZADO DO  
CINAMALDEÍDO NA DESINFECÇÃO DE PRÓTESES REMOVÍVEIS**

Banca Examinadora




---

Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro  
Orientador



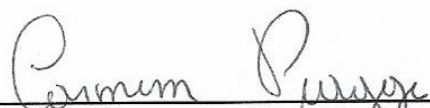
---

Prof. Dr. André Ulisses Dantas Batista  
Coorientador



---

Prof. Dr. Alexandre Rezende Vieira  
Examinador Interno



---

Profa. Dra. Carmem Silvia Laureano Dalle Piagge  
Examinador Externo

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por me dar discernimento na execução deste trabalho;

À minha amada esposa, pelo apoio integral e carinho dedicado no transcorrer do curso;

À minha amada filha pelo amor, carinho e inspiração;

Ao Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro, meu orientador, sempre disposto a contribuir com sua experiência, conhecimentos acadêmicos e condução laboratorial da pesquisa;

Ao Prof. Dr. André Ulisses Dantas Batista, meu coorientador, apoiando a execução clínica e laboratorial deste estudo;

Ao apoio fornecido por toda equipe da clínica de Triagem e Estomatologia na seleção dos pacientes;

A todos os colegas que participaram do Projeto de Extensão de Prótese, permitindo a confecção das novas próteses aos pacientes que integraram esta pesquisa;

Aos demais professores e integrantes do PPGO / UFPB, pela dedicação e conhecimentos transmitidos;

Ao Laboratório de Prótese Dentária LAPD, com a execução laboratorial e oferta das novas próteses aos pacientes integrantes da pesquisa;

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a conclusão de mais esta jornada.

## EPÍGRAFE

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas”.

(Claude Lévi-Strauss)

## RESUMO

**Objetivo:** Este estudo clínico *in situ*, cego, pareado, randomizado investigou o efeito do cinamaldeído na desinfecção de próteses totais. **Métodos:** corpos de prova foram inseridos em amostra probabilística de próteses de 33 usuários, que de forma pareada e cruzada utilizaram solução de cinamaldeído (200 µg/mL) e hipoclorito de sódio (0,5%) para desinfecção. Para definição da concentração do cinamaldeído a ser utilizada no estudo *in situ*, foi avaliado seu efeito, *in vitro*, sobre biofilme de *Candida* spp. Estes corpos foram analisados quanto à presença de microrganismos antes e após o uso dos produtos, 7<sup>o</sup> e 14<sup>o</sup> dia, respectivamente, a partir da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As propriedades da resina acrílica (rugosidade e dureza Vickers) foram aferidas no início e após a imersão, com os parâmetros de cor analisados pelo método do National Bureau of Standards (NBS). Os dados foram analisados por testes estatísticos, considerando  $\alpha=5\%$ .

**Resultados:** A concentração do cinamaldeído capaz de reduzir de modo significativo ( $p<0,05$ ) o biofilme de *Candida* spp. foi de 195 µg/mL. Observou-se redução significativa ( $p<0,05$ ) no número de UFC/mL entre o 7<sup>o</sup> e 14<sup>o</sup> dia de uso para cada tipo de microrganismo (microrganismos totais, do grupo mutans e *Candida* spp.), sem diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre hipoclorito e cinamaldeído. Ocorreu aumento da rugosidade e diminuição na dureza dos corpos de prova, sem diferença entre as substâncias ( $p>0,05$ ). Tanto o hipoclorito, quanto o cinamaldeído causaram alteração na cor consideradas perceptíveis pela classificação NBS, mas sem diferença significativa entre os produtos ( $p<0,05$ ).

**Conclusão:** a solução contendo cinamaldeído a 200 µg/mL apresentou efeito contra todos os microrganismos avaliados, causou alteração na dureza Vickers, rugosidade superficial e parâmetros de cor sem relevância clínica, de modo similar ao hipoclorito de sódio, podendo ser associada ao método mecânico para a limpeza e desinfecção das próteses totais e prevenção da estomatite protética.

**Palavras-chave:** biofilme; desinfecção; *Candida albicans*; prótese total; randomizado.

## ABSTRACT

**Objective:** This blind, paired, randomized *in situ* clinical study investigated the effect of cinnamaldehyde on complete denture disinfection. **Method:** Test specimens (disks) were inserted into the prostheses of 33 users that as a probabilistic sample used solutions of cinnamaldehyde (200 µg/mL) and sodium hypochlorite (0.5%) in a paired and crossed manner for disinfection of their dentures. To determine the concentration of cinnamaldehyde to be used in the *in situ* study, its effect was first evaluated *in vitro*, on *Candida* spp biofilm. The disks were analyzed for the presence of microorganisms before and after the use of the products, on the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days, respectively; counting colony forming units (CFU) and scanning with an electron microscopy (SEM). The properties of the acrylic resin (roughness and Vickers hardness) were measured at the beginning and after immersion, with color parameters analyzed using the National Bureau of Standards (NBS) method. The data were analyzed by statistical tests, considering  $\alpha = 5\%$ . **Results:** The cinnamaldehyde concentration capable of significantly reducing *Candida* spp. biofilm was 195 µg/mL ( $p < 0.05$ ). A significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the number of CFU/mL between the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day of use was observed for each type of microorganism (total microorganisms, from the mutans group and *Candida* spp.), with no significant differences ( $p > 0.05$ ) between hypochlorite and cinnamaldehyde. There was an increase in the roughness and a decrease in the hardness of the test specimens, again with no difference between the two disinfectant substances ( $p > 0.05$ ). Both hypochlorite and cinnamaldehyde also caused changes in color considered perceptible by NBS classification, but without significant difference between products ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Similar to sodium hypochlorite, the solution containing cinnamaldehyde at 200 µg/mL presented efficacy against all evaluated microorganisms, caused changes in Vickers hardness, surface roughness and color parameters without clinical relevance, and can be associated with a mechanical method for the cleansing and disinfection of dentures and the prevention of prosthetic stomatitis.

**Keywords:** biofilm; disinfection; *Candida albicans*; dentures; randomized trial.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ATCC-Coleção de Cepas do Padrão Americano

UFC/mL- Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

PBS- Tampão Fosfato-Solução

NaCl- Cloreto de Sódio

pH - Potencial Hidrogeniônico

µg/mL- microgramas por mililitro

h - hora

min- minutos

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>   | 01 |
| <b>2. CAPÍTULO 1</b>   | 03 |
| <i>IN SITU</i> , BLIND, PAIRED, RANDOMIZED STUDY OF<br>CINNAMALDEHYDE IN DISINFECTION OF REMOVABLE<br>PROSTHESES |    |
| <b>3. CONSIDERAÇÕES GERAIS</b>   | 23 |
| <b>4. CONCLUSÃO</b>  | 26 |
| <b>REFERÊNCIAS</b>   | 27 |
| <b>ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>  | 32 |
| <b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b>   | 36 |

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento na expectativa de vida nos países em desenvolvimento tem levado a um crescimento do número de idosos na população, com um incremento no número de pessoas que necessitam de próteses dentárias removíveis (GLEIZNYS et al., 2015). A perda dentária é considerada um dos principais agravos à saúde bucal devido à sua alta prevalência, conforme evidenciado na Pesquisa Nacional de Saúde Bucal realizada em 2010, a qual mostrou que na faixa etária de 65 a 74 anos a porcentagem de usuários de prótese total foi de 63,1% para o Brasil e 56,1% para a região Nordeste (BRASIL, 2012). Quase 60% dos idosos nos estratos de escolaridade e renda mais baixos eram edêntulos, fatores que estão frequentemente associados a esta condição (BARBATO; REIS; FREITAS, 2013; EVANGELISTA SOUZA et al., 2015).

Nestes usuários de prótese, observa-se o aumento da prevalência de doenças infecciosas na cavidade bucal nos últimos anos, geralmente associado a fungos oportunistas. Pacientes portadores de próteses totais podem apresentar a chamada estomatite protética, comumente associada à presença de *Candida albicans*. Deve-se considerar que existem diversos fatores associadas a essa entidade clínica, principalmente locais, e que a remoção destes é muito importante para a completa resolução do problema (EMAMI et al., 2012; VALENTINI et al., 2013).

Neste contexto, torna-se importante o uso de soluções desinfetantes de baixo custo sobre estes microrganismos, que se aderem à resina acrílica usada em prótese dentária (ANDRADE et al., 2012; FERNANDES et al., 2011; HASHIZUME; HOSCHARUK; MOREIRA, 2015). O uso do hipoclorito de sódio (solução) é capaz de dissolver substâncias orgânicas, sendo eficiente na eliminação do biofilme e manchas, tanto em superfície, quanto em profundidade, com efeito bactericida e fungicida, consistindo na imersão da prótese, por 5 a 30 minutos, em soluções de concentrações inferiores a 2%, com 0,5% mostrando eficácia na desinfecção protética (DE SOUSA PORTA et al., 2015; FERNANDES et al., 2011; HASHIZUME; HOSCHARUK; MOREIRA, 2015; PERACINI et al., 2016; SKUPIEN et al., 2013).

A desvantagem do uso do hipoclorito de sódio é a possibilidade de causar alteração de cor e rugosidade dos materiais de confecção das próteses; sua toxicidade, mesmo quando utilizado em baixas concentrações para imersão noturna (HIDALGO; BARTOLOME; DOMINGUEZ, 2002; PARANHOS et al., 2013), além de seu odor e sabor desagradáveis.

As pesquisas com produtos naturais em odontologia têm aumentado nos últimos anos em virtude do potencial antibiótico que os produtos vegetais possuem, apresentando uma real possibilidade de aplicação destes produtos na prevenção e tratamento de doenças infecciosas, constituindo-se em uma das maiores fontes de descoberta de novos fármacos com atividade antimicrobiana (LIMA et al., 2006).

De modo geral, os óleos essenciais apresentam atividade antibacteriana tanto para bactérias Gram-negativas como para bactérias Gram-positivas (ANDRADE et al., 2012; PIOVEZAN et al., 2014; RAEISI et al., 2016), sendo o óleo essencial obtido das folhas e casca de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) um dos mais eficientes na inibição do crescimento bacteriano. Este resultado pode estar relacionado com a presença do componente majoritário cinamaldeído em elevada concentração (79,74%) (ANDRADE et al., 2012; BERALDO et al., 2013; CHOI et al., 2016; PIOVEZAN et al., 2014; RAEISI et al., 2016). Estes óleos também possuem atividade contra espécies de *Candida* e promovem alterações físicas de rugosidade e dureza da resina acrílica similar à saliva artificial, sendo seguros quando utilizados como enxaguatório bucal em indivíduos saudáveis (OLIVEIRA et al., 2014).

