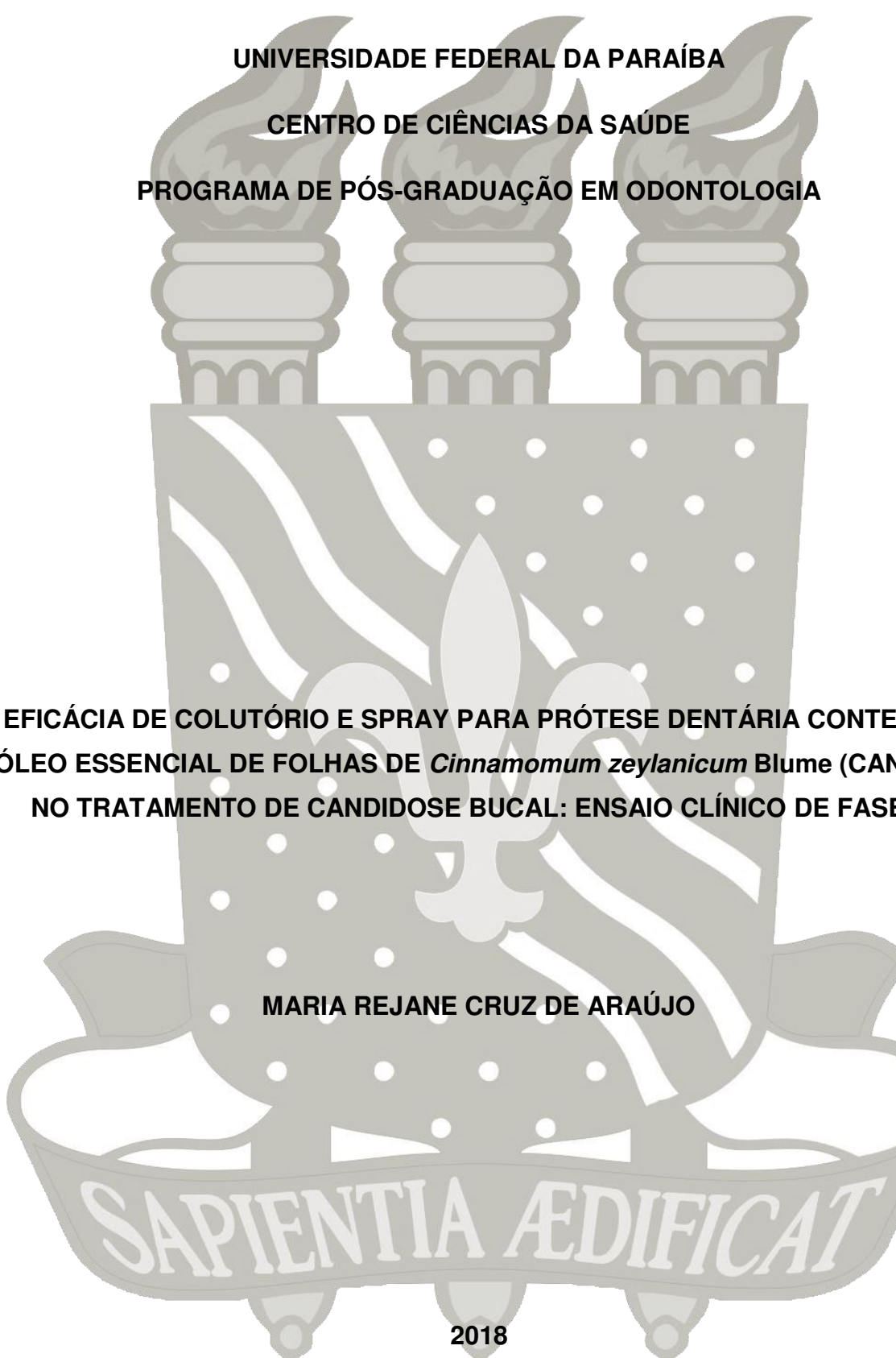




UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**EFICÁCIA DE COLUTÓRIO E SPRAY PARA PRÓTESE DENTÁRIA CONTENDO
ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Cinnamomum zeylanicum* Blume (CANELA)
NO TRATAMENTO DE CANDIDOSE BUCAL: ENSAIO CLÍNICO DE FASE II**

MARIA REJANE CRUZ DE ARAÚJO

SAPIENTIA AEDIFICAT

2018

MARIA REJANE CRUZ DE ARAÚJO

**EFICÁCIA DE COLUTÓRIO E SPRAY PARA PRÓTESE DENTÁRIA CONTENDO
ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Cinnamomum zeylanicum* Blume (CANELA)
NO TRATAMENTO DE CANDIDOSE BUCAL: ENSAIO CLÍNICO DE FASE II**

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. Lúcio Roberto C. Castellano

Co-Orientador: Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

João Pessoa

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663e Araújo, Maria Rejane Cruz de.

Eficácia de colutório e spray para prótese dentária contendo óleo essencial de folhas de cinnamomum zeylanicum blume (canela) no tratamento de candidose bucal: ensaio clínico de fase II / Maria Rejane Cruz de Araújo. - João Pessoa, 2018.

54 f. : il.

Orientação: Lúcio Roberto C Castellano.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Odontologia. 2. Prótese dentária. 3. Tratamento de candidose bucal. I. Castellano, Lúcio Roberto C. II. Título.

UFPB/BC

MARIA REJANE CRUZ DE ARAÚJO

EFICÁCIA DE COLUTÓRIO E SPRAY PARA PRÓTESE DENTÁRIA CONTENDO
ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Cinnamomum zeylanicum* Blume (CANELA)
NO TRATAMENTO DE CANDIDOSE BUCAL: ENSAIO CLÍNICO DE FASE II

Banca Examinadora



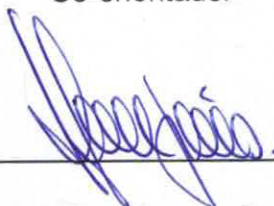
Prof. Dr. . Lúcio Roberto C. Castellano

Orientador



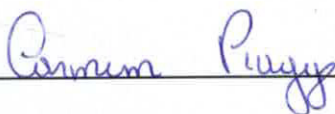
Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

Co-orientador



Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio

Examinador - UFPB



Prof.ª Dra. Carmem Silvia Laureano Dalle Piagge

Examinador - Externo

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo Guilherme,

Meu porto seguro, sempre meu amor e minha paz.

Aos meus filhos Arthur, Amanda e Alice,

Presentes de Deus, luz da minha vida e meu maior amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meu caminho e me ajudar a traçar esse percurso, por jamais me deixar só e por mostrar a cada dia que seu amor é infinito.

Aos meus pais, Francisco (*in memoriam*) e Severina, pelo exemplo de fortaleza, ética e união que serviram de alicerces para minha formação e pela dedicação à família com amor incondicional. Os ensinamentos mais valiosos que possuo sempre serão os que vocês me transmitiram.

Ao meu Guilherme, esposo e companheiro de todas as horas. Seu amor sincero, sua ajuda, serenidade e apoio incondicional foram incentivos determinantes para que eu enfrentasse esse desafio, em meio às adversidades, e concluir esse trabalho. Espero tê-lo ao meu lado sempre. Por tudo o que significas, muito obrigada.

Aos meus filhos Arthur, Amanda e Alice, meu mais precioso tesouro e tradução da palavra AMOR! Por vocês posso ser, cada dia, uma pessoa melhor. Obrigada pelo estímulo constante, pelo amor em família e pela ajuda e contribuição que cada um deu no processo de construção dessa conquista. Vocês são a melhor parte de mim.

Aos meus irmãos, pelo amor que nos une em meio às diferenças e por serem fontes de fortaleza, em especial às minhas irmãs, Maria de Fátima e Maria Luiza, pelo apoio às minhas escolhas e pela constante disponibilidade em me ajudar, me incentivando a seguir firme nos meus propósitos.

A todos os meus familiares, pelo estímulo e apoio, em especial ao meu sobrinho Fábio, por quem tenho um amor de filho e que me incentiva na busca de crescimento.

Ao professor Ricardo Dias de Castro, por quem tenho profunda admiração e gratidão, pelo incentivo que me foi dado desde o primeiro momento que estive na universidade, sempre disponível e atencioso. Por me acolher no mestrado, no Estágio Docência em Bioética, pela confiança depositada e pela oportunidade de me inserir nesse projeto que me proporcionou um rico e constante aprendizado. Pela dedicação à docência com responsabilidade, respeito e amor, serás sempre para mim uma referência como mestre, profissional e humano.

Ao professor Lucio Roberto Cançado Castellano, constante incentivador da pesquisa científica, pelo apoio e confiança, pelo acolhimento nos espaços da Escola Técnica de Saúde, e pelo desempenho do trabalho com responsabilidade e simpatia, que despertou em mim enorme admiração e respeito.

Ao Professor Paulo Rogério Ferreti Bonan, por me permitir usar um espaço em sua clínica para o atendimento aos pacientes, pelos conhecimentos transmitidos, pelo apoio e contribuições dadas a essa pesquisa, um exemplo de profissional e humano.

Ao professor André Ulisses Dantas Batista, pela atenção, por partilhar seus conhecimentos e por também ceder um espaço para atendimento aos pacientes. Aos Professores Yuri Wanderley Cavalcanti e Leopoldina de F. Dantas Almeida, pela acolhida na extensão PAIO/SUS, colaborando para a construção desse trabalho.

A todos os professores com quem convivi nesse percurso, em especial aos professores de Saúde Coletiva: Cláudia Helena S. de Moraes Freitas, Talitha Rodrigues R. Fernandes Pessoa, Franklin Delano S. Forte e Thiago Pelúcio Moreira, pelo acolhimento nos Estágios Docência, pelo apoio e conhecimentos transmitidos.

Aos professores das bancas de qualificação e defesa: Prof. Dr. Paulo Rogério Ferreti Bonan, Prof.^a Dra. Edeltrudes Oliveira Lima, Prof.^a Dra. Carmem Silvia Laureano Dalle Piagge e Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio, pela disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos em prol do aprimoramento dessa pesquisa.

Aos colegas do mestrado, pela parceria nos estudos e pela ajuda mútua e às colegas do laboratório - LAFECC, em especial à minha amiga Danielle da Nóbrega Alves, pela amizade construída e pela colaboração na construção desse trabalho.

Aos pacientes participantes desta pesquisa, pela colaboração e disponibilidade, sem os quais esta pesquisa seria inviável.

Aos que fazem o PPGO meu agradecimento, extensivo aos funcionários e técnicos da UFPB, pela atenção recebida e pelo empenho que permite o funcionamento da instituição. E a todos que, dentro ou fora do ambiente da universidade, contribuíram para a realização desse trabalho e para minha evolução como profissional e ser humano.

EPÍGRAFE

“Ninguém é suficientemente perfeito,
que não possa aprender com o outro e
ninguém é totalmente estruído de valores,
que não possa ensinar algo ao seu irmão.”