Desta forma, em virtude da escassez de estudos com produtos naturais para desinfecção de prótese dentária, um investigação *in situ* sobre o efeito do cinamaldeído, fitoconstituente do óleo essencial de *C. zeylanicum*, na desinfecção de prótese removível, justifica-se pelo benefício potencial que um produto de origem natural alternativo pode apresentar em relação aos tradicionalmente utilizados (hipoclorito), como efeito similar; ausência de sabor desagradável; e baixo grau de toxicidade às mucosas de suporte protético.

## 2. CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir foi submetido para publicação no periódico “Journal of Dentistry”

### **IN SITU, BLIND, PAIRED, RANDOMIZED STUDY OF CINNAMALDEHYDE IN DISINFECTION OF REMOVABLE PROSTHESES**

#### **Abstract**

**Objective:** This blind, paired, randomized *in situ* clinical study investigated the effect of cinnamaldehyde on complete denture disinfection. **Method:** Test specimens (disks) were inserted into the prostheses of 33 users that used solutions of cinnamaldehyde (200 µg/mL) and sodium hypochlorite (0.5%) for disinfection of their dentures. The disks were analyzed for the presence of microorganisms before and after the use of the products; counting colony forming units (CFU) and scanning with an electron microscopy (SEM). The properties of the acrylic resin were measured at the beginning and after immersion, with color parameters analyzed using the National Bureau of Standards (NBS) method. The data were analyzed by statistical tests, considering  $\alpha = 5\%$ . **Results:** A significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the number of CFU/mL was observed for each type of microorganism (total microorganisms, from the mutans group and *Candida* spp.), with no significant differences ( $p > 0.05$ ) between hypochlorite and cinnamaldehyde. There was an increase in the roughness and a decrease in the hardness of the test specimens, again with no difference between the two disinfectant substances ( $p > 0.05$ ). Both hypochlorite and cinnamaldehyde also caused changes in color considered perceptible by NBS classification, but without significant difference between products ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Similar to sodium hypochlorite, the solution containing cinnamaldehyde presented efficacy against all evaluated microorganisms, caused changes in Vickers hardness, surface roughness and color parameters without clinical relevance, and can be associated with a mechanical method for the cleansing and disinfection of dentures and the prevention of prosthetic stomatitis.

**Keywords:** biofilm; disinfection; *Candida albicans*; dentures; randomized trial.

## 1. Introduction

The increase in life expectancy in developing countries has led to an increase in the number of elderly people in the population; people who need removable dental prostheses [1].

Patients with complete dentures often present denture stomatitis (DS), commonly associated with the presence of *Candida* spp. [2,3]. In this context, it is important to use low-cost disinfectant solutions on these microorganisms that adhere to the acrylic resins used in dental prostheses [4]. Having bactericidal and fungicidal effects, immersion in sodium hypochlorite (0.5%) is effective for prosthetic disinfection; eliminating biofilm and staining both on the surface and at some depth [4–7].

In addition to its unpleasant odor and taste, the disadvantages of using sodium hypochlorite, even when used in low concentrations for night-time immersion, are possible color changes and an increase in the roughness of the prosthesis material, and toxicity [8,9].

Due to the antimicrobial potential that plant products present as a major source of discovery for new drugs with antimicrobial activity, research on natural products in dentistry has increased in recent years, and presents real possibilities for applying new products towards prevention and treatment of infectious disease [10].

In general, essential oils present antibacterial activity for both Gram-negative and Gram-positive bacteria [11,12]. Essential oil obtained from the leaves and bark of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (cinnamon) is one of the most efficient in inhibiting bacterial growth. This because of the presence of cinnamaldehyde as a significant component, in high concentration (79.74%) [11–13].

Thus, due to the lack of studies using natural products for denture disinfection, an *in situ* investigation of the effects of cinnamaldehyde, the principal phyto-constituent of *C. zeylanicum* essential oil, extracted from the stem, for disinfection of removable prosthesis was performed. The study is justified by the potential benefits of a product (cinnamaldehyde), of natural alternative origin, which when compared to one used traditionally (hypochlorite), might present similar clinical effects yet without the unpleasant taste, presenting a low degree of

mucosal toxicity as prosthetic support, and yet facilitate therapeutic adherence.

## **2. Materials and methods**

### **2.1. *In vitro* adhesion inhibition test of *Candida* multispecies biofilm**

Flat bottom 96-well plates were used to inoculate 200  $\mu\text{L}$  of suspensions of a multispecies (fungal) biofilm (*C. albicans* ATCC 90028; *C. tropicalis* ATCC 750; *C. krusei* ATCC 34135), grown on CSD medium (KASVI®, Kasv Imp and Dist from Prod Laboratorios LTDA, Curitiba, Brazil), supplemented with 2% sucrose, and adjusted to  $2.5 \times 10^5$  CFU/mL. After culture, 100  $\mu\text{L}$  of cinnamaldehyde solution (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brazil) was transferred onto the multi-species biofilm plates, with concentrations varying from 1560 -48.75  $\mu\text{g/mL}$ . Hypochlorite was used as a positive control with concentrations between 0.5% and 0.016%. The plates were incubated for 48 hours in a microbiological oven at  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .

After incubation, the medium was aspirated from the plates, and the unbound cells were removed by washing the wells twice with 200  $\mu\text{L}$  of PBS and drying at room temperature for 45 min. Aqueous crystal violet solution (200  $\mu\text{L}$ , 0.4%) was added to each well and remained in contact with the biofilm for 45 min. After incorporation of the dye, the wells were washed four times with 200  $\mu\text{L}$  of distilled water and immediately bleached for 45 min with 200  $\mu\text{L}$  of 95% ethanol. Finally, 100  $\mu\text{L}$  of the bleached solution was transferred to a new flat bottom plate and the absorbance measured at 600 nm in a microplate reader.

The cinnamaldehyde and growth control absorbance values were used to calculate the percentage inhibition of biofilm formation; the growth control was considered to be 100% fungal formation.

The assays were performed in triplicate. Sterility controls did not receive cell suspension, and growth controls received only culture medium and strains corresponding to the multispecies biofilm.

### **2.2. Type and General Description of Research**

The research consisted of an *in situ* clinical evaluation involving 33 volunteers selected from the Dentistry College at Paraíba Federal University, patients awaiting replacement of their old prostheses with maxillary complete dentures. For the sample calculation, Microsoft Excel® was used, with parameters of a Confidence Level of 95%; Type I error of 5% two-tailed; Type II error of 20%;

Power of 80%; for an Effect Magnitude for a hypothesis of mean difference (0.5); for paired groups.

The inclusion criteria were: adult patients of both sexes; any age; good oral and general health; with complete upper edentulism; using a maxillary complete denture constructed with heat-cured acrylic resin; presenting no signs or symptoms of denture stomatitis, but carrying *Candida* spp.; with normal salivary flow (0.3-0.5 mL/min); and capable of complying with the experimental protocol. The exclusion criteria included: edentulous patients who did not use a complete maxillary complete denture; who did not sleep with the superior prosthesis; who had taken antifungal or antibacterial drugs in the month prior to the study; or who were using antifungal or antibacterial agents.

The volunteers selected were carriers of *Candida* spp., as previously verified by an initial biofilm screening collected from their prosthesis using a swab. This material was seeded on CHROMagar® *Candida* plates (Difco, Le Pont de Claix, France), which were aerophilically incubated at  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  for 24 hours to confirm the presence of the microorganism.

The *in situ* phase of the clinical study was researcher blinded with 33 selected volunteers for two (02) 14-day steps, each subdivided into 07 days involving oral biofilm formation, and 07 days of prostheses immersion in the evaluated products. Thus, each participant was integrated in a simple randomized way as defined by Random Allocation Software 2.0, for immersing the old prosthesis containing the specimens into the respective products for disinfection; both the positive control group (hypochlorite 0.5%), and the experimental group (cinnamaldehyde).

In addition to microbiological analysis, alterations caused by the denture disinfection solutions on surface roughness, color change, and Vickers hardness were measured.

A heat-cured acrylic resin (VipiWave, Vipi, São Paulo, Brazil – color pink) was used to prepare the specimens (disks) in the dimensions of 0.5 x 0.5 x 0.2 cm. The resin was proportioned, manipulated, included in flasks, and cured by microwave radiation according to manufacturers' instructions. Six test specimens (disks) were fixed with wax into prepared cavities into the intaglio surface of the old prostheses, by using a tungsten carbide bur. The participants were instructed to brush their dentures three times a day (after breakfast, lunch, and dinner) with

a specific brush and a neutral liquid soap [14], provided by the researchers, except for the region containing the specimens, which received only the residual foam without mechanical (brush) cleaning [2,15]. During the first 7 days, the participants used only the mechanical method of hygiene herein described, this, without immersion of the prosthesis in any product for disinfection. During the following 7 days, the participants immersed the prostheses once daily (for 20 min) in 200 mL of the following solutions: 0.50% sodium hypochlorite [4–6,14], and 200 µg/mL cinnamaldehyde solution (as determined by the 96-well plate biofilm adhesion inhibition test with *Candida* spp. multispecies).

Participants used one solution for each phase of the study, each for 7 days, in a randomized though previously determined manner. After each period, there was a 7 day wash-out to eliminate residual effects of the previously used solutions, during which the volunteers used only the mechanical method of hygiene with a specific brush and neutral liquid soap [14]. The use of mouthwashes or antimicrobial drugs was not allowed during the study. Written instructions were given to all volunteers concerning hygiene methods and the procedures adopted in the survey. Daily follow-ups were carried out by the researchers (telephone calls), in order to clarify possible doubts and minimize alterations to the proposed protocol.

Investigator blinding was accomplished through distribution of prosthesis immersion solutions in identical bottles, without labeled specifications, each in quantity to be used for each 07 day period. The researcher responsible for randomization and production of the solutions was not involved with the clinical execution phase.

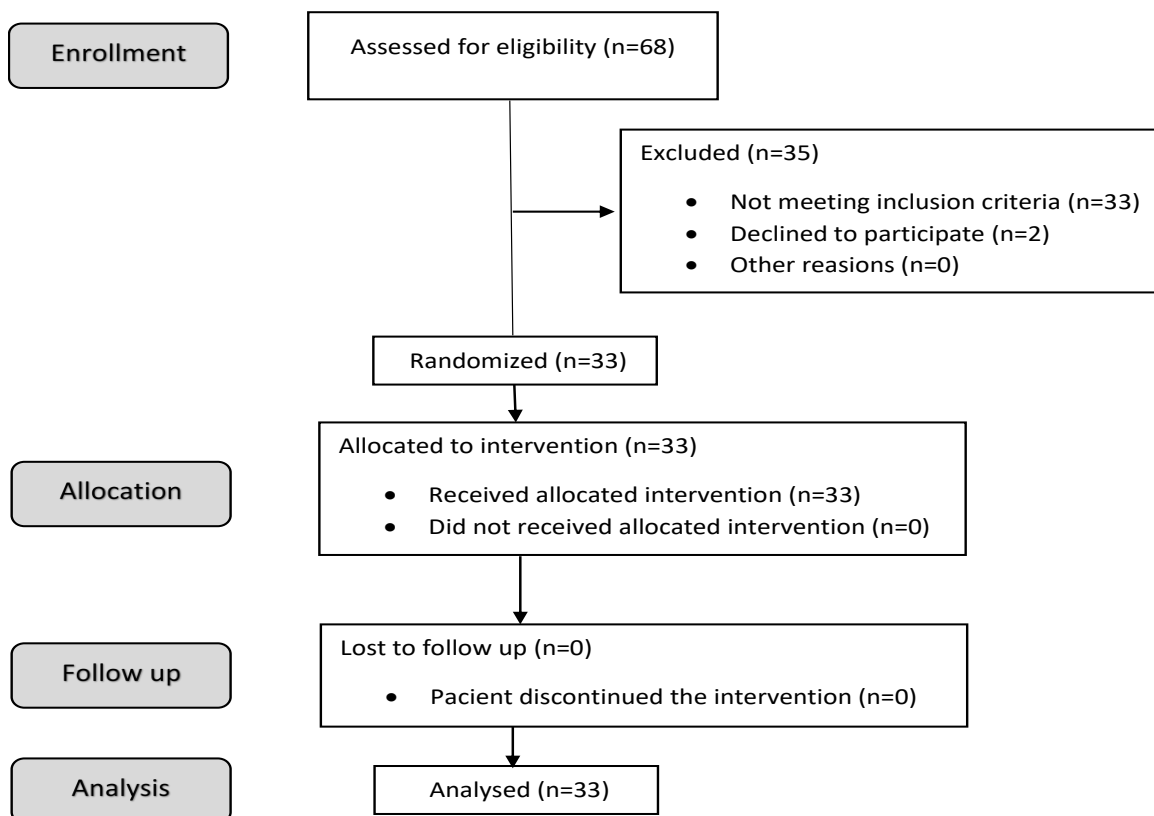
After each 07 day period for prosthesis immersion and biofilm formation in the specific solutions, 03 specimens were removed with sterilized instruments, placed in sterile Eppendorfs and kept in an ice bath until processing as a specimen for culture and counting of colony forming units (CFU); one specimen was used to evaluate the surface roughness, color change, and Vickers hardness; and one specimen was used for qualitative analysis with a scanning electron microscopy (SEM).

At the end of the first 14 day phase, there was an interval of 7 days for the wash-out, and soon after, the niches (test areas) received new specimens (disks)

for the start of the second 14-day phase, with the same volunteers, proceeding in the same way previously described for the first phase.

The preparation of the new prostheses, which were made available to the volunteers, occurred concurrently with the study; the volunteers always continued use with their old prostheses until the new ones were completed.

The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center of the Federal University of Paraíba. During the study, all patients were monitored for possible discomfort or undesirable effects due to the use of cinnamaldehyde or hypochlorite, and also answered a questionnaire at the end of the study. The methodological design related to the composition of the experimental groups is shown in Figure 1.



**Figure 1 Flowchart of the study participants (Adapted from the Consort Statement).**

### **2.3. *In situ* microbiological evaluation**

The specimens collected in the Eppendorf tubes received 1 mL sterile 0.9% NaCl solution, the whole being agitated in the Vortex for 30s at 7W. The suspension was serially diluted in saline occurring from  $10^{-0}$  to  $10^{-3}$ . The dilutions were seeded in Petri dishes containing the culture media: a) Mitis salivarius®

(Difco, Le Pont de Claix, France) for determination of mutans group streptococci; b) Mueller Hinton® agar (Himedia, Mumbai, India) for determination of total microorganisms; c) CHROMagar® *Candida* media (Difco, Le Pont de Claix, France) for the determination of *Candida* spp [2,14].

Seeding was performed by deposition of 20 µL aliquots of these triplicate dilutions in the Petri dishes with the culture media [16]. The plates containing the CHROMagar® *Candida*, Mitis salivarius® and Mueller Hinton® media were incubated in an oven at 37 ° ± 1 ° C for 48h, with Mitis salivarius® plates maintained under microanaerobiose atmosphere.

The colony forming units (CFU) were counted using a stereoscopic microscope and the results expressed in CFU/mL. In addition, the amount of *Candida albicans* and *Candida* non-albicans in relation to total biofilm was calculated.

The results were tabulated and analyzed by a statistical test for paired, non-parametric (Wilcoxon and Friedman) samples, due to the distribution of the data, with a significance level of 5%, using the statistical program BioEstat 5.3.

#### **2.4. Scanning electron microscopy analysis**

The scanning electron microscope (SEM) analysis, a qualitative analysis, had the purpose of illustrating the surface condition on the 7th day of biofilm formation, and on the 14th day after immersion in the solutions, both for the first phase and the second. The analysis was done with one specimen from each evaluation time for each product used, totaling two specimens for the hypochlorite group, and two specimens for the cinnamaldehyde group.

The specimens were fixed with 2.5% glutaraldehyde for 12 h at 4°C, washed three times in 0.1 M phosphate buffer at 4°C (pH 7.3) for 10 min each. After fixation, the specimens were dehydrated in 50%, 70%, 80%, 90%, 95% and 100% water/ethanol mixtures for 20 min each, and then mounted on a *stub*, and air dried, (EMITECH K550X); then examined with a scanning electron microscope (ZEISS, model LEO 1430), operated at 5 kV, to characterize the surface of the biofilm formed, focusing on surface morphology [2]. The images were obtained by backscattered electrons and secondary electrons, with magnifications of 2500x and 5000x.

## **2.5. Assessment of acrylic resin physical and mechanical properties**

To evaluate the color parameters (CIE L \* a \* b colorimetric system) of the specimens, a portable dental spectrophotometer (Vita Easy Shade, Vita ZahnFabrick, Germany) was used. The specimens (n = 16) were placed on a white surface in order to standardize the color measurement site for all specimens. The spectrophotometer was calibrated according to the calibration standard provided by the manufacturer [17]. Three color shots were performed for each specimen in CIE L \* a \* b \* coordinates and an average was determined.

Quantification of  $\Delta E$  values was performed using the National Bureau of Standards (NBS), with NBS units of color difference [7,17,18].

Surface roughness analysis (Ra) was performed on the non-contact optical profilometer (CCI MP, Taylor Hobson, England). A 0.25 mm cutoff was used with a 50x lens, 0.4 numerical aperture, and x1 scan speed in xyz mode. Three measurements were performed for each specimen (n = 16), with the final roughness ( $\mu\text{m}$ ) obtained as the average of the three points of each specimen [8].

For the Vickers hardness readings, the specimens (n = 16) were subjected to three hardness readings in a Shimadzu Microdurometer (HMV Micro Hardness Test, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), loading 100gf for 30 seconds [19]. The acrylic resin specimens remained parallel to the microdurometer table and were stable, allowing marking by the Vickers tip. Upon indentation, the operator of the equipment measured the diagonals created by the diamond upon the specimen and the equipment automatically converted the averages into units of Vickers hardness ( $\text{kg}/\text{mm}^2$ ) with a two-tenths precision scale. After three readings for each specimen, the average was recorded.

To evaluate the physical and mechanical properties of the specimens, the patients were divided into two groups, with n = 16 for each substance, as randomly distributed through Microsoft Excel®. Color parameters and surface roughness were measured prior to insertion of the specimens into the niches made in the prosthesis, after the 14<sup>th</sup> day. In this way the acrylic resin discs were submitted to a complete cycle, covering 7 days for the formation of the biofilm, and 7 days of disinfection with one of the solutions.

After the measurements of the color parameters and surface roughness of the specimens, the Vickers hardness was then measured and compared to a control group (baseline), with n = 16, which had not been submitted to the disinfection cycle.

All the results presented a parametric distribution, and the data were tabulated and analyzed by a statistical test for paired or independent samples (independent and paired t-test), respectively, when analyzing intra-group, or the disinfection solutions, with a level of significance of 5%, using the Microsoft Excel® and BioEstat 5.3 statistical software.

### 3. Results

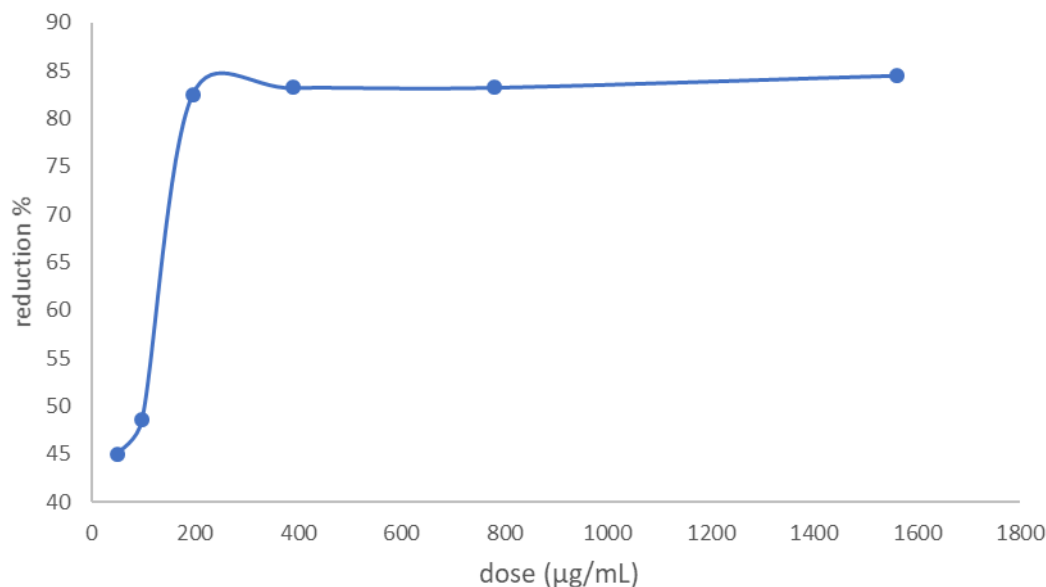
The adhesion inhibition test for the *Candida* spp. – multispecies biofilm after application of the ANOVA one-way test followed by Tukey's test determined a concentration of 195 µg/mL for a significant reduction in biofilm, as shown in table1. This value was used for denture disinfection by the patients in this study.