Francisco de Assis

RESUMO

Introdução: A candidose bucal representa um dos maiores desafios a ser enfrentado pela clínica odontológica, seja pelo limitado número de antifúngicos disponível, seja pela expressiva resistência apresentada pelos micro-organismos envolvidos com esse tipo de infecção. **Objetivo:** Este estudo avaliou a eficácia de um colutório e um spray contendo óleo essencial (OE) extraído de folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) no tratamento de candidose bucal associada ao uso de próteses dentárias removíveis. **Metodologia:** Foi realizado um ensaio clínico controlado, randomizado e duplo cego em amostra probabilística de 36 participantes portadores da doença, divididos em dois grupos de adultos desdentados total e parcial, que utilizaram o produto experimental (*C. zeylanicum*, n=18) ou controle (nistatina, n=18). Parâmetros micológicos e clínicos foram avaliados por um examinador calibrado, antes e após 15 dias de utilização dos produtos. Foi realizada contagem das unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Candida* spp. das amostras biológicas coletadas com um swab no palato e na prótese dos pacientes antes e após tratamento. Os dados foram analisados por estatísticas descritivas e inferencial, com base nos parâmetros micológicos e clínicos, considerando $\alpha=5\%$. **Resultados:** O exame clínico da mucosa afetada demonstrou que os produtos contendo OE de *C. zeylanicum* ($p=0,0339$) e nistatina ($p=0,0139$) promoveram eficácia clínica, com redução significativa dos sinais e sintomas observados. A análise micológica expressa pela quantidade de UFC indicou que os produtos contendo OE de *C. zeylanicum* não apresentaram efeito significativo ($p>0,05$) na redução de *Candida* spp. isoladas da mucosa e prótese dentária. A nistatina, porém, promoveu redução significativa da colonização de *Candida* spp. na mucosa ($p<0,005$) e prótese dentária ($p<0,005$). Os indivíduos que utilizaram o produto experimental referiram sabor agradável e reduzido número de queixas relacionadas à mesma. **Conclusão:** O colutório e spray contendo OE de *C. zeylanicum* promoveram eficácia clínica, com melhora dos sinais e sintomas, sem redução significativa das UFC de *Candida* spp.

Palavras-chave: Produtos Biológicos; Candidíase Bucal; Atividade Farmacológica de Produtos Naturais; Desdentados; Prótese dentária.

ABSTRACT

Introduction: Oral candidiasis represents one of the greatest challenges to be faced by dentistry, either because of the limited number of antifungal agents available or because of the expressive resistance presented by microorganisms involved in this type of infection. **Objective:** This study evaluated the effectiveness of a mouthwash and a spray containing essential oil (EO) extracted from leaves of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (cinnamon) in the treatment of bucal candidosis associated with the use of dental prosthesis. **Methodology:** A randomized, double blinded, controlled clinical trial was conducted in a probabilistic sample of 36 participants with the disease, divided into two groups that used the experimental solution (*C. zeylanicum*, n = 18) and control (nystatin, n = 18). Mycological and clinical parameters were evaluated, by a calibrated examiner, before and after 15 days of use of the products. A count of the Colony Forming Units (CFU) of *Candida* spp. of the biological samples collected with a swab on the palate and on the prosthesis of the patients was done before and after treatment. Data were analyzed by descriptive and inferential statistical analyzes, based on mycological and clinical parameters, considering $\alpha = 5\%$. **Results:** The clinical examination of the affected mucosa showed that the products containing *C. zeylanicum* EO (p = 0.0339) and nystatin (p = 0.0139) promoted clinical efficacy, with significant reduction of signs and symptoms observed. The mycological analysis expressed by the number of CFU indicated that the EO of *C. zeylanicum* had no significant effect (p > 0.05) on the reduction of *Candida* spp. isolated from the mucosa and dental prosthesis. Nystatin, however, promoted a significant reduction in the colonization of *Candida* spp. in the mucosa (p < 0.005) and dental prostheses (p < 0.005). The individuals who used the experimental mouthwash and spray reported pleasant taste and a small number of complaints related to it. **Conclusion:** The products containing *C. zeylanicum* EO promoted clinical efficacy, with a significant improvement of signs and symptoms, without significant reduction of CFU of *Candida* spp.

Keywords: Biological Products; Oral Candidiasis; Pharmacological Activity of Natural Products; Toothless; Dental prosthesis.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C - Graus Celsius

h - horas

K - kappa

® - marca registrada

µg - micrograma (s)

mL - mililitro (s)

OE - Óleo Essencial

spp. - Espécies

TCLE - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

UFC - Unidade Formadora de Colônia

U.I. - Unidades internacionais

% - percentual

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. CAPÍTULO 1	7
1. Introduction	7
2. Materials and methods	9
3. Results	12
4. Discussion	17
5. Conclusion	19
3. CONSIDERAÇÕES GERAIS	22
4. CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27
ANEXO	35
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	36
APÊNDICE B - Ficha Clínica (Diagnóstico Clínico)	38
APÊNDICE C - Orientações para o uso dos medicamentos	41
APÊNDICE D - Calibração e obtenção do valor Kappa (K)	42

1. INTRODUÇÃO

A expectativa de vida da população tem aumentado significativamente nas últimas duas décadas, levando a um acréscimo no percentual de pessoas com necessidades de reabilitação com próteses dentárias removíveis (GLEIZNYS *et al.*, 2015). Nesse contexto, a alta prevalência de perdas dentárias é considerada um dos principais agravos de saúde, como evidenciado na Pesquisa Nacional de Saúde Bucal /SB BRASIL 2010, a qual mostrou que a porcentagem de usuários de prótese total foi de 63,1% para o Brasil, variando de 65,3% na Região Sul a 56,1% na Região Nordeste. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Este fato contribui para a maior incidência de infecções fúngicas orais, que acometem, em sua maioria, pacientes idosos, imunocomprometidos, usuários de próteses. Estas infecções estão associadas com pelo menos 1,5 milhões de mortes por ano no mundo todo, das quais 90% são causadas por espécies dos gêneros *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Pneumocystis*, *Mucor* e *Rhizopus* (CAMPOY & ADRIO, 2017).

Candida spp. são micro-organismos comensais e versáteis, sendo colonizadores de até 70% da população usuária de prótese dentária, sem sinais clínicos de infecção. Entretanto, alterações locais ou sistêmicas podem desencadear um desequilíbrio no hospedeiro e predispor o desenvolvimento da candidose, que pode variar desde um envolvimento superficial e localizado até uma doença fatal, quando disseminada no organismo de indivíduos imunocomprometidos (GENDREAU & LOEWY, 2011; SINGH *et al.*, 2014). A espécie colonizadora humana predominante é *Candida albicans*, seguida de outras espécies: *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*. As infecções superficiais provocadas por *Candida* são mais frequentes que as sistêmicas e acometem superfícies epiteliais e mucosas, como na candidose bucal, vulvovaginal e cutânea (PIANALTO & ALSPAUGH, 2016).

A candidose bucal, quando acomete usuários de próteses dentárias removíveis, é descrita como estomatite protética (EP) e é considerada a lesão bucal mais frequentemente observada nesses indivíduos (11 a 63%), com maior prevalência nos idosos (cerca de 75%). Situações frequentes nessa faixa etária como presença de doenças sistêmicas subclínicas, uso de agentes farmacológicos, deficiências

imunológicas ou nutricionais predisõem esses indivíduos ao desenvolvimento da doença (NAVABI *et al.*, 2013; JAINKITTIVONG *et al.*, 2010). Fatores locais também estão relacionados à EP, como má higiene bucal e da prótese, seu uso contínuo, lesões decorrentes desta quando mal adaptada, xerostomia e alterações do pH salivar (VASCONCELOS *et al.*, 2003, SILVA *et al.*, 2015, SALERNO *et al.*, 2011).

A alta patogenicidade da espécie *Candida*, muitas vezes relatada como oportunista, está relacionada à diversidade de fatores de virulência descobertos, a exemplo do seu dimorfismo, que a torna capaz de alterar sua morfologia de levedura para formas filamentosas (hifas ou pseudohifas), em resposta a alterações ambientais, tornando-a mais resistente à fagocitose e aumentando sua capacidade de penetração nos tecidos, quando do rompimento da barreira epitelial ou mucosa, por traumas. Outros aspectos tais como a expressão de fatores de adesão, adaptação ao stress, flexibilidade metabólica, secreção de enzimas hidrolíticas e capacidade de formar biofilme também estão implicados no processo de infecção (BANERJEE *et al.*, 2013).

A adesão do fungo ao hospedeiro ou à prótese é um primeiro passo crítico no processo da infecção e é essencial tanto para a colonização como para a subsequente indução da doença da mucosa (VASCONCELOS *et al.*, 2003). *Candida* está presente na cavidade bucal em duas formas distintas, como células planctônicas flutuadoras (blastósporos, blastoconídios) e / ou em um biofilme organizado. Além disso, *Candida* forma biofilmes mistos com *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. durante infecções de próteses (GLEIZNYS *et al.*, 2015).

Nesse contexto, a deficiente higiene bucal e da prótese facilita tanto a presença do patógeno na saliva quanto sua colonização na mucosa bucal e na superfície da prótese, representando um importante fator predisponente à doença. É forte a relação da infecção com a prótese, já que esta é considerada um reservatório de micro-organismos devido às irregularidades e porosidades que se desenvolvem na superfície da resina acrílica (UZUNOGLU *et al.*, 2014; JACKSON *et al.*, 2014; JAIN & SHAKYA, 2013), (NAVABI *et al.*, 2013; JAINKITTIVONG *et al.*, 2010).

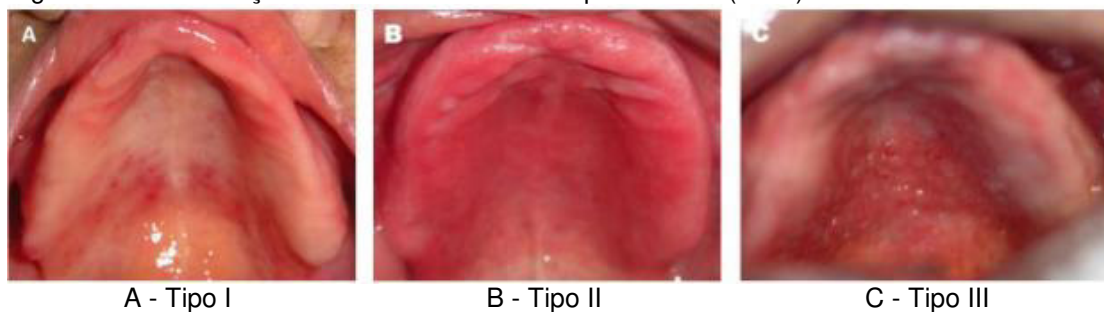
Pacientes com EP podem apresentar vários sintomas incluindo ardor, sensação dolorosa, edema, halitose, prurido, xerostomia e dificuldade de engolir, mas a maioria dos casos são assintomáticos. Os diagnósticos são feitos com base no

exame físico e história clínica do paciente, podendo ser associado à cultura microbiológica para verificar a presença do micro-organismo *Candida* (BAKHSHI *et al.*, 2012; ARMSTRONG *et al.*, 2016; DANGI *et al.*, 2010).

Clinicamente, pode ser caracterizada como uma área eritematosa, presente nos locais de contato entre a prótese e a mucosa da cavidade bucal, geralmente no palato, podendo causar, nas superfícies onde se desenvolve, alterações de textura. Foi classificada por Newton em 1962 baseado exclusivamente em critérios clínicos, em três tipos (Figura 1) (ALTARAWNEH *et al.*, 2013; GLEIZNYS *et al.*, 2015):

- Hiperemia Puntiforme (classe I) - É definida pela inflamação simples com aspecto eritematoso localizado ou puntiforme, podendo ocupar áreas dispersas ou pequenas áreas localizadas no palato;
- Hiperemia Difusa (classe II) - É o tipo mais comum, de aspecto eritematoso difuso, com edema das áreas da mucosa do palato sob a prótese;
- Hiperemia Granular (classe III) - É uma hiperplasia papilar inflamatória, no centro do palato, frequentemente associada à câmara de sucção, com aparência clínica nodular e rugosa da mucosa.