**Table 1 – Inhibition of *Candida* spp.- multispecies biofilm adhesion in a 96 well plate.**

| Well | Solution           |                |                    |                |
|------|--------------------|----------------|--------------------|----------------|
|      | Cinnamaldehyde     |                | Hypochlorite       |                |
|      | Dose<br>µg/mL      | Reduction<br>% | Dilution<br>%      | Reduction<br>% |
| A    | 1560 <sup>a</sup>  | 84.51          | 0.500 <sup>a</sup> | 82.77          |
| B    | 780 <sup>a</sup>   | 83.25          | 0.250 <sup>a</sup> | 80.50          |
| C    | 390 <sup>a</sup>   | 83.22          | 0.125 <sup>a</sup> | 79.88          |
| D    | 195 <sup>a</sup>   | 82.48          | 0.063 <sup>a</sup> | 80.18          |
| E    | 97.5 <sup>b</sup>  | 48.54          | 0.031 <sup>a</sup> | 80.76          |
| F    | 48.75 <sup>b</sup> | 45.04          | 0.016 <sup>a</sup> | 77.18          |

Lowercase letters represent no difference between the substances in the column (One-way ANOVA test followed by the Tukey test)

The cinnamaldehyde dose-response curve demonstrates the percentage of biofilm reduction at each concentration tested, being observed a dose-dependent effect and the highest potency at 195 µg/mL, promoting the maximum effect (Figure 2).



**Figure 2. Cinnamaldehyde dose-response curve for inhibition of *Candida* spp. - multispecies biofilm adhesion.**

All participants (n = 33) completed the two prostheses disinfection cycles. In table 2, reductions in the number of colony-forming units (UFC/mL) occurring after the use of each substance (p<0.05) between the 7th and 14th day for each type of product used were verified, and comparison of the results between hypochlorite and cinnamaldehyde (for each type of micro-organism) presented no significant differences (p>0.05).

**Table 2 – Reduction in colony-forming units (CFU/mL, mean ± SD) after use of hypochlorite and cinnamaldehyde to disinfect the prostheses.**

| Treatment      | Total microorganisms    |                       | <i>Mutans group</i>    |                       | <i>Candida</i> spp.   |                     |
|----------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
|                | (x 10 <sup>4</sup> )    |                       | (x 10 <sup>4</sup> )   |                       | (x 10 <sup>4</sup> )  |                     |
|                | 7 days                  | 14 days               | 7 days                 | 14 days               | 7 days                | 14 days             |
| Hypochlorite   | 344 ± 586 <sup>aA</sup> | 42 ± 67 <sup>bA</sup> | 82 ± 186 <sup>aA</sup> | 7 ± 12 <sup>bA</sup>  | 17 ± 62 <sup>aA</sup> | 2 ± 6 <sup>bA</sup> |
| Cinnamaldehyde | 282 ± 862 <sup>aA</sup> | 62 ± 69 <sup>bA</sup> | 69 ± 112 <sup>aA</sup> | 17 ± 35 <sup>bA</sup> | 6 ± 16 <sup>aA</sup>  | 1 ± 4 <sup>bA</sup> |

Lowercase letters represent statistically significantly differences between the substances (line), before and after utilization of the solution by type of microorganism (Wilcoxon Test). Uppercase letters represent no difference between the substances (column), (Wilcoxon test).

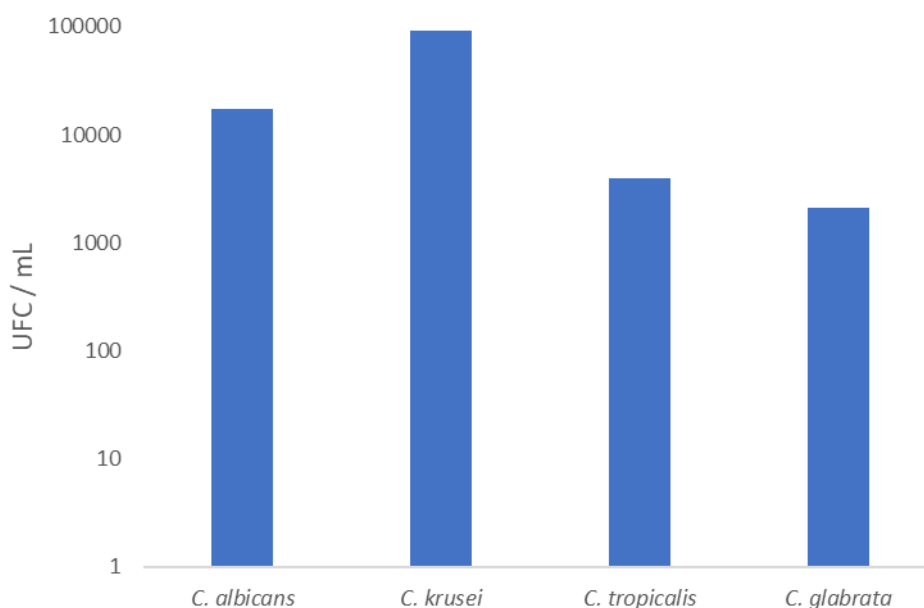
A predominance occurred in the ratio of *Candida non-albicans* to *Candida albicans* colonies (table 3), not presenting differences between the products used ( $p > 0.05$ ).

**Table 3 – Colony forming units (CFU/mL, mean  $\pm$  SD) for *Candida albicans* and *Candida non-albicans***

| Treatment      | <i>Candida albicans</i><br>( $\times 10^3$ ) | <i>Candida non-albicans</i><br>( $\times 10^3$ ) |
|----------------|--|--|
| Hypochlorite   | 0.86 $\pm$ 2,72 <sup>a</sup>                 | 14,83 $\pm$ 56,73 <sup>a</sup>                   |
| Cinnamaldehyde | 2,46 $\pm$ 5,49 <sup>a</sup>                 | 9,22 $\pm$ 35,23 <sup>a</sup>                    |

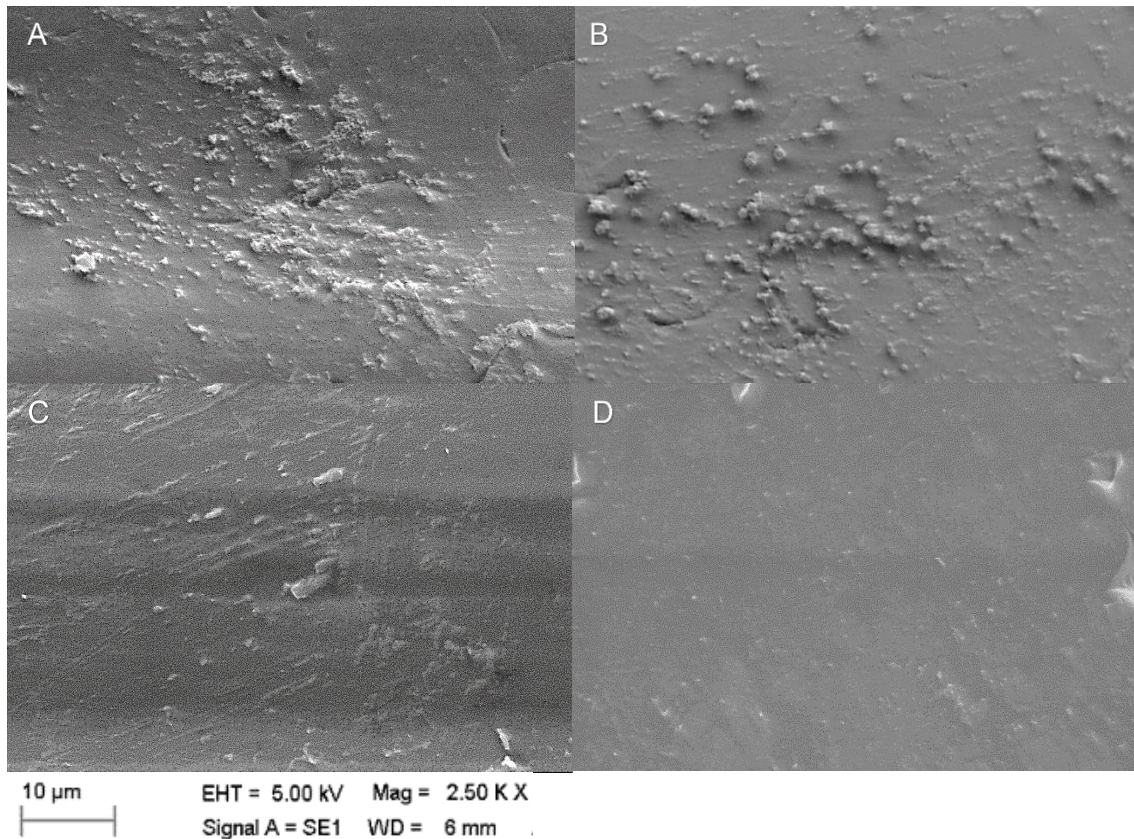
No differences between the substances (Friedman's test)

The species of *Candida* spp. most often isolated were *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*; with *C. krusei* predominance in the first 7 days of biofilm formation on the acrylic resin (Figure 3).



**Figure 3 - Types of *Candida* spp. species in the first 07 (seven) days of biofilm formation.**

In the qualitative analysis performed by scanning electron microscopy (SEM), a considerable reduction in the number of colonies between the biofilm formation period (7<sup>th</sup> day), and product use (14<sup>th</sup> day) was observed, both for hypochlorite and cinnamaldehyde (figure 4).



**Figure 4 - Scanning electron microscopy (SEM) image for qualitative evaluation of colony morphology for each time and solution used. At 7 days: A and B formation of colonies without using the solutions (original magnification x2500). At 14 days, C solution with hypochlorite; D solution with cinnamaldehyde (original magnification x2500).**

After the use of the solutions to disinfect the prostheses, there was an increase in roughness and a decrease in the hardness of the specimens for both products (table 4), with significant difference within the pairing ( $p < 0.05$ ), but not between the substances ( $p > 0.05$ ).

**Table 4 - Effect of hypochlorite and cinnamaldehyde on surface roughness and hardness of acrylic resin.**

| Treatment             | Profilometer<br>Ra<br>( $\mu\text{m}$ , mean $\pm$ SD) |                                 | Vickers Hardness<br>VHN<br>( $\text{kg}/\text{mm}^2$ , mean $\pm$ SD) |                                |
|-----------------------|--|---------------------------------|---|--------------------------------|
|                       | Baseline   | 14th day                        | Baseline  | 14th day                       |
|                       | <b>Hypochlorite</b>                                    | 0,047 $\pm$ 0,010 <sup>aA</sup> | 0,059 $\pm$ 0,019 <sup>bA</sup>                                       | 20,80 $\pm$ 0,95 <sup>aA</sup> |
| <b>Cinnamaldehyde</b> | 0,050 $\pm$ 0,015 <sup>aA</sup>                        | 0,056 $\pm$ 0,014 <sup>bA</sup> | 20,80 $\pm$ 0,95 <sup>aA</sup>  | 19,98 $\pm$ 0,48 <sup>bA</sup> |

Lowercase letters represent statistically significantly differences between the substances (line), before and after the use of the solution (paired t-test).

Uppercase letters represent no difference between the substances (column), (Independent t-test).

When analyzing the color parameters of the acrylic resin (table 5), it was observed that both hypochlorite and cinnamaldehyde caused changes considered by the NBS classification to be perceptible, yet without a significant difference between the products ( $p > 0.05$ ).

**Table 5 - Effect of hypochlorite and cinnamaldehyde on the acrylic resin color parameters (mean  $\pm$  SD).**

| Treatment      | Delta L            | Delta a            | Delta b            | $\Delta E$        | Value NBS | NBS         |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------|-------------|
| Hypochlorite   | $-0.78 \pm 0.70^a$ | $-1.07 \pm 0.91^a$ | $-0.63 \pm 1.19^a$ | $1.97 \pm 0.95^a$ | 1,81      | Perceptible |
| Cinnamaldehyde | $-0.60 \pm 0.94^a$ | $-1.07 \pm 1.55^a$ | $-0.57 \pm 1.79^a$ | $2.54 \pm 1.25^a$ | 2,34      | Perceptible |

No difference between the substances (column), (Independent t-test).

#### 4. Discussion

Complete dentures constructed with acrylic resin usually present wear and an increase in surfaces roughness over time. This is usually associated with mechanical brushing which is effective in removing surface biofilm. However, dentures present microscopic defects, such as superficial pores, which may be inaccessible to the brush, and harbor microorganisms that are only removed by chemical disinfection. Sodium hypochlorite, even in small concentrations is one of the most effective solutions used for prosthesis immersion protocols [20,21].

Sodium hypochlorite (0.5%) presented antimicrobial activity against all of the microorganisms tested, including *S. mutans* spp. and *Candida* spp., which are frequently present in patients with denture stomatitis, which confirms its efficacy in the control of dental biofilm [2,5,6,14]. It is able to cause a substantial reduction in viable cells of both *Candida albicans* and *Candida non-albicans* [4], but in concentrations higher than 0.05%, it presents cytotoxicity to fibroblasts [9,22]. Its mechanism of antimicrobial action involves physicochemical characteristics, altering the integrity of the cytoplasmic membrane, causing irreversible enzymatic inhibition and biosynthetic changes to the cellular metabolism, and resulting in cell death [23].

In this study, the concentration of the cinnamaldehyde solution used was 200  $\mu\text{g/mL}$ . This presented an effect similar to that of hypochlorite, presenting antimicrobial activity against all of the tested microorganisms. Other studies have shown that cinnamaldehyde presents fungicidal activity, starting from a 40  $\mu\text{g/mL}$

concentration, causing changes to the membrane and interior of *Candida* spp. [24]. A 312 µg/mL concentration is effective against already established biofilms [12,25]. Inferior concentrations, such as 156 µg/mL or 234 µg/mL are able to reduce bacterial counts during biofilm formation [12] and exhibit excellent antibacterial activity against *S. mutans*, *S. sobrinus* and *Staphylococcus aureus* [13].

Cinnamaldehyde separates the lipids of the cell membrane and mitochondria, making them permeable and leading to cellular leakage [26–28]. Gram-negative bacteria are less sensitive than Gram-positive bacteria [27].

The cinnamaldehyde concentration of 200 µg/mL, used in this investigation was previously determined for the study by using a 96-well plate adhesion inhibition test with *Candida* spp. multispecies, presenting results similar to the clinical phase, with approximate reductions in the colonies of *Candida* spp. respectively of 82% and 77%. For hypochlorite, the concentration of 0.5% presented similar results, with a reduction of 82% in the 96-well plate inhibition test, and 88% in the clinical phase. Scanning electron microscopy demonstrated the colony reductions after use of these concentrations.

Cinnamaldehyde is biocompatible and a low toxicity substance [29]. This can be verified through a quiz answered by the patients that evaluated their experience with the testes solutions for prostheses disinfection, of which 93% of the patients who used cinnamaldehyde and 97% of those who used hypochlorite presented no discomfort after the prostheses disinfection process. A total of 61% of the patients preferred the solution containing cinnamaldehyde, which presented a preparation cost to the patients of only 40% of the cost to prepare a hypochlorite solution (0.5%).

Denture stomatitis is not only the result of the presence of *Candida* spp., but a result of multiple species biofilms [2,30]. *C. albicans*, *S. aureus*, and *S. mutans* frequently colonize the oral mucosa of prosthesis users. Biofilms are frequently found in patients with denture stomatitis, presenting less colonization of the dental prosthesis than of the oral mucosa [30]. Since *S. mutans* appear in the initial stages of biofilm development and is commonly found on acrylic denture surfaces, it collaborates with *Candida* spp. in the etiopathogenesis of denture stomatitis, contributing to yeast adhesion [2,30]. Thus, for a product to be considered effective for disinfection of acrylic prostheses, and contribute to the prevention of

denture stomatitis, it must act against these microorganisms. This occurs with cinnamaldehyde and hypochlorite, and without significant differences.

It is worth mentioning that the *Candida* spp. species found in this study, as well as the predominance of *C. krusei* found in the first 7 days of biofilm formation (on the acrylic resin), have already been reported in another *in situ* study [15].

When analyzing the effect of the disinfection solutions on the properties of the acrylic resin, there was a significant reduction in the Vickers hardness (from the baseline) from the use of hypochlorite or cinnamaldehyde, but with no significant differences between the substances. During the chemical disinfection process, prosthesis water sorption may eventually cause irreversible damage to the material through the formation of micro-fissures due to repeating sorption/desorption cycles, all this contributing to the reduction of hardness [31]. A small reduction in the microhardness of up to 2.57 VHN for acrylic resin is equivalent to that of artificial saliva [32]. Although this small but significant reduction occurred, it cannot be considered clinically relevant because these hardness values are not reported in the literature as thresholds, and do not cause damage [33,34]. Thus, to complement the mechanical cleaning of the prostheses, it is safe to implement a daily immersion protocol with either of these chemical disinfection solutions [33].

There was also a significant increase in surface roughness (from the baseline) through the use of these solutions for disinfecting the prostheses, yet without any significant difference between them. It is important to note that the roughness values for the baseline of the test specimens in this study have already been reported in the literature, demonstrating the initial standardization of the samples [35]. The use of a mechanical method (brushing) without dentifrice, combined with immersion in solutions for disinfection, especially sodium hypochlorite, does not cause a clinically relevant increase in the roughness of the resin [36]. An increase in roughness of up to 0.04  $\mu\text{m}$  is compatible with changes caused by deionized water [33]. Values below 0.2  $\mu\text{m}$  are considered satisfactory and present no clinical relevance since they contribute to the difficulty of biofilm formation and microbial adhesion [8,33,34]. *Candida albicans* requires larger surface depressions and scratches than bacteria ( $> 1 \mu\text{m}$ ) to increase retention [37]. It is worth mentioning that the presence of microorganisms in the biofilm formation and maturation process can contribute, in isolation, to the increase in

surface roughness of the acrylic resin by up to 0.27  $\mu\text{m}$  [15].

For color parameters, both cinnamaldehyde and hypochlorite caused changes that were classified as perceptible by the NBS scale, but with no significant difference between them. The results presented with hypochlorite ( $\Delta E$  1.97) are similar to those reported in other studies [8,38], but the values obtained with cinnamaldehyde ( $\Delta E$  2.54) and hypochlorite ( $\Delta E$  1.97) are not clinically relevant, since only NBS units higher than 3.7 are considered as clinically perceptible [7,17,18]. These values of  $\Delta E$  for the acrylic resins of the denture base may increase with exposure time [17], and be a cause of prosthesis color change through repeating sorption/desorption cycles, and result in the formation of micro-fissures and different zones with different optical properties [35,38].

Considering the complexity of an *in situ* clinical study; and that the effect of solutions on the properties of the acrylic resin of the denture base may increase with exposure time, and the small differences found between the solutions, new randomized clinical trials are necessary; using a higher number of participants, aiming to better know these effects, and finally define the most appropriate way users can use these solutions for complete prosthesis disinfection.

## Conclusion

The 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  cinnamaldehyde solution presented efficacy against all of the evaluated microorganisms, including *Candida* spp. and *S. mutans* spp; causing changes in Vickers hardness, surface roughness, and color parameters of the same magnitude as hypochlorite, yet without clinical relevance. The 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  cinnamaldehyde solution may thus be associated with a mechanical method for cleaning and disinfection of dentures and prevention of denture stomatitis.

## References

- [1] A. Gleiznys, E. Zdanavičienė, J. Žilinskas, – Dds, A. prof Eglė Zdanavičienė, – DDS Juozas Žilinskas, *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review, *Stomatol. Balt. Dent. Maxillofac. J.* 17 (2015) 54–66.
- [2] F. Valentini, M.S. Luz, N. Boscato, T. Pereira-Cenci, Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial, *J. Dent.* 41 (2013) 420–427. doi:doi: 10.1016/j.jdent.2013.02.012.
- [3] E. Emami, H. Taraf, P. de Grandmont, G. Gauthier, L. de Koninck, C. Lamarche, R.F. de Souza, The association of denture stomatitis and partial