Figura 1 – Classificação de Estomatite Protética por Newton (1962)



Fonte: FLORES *et al.*, 2017

O tratamento da EP é difícil e complexo. Envolve desde a orientação da higienização das próteses e da cavidade bucal e remoção de um possível fator irritante (próteses dentárias mal adaptadas e insatisfatórias), até o uso de antifúngicos tópicos e/ou sistêmicos (EMAMI *et al.*, 2014; SKUPIEN *et al.*, 2013). Os reembasadores resilientes também são indicados com a finalidade de melhorar a adaptação da prótese aos tecidos de suporte, contribuindo para a recuperação dos tecidos injuriados e assegurando conforto ao paciente, pela capacidade de distribuição uniforme das cargas funcionais. (MARÍN *et al.*, 2010). Ainda sobre as recomendações, é de extrema

relevância a remoção noturna da prótese e o uso de soluções desinfetantes e de micro-ondas para controle da proliferação dos micro-organismos (ANDRADE *et al.*, 2012; SALLES *et al.*, 2015, HASHIZUME *et al.*, 2015; GLEIZNYS *et al.*, 2015).

Para o tratamento de infecções fúngicas provocadas por *Candida* existem basicamente quatro classes de medicamentos: poliênicos, azóis, equinocandinas e os anti-metabólitos (ANIBAL *et al.*, 2010; PERFECT, 2016)

Entre os poliênicos destacam-se a anfotericina B e nistatina, os azóis mais utilizados são fluconazol, itraconazol, miconazol e cetoconazol e a caspofungina é o principal representante das equinocandinas. Como as infecções orais são superficiais, geralmente o tratamento inicial é feito com um agente tópico, a exemplo da nistatina e miconazol. A nistatina possui ação comprovada sobre a membrana celular fúngica, por meio da ligação aos esteroides presentes na mesma, causando alteração na sua permeabilidade. Os azóis são drogas fungistáticas que são capazes de inibir uma enzima chave da via de biossíntese do ergosterol, uma molécula essencial para a membrana fúngica. Mutações no gene ERG11 que codifica a enzima alvo da droga (lanosterol 14- α -desmetilase) podem ser interpretadas como a principal causa do aumento da resistência a esses tipos de medicamentos (RANGEL *et al.*, 2018). Caso a terapêutica tópica não apresente resultados, é iniciado o tratamento sistêmico, sendo o fluconazol a droga mais prescrita (PIANALTO & ALSPAUGH, 2016).

As recidivas da EP são frequentes após a interrupção da terapêutica medicamentosa, ainda que o fator traumático tenha sido eliminado, face à etiologia multifatorial da patologia, à intensa frequência de administração dos fármacos, ao pequeno número de drogas disponíveis e a crescente expressão de resistência por parte dos micro-organismos (PAUL & MOYE-ROWLEY, 2014; FERREIRA *et al.*, 2005; ANDRADE *et al.*, 2012). Um dos mecanismos fortemente envolvido com essa resistência é a habilidade de determinados micro-organismos formarem biofilmes. Nestas comunidades, os micro-organismos sofrem modificações genéticas que elevam a resistência aos fármacos e ao sistema imunológico (ANIBAL *et al.*, 2010; PERFECT, 2016; PIANALTO & ALSPAUGH, 2016). Para *Candida*, a habilidade em formar biofilme sobre superfícies bióticas e abióticas constitui um fator de virulência importante, se tornando um interessante objeto de estudo no desenvolvimento de

agentes antifúngicos para a candidose (CIRASOLA *et al.*, 2013; MORACE *et al.*, 2014).

Além do problema da resistência microbiana, outros efeitos indesejáveis relacionados à terapia antifúngica convencional têm sido evidenciados como a toxicidade dos medicamentos, espectro de ação, segurança e propriedades farmacocinéticas. Ademais, os fungos são seres vivos eucarióticos como os humanos, e como muitos potenciais alvos terapêuticos também estão presentes nos humanos, o risco de toxicidade tende a aumentar (ROEMER & KRYSAN, 2014).

Neste contexto, o estudo das propriedades terapêuticas das plantas tem crescido por constituir uma opção terapêutica (DODDANNA *et al.*, 2013). Uma das plantas avaliadas ao longo do tempo como detentora de propriedades biológicas importantes é o *Cinnamomum zeylanicum* Blume, conhecida popularmente como canela. É uma planta pertencente à família Lauraceae encontrada nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo formada por cerca de 250 espécies. Dentre estas, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum loureirii*, *Cinnamomum burmanni* e *Cinnamomum cassia* são as principais. Várias partes da planta como casca, folhas, flores, frutos e raízes já são amplamente usadas como tempero, ingredientes aromatizantes em alimentos e bebidas, em perfumaria e em muitas formulações farmacêuticas. A composição química dos materiais obtidos das diferentes partes da planta, a exemplo dos óleos voláteis, varia significativamente, o que conduz a diferentes efeitos farmacológicos. Como principais constituintes da *Cinnamomum zeylanicum*, destacam-se o cinamaldeído (casca), eugenol (folha), cânfora (raiz), (E)-acetato de cinamilo (fruto) e cariofileno (flores), porém outros constituintes como o linalol, benzoato de benzila, alfa pineno e beta pineno também devem colaborar com esse efeito, uma vez que a atividade antifúngica desses constituintes isolados também é comprovada (NABAVI *et al.*, 2015; RANASINGHE *et al.*, 2013; RAO & GAN, 2014; VANGALAPATI *et al.*, 2012; JANTAN *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2012).

Estudos pré-clínicos, portanto, laboratoriais, indicam destacável atividade antifúngica do óleo essencial (OE) obtido a partir das folhas de *C. zeylanicum* frente a espécies de *Candida* envolvidas com infecções da cavidade bucal (CASTRO & LIMA, 2013; CASTRO *et al.*, 2013a; CASTRO *et al.*, 2013b; CASTRO & LIMA, 2011).

Castro e Lima (2011) avaliaram, *in vitro*, a atividade antifúngica de óleos essenciais obtidos a partir de sete espécies vegetais, dentre elas o *Cinnamomum zeylanicum* (Canela), sobre doze cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*, utilizando a técnica de difusão em meio de cultura sólido. Os resultados apontaram que os extratos exerceram atividade antimicrobiana em pelo menos uma cepa avaliada, no entanto, ressaltou-se a atividade anti-*Candida* evidenciada por *C. zeylanicum* (Canela), *Citrus aurantifolia* (Limão Tahiti) e *Mentha piperita* (Menta piperita), visto que inibiram o crescimento de 100% das cepas ensaiadas. Segundo os pesquisadores, o OE de *C. zeylanicum* promoveu a formação de maiores halos de inibição (até 48mm), representando uma possível aplicação em fitoterápicos destinados à prevenção e tratamento de doenças infecciosas de origem fúngica, após o desenvolvimento de novos estudos *in vivo*.

Quanto às atividades biológicas de *C. Zeylanicum* Blume, é descrito seu potencial como analgésico, antisséptico, anticâncer, antiespasmódico, coagulante, neuroprotetor, hepatoprotetor, gastroprotetor, cardioprotetor, antimicrobiano e no controle dos níveis séricos, lipídicos e na redução do colesterol no sangue (NABAVI *et al.*, 2015; RANASINGHE *et al.*, 2013; RAO & GAN, 2014). Além da atividade antifúngica, estudos também evidenciam seu potencial antimicrobiano com ação sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (ABBASZADEGAN *et al.*, 2015).

A segurança e tolerabilidade do produto contendo OE de *C. zeylanicum* utilizado como colutório foi confirmada a partir da realização de ensaio clínico fase I. Este estudo também avaliou a interferência desse produto na resina acrílica, material utilizado na confecção da prótese dentária, não sendo observados efeitos que comprometam as propriedades físicas ou mecânicas do mesmo (OLIVEIRA, 2014). Os resultados desse estudo reforçam a necessidade de realização de um estudo clínico fase II, necessário para ampliação do nível de evidência científica acerca do uso de *C. zeylanicum* no tratamento clínico da patologia em questão. Assim, este estudo objetivou avaliar a eficácia de um colutório e spray contendo OE extraído de folhas de *C. zeylanicum* no tratamento de candidose bucal associada ao uso de prótese dentária.

2. CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir foi submetido para publicação no periódico “Clinical Oral Investigations”.

EFFICACY OF MOUTHWASH AND SPRAY FOR DENTURES CONTAINING ESSENTIAL OIL EXTRACTED FROM LEAVES OF *Cinnamomum zeylanicum* Blume (CINNAMON) FOR THE TREATMENT OF DENTURE-RELATED ORAL CANDIDIASIS: PHASE II CLINICAL TRIAL

ABSTRACT

Objective: This study analyzed the efficacy of a mouthwash and spray containing essential oil (EO) extracted from leaves of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (cinnamon) for the treatment of oral candidiasis.

Materials and methods: A randomized, controlled and blinded clinical trial conducted with a probabilistic sample of 36 individuals diagnosed with oral candidiasis and divided into two groups of totally or partially edentulous adults assigned to either the experimental (*C. zeylanicum*, n=18) or control (nystatin, n=18) product. Mycological and clinical parameters were analyzed by a calibrated examiner before and 15 days after treatment with the tested products. The number of colony-forming units (CFUs) of *Candida* spp. isolated from the biological materials collected from palate and denture swabs was counted before and after treatment. The data were analyzed using descriptive and inferential statistics, with $\alpha=5\%$.

Results: Clinical examination of the affected mucosa showed that both the products containing *C. zeylanicum* ($p=0.0339$) and nystatin ($p=0.0139$) had clinical efficacy, resulting in a significant reduction of observable signs and symptoms. The mycological analysis showed that the products containing *C. zeylanicum* did not significantly ($p>0.05$) reduce the number of *Candida* spp. microorganisms from either mucosa or dentures. The individuals who used the experimental products reported a pleasant taste and few product-related complaints.

Conclusion: The products containing *C. zeylanicum* EO exhibited clinical efficacy without significant reduction of the *Candida* spp. CFU count.

Keywords: Biological Products; Oral Candidiasis; Pharmacological Activity of Natural Products; Edentulism; Dental Prosthesis.

1. Introduction

Candida spp. are commensal and versatile microorganisms that colonize up to 70% of individuals who wear dentures without producing any clinical signs of infection. However, local or systemic changes can trigger an imbalance in hosts and predispose them to developing candidiasis, a disease with effects that can range from superficial and localized to fatal when it spreads throughout the body of immunocompromised individuals [1,2].

When oral candidiasis affects removable denture wearers, it is known as denture stomatitis (DS). DS is the most common type of oral lesion, affecting 75% of older adults. Systemic abnormalities, such as immune or nutritional deficiencies, subclinical diseases and the use of pharmacological chemotherapy agents facilitate the

development of DS among these individuals [3,4]. Local factors are also associated with this condition, such as poor oral and denture hygiene, continual denture use, lesions caused by poor-fitting dentures, xerostomia and changes in the salivary pH [5-7].

The continuous use of removable dentures has a considerable impact on the development of DS because dentures behave as reservoirs of microorganisms due to irregularities and the porousness of the acrylic resin surface and because they hinder the mucosa's self-cleaning, massaging and permanent contact with saliva [8-10,3,4].

The ability of *Candida* to form a composite biofilm that adheres to the host or the prosthesis is the first critical step of infection [7]. *Candida* is found in the oral cavity in two distinct forms: as floating planktonic cells (blastospores, blastoconidia) and/or as part of an organized biofilm, sometimes mixed with both *Staphylococcus* and *Streptococcus*, that colonizes the dentures [11]. Dimorphism allows *Candida* to switch from yeast to filamentous forms (hyphae and pseudohyphae), which makes it more resistant to phagocytosis and thus increases its virulence and ability to penetrate tissues [12].