- removable dental prostheses: a systematic review., *Int. J. Prosthodont.* 25 (2012) 113–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22371829>.
- [4] F.S. de F. Fernandes, T. Pereira-Cenci, W.J. da Silva, A.P.R. Filho, F.G. Straioto, A.A.D.B. Cury, Efficacy of denture cleansers on *Candida* spp. biofilm formed on polyamide and polymethyl methacrylate resins, *J. Prosthet. Dent.* 105 (2011) 51–58. doi:[https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(10\)60192-8](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(10)60192-8).
- [5] A. Peracini, R.R. Regis, R.F. De Souza, V.O. Pagnano, C.H.L. Da Silva, H.D.F.O. Paranhos, Alkaline Peroxides Versus Sodium Hypochlorite for Removing Denture Biofilm: a Crossover Randomized Trial, *Braz. Dent. J.* 27 (2016) 700–704. doi:[10.1590/0103-6440201600913](https://doi.org/10.1590/0103-6440201600913).
- [6] J.A. Skupien, F. Valentini, N. Boscato, T. Pereira-Cenci, Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: A systematic review, *J. Prosthet. Dent.* 110 (2013) 356–362. doi:[10.1016/j.prosdent.2013.07.003](https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2013.07.003).
- [7] S.R. de Sousa Porta, S.C. de Lucena-Ferreira, W.J. da Silva, A.A. Del Bel Cury, Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study, *Gerodontology.* 32 (2015) 260–266. doi:[10.1111/ger.12104](https://doi.org/10.1111/ger.12104).
- [8] H. de F.O. Paranhos, A. Peracini, M.X. Pisani, V. de C. Oliveira, R.F. de souza, C.H. Silva-Lovato, Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers, *Braz. Dent. J.* 24 (2013) 152–156. doi:[10.1590/0103-6440201302151](https://doi.org/10.1590/0103-6440201302151).
- [9] E. Hidalgo, R. Bartolome, C. Dominguez, Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness, *Chem. Biol. Interact.* 139 (2002) 265–282. doi:[10.1016/S0009-2797\(02\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(02)00003-0).
- [10] I.D.O. Lima, R.D.A.G. Oliveira, E.D.O. Lima, N.M.P. Farias, E.L. De Souza, Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*, *Rev. Bras. Farmacogn.* 16 (2006) 197–201. doi:[10.1590/S0102-695X2006000200011](https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000200011).
- [11] M. Raeisi, H. Tajik, M. Aminzare, S. Sangin Abadi, A. Yarahmadi, E. Yarahmadi, B. Tepe, The Role of Nisin, Monolaurin, and EDTA in Antibacterial Effect of *Rosmarinus Officinalis* L. and *Cinnamomum Zeylanicum* Blume Essential Oils on Foodborne Pathogens, *J. Essent. Oil Bear. Plants.* 19 (2016) 1709–1720. doi:[10.1080/0972060X.2016.1141070](https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1141070).
- [12] M. Piovezan, N. Sayuri Uchida, A. Fiori da Silva, R. Grespan, P. Regina Santos, E. Leite Silva, R. Kenji Nakamura Cuman, M. Machinski Junior, J. Martha Graton Mikcha, Effect of cinnamon essential oil and cinnamaldehyde on *Salmonella* Saintpaul biofilm on a stainless steel surface, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 60 (2014) 119–121. doi:[10.2323/jgam.60.119](https://doi.org/10.2323/jgam.60.119).
- [13] O. Choi, S.K. Cho, J. Kim, C.G. Park, J. Kim, In vitro antibacterial activity and major bioactive components of *Cinnamomum verum* essential oils against cariogenic bacteria, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 6 (2016) 308–314. doi:[10.1016/j.apjtb.2016.01.007](https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.01.007).

- [14] M.M. Salles, M.M. Badaro, C.N.F. de Arruda, V.M.F. Leite, C.H.L. da Silva, E. Watanabe, V. de C. Oliveira, H. de F.O. Paranhos, Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis* - a randomized clinical study., *J. Appl. Oral Sci.* 23 (2015) 637–642. doi:10.1590/1678-775720150204.
- [15] T. Pereira-cenci, Temporal Changes of Denture Plaque Microbiologic, *Int J Prosthodont.* 23 (2010) 239–242.
- [16] T.M.P.A. de Souza, R.D. de Castro, L.C. de Vasconcelos, A. dos A. Pontual, F.M. de Moraes Ramos Perez, M.L. dos A. Pontual, Microbial contamination in intraoral phosphor storage plates: the dilemma, *Clin. Oral Investig.* 21 (2017) 301–307. doi:10.1007/s00784-016-1790-7.
- [17] G. Hong, H. Murata, Y. Li, S. Sadamori, T. Hamada, Influence of denture cleansers on the color stability of three types of denture base acrylic resin, *J. Prosthet. Dent.* 101 (2009) 205–213. doi:10.1016/S0022-3913(09)60032-9.
- [18] S. IMAMURA, H. TAKAHASHI, I. HAYAKAWA, P. G. LOYAGA-RENDON, S. MINAKUCHI, Effect of filler type and polishing on the discoloration of composite resin artificial teeth, *Dent. Mater. J.* 27 (2008) 802–808. doi:10.4012/dmj.27.802.
- [19] E.A. Ayaz, R. Durkan, A. Koroglu, B. Bagis, Comparative effect of different polymerization techniques on residual monomer and hardness properties of PMMA-based denture resins, *J. Appl. Biomater. Funct. Mater.* 12 (2014) 228–233. doi:10.5301/jabfm.5000199.
- [20] A. Kiesow, S. Sarembe, R.L. Pizzey, A.S. Axe, D.J. Bradshaw, Material compatibility and antimicrobial activity of consumer products commonly used to clean dentures, *J. Prosthet. Dent.* 115 (2016) 189–198e8. doi:10.1016/j.prosdent.2015.08.010.
- [21] J. Verran, S. Jackson, L. Coulthwaite, A. Scallan, Z. Loewy, K. Whitehead, The effect of dentifrice abrasion on denture topography and the subsequent retention of microorganisms on abraded surfaces, *J. Prosthet. Dent.* 112 (2014) 1513–1522. doi:doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.05.009.
- [22] A. Alkahtani, S.M. Alkahtany, A. Mahmood, M.A. Elsafadi, A.M. Aldahmash, Cytotoxicity of QMix™ endodontic irrigating solution on human bone marrow mesenchymal stem cells, *BMC Oral Health.* 14 (2014) 1–9.
- [23] C. Estrela, C.R.A. Estrela, E.L. Barbin, J.C. Spanó, M.A. Marchesan, J.D. Pécora, Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite, *Brazilian Dent. J.* 13 (2002) 113–117. [http://143.107.206.201/bdj/bdj13\(2\)/v13n2a07/v13n2a07.html](http://143.107.206.201/bdj/bdj13(2)/v13n2a07/v13n2a07.html).
- [24] Y. Taguchi, Y. Hasumi, S. Abe, Y. Nishiyama, The effect of cinnamaldehyde on the growth and the morphology of *Candida albicans*, *Med. Mol. Morphol.* 46 (2013) 8–13. doi:10.1007/s00795-012-0001-0.
- [25] D. Rahemi, N. Babaei, S. Kazemi, S. Ali, A. Sefidgar, A.A. Moghadamnia, An In Vitro Study of the Effect of Cinnamaldehyde on the Growth of *Candida albicans* Compared to Nystatin and Fluconazole, *Crescent J. Med. Biol. Sci.* 2 (2015) 76–80.
- [26] J. Sikkema, J.A. de Bont, B. Poolman, Mechanisms of membrane toxicity of

- hydrocarbons, *Microbiol Rev.* 59 (1995) 201–222. doi:0146-0749/95/\$04.00+0.
- [27] S. Burt, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *Int. J. Food Microbiol.* 94 (2004) 223–253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- [28] M. Hyldgaard, T. Mygind, R.L. Meyer, D. Debabov, Essential oils in food preservation : mode of action , synergies , and interactions with food matrix components, *Front. Microbiol.* 3 (2012) 1–24. doi:10.3389/fmicb.2012.00012.
- [29] A. Absalan, S.A. Mesbah-namin, T. Tiraihi, T. Taheri, The effects of cinnamaldehyde and eugenol on human adipose-derived mesenchymal stem cells viability , growth and differentiation : a cheminformatics and in vitro study, *Avicenna J Phytomed.* 6 (2016) 643–657.
- [30] T. Baena-Monroy, V. Moreno-Maldonado, F. Franco-Martinez, B. Aldape-Barrios, G. Quindos, L. Sanchez-Vargas, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis, *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 10 (2005) 27–39.
- [31] C.K.Y. Yiu, N.M. King, D.H. Pashley, B.I. Suh, R.M. Carvalho, M.R.O. Carrilho, F.R. Tay, Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength, *Biomaterials.* 25 (2004) 5789–5796.
- [32] J.D.A. Oliveira, I.C.G. da Silva, L.A. Trindade, E.O. Lima, H.L. Carlo, A.L. Cavalcanti, R.D. de Castro, Safety and Tolerability of Essential Oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume Leaves with Action on Oral Candidosis and Its Effect on the Physical Properties of the Acrylic Resin, Evidence-Based Complement. *Altern. Med.* 2014 (2014) 1–10. doi:10.1155/2014/325670.
- [33] L. De Rezende Pinto, E.J.T. Rodríguez Acosta, F.F.F. Távora, P.M.B. Da Silva, V.C. Porto, Effect of repeated cycles of chemical disinfection on the roughness and hardness of hard relined acrylic resins, *Gerodontology.* 27 (2010) 147–153. doi:10.1111/j.1741-2358.2009.00282.x.
- [34] A. Azevedo, A.L. Machado, C.E. Vergani, E.T. Giampaolo, A.C. Pavarina, R. Magnani, Effect of disinfectants on the hardness and roughness of relined acrylic resins, *J. Prosthodont.* 15 (2006) 235–242. doi:10.1111/j.1532-849X.2006.00112.x.
- [35] F.H.C.N. Fernandes, I.A. Orsi, C.A. Villabona, 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.* 30 (2013) 18–25. doi:10.1111/j.1741-2358.2012.00640.x.
- [36] D.B. Sorgini, C.H. da Silva-Lovato, V.A. Muglia, R.F. de Souza, C.N.F. de Arruda, H. de F.O. Paranhos, Adverse Effects on PMMA Caused by Mechanical and Combined Methods of Denture Cleansing, *Braz. Dent. J.* 26 (2015) 292–296. doi:10.1590/0103-6440201300028.
- [37] A.A. Lazarin, C.A. Zamperini, C.E. Vergani, A.F. Wady, E.T. Giampaolo, A.L. Machado, *Candida albicans* adherence to an acrylic resin modified by

- experimental photopolymerised coatings: An in vitro study, *Gerodontology*. 31 (2014) 25–33. doi:10.1111/j.1741-2358.2012.00688.x.
- [38] F. Amin, S. Iqbal, S. Azizuddin, Effect of disinfectants on the colour stability of heat cure acrylic resin., *J. Ayub Med. Coll. Abbottabad*. 26 (2014) 530–4. doi:11.2014/JCPSP.787790.

### 3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O presente estudo consistiu em uma avaliação clínica *in situ* envolvendo 33 voluntários portadores de prótese total superior, selecionados na Clínica Escola do Curso de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba por ocasião da confecção e substituição das próteses antigas. A confecção das novas próteses, que foram disponibilizadas aos voluntários, ocorreu concomitante à pesquisa, permanecendo os voluntários sempre utilizando suas próteses antigas até a conclusão da nova, o que contribuiu com a ausência de desistência dentre os pacientes que iniciaram a fase clínica. Uma Extensão Universitária vinculada à pesquisa foi criada para o atendimento e confecção das referidas Próteses Totais, a qual ocorreu na Clínica de Oclusão do Curso de Odontologia da UFPB e recebeu o apoio do Laboratório LAPD, João Pessoa / PB, na confecção e oferta das próteses. Apesar do planejamento e execução complexos, envolvendo a preparação de grande quantidade de meios de cultura, placas, armazenamento, tabulação dos dados, confecção das próteses, tudo transcorreu conforme planejado.

A preparação dos 396 corpos de prova utilizados envolveu a confecção dos padrões de cera, prensagem em resina acrílica, acabamento, assim como fresagem dos respectivos nichos para inserção nas próteses.



Figura 5 – Padronização dos corpos de prova.

Estes corpos de prova tiveram sua localização escolhida para a fixação na prótese na região correspondente a vertente palatina do rebordo alveolar dos pré-molares e molares das próteses, em virtude da maior prevalência de fungos relacionados à estomatite protética nesta região e espessura da base de prótese (AKPAN, 2002; MUZYKA, 2005; PEIXOTO et al., 2014).



**Figura 6 – Confecção dos nichos para fixação dos corpos de prova.**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba (C.A.A.E. 73918217.7.0000.5188). Vale destacar que todos os pacientes foram informados, previamente, que apesar utilizar e higienizar suas próteses normalmente durante o estudo; de o procedimento de imersão em hipoclorito 0,5% ser comumente utilizado e relatado na literatura (FERNANDES et al., 2011; HASHIZUME; HOSCHARUK; MOREIRA, 2015; PERACINI et al., 2016; SKUPIEN et al., 2013); de o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) já ter sido utilizado como enxaguatório bucal sem reações adversas (OLIVEIRA et al., 2014); e de não serem executados quaisquer procedimentos invasivos; a pesquisa

poderia oferecer risco mínimo de desconforto no palato duro, por um eventual posicionamento inadequado dos espécimes; irritação local, devido à uma higienização inadequada pelo paciente; e inesperada reação alérgica ou desconforto às soluções utilizadas. Desta forma, todos os pacientes foram monitorados quanto a possíveis desconfortos ou efeitos indesejáveis no transcorrer da pesquisa, decorrentes da utilização do cinamaldeído ou hipoclorito, e responderam a um questionário, quando da finalização das próteses.

A percepção dos pacientes com relação aos produtos utilizados foi positiva, uma vez que 93% dos pacientes que usaram cinamaldeído e 97% dos que usaram o hipoclorito não apresentaram qualquer desconforto após o processo de desinfecção das próteses. A maioria dos pacientes (61%) preferiram utilizar a solução contendo cinamaldeído, destacando positivamente o seu sabor e cheiro mais agradável, além de apresentar um custo de preparação correspondente a 40% do custo da solução de hipoclorito de sódio (0,5%), calculado com base nos preços comerciais de aquisição dos produtos.

O custo envolvido para a realização da pesquisa e confecção das próteses foi, principalmente, coberto pelo próprio pesquisador, apoiado pela Clínica de Oclusão da Faculdade de Odontologia da UFPB; pelo Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular; e de Biomateriais Aplicados à Odontologia da UFPB. O Laboratório LAPD, João Pessoa / PB ofertou a confecção das novas próteses confeccionadas.

A principal dificuldade encontrada foi a complexidade da realização de um estudo clínico *in situ* envolvendo um número considerável de pacientes, o que demandou um grande período de planejamento e execução laboratorial concomitante à confecção de novas próteses, culminado com a necessidade da criação de um projeto de Extensão Universitária vinculado à pesquisa, com a participação de uma grande equipe para sua execução. Devido a esta complexidade, ocorreram atrasos na finalização de algumas próteses, em virtude da logística e entrega por parte do Laboratório de Prótese Dental, o que gerou ansiedade em alguns pacientes.

Este projeto de Extensão Universitária, para a confecção das novas próteses, buscou conciliar o atendimento clínico dos pacientes com as etapas de execução

da pesquisa. Desta forma, o agendamento ocorreu a cada 7 dias, conforme o protocolo previamente delineado na metodologia deste estudo. As próteses foram executadas de forma simplificada, com realização da moldagem funcional com silicona fluida após a montagem final dos dentes em cera. Isto permitiu otimizar o atendimento clínico com os procedimentos do laboratório de prótese, assim como, a própria pesquisa.

O fato do efeito das soluções utilizadas nas propriedades da resina acrílica da base de prótese poder aumentar com o tempo de exposição; e da pequena diferença encontrada entre as soluções, configuram as limitações encontradas nesta pesquisa, as quais podem ser dirimidas com a realização de novos ensaios clínicos randomizados com maior número de participantes, visando conhecer a variação nestes efeitos e definir a forma mais adequada de utilização, pelos usuários, destas soluções para desinfecção de prótese total.

#### **4. CONCLUSÃO**

A solução contendo cinamaldeído a 200 µg/mL apresentou efeito contra todos os microrganismos avaliados, incluindo os grupos *Candida* spp. e *S. mutans* spp.; causou alteração na dureza vickers, rugosidade superficial e parâmetros de cor sem relevância clínica e de mesma magnitude que o hipoclorito, podendo ser associada ao método mecânico para a limpeza e desinfecção das próteses totais e prevenção da estomatite protética.

## REFERÊNCIAS\*

A AKPAN, R. M. Oral Candidiasis. **Postgraduate Medical Journal**, v. 78, n. 922, p. 455–459, 2002.

ABSALAN, A. et al. The effects of cinnamaldehyde and eugenol on human adipose-derived mesenchymal stem cells viability , growth and differentiation : a cheminformatics and in vitro study. **Avicenna J Phytomed**, v. 6, n. 6, p. 643–657, 2016.

ALKAHTANI, A. et al. Cytotoxicity of QMix™ endodontic irrigating solution on human bone marrow mesenchymal stem cells. **BMC Oral Health**, v. 14, n. 27, p. 1–9, 2014.

AMIN, F.; IQBAL, S.; AZIZUDDIN, S. Effect of disinfectants on the colour stability of heat cure acrylic resin. **Journal of Ayub Medical College, Abbottabad : JAMC**, v. 26, n. 4, p. 530–4, 2014.

ANDRADE, M. A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: Composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 43, n. 2, p. 399–408, 2012.

AYAZ, E. A. et al. Comparative effect of different polymerization techniques on residual monomer and hardness properties of PMMA-based denture resins. **Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials**, v. 12, n. 3, p. 228–233, 2014.

AZEVEDO, A. et al. Effect of disinfectants on the hardness and roughness of relined acrylic resins. **Journal of Prosthodontics**, v. 15, n. 4, p. 235–242, 2006.

BAENA-MONROY, T. et al. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 10, n. 1, p. 27–39, 2005.

---

\* De acordo com as normas do PPGO/UFPB, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

- BARBATO, P. R.; REIS, B.; FREITAS, M. Perdas dentárias no Brasil : análise da Pesquisa Nacional de Saúde Bucal 2010. **Rev Saúde Pública**, v. 47, n. Supl 3, p. 78–89, 2013.
- BERALDO, C. et al. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 43, n. 4, p. 436–440, 2013.
- BRASIL. **SB BRASIL 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal, resultados principais**. Brasília: 116 p., 2012. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pesquisa\\_nacional\\_saude\\_bucal.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pesquisa_nacional_saude_bucal.pdf)>
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.
- CHOI, O. et al. In vitro antibacterial activity and major bioactive components of Cinnamomum verum essential oils against cariogenic bacteria, Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 4, p. 308–314, 2016.
- DE REZENDE PINTO, L. et al. Effect of repeated cycles of chemical disinfection on the roughness and hardness of hard reline acrylic resins. **Gerodontology**, v. 27, n. 2, p. 147–153, 2010.
- DE SOUSA PORTA, S. R. et al. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. **Gerodontology**, v. 32, n. 4, p. 260–266, dez. 2015.
- DE SOUZA, T. M. P. A. et al. Microbial contamination in intraoral phosphor storage plates: the dilemma. **Clinical Oral Investigations**, v. 21, n. 1, p. 301–307, 2017.
- EMAMI, E. et al. The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: a systematic review. **The International journal of prosthodontics**, v. 25, n. 2, p. 113–9, 2012.
- ESTRELA, C. et al. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, n. 2, p. 113–117, 2002.
- EVANGELISTA SOUZA, S. et al. Perfil sócio-econômico de pacientes desdentados totais reabilitados na Faculdade de Odontologia da Universidade

Federal da Bahia, Brasil. **Revista Cubana de Estomatologia**, v. 52, n. 1, p. 21–28, 2015.

FERNANDES, F. H. C. N.; ORSI, I. A.; VILLABONA, C. A. 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**, v. 30, n. 1, p. 18–25, 2013.

FERNANDES, F. S. DE F. et al. Efficacy of denture cleansers on *Candida* spp. biofilm formed on polyamide and polymethyl methacrylate resins. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 105, n. 1, p. 51–58, 2011.

GLEIZNYS, A. et al. *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. **Stomatologija Baltic Dental and Maxillofacial Journal**, v. 17, n. 17, p. 54–66, 2015.

HASHIZUME, L. N.; HOSCHARUK, M. F.; MOREIRA, M. J. S. Effect of affordable disinfectant solutions on *Candida albicans* adhered to acrylic resin for dental prosthesis. **RGO - Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 63, n. 3, p. 309–314, 2015.

HIDALGO, E.; BARTOLOME, R.; DOMINGUEZ, C. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. **Chemico-Biological Interactions**, v. 139, n. 3, p. 265–282, mar. 2002.

HONG, G. et al. Influence of denture cleansers on the color stability of three types of denture base acrylic resin. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 101, n. 3, p. 205–213, mar. 2009.

HYLDGAARD, M. et al. Essential oils in food preservation : mode of action , synergies , and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. January, p. 1–24, 2012.

IMAMURA, S. et al. Effect of filler type and polishing on the discoloration of composite resin artificial teeth. **Dental Materials Journal**, v. 27, n. 6, p. 802–808, 2008.

KIESOW, A. et al. Material compatibility and antimicrobial activity of consumer products commonly used to clean dentures. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v.

115, n. 2, p. 189–198e8, 2016.

LAZARIN, A. A. et al. Candida albicans adherence to an acrylic resin modified by experimental photopolymerised coatings: An in vitro study. **Gerodontology**, v. 31, n. 1, p. 25–33, 2014.

LIMA, I. D. O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 197–201, 2006.

MUZYKA, B. C. Oral fungal infections. **Dental Clinics of North America**, v. 49, n. 1, p. 49–65, 2005.

OLIVEIRA, J. D. A. et al. Safety and Tolerability of Essential Oil from Cinnamomum zeylanicum Blume Leaves with Action on Oral Candidosis and Its Effect on the Physical Properties of the Acrylic Resin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1–10, 2014.

PARANHOS, H. DE F. O. et al. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. **Brazilian Dental Journal**, v. 24, n. 2, p. 152–156, 2013.

PEIXOTO, J. V. et al. CANDIDÍASE - UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 8, n. 2, p. 75–82, 2014.

PERACINI, A. et al. Alkaline Peroxides Versus Sodium Hypochlorite for Removing Denture Biofilm: a Crossover Randomized Trial. **Brazilian Dental Journal**, v. 27, n. 6, p. 700–704, dez. 2016.