DS is usually asymptomatic; however, some patients might complain of pain or burning, halitosis, swelling, itching or xerostomia [11]. DS was classified into three types by Newton (1962) solely according to clinical criteria: Type I (pinpoint hyperemia—localized or sparse palatal erythema); Type II (diffuse hyperemia—diffuse erythema, more common); and Type III (granular hyperemia—papillary hyperplasia with rough or nodular mucosa) [13]. Diagnosis is based on anamnesis and examination; microbiological cultures may be performed to confirm the presence of *Candida* spp. [14-16].

The treatment of DS is complex and involves education regarding oral and denture hygiene, the elimination of irritants (e.g., poorly fitting dentures), nightly denture removal, the use of disinfectant solutions and microwaves to control microorganism proliferation, in addition to topical and/or systemic antifungal agents [17-19,11]. The use of resilient liners also contributes to the recovery of damaged tissue, as their deformation under functional loads provides comfort for patients [20]. The complexity of treatment is due to the multifactorial causes of the disease, the need to take medication often, the small number of available drugs, and increasing microorganism resistance [21,22].

There are essentially four classes of drugs available for the treatment of fungal infections with *Candida* spp: polyenes, azoles, echinocandins and antimetabolites [23,24]. Because the oral infections are superficial, initial treatment usually involves topical antifungal agents, such as nystatin and miconazole; in some cases, this is combined with a systemic medication, and fluconazole is the one most often prescribed [25].

The duration of treatment for DS tends to be long, and recurrence is frequent. The main hindrance is the increasing microbial resistance to antifungal agents of different classes. One of the causes of resistance is the ability of *Candida* spp. to form composite biofilms on biotic and abiotic surfaces covered by extracellular matrix, which protects the local environment and minimizes the access of antifungal agents to fungal cells. In addition, the microorganisms undergo genetic changes, which also increase their resistance to drugs and to the immune system [26,27]. Further limitations of conventional antifungal treatment have been identified, including drug toxicity. Fungi are eukaryotes, similarly to humans; thus, many potential therapeutic targets are also present in human systems, which increases the risk of toxicity [28].

Given this scenario, the study of the therapeutic properties of plants and their oils has become a trend in the development of alternative therapeutic resources [29]. *Cinnamomum zeylanicum* Blume, commonly known as cinnamon, is among the plants that exhibits biological activity with potential analgesic, antiseptic, anticancer,

antispasmodic, coagulant, neuroprotective, hepatoprotective, gastroprotective and antimicrobial action; additionally, it has the potential to control serum lipid levels and reduce blood cholesterol [30-32]. In addition to antifungal activity, some studies have reported that cinnamon has effects on Gram-positive and Gram-negative bacteria [33].

The safety and tolerability of *C. zeylanicum* essential oil (EO) used as a mouthwash have been confirmed in a phase I clinical trial. This study also analyzed the effect of this product on the acrylic resin used for manufacturing dentures; no effects likely to impair the physical and mechanical properties of the resin were detected [34]. The results of that study reinforced the need to conduct a phase II clinical trial to increase the level of the scientific evidence supporting the use of *C. zeylanicum* in the clinical treatment of DS. Therefore, the aim of the present study was to establish the efficacy of a product containing EO extracted from *C. zeylanicum* leaves for treatment of oral candidiasis associated with removable denture use.

2. Materials and methods

Study setting

The participants were allocated at the oral diagnosis clinic of Federal University of Paraiba. The study was approved by the institutional ethics committee (CAAE 03135012.5.0000.5188).

Study design

The present epidemiological phase II clinical study sought to establish the efficacy of the tested products among individuals with oral candidiasis related to the use of removable dentures.

The sample comprised individuals aged 40 to 70 years with oral candidiasis and who wore removable dentures. Individuals who had undergone topical and/or systemic antimicrobial treatment or were sensitive to *C. zeylanicum* EO or nystatin were excluded.

Sampling

The sample size was calculated according the procedure formulated by Fleming for single-phase clinical trials [35]. Calculation was based on an expected response rate of ~50% for the experimental group, representing the smallest proportion of rejection (p_0), i.e., the lowest efficacy the product must exhibit to be considered for the study. The efficacy for the control group was estimated as 80% ($p_n=0.8$). Considering a 95% confidence level (alpha error = 5%), β error of 20%, power of 80% ($1 - \beta$) and an additional 20% to compensate for eventual losses, the sample size was calculated as 36 participants, i.e., 18 in each intervention group (Figure 1).

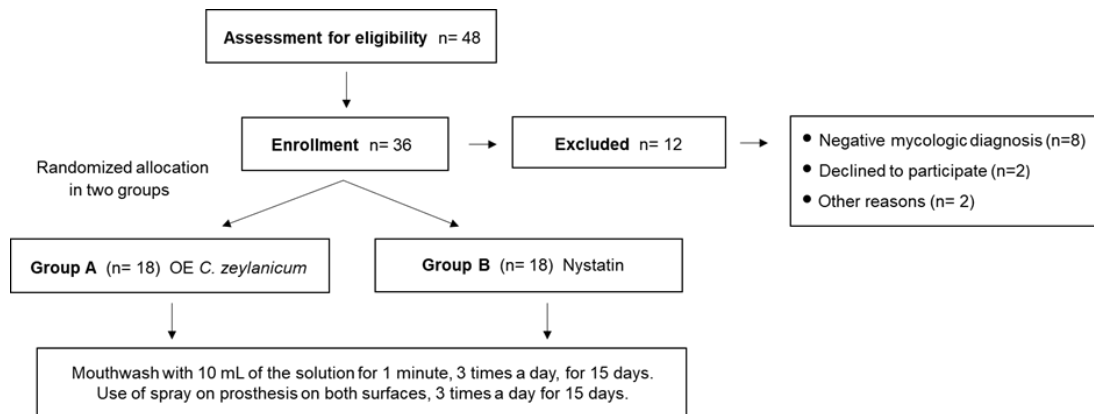


Figure 1: Flowchart of the study participants (Adapted from Consort Statement).

The test group received treatment with *C. zeylanicum* EO, and the control group received antifungal treatment with nystatin mouthwash. Clinical and laboratory data corresponding to the parameters listed below were collected before treatment and 24 hours after the last dose:

a) Clinical diagnosis: Signs and symptoms of disease and intraoral photographs were recorded using clinical forms.

Signs - Variable erythema, sometimes accompanied by petechial hemorrhage; the Newton classification was used for clinical diagnosis. Photographs were taken before and after treatment [13].

Symptoms - DS is rarely symptomatic; some patients complain of burning and less commonly of dysphagia [14,15].

b) Mycologic diagnosis: Biological samples (secretion and scales from the oral mucosa) were collected from affected mucosal sites and dentures using a swab. The samples were sent to the Laboratory of Experimental Pharmacology and Cell Culture at Federal University of Paraiba for processing and mycological diagnosis.

For suggestive diagnosis and identification of the genus *Candida*, the samples were sown in CHROMagar® *Candida* chromogenic culture medium (Difco, Le Pont de Claix, France). The plates were incubated in a microbiological incubator at 35±2°C for 48 hours, and then the number of colony-forming units (CFUs) was counted.

c) Intraexaminer agreement: Anamnesis and examination were performed by an investigator who underwent intraexaminer calibration with an expert in oral pathology with 20 years of experience in stomatology teaching and clinical practice. The overall kappa (k) value obtained was 0.822 (p<0.001).

d) Randomization: The participants were randomly allocated to the treatment and control groups. The allocation sequence was generated with a computer program (Random Allocation®). Allocation concealment was ensured by an individual who was not one of the study investigators to avoid selection bias and the influence of the investigators on the intervention [36].

e) Blinding: For double blinding purposes, the tested substances (*C. zeylanicum* and nystatin) had the same color, taste and odor and were stored in identical dark vials labeled A or B. As a result, neither the participants nor the investigators were aware of the allocation groups. A single investigator and the pharmacist responsible for the formulations were aware of the composition of the products. The investigator responsible for randomization and the one responsible for preparing the products did not participate in the clinical stage of the study.

f) Control: The control group comprised individuals with DS who received the gold-standard treatment, i.e., nystatin solution 100,000 IU/mL (Table 1).

g) Test product: The test group comprised individuals with DS who received mouthwash and oral spray containing EO from *C. zeylanicum* leaves (Table 2).

The products containing *C. zeylanicum* EO or nystatin were prepared at Dilecta Farmácia de Manipulação Ltda. according to the compositions described in Tables 1 and 2.

Table 1. Nystatin solution composition

Component	Concentration
Nystatin	100,000 IU/mL
Carboxymethylcellulose	5 mg/MI
Brown dye	QS
Purified water	100%

Table 2. *C. zeylanicum* EO solution composition

Component	Concentration
Carboxymethylcellulose	5 mg/MI
Propylene glycol	0.5 mg/MI
Tween 80	0.5 mg/MI
<i>C. zeylanicum</i> EO	0.5 mg/MI
Brown dye	QS
Purified water	100%

C. zeylanicum EO (Ferquima Ind. e Com., Vargem Grande, São Paulo, Brazil) was extracted from leaves by hydrodistillation. It exhibited the characteristic appearance, color and odor; a density of 1.043; and a refractive index of 1.533. Phytochemical analysis showed that the main component was eugenol. The EO concentration in products for clinical use is 500 µg/mL. This concentration was established following the *in vitro* laboratory steps performed by our research group [37].

h) Intervention protocol

Participants with a confirmed diagnosis of DS received a treatment kit, which contained a sealed vial (450 mL) of mouthwash, a dosing cup (10 mL), a spray (150 mL) to apply to dentures, and an instruction leaflet written clearly and including the contact information for the investigator in charge. The participants were instructed to rinse their mouths with 10 mL of solution for one minute, three times per day (every 8 hours), in compliance with the recommended prescription for nystatin (control product), for 15 days [38] and to apply the spray to the dentures three times per day (every 8 hours) over the same period of time. The participants were also given guidance on

oral and denture hygiene and were instructed to remove the denture before sleeping. The intervention protocol is described in Figure 2.

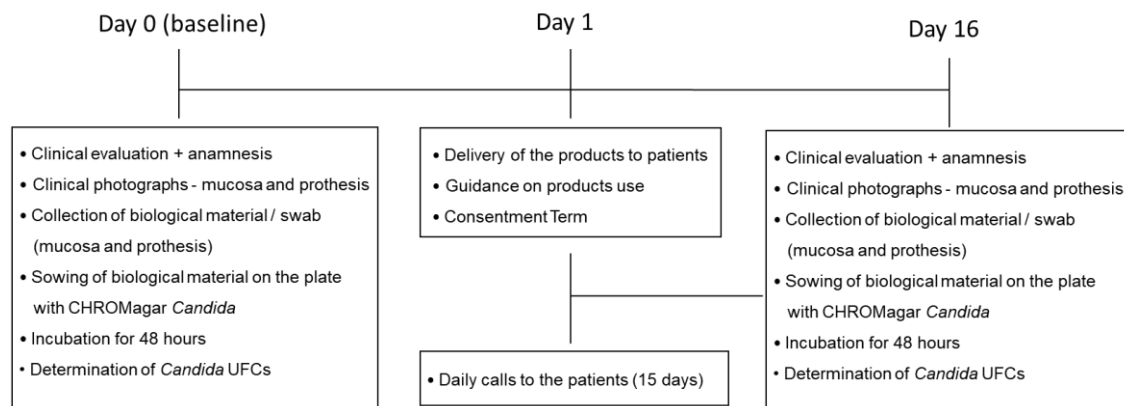


Figure 2. Flowchart of the intervention protocol (Adapted from Consort Statement).

The participants were ensured they would not be subjected to any invasive procedures and that the risk associated with the study was minimal as mouthwash containing *C. zeylanicum* EO had been previously used without any adverse effects; a previous *in vitro* study and the phase I clinical trial showed satisfactory tolerability and minimal toxicity [34]. The participants were followed up daily through telephone calls to answer any questions, reinforce their adherence to the treatment and minimize the risk of changes to the study protocol.

Visits were scheduled 24 hours after the end of treatment, at which time the participants underwent a second assessment that included anamnesis, photographs and the collection of biological samples from dentures and affected mucosa with a swab. The participants were asked to report their experience using the products and their perception of them. The collected samples were subjected to the entire mycological process for the purpose of posttreatment diagnosis.

Adverse effects

Although the present study did not include phase I—which was previously performed [34]—any adverse effect was duly recorded on a clinical form containing the following information: intensity (mild, moderate, severe); nature (side effect, toxic effect, meta-reactions); onset and duration; and timing of occurrence over the 15-day period. In addition, possible adverse effects related to clinical signs, such as mucosal desquamation, erythema, and tooth or denture staining were investigated.

3. Results

A total of 48 individuals were analyzed for inclusion in the sample. Following the application of the inclusion and exclusion criteria, 36 participants were included in the study: 18 in the experimental group (*C. zeylanicum*) and 18 in the control group (nystatin). Eight participants had a negative mycological diagnosis, two refused treatment, and an additional two did not return for follow-up visits; all of them were excluded from the study.

Of the included participants, 75% were female. The mean age of the sample was 57 years; most of the participants were older adults.

The characteristics of the sample are described in Tables 3 and 4.

Table 3. Denture use characteristics of the participants in each study group.

STUDY GROUP	DENTURE USE				
	n	Time edentulous (years)	Time using denture (years)	Continuous denture use (24 hour)	No denture retention and stability
<i>C. zeylanicum</i> EO	18	26.11%±15.02	5±4.45	77.7%(n=14)	66.6% (n=12)
Nystatin	18	17.22±16.63	7.94±6.5	61.11%(n=11)	61.11% (n=11)

Table 4. Reported symptoms of the participants in each study group.

STUDY GROUP	SYMPTOMS				
	Burning	Halitosis	Mild pain	Itching	None
<i>C. zeylanicum</i> EO	50% (n=9)	5.5% (n=1)	11.1% (n=2)	11.1% (n=2)	44.4% (n=8)
Nystatin	55.5% (n=10)	11.1% (n=2)	5.5% (n=1)	16.6% (n=3)	27.7% (n=5)

The study groups were homogeneous at baseline; the *Candida* spp. CFU was similar for both the mucosa ($p=0.3064$, Mann-Whitney test) and dentures ($p=0.1713$, Mann-Whitney test).

As the CFU count (mycological diagnosis) exhibited nonparametric distribution in both groups, the categorization described in Table 5 was used for analysis.

Table 5. Categorization of mycological analysis data.

Number of Colony-Forming Units (CFUs)	Score
No fungal growth	1
1 to 100 <i>Candida</i> spp. CFU	2
101 to 500 <i>Candida</i> spp. CFU	3
More than 500 <i>Candida</i> spp. CFU	4

Mycological analysis, expressed as CFU count, showed that the products containing *C. zeylanicum* EO did not cause a significant ($p>0.05$, Wilcoxon test) reduction of *Candida* spp. isolated from either the mucosa or dentures. In contrast, nystatin promoted a significant reduction of *Candida* spp. colonization on both the mucosa ($p<0.05$, Wilcoxon test) and dentures ($p<0.05$, Wilcoxon test). These results are depicted in Figures 3 and 4.

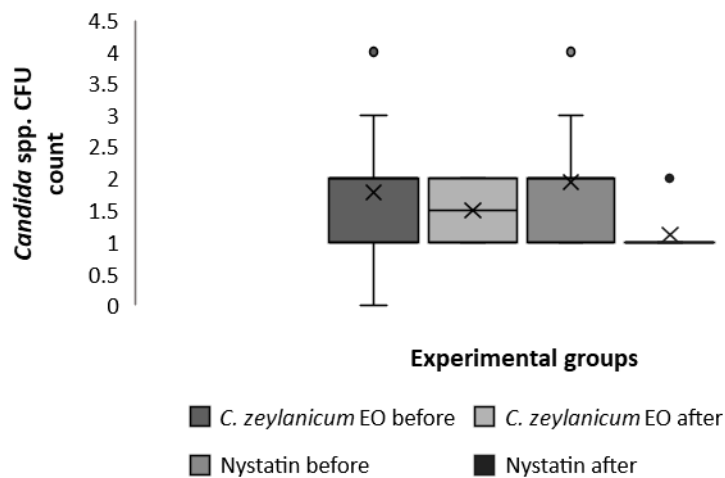


Figure 3. CFUs of *Candida* spp. collected from oral mucosa before and after treatment with products containing *C. zeylanicum* EO or nystatin. *C. zeylanicum* EO before vs. *C. zeylanicum* EO after ($p>0.05$, Wilcoxon test). Nystatin before vs. nystatin after ($p<0.05$, Wilcoxon test).

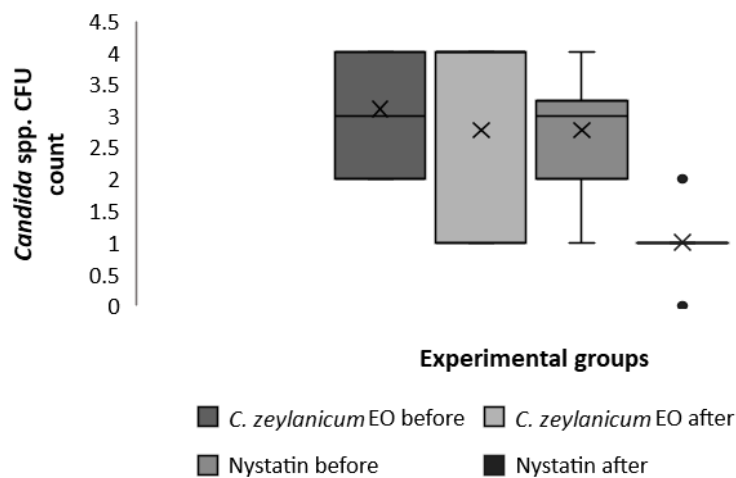


Figure 4. CFUs of *Candida* spp. collected from dentures before and after treatment with products containing *C. zeylanicum* EO or nystatin. *C. zeylanicum* EO before vs. *C. zeylanicum* EO after ($p>0.05$, Wilcoxon test). Nystatin before vs. nystatin after ($p<0.05$, Wilcoxon test).

Clinical examination of the affected mucosa showed that both products containing *C. zeylanicum* EO ($p=0.0339$, Wilcoxon test) and nystatin ($p=0.0139$, Wilcoxon test) improved clinical efficacy, as indicated by a significant reduction in observable signs, according to the Newton Classification. These results are shown in Table 6.

Table 6. Clinical assessment of DS according to the Newton classification before and after treatment with products containing *C. zeylanicum* EO or nystatin.

NEWTON CLASSIFICATION	<i>C. zeylanicum</i> EO			NYSTATIN		
	Before	After	Reduction	Before	After	Reduction
Absent	0% (n=0)	22% (n=4)	-	0% (n=0)	44% (n=8)	-
Type I	61% (n=11)	56% (n=10)	9%	61% (n=11)	44% (n=8)	27%
Type II	28% (n=5)	11% (n=2)	60%	39% (n=7)	11% (n=2)	71%
Type III	11% (n=2)	11% (n=2)	0%	0% (n=0)	0% (n=0)	0%

The *Candida* species most frequently identified in the mucosa and dentures were *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*, in order according to the CFU count. Figures 5 to 8 depict the *Candida* species found in swabs before and after treatment according to the product used.

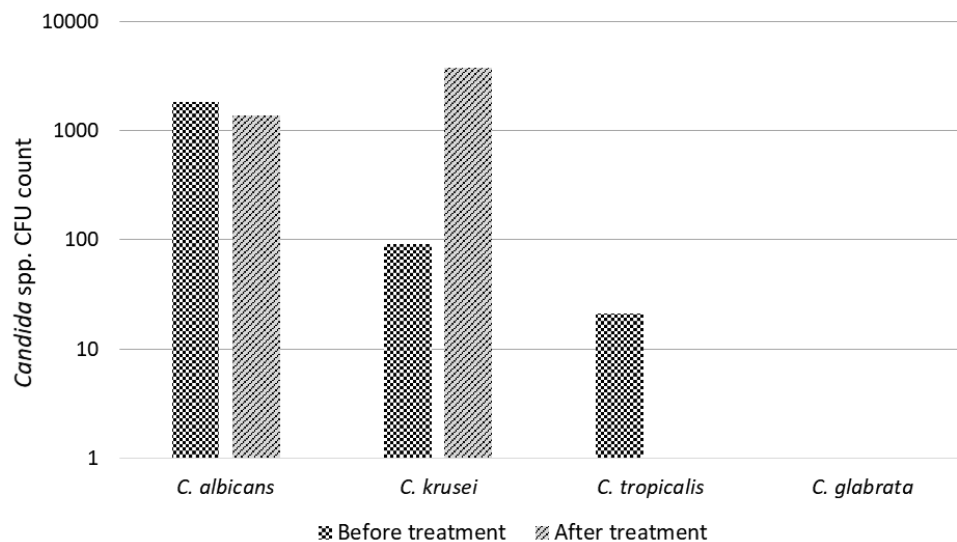


Figure 5. CFUs of *Candida* spp. collected from oral mucosa before and after treatment with products containing *C. zeylanicum* EO.

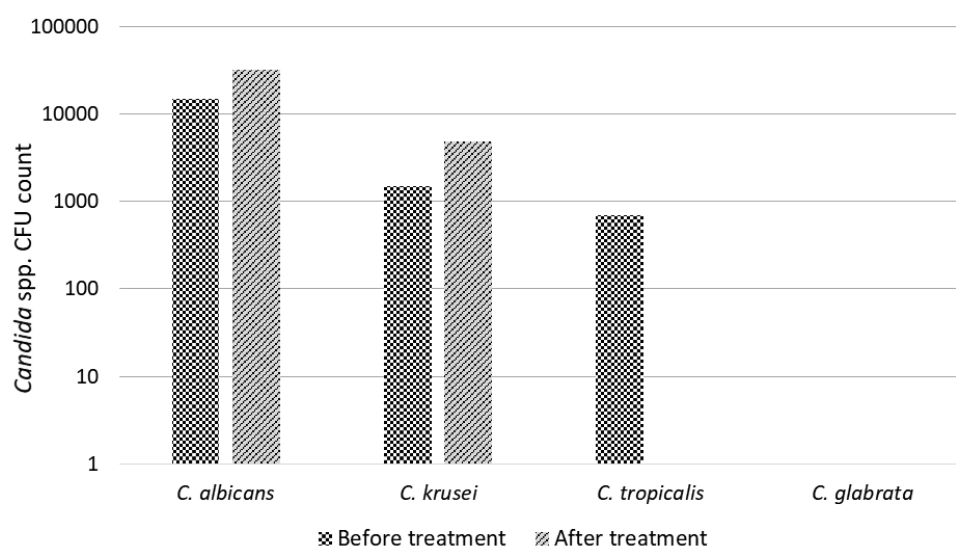


Figure 6. CFUs of *Candida* spp. collected from dentures before and after treatment with products containing *C. zeylanicum* EO.

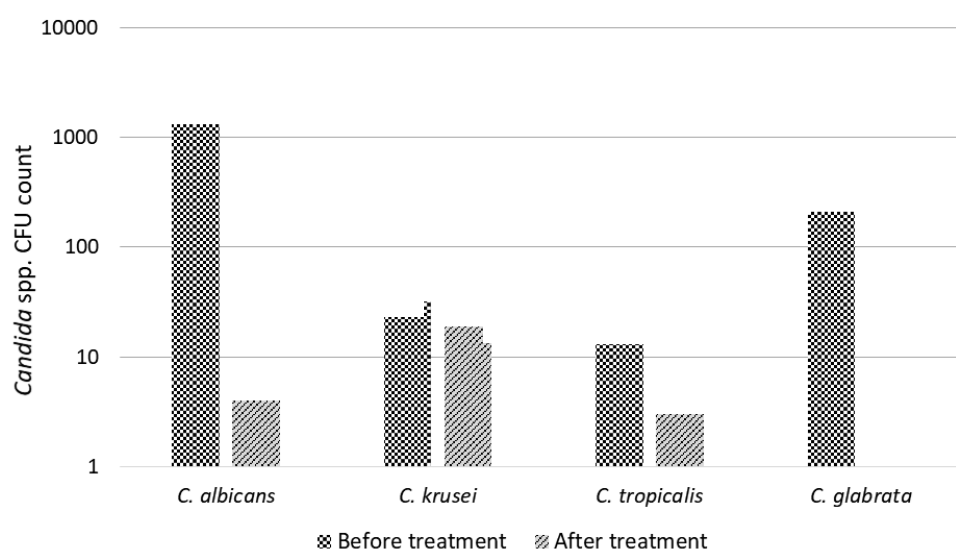


Figure 7. CFUs of *Candida* spp. collected from oral mucosa before and after treatment with nystatin solution.

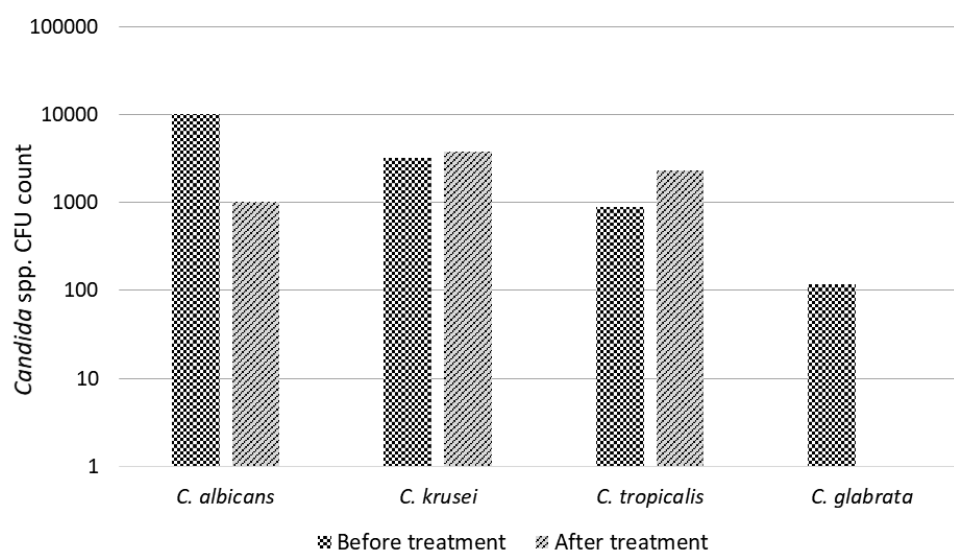


Figure 8. CFUs of *Candida* spp. collected from dentures before and after treatment with nystatin solution.

Table 7 describes the participants' perception of the products used.

Table 7. Participants' assessment of the taste and undesirable effects of the tested products.

STUDY GROUPS	TASTE		UNDESIRABLE EFFECTS	
	Pleasant	Unpleasant	Absent	Present
<i>C. zeylanicum</i> EO	83.3% (n=15)	16.7% (n=3)	83.3% (n=15)	16.7% (n=3) - slight numbness (n=2) - slight burning (n=1)
Nystatin	61.1% (n=11)	38.9% (n=7)	94.4% (n=17)	5.6% (n=1) - tongue sensitivity (n=1)

4. Discussion

The increasing limitations of the antifungal agents currently used for the treatment of DS and the proven antimicrobial potential of plant EOs [39-41] were the grounds for the research hypothesis that mouthwash containing *C. zeylanicum* EO would have clinical efficacy for the treatment of oral candidiasis related to removable dentures.

It is worth noting that there is evidence in the scientific literature supporting the antifungal activity of eugenol - the main component of the EO tested in the present study - on *Candida* spp. planktonic cells and developing and mature biofilms [42]. The phytochemical analysis of the EO extracted from *C. zeylanicum* Blume leaves used in the present study agrees with results obtained in previous studies, which demonstrated that eugenol is the main component (68.96%) and that 25 additional chemical components, mostly terpenes, are present in smaller concentration [40,43].

Studying the mechanism of action of antifungal agents is an important strategy for limiting the development of resistance against the currently available agents and developing more powerful and safe drugs to fight infections. Since the antifungal effect of eugenol - the main component of the tested EO - on *Candida* spp. is related to fungal cell wall biosynthesis pathways, the study of this agent might represent a promising direction for future research aimed at confirming its mechanism of action [37,44,45].

The experimental and control (nystatin) groups were homogeneous in terms of their clinical and mycological characteristics. This finding is directly related the random allocation process that was used.

DS predominates among women above 40 years old who wear dentures. This predominance suggests that the hormonal changes following menopause and/or presence of other age-related diseases may facilitate the development of lesions, particularly among immunocompromised patients. Individuals with noncompensated diabetes may exhibit xerostomia, burning mouth syndrome and periodontal disease, which favor the development of DS. In these patients, saliva is commonly inefficient, either qualitatively or quantitatively, to combat pathogens, probably because of pre-existing disease, diet and hygiene habits [5, 7, 11].

Approximately 61% of the participants had some type of chronic disease, and 69.44% made continuous use of medications. These aspects are relevant and should be considered when assessing the efficacy of products as they might result in unsatisfactory treatment and persistent infection [11]. While some patients complained of burning or itching, 31% did not report any symptoms and were unaware of the established diagnosis.

Approximately 75% of the participants did not remove their dentures before retiring at night and slept wearing them. This habit creates an environment favorable to colonization: dentures are niches for yeast proliferation when the acrylic resin is rough or irregular, facilitating microorganism adhesion. For this reason, patients are advised to remove dentures before sleeping, which allows for the relaxation and rest of tissues and for massaging and self-cleaning by the saliva, tongue and cheeks, which is essential for the preservation of oral health [8-10, 3, 4, 7].

Mycological analysis after treatment showed that the number of CFUs isolated from the mucosa and dentures did not significantly decrease after treatment with the products containing *C. zeylanicum* EO. A higher number of colonies was present on the denture swabs, which indicates the strong relationship between dentures and candidiasis.

Both the products containing *C. zeylanicum* EO and nystatin induced significant clinical improvement. In the case of *C. zeylanicum*, this effect might be attributable to its possible action on inflammatory mediators and on the fungi and bacteria that compose the multispecies biofilm associated with DS [37,46].

The pleasant taste and low number of complaints related to the tested products contributed to treatment adherence and the lack of losses to follow-up. Most of the participants did not report any discomfort during or after treatment, which confirms the satisfactory tolerability and low toxicity of the medications.

The presence of *Candida* microorganisms is not a determining factor for occurrence of DS. Several factors are involved in the progression of the disease, from poor oral and denture hygiene to nightly prosthesis use, trauma, diet, and the systemic conditions of patients. The presence of removable prostheses is extremely relevant to the etiology of DS, which can be related either to irregularities or porosities present in the acrylic resin, which favor the adhesion and penetration of pathogens into its internal surface, or to the barrier it creates that hinders the self-cleaning and massaging of the mucosa on support areas.

For these reasons, dentures require continuous care, and it is important for professionals to educate patients about the importance of keeping the dentures clean, whether through mechanical means (a brush and neutral soap), disinfectants or microwaving to decontaminate the acrylic resin. The presence of potential traumatic factors should also be observed, as should instability and the need for replacement once the lifespan of the denture reaches its limit. Such measures can minimize the incidence of *Candida* infections and favor oral health, with consequent impacts on the systemic health of denture wearers.

Infection recurs in approximately 20% of DS cases, causing frustration and disappointment for both professionals and patients. Untreated superficial candidiasis in immunodeficient patients may make them susceptible to the dissemination of the infection, which carries a high risk of severe candidemia [11,47-49].

Considering the complexity of the present clinical trial, in which the control of effective compliance with the protocol the tested products is susceptible to failures despite patient monitoring via telephone calls, the efficacy of the products might have been influenced by some sources of bias, such as poor hygiene habits, protocol neglect, and systemic decompensation of participants due to nonreported uncontrolled chronic diseases.

Nevertheless, the improvement of the participants' clinical conditions of in terms of both signs and symptoms, the minimal discomfort reported in association with the tested products, and the possibility of a new option for the treatment of DS with minimal adverse effects, encourage future studies to assess the toxicological and clinical effects on oral tissue cells of products containing higher concentrations of *C. zeylanicum* EO or products with a different pharmaceutical form (gel) for patients with DS. Such studies should include larger sample sizes and the microbiological evaluation of bacterial species related to the disease under study.

5. Conclusion

The mouthwash and spray containing EO extracted from *C. zeylanicum* leaves promoted significant clinical improvement of denture-related candidiasis (DS) without reducing the *Candida* spp. count. The tested products were well tolerated by the participants, who exhibited satisfactory treatment adherence.

References

1. Gendreau L, Loewy ZG (2011) Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry* 20 (4):251-260
2. Singh A, Verma R, Murari A, Agrawal A (2014) Oral candidiasis: An overview. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP* 18 (Suppl 1):S81
3. Navabi N, Gholamhoseinian A, Baghaei B, Hashemipour MA (2013) Risk factors associated with denture stomatitis in healthy subjects attending a dental school in Southeast Iran. *Sultan Qaboos University Medical Journal* 13 (4):574
4. Jaiakittivong A, Aneksuk V, Langlais RP (2010) Oral mucosal lesions in denture wearers. *Gerodontology* 27 (1):26-32
5. Martori E, Ayuso-Montero R, Willaert E, Viñas M, Peraire M, Martinez-Gomis J (2017) Status of Removable Dentures and Relationship with Oral Candida-Associated Factors in a Geriatric Population in Catalonia. *Journal of Prosthodontics* 26 (5):370-375
6. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, Guida A, Petruzzi M, Serpico R (2011) Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16 (2):e139-143
7. Vasconcelos LC, Sampaio MCC, Sampaio FC, Higino JS (2003) Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. *Mycoses* 46 (5-6):192-196

8. Uzunoglu E, Yildirim Bicer AZ, Dolapci I, Dogan A (2014) Biofilm-forming ability and adherence to poly-(methyl-methacrylate) acrylic resin materials of oral *Candida albicans* strains isolated from HIV positive subjects. *The journal of advanced prosthodontics* 6 (1):30-34
9. Jackson S, Coulthwaite L, Loewy Z, Scallan A, Verran J (2014) Biofilm development by blastospores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. *The Journal of prosthetic dentistry* 112 (4):988-993
10. Jain D, Shakya P (2013) An in vitro study on effect of Delmopinol application on *Candida albicans* adherence on heat cured denture base acrylic resin: a thorough study. *Indian Journal of Dental Research* 24 (5):645
11. Gleiznys A, Zdanavičienė E, Žilinskas J (2015) *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija* 17 (2):54-66
12. Banerjee M, Uppuluri P, Zhao XR, Carlisle PL, Vipulanandan G, Villar CC, López-Ribot JL, Kadosh D (2013) Expression of UME6, a key regulator of *Candida albicans* hyphal development, enhances biofilm formation via Hgc1-and Sun41-dependent mechanisms. *Eukaryotic cell* 12 (2):224-232
13. Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S, Preisser J, Loewy ZG, Gendreau L, Offenbacher S (2013) Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow, and dry mouth. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry* 22 (1):13-22
14. Bakhshi M, Taheri JB, Shabestari SB, Tanik A, Pahlevan R (2012) Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology* 29 (2):e680-e684
15. Armstrong AW, Bukhalo M, Blauvelt A (2016) A clinician's guide to the diagnosis and treatment of candidiasis in patients with psoriasis. *American journal of clinical dermatology* 17 (4):329-336
16. Dangi YS, Soni ML, Namdeo KP (2010) Oral candidiasis: A review. *Int J Pharm Pharm Sci* 2 (4):36-41
17. Emami E, Kabawat M, Rompre PH, Feine JS (2014) Linking evidence to treatment for denture stomatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of dentistry* 42 (2):99-106
18. Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-Cenci T (2013) Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: a systematic review. *The Journal of prosthetic dentistry* 110 (5):356-362
19. Salles MM, Badaro MM, Arruda CNF, Leite VMF, Silva CHL, Watanabe E, Oliveira VDC, Paranhos HFO (2015) Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis*—a randomized clinical study. *Journal of Applied Oral Science* 23 (6):637-642
20. Marín Zuluaga DJ, Gómez Velandia OC, Rueda Clauijo DM (2011) Denture-related stomatitis managed with tissue conditioner and hard autopolymerising relining material. *Gerodontology* 28 (4):258-263
21. Paul S, Moye-Rowley WS (2014) Multidrug resistance in fungi: regulation of transporter-encoding gene expression. *Frontiers in physiology* 5:143
22. Ferreira ME, Colombo AL, Paulsen I, Ren Q, Wortman J, Huang J, Goldman MH, Goldman GH (2005) The ergosterol biosynthesis pathway, transporter genes, and azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Medical Mycology* 43 (Supplement_1):S313-S319
23. Anibal PC, Sardi JCO, Peixoto ITA, Moraes JJC, Höfling JF (2010) Conventional and alternative antifungal therapies to oral candidiasis. *Brazilian Journal of Microbiology* 41 (4):824-831
24. Perfect JR (2016) Is there an emerging need for new antifungals? Taylor & Francis,
25. Pianalto KM, Alsbaugh JA (2016) New horizons in antifungal therapy. *Journal of Fungi* 2 (4):26
26. Cirasola D, Sciota R, Vizzini L, Ricucci V, Morace G, Borghi E (2013) Experimental biofilm-related *Candida* infections. *Future microbiology* 8 (6):799-805
27. Morace G, Perdoni F, Borghi E (2014) Antifungal drug resistance in *Candida* species. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2 (4):254-259
28. Roemer T, Krysan DJ (2014) Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 4 (5):a019703
29. Doddanna SJ, Patel S, Sundarrao MA, Veerabhadrappe RS (2013) Antimicrobial activity of plant extracts on *Candida albicans*: an in vitro study. *Indian Journal of Dental Research* 24 (4):401
30. Nabavi SF, Di Lorenzo A, Izadi M, Sobarzo-Sánchez E, Daglia M, Nabavi SM (2015) Antibacterial effects of cinnamon: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. *Nutrients* 7 (9):7729-7748
31. Ranasinghe P, Pigera S, Premakumara GS, Galappaththy P, Constantine GR, Katulanda P (2013) Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC complementary and alternative medicine* 13 (1):275
32. Rao PV, Gan SH (2014) Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014
33. Abbaszadegan A, Dadolahi S, Gholami A, Moein MR, Hamedani S, Ghasemi Y, Abbott PV (2016) Antimicrobial and cytotoxic activity of *Cinnamomum zeylanicum*, Calcium Hydroxide, and triple antibiotic paste as root canal dressing materials. *The journal of contemporary dental practice* 17 (2):105-113
34. Oliveira JA, Silva ICG, Trindade LA, Lima EO, Carlo HL, Cavalcanti AL, Castro RD (2014) 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 2014
35. Fleming TR (1982) One-sample multiple testing procedure for phase II clinical trials. Biometrics:143-151
 36. Altman DG, Schulz KF, Moher D, Egger M, Davidoff F, Elbourne D, Gøtzsche PC, Lang T Consort Group (2001) The revised CONSORT statement for reporting randomized trials: explanation and elaboration. Annals of internal medicine 134 (8):663-694
 37. Rangel ML, Aquino SG, Lima JM, Castellano LR, Castro RD (2018) In Vitro Effect of Cinnamomum zeylanicum Blume Essential Oil on Candida spp. Involved in Oral Infections. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2018
 38. Lyu X, Zhao C, Yan Z-m, Hua H (2016) Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. Drug design, development and therapy 10:1161
 39. Bersan SM, Galvão LC, Goes VF, Sartoratto A, Figueira GM, Rehder VL, Alencar SM, Duarte RM, Rosalen PL, Duarte MC (2014) Action of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. BMC complementary and alternative medicine 14 (1):451
 40. Millezi AF, Piccoli RH, Oliveira JM, Pereira MO (2016) Anti-biofilm and antibacterial effect of essential oils and their major compounds. Journal of Essential Oil Bearing Plants 19 (3):624-631
 41. RANA IS, SINGH A, GWAL R (2011) In vitro study of antibacterial activity of aromatic and medicinal plants essential oils with special reference to cinnamon oil. Seeds 1 (4)
 42. Abrão PHO, Pizi RB, Souza TB, Silva NC, Fregnan AM, Silva FN, Coelho LFL, Malaquias LCC, Dias ALT, Dias AF, Veloso MP, Carvalho DT (2015) Synthesis and biological evaluation of new eugenol mannich bases as promising antifungal agents. Chemical biology & drug design 86 (4):459-465
 43. Jantan IB, Karim Moharam BA, Santhanam J & Jamal JA (2008) Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight Cinnamomum. species. Pharmaceutical Biology 46 (6):406-412
 44. Peixoto LR, Rosalen PL, Ferreira GLS, Freires IA, Carvalho FG, Castellano LR, Castro RD (2017) Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of Laurus nobilis Linnaeus essential oil against Candida spp. Archives of oral biology 73:179-185
 45. Freires IA, Denny C, Benso B, Alencar SM, Rosalen PL (2015) Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. Molecules 20 (4):7329-7358
 46. Han X, Parker TL (2017) Antiinflammatory activity of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) bark essential oil in a human skin disease model. Phytotherapy research 31 (7):1034-1038
 47. Darwazeh AMG, Darwazeh TA (2014) What makes oral Candidiasis recurrent infection? a clinical view. Journal of Mycology 2014
 48. Silva MM, Mima EGO, Colombo AL, Sanitá PV, Jorge JH, Massucato EMS, Vergani CE (2012) Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology 114 (4):469-479
 49. Mima EG, Vergani CE, Machado AL, Massucato EMS, Colombo AL, Bagnato VS, Pavarina AC (2012) Comparison of photodynamic therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. Clinical Microbiology and Infection 18 (10):E380-E388

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Essa pesquisa, ensaio clínico fase II, envolveu 36 indivíduos voluntários alocados nas clínicas-escola da Universidade Federal da Paraíba, que são referências na especialidade de Prótese dentária e no tratamento da candidose associada à estomatite protética.

Para composição da amostra, 48 sujeitos com aspecto clínico sugestivo da doença foram avaliados, e, após a adoção dos critérios de exclusão e inclusão, 36 foram incluídos na pesquisa, sendo 18 no grupo experimental (*C. zeylanicum*) e 18 no grupo controle (nistatina), com a sequência de alocação aleatória gerada por um programa de computador (Random Allocation®). A ocultação de alocação (Allocation concealment) foi realizada por um indivíduo que não compõe a equipe de pesquisadores, a fim de evitar o viés de seleção, evitando que os pesquisadores influenciem na determinação da intervenção (ALTMAN *et al.*, 2001).

As análises micológicas foram realizadas no Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba, no qual foram realizados os testes micológicos pré e pós tratamento, a fim de descartar e/ou confirmar o diagnóstico clínico de candidose bucal dos voluntários.

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. A fim de que o estudo fosse conduzido dentro dos padrões éticos que regem a pesquisa em seres humanos, todos os esclarecimentos sobre a importância da pesquisa foram oferecidos aos participantes, que assinaram um TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido), após leitura e explicação do mesmo por parte do pesquisador.

O tratamento para a candidose bucal associada ao uso de prótese proposto nesse estudo consistiu na utilização de um colutório bucal e de um spray para a prótese contendo o OE extraído das folhas do *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela). Foram incluídos na pesquisa indivíduos de 40 a 70 anos, portadores de candidose bucal e usuários de prótese dentária e excluídos os que estavam realizando tratamento com antimicrobianos tópicos e/ou sistêmico ou que relataram reação de sensibilidade ao óleo essencial de *C. zeylanicum* ou a nistatina.

Os pacientes foram informados que nenhum procedimento invasivo seria realizado e que os riscos que a pesquisa poderia oferecer seriam mínimos, visto que o óleo essencial de planta em estudo já havia sido utilizado como colutório bucal sem reações adversas, em virtude da boa tolerabilidade e mínima toxicidade apresentada pela referida substância, conforme mostram estudos prévios realizados *in vitro* e no ensaio clínico Fase I (OLIVEIRA *et al.*, 2014)

Embora exista comprovação de atividade antifúngica de *C. zeylanicum*, com reconhecido valor medicinal ou aplicação culinária da casca, folhas, flores, frutos e raízes, a maioria das investigações analisa produtos extraídos da casca e utiliza micro-organismos na fase planctônica (ABBASZADEGAN *et al.*, 2015; MILLEZI *et al.*, 2016; NABAVI *et al.*, 2015; RANASINGHE *et al.*, 2013; RAO & GAN, 2014; VANGALAPATI *et al.*, 2012).

É constante a busca pelo desenvolvimento de drogas mais potentes e seguras contra infecções bem como de uma estratégia importante para limitar o aparecimento de resistência aos agentes atualmente disponíveis, contudo não foram encontrados na literatura estudos que investiguem o mecanismo de ação do OE de *C. zeylanicum* Blume frente a cepas de *Candida* spp. (PEIXOTO *et al.*, 2016, FREIRES *et al.*, 2015).

Após avaliação clínica e uma anamnese detalhada acerca das condições sistêmicas, terapias em curso e alergias, os pacientes foram incluídos na pesquisa, considerando os critérios estabelecidos. As anamneses e os exames clínicos foram realizados por um pesquisador, o qual se submeteu a um processo prévio de calibração em que foi obtido valor geral de kappa (k) de 0,822 ($p < 0,001$).

Foi realizado, então, um registro fotográfico bucal e da prótese, e feita a coleta inicial por meio de um swab da prótese e da mucosa da região afetada, para avaliação micológica. As amostras foram semeadas em uma placa com meio de cultura cromogênico (CHROMÁgar *Candida*®) (VALENTINI *et al.*, 2013), que se baseia na produção de diferentes pigmentos produzidos por reação enzimática, sobre um substrato presente no meio, onde se observam as colônias de levedura com colorações diferentes. Em seguida as placas foram encaminhadas ao Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular do PPGO/UFPB para processamento e

diagnóstico micológico. As placas foram incubadas em estufa microbiológica a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ e após 48 horas foi realizada a leitura das UFC.

Os pacientes que apresentaram diagnóstico micológico negativo não foram incluídos na pesquisa, considerando que a EP nesses indivíduos não associada à presença do patógeno *Candida*, mas provavelmente à presença de outros micro-organismos ou fatores comuns a essa doença. Outrossim, os pacientes com diagnóstico micológico positivo foram agendados para iniciar o tratamento (VALENTINI *et al.*, 2013).

O grupo controle foi representado por indivíduos que utilizaram uma solução padrão-ouro contendo nistatina em uma concentração de 100 000 U.I./mL. Os produtos experimentais (*C. zeylanicum*) e nistatina apresentaram a mesma coloração, sabor, aroma e foram armazenados em recipientes idênticos, com especificações A ou B nos rótulos, garantindo o cegamento. Desse modo, os envolvidos no estudo e os pesquisadores não souberam em qual grupo os voluntários foram inseridos. Apenas um pesquisador e a farmacêutica responsável pelas formulações sabiam sobre a composição dos produtos, mas esses não se envolveram na fase de execução clínica.

Os produtos contendo o óleo essencial de *C. zeylanicum* (Colutório e Spray), bem como a do controle, contendo nistatina, foram formulados na Dilecta Farmácia de Manipulação LTDA. O colutório e spray para utilização clínica apresentaram a concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ do óleo. Essa concentração foi definida a partir das etapas laboratoriais *in vitro* previamente realizadas (RANGEL *et al.*, 2018).

Foi realizado monitoramento diário dos pacientes por parte do pesquisador, a partir de ligações telefônicas, visando esclarecer possíveis dúvidas, reforçar a adesão ao tratamento e minimizar o risco de alteração do protocolo proposto.

Após 24 hs do término do tratamento, novas avaliações foram realizadas com registro fotográfico, coleta de swabs na prótese e na mucosa afetada e anamnese, em que os participantes tiveram a oportunidade de relatar suas experiências com a utilização do produto e suas percepções sobre os mesmos. Ao exame clínico foram verificados possíveis efeitos adversos correspondentes aos sinais clínicos, tais como descamação de mucosa, eritema, manchamentos dentários e da prótese envolvida,

os quais podem não ser relatados pelos sujeitos. As amostras coletadas passaram pelo processo de avaliação micológica para fins de diagnóstico pós-tratamento.

Os relatos de efeitos adversos foram devidamente registrados em uma ficha clínica, a qual referencia os quesitos, levando em consideração: Intensidade (leve, moderada, severa); Natureza (efeito colateral, efeito tóxico e meta reações); Início e tempo de duração; Período em que ocorreu(ram) durante os 15 dias.

Sob o ponto de vista micológico não houve redução significativa das UFC coletadas da mucosa e prótese dentária, após uso dos produtos contendo OE de *C. zeylanicum*, com observância à maior quantidade de colônias presente nos swabs das próteses, o que evidencia a forte relação entre as mesmas e a doença.

Outrossim, os dois produtos (*C. zeylanicum* e nistatina) promoveram melhora significativa das condições clínicas apresentadas pelos sujeitos da pesquisa. Esse efeito observado para *C. zeylanicum* pode ser atribuído a sua possível ação sobre mediadores inflamatórios e ação sobre bactérias que compõem o biofilme multiespécie associado à EP (HAN X. & PARKER, 2017; FIGUEIREDO *et al.*, 2017).

Apesar de alguns pacientes relatarem sentir ardor, queimor ou prurido, 31% não apresentava sintomatologia alguma, mostrando-se alheios ao diagnóstico estabelecido. O sabor agradável e reduzido número de queixas relacionadas ao produto contribuíram para adesão terapêutica e ausência de perda de seguimentos. A maioria dos participantes não apresentou qualquer desconforto durante ou após o tratamento, o que confirma a tolerabilidade e baixa toxicidade dos medicamentos.

Observou-se, nesse estudo, que a maioria dos pacientes (75%) fazia uso noturno da prótese, impedindo a promoção do relaxamento e descanso dos tecidos, a massagem e a autolimpeza proporcionada pela saliva, língua e bochechas que é fundamental para a manutenção da saúde bucal. Há consenso na literatura a respeito da forte contribuição etiológica de uma prótese, a qual é considerada um nicho de proliferação das leveduras, face a composição da resina acrílica, por vezes rugosa ou irregular, que facilita a adesão e penetração dos patógenos nas mesmas. A presença do micro-organismo *Candida*, portanto, não é fator determinante para o desenvolvimento da EP. Vários aspectos estão envolvidos, a exemplo da má higiene, fatores traumáticos, dieta e condição sistêmica do indivíduo (UZUNOGLU *et al.*, 2014;

JACKSON *et al.*, 2014; JAIN & SHAKYA, 2013; NAVABI *et al.*, 2013; JAINKITTIVONG *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2015;).

Nesse contexto, vários são os cuidados relacionados ao uso de próteses removíveis, e é importante o acompanhamento de um profissional que oriente quanto à higienização das mesmas, por meios mecânicos com escova e sabão neutro e uso de substâncias desinfetantes e/ou de micro-ondas para a descontaminação da resina acrílica. Possíveis fatores traumáticos ou de instabilidade das próteses devem ser observados e podem justificar sua substituição. Essas atitudes visam reduzir a incidência de infecções por *Candida* e favorecem a saúde bucal e a qualidade de vida dos usuários.

Apesar do monitoramento dos pacientes via ligações telefônicas, a eficácia dos produtos pode sofrer influência de alguns vieses, desde a negligência dos hábitos de higiene e da alteração do protocolo de utilização dos produtos até a descompensação sistêmica do indivíduo pela presença de doenças crônicas sem controle omitida.

Contudo, o satisfatório resultado clínico dos pacientes acompanhados, tanto dos sinais quanto dos sintomas e o mínimo relato de desconforto em relação ao produto avaliado somados à possibilidade de oferecer à população uma nova opção para o tratamento dessa da EP com mínimos efeitos adversos, encorajam a realização de novas investigações para avaliação toxicológica e clínica de um produto contendo OE extraído de *C. zeylanicum* Blume, em maior concentração frente a células dos tecidos bucais ou sob outra forma de apresentação (gel) em sujeitos portadores de EP, devendo ser considerado aumento do número amostral e avaliação microbiológica que considere a análise de bactérias envolvidas com a doença estudada.

4. CONCLUSÃO

O uso do colutório e spray contendo OE extraído das folhas de *C. zeylanicum* Blume promoveu melhora clínica significativa de candidose associada ao uso de prótese dentária (EP), com ausência de diminuição na contagem de *Candida* spp. O produto avaliado foi bem tolerado pelos usuários, que aderiram a proposta terapêutica empregada.

REFERÊNCIAS

- ABBASZADEGAN, A., DADOLAH, S., GHOLAMI, A., MOEIN, M., HAMEDANI, S., GHASEMI, Y., ABBOTT, P. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Cinnamomumzeylanicum*, Calcium Hydroxide, and Triple Antibiotic Paste as Root Canal Dressing Materials. *The journal of contemporary dental practice*, 17, 105-113, 2015;
- ABRÃO, P. H. O., PIZI, R. B., SOUZA, T. B., SILVA, N. C., FREGNAN, A. M., SILVA, F. N., COELHO, L.F., MALAQUIAS, L.C., DIAS, A.L., DIAS, A.F., VELOSO, M.P., CARVALHO, D.T. Synthesis and biological evaluation of new eugenol mannich bases as promising antifungal agents. *Chemical biology & drug design*, 86, 459-465, 2015;
- ALTARAWNEH S, BENCHARIT S, MENDOZA L, CURRAN A, BARROW D, BARROS S, PREISSER J, LOEWY ZG, GENDREAU L, OFFENBACHER S (2013) Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow, and dry mouth. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry* 22 (1):13-22;
- ALTMAN, D.G.; SCHULZ, K.F.; MOHER, D.; EGGER, M.; DAVIDOFF, F.; ELBOURNE, D.; GØTZSCHE, P.C.; LANG, T.; CONSORT GROUP. The revised CONSORT statement for reporting randomized trials: explanation and elaboration. *Ann Intern Med.*, v. 134, n. 8, p. 663-694, apr., 2001;
- ANDRADE, M. A; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S.M.F. 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;
- ANIBAL PC, SARDI JDCO, PEIXOTO ITA, MORAES JJDC, HÖFLING JF. Conventional and alternative antifungal therapies to oral candidiasis. *Brazilian Journal of Microbiology*; 41(4):824-31, 2010;
- ARMSTRONG AW, BUKHALO M, BLAUVELT A. A Clinician's Guide to the Diagnosis and Treatment of Candidiasis in Patients with Psoriasis. *American Journal of Clinical Dermatology*;17(4):329-36, 2016;

BAKHSHI M, TAHERI JB, SHABESTARI SB, TANIK A, PAHLEVAN R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology*; 29:680-4, 2012;

BANERJEE M, UPPULURI P, ZHAO XR, CARLISLE PL, VIPULANANDAN G, VILLAR CC, LÓPEZ-RIBOT JL, KADOSH D. Expression of UME6, a key regulator of *Candida albicans* hyphal development, enhances biofilm formation via Hgc1-and Sun41-dependent mechanisms. *Eukaryotic cell*; 12(2):224-32, 2013;

BERSAN, S. M., GALVÃO, L. C., GOES, V. F., SARTORATTO, A., FIGUEIRA, G. M., REHDER, V. L., ALENCAR, S.M., DUARTE, R.M., ROSALEN, P.L., DUARTE, M.C. Action of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. *BMC complementary and alternative medicine*, 14, 1., 2014;

CAMPOY S.; ADRIO J.L. Antifungals. *Biochemical Pharmacology*, 133, 86-96, 2017.

CASTRO, R.D.; CAVALCANTI, A. L.; LIMA, E.O. Combined effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume Essential oil and nystatin of non-*albicans Candida*. *Revista Cubana de Estomatología*, v.49, n.2, p.192-200, 2013a;

CASTRO, R.D.; LIMA, E.O. Anti-*Candida* activity and Chemical Composition of *Cinnamomum zeylanicum* Blume Essential oil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.56, n.5, p.749-755, 2013;

CASTRO, R.D.; LIMA, E.O. Screening da atividade antifúngica de óleos essenciais sobre cepas de *Candida*. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.*, João Pessoa, v.11, n.3, p.341-345, jul./set, 2011;

CASTRO, R.D.; LIMA, E.O.; FREIRES, I. A.; ALVES, L. A. Combined effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume Essential oil and nystatin on *Candida albicans* growth and micromorfology. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v.12, n.2, p.147-154, 2013b;

CIRASOLA, D., SCIOTA, R., VIZZINI, L., RICUCCI, V., MORACE, G., BORGHI, E. Experimental biofilm-related *Candida* infections. *Future microbiology*, 8, 799-805, 2013;

DANGI YS, SONI ML, NAMDEO KP. Oral candidiasis: A review. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2(4):36-41, 2010;

DARWAZE H AMG, DARWAZE H TA. What makes oral Candidiasis recurrent infection? A clinical view. *J Mycol*; 2014:758394, 2014;

DODDANNA, S.J.; PATEL, S.; SUNDARRAO, M.A.; VEERABHADRAPPA, R.S. Antimicrobial activity of plant extracts on *Candida albicans*: an in vitro study. *Indian J Dent Res*; 24(4): 401-5, 2013;

EMAMI, E.; KABAWAT, M.; ROMPRE, P.H.; FEINE, J.S. Linking evidence to treatment for denture stomatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Dent*; 42(2):99-106, 2014;

FERREIRA, M.E.; COLOMBO, A.L.; PAULSEN, I.; REN, Q.; WORTMAN, J.; HUANG, J.; GOLDMAN, M.H.; GOLDMAN, G.H. The ergosterol biosynthesis pathway, transporter genes, and azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Med Mycol*; 43(1): 313-319, 2005;

FIGUEIREDO, C.S.S.S.; OLIVEIRA, P.V.; SAMINEZ, W.F.S.; DINIZ, R.M.; RODRIGUES, J.F.S.; SILVA, M.S.M.; SILVA, L.C.M.; GRISOTTO, M.A.G. Cinnamon essential oil (cinnamaldehyde) and its applications. *Rev. Investig, Bioméd. São Luís*, 9(2): 192-197, 2017;

FLEMING, T. R. On-sample multiple testing procedure for phase II clinical