PEREIRA-CENCI, T. Temporal Changes of Denture Plaque Microbiologic. **Int J Prosthodont**, v. 23, n. 3, p. 239–242, 2010.

PIOVEZAN, M. et al. Effect of cinnamon essential oil and cinnamaldehyde on Salmonella Saintpaul biofilm on a stainless steel surface. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 60, n. 3, p. 119–121, 2014.

RAEISI, M. et al. The Role of Nisin, Monolaurin, and EDTA in Antibacterial Effect of Rosmarinus Officinalis L. and Cinnamomum Zeylanicum Blume Essential Oils on Foodborne Pathogens. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 7, p. 1709–1720, 2 out. 2016.

RAHEMI, D. et al. An In Vitro Study of the Effect of Cinnamaldehyde on the

Growth of *Candida albicans* Compared to Nystatin and Fluconazole. **Crescent Journal of Medical and Biological Sciences**, v. 2, n. 3, p. 76–80, 2015.

SALLES, M. M. et al. Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis* - a randomized clinical study. **Journal of applied oral science**, v. 23, n. 6, p. 637–642, 2015.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiol Rev**, v. 59, n. 2, p. 201–222, 1995.

SKUPIEN, J. A. et al. Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: A systematic review. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 110, n. 5, p. 356–362, 2013.

SORGINI, D. B. et al. Adverse Effects on PMMA Caused by Mechanical and Combined Methods of Denture Cleansing. **Brazilian Dental Journal**, v. 26, n. 3, p. 292–296, jun. 2015.

TAGUCHI, Y. et al. The effect of cinnamaldehyde on the growth and the morphology of *Candida albicans*. **Medical Molecular Morphology**, v. 46, n. 1, p. 8–13, 2013.

VALENTINI, F. et al. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. **Journal of Dentistry**, v. 41, n. 5, p. 420–427, 2013.

VERRAN, J. et al. The effect of dentifrice abrasion on denture topography and the subsequent retention of microorganisms on abraded surfaces. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 112, n. 6, p. 1513–1522, 2014.

YIU, C. K. Y. et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. **Biomaterials**, v. 25, n. 26, p. 5789–5796, 2004.

## ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFEITO DO CINAMALDEÍDO NA DESINFECÇÃO DE PRÓTESE REMOVÍVEL:  
ESTUDO in situ e in vitro

**Pesquisador:** MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 73918217.7.0000.5188

**Instituição Proponente:** Programa de Pós-graduação em Odontologia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.303.954

#### Apresentação do Projeto:

Projeto de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Odontologia desenvolvido por MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA com a orientação de Ricardo Dias de Castro e co-orientado por ANDRÉ ULISSES DANTAS BATISTA.

#### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:** O Presente estudo visa avaliar o efeito do cinamaldeído, fitoconstituente do óleo essencial presente no óleo essencial obtido de *C. zeylanicum*, na desinfecção de prótese removível, incluindo a realização de testes in situ e in vitro, buscando um produto de origem natural alternativo aos tradicionalmente utilizados, com eficácia e, mas que apresente menor corrosão ou descoloração da resina acrílica das próteses.

próteses.

**Objetivo Secundário:** 1) Avaliar o biofilme sobre próteses removíveis formado in situ antes e depois da utilização dos métodos de desinfecção com cinamaldeído e hipoclorito: a) Quantitativamente: por meio da contagem de colônias (UFC); b) Qualitativamente: por meio do MEV. 2) Determinar as possíveis alterações em componentes das próteses removíveis causadas pela exposição ao cinamaldeído (experimental) em comparação ao hipoclorito (controle positivo), avaliando as seguintes propriedades: a) Rugosidade superficial da resina acrílica; b) Alteração dos parâmetros de

**Endereço:** UNIVERSITARIO S/N

**Bairro:** CASTELO BRANCO

**CEP:** 58.051-900

**UF:** PB

**Município:** JOAO PESSOA

**Telefone:** (83)3216-7791

**Fax:** (83)3216-7791

**E-mail:** eticaccsufpb@hotmail.com

Continuação do Parecer: 2.303.954

cor da resina acrílica; c)Ângulo de contato da resina acrílica; d)Dureza Vickers da resina acrílica; e)Corrosão da liga Cr-Co; f)Rugosidade e manchamento superficial da liga Cr-Co.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: a pesquisa poderá oferecer risco mínimo de desconforto no palato duro, por um eventual posicionamento inadequado dos espécimes; irritação local, devido à uma higienização inadequada pelo paciente; e inesperada reação alérgica ou desconforto às soluções utilizadas.

Benefícios: A pesquisa permitirá o estudo de um produto de origem natural alternativo e seu benefício potencial, como eficácia e custo similar, em relação aos produtos tradicionalmente utilizados (hipoclorito), mas que possibilite menor descoloração das resinas acrílicas das bases protéticas; baixa corrosão das estruturas de cobalto-cromo de próteses parciais removíveis; ausência do odor desagradável; e baixo grau de toxicidade às mucosas de suporte protético.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa utilizará uma amostra de 36 pacientes voluntários, portadores de prótese total superior, que comparecerem à Clínica de Oclusão da Curso de Odontologia da UFPB para confecção e substituição das próteses antigas. A pesquisa permitirá o estudo de um produto de origem natural alternativo e seu benefício potencial, como eficácia e custo similar, em relação aos produtos tradicionalmente utilizados (hipoclorito), mas que possibilite menor descoloração das resinas acrílicas das bases protéticas; baixa corrosão das estruturas de cobalto-cromo de próteses parciais removíveis; ausência do odor desagradável; e baixo grau de toxicidade às mucosas de suporte protético.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Itens obrigatórios anexados.

**Recomendações:**

Todos os resultados de uma pesquisa deverão ser divulgados junto aos participantes da mesma, assim como na(s) instituição(ões) onde os dados foram obtidos. ACONSELHAMOS A TODOS OS PESQUISADORES (RESPONSÁVEL/ASSOCIADO/ASSISTENTE) QUE ANTES DO ENVIO DE QUALQUER PROTOCOLO DE PESQUISA, VIA PLATAFORMA BRASIL, SEJA FEITA UMA LEITURA DA RESOLUÇÃO N. 466/12, ASSIM COMO DA NORMA OPERACIONAL N. 001/13, AMBAS DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Considero este projeto sem pendências ou inadequações.

Este é meu parecer, salvo melhor juízo.

**Endereço:** UNIVERSITARIO S/N  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** eticaccsufpb@hotmail.com

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 2.303.954

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento  | Arquivo  | Postagem               | Autor                             | Situação |
|---|--|------------------------|-----------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_977432.pdf       | 14/08/2017<br>12:30:26 |                                   | Aceito   |
| Outros  | CERTIDAO_COLEGIADO_UFPB.pdf                        | 14/08/2017<br>12:28:20 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |
| Folha de Rosto  | FOLHA_DE_ROSTO.pdf                                 | 14/08/2017<br>12:27:21 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | 1_PROJETO_DE_PESQUISA_MESTRA_DO_PPGO_UFPB_2017.pdf | 13/08/2017<br>21:31:29 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |
| Outros  | AUTORIZACAO_LAB.pdf                                | 11/08/2017<br>18:04:45 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido.pdf     | 10/08/2017<br>21:56:05 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |
| Outros  | AUTORIZACAO_OCLUSAO.pdf                            | 10/08/2017<br>21:45:24 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |
| Outros  | AUTORIZACAO_LABIO.pdf                              | 10/08/2017<br>21:40:15 | MARCO ANTONIO LAVORATO DE ALMEIDA | Aceito   |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** UNIVERSITARIO S/N  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** eticaccsufpb@hotmail.com

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 2.303.954

JOAO PESSOA, 28 de Setembro de 2017

---

**Assinado por:**  
**Eliane Marques Duarte de Sousa**  
**(Coordenador)**

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa sobre “efeito do cinamaldeído na desinfecção de prótese removível: estudo *in situ*”.

Você foi selecionado de forma aleatória e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito do cinamaldeído, componente do óleo essencial de canela, na desinfecção de prótese removível, buscando um produto natural alternativo aos produtos tradicionalmente utilizados (hipoclorito), que tenha eficácia e custo similar, mas que apresente menor corrosão ou descoloração da resina acrílica das próteses, ausência do odor desagradável; e baixo grau de toxicidade das mucosas.

Sua participação nesta pesquisa consiste em utilizar sua Prótese Total (dentadura) normalmente, realizando sua limpeza e desinfecção com soluções a base de hipoclorito de sódio a 0,5% e cinamaldeído (canela) por 20 minutos ao dia, seguindo instruções escritas que lhe serão entregues. Na região de sua Prótese Total (dentadura) em contato com o Palato Duro (céu da boca) faremos alguns buracos que serão preenchidos com disquinhos do mesmo material de sua prótese, para que possamos retirá-lo depois. A pesquisa oferecerá um risco mínimo de desconforto no Palato Duro (céu da boca), uma vez que você estará utilizando e higienizando sua prótese normalmente durante o estudo; o procedimento de imersão em hipoclorito 0,5% já é comumente utilizado e relatado na literatura; a solução à base de canela já foi utilizada em pesquisas anteriores para bochecho sem reações adversas; e não serão executados quaisquer procedimentos invasivos. Este risco limita-se a um eventual desconforto no palato duro, por um posicionamento inadequado dos discos de resina; irritação local, caso você não limpe a prótese adequadamente; e por uma inesperada reação alérgica ou desconforto às soluções utilizadas.

Você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal da Paraíba (CEP/UFPB) e possui o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número \_\_\_\_\_. Este número pode ser consultado pelo endereço eletrônico <http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/visao/publico/pesquisarProjetoPesquisa.jsf>.

### AUTORIZAÇÃO:

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo.

Eu discuti com o dentista sobre a minha decisão em participar. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que não receberei qualquer quantia em dinheiro ou outra espécie de pagamento pela minha participação.

Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer hora, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. A minha assinatura neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dará autorização ao patrocinador do estudo, ao Comitê de Ética em Pesquisa responsável, e a organização governamental de saúde de utilizarem os dados amostrais obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha privacidade.

Assino o presente documento.

Eu, \_\_\_\_\_ Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

João Pessoa, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2017.

\_\_\_\_\_  
Participante da pesquisa ou Responsável Legal

\_\_\_\_\_  
MARCO ANTONIO L. DE ALMEIDA

Universidade Federal da Paraíba

Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) - Tel.: (83) 3216-7797 e-mail [PPGO@ccs.ufpb.br](mailto:PPGO@ccs.ufpb.br)

Comitê de Ética da Universidade do Federal da Paraíba

Centro de Ciências da Saúde - 1º andar / Campus I / Cidade Universitária CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB

Tel. (83) 3216 7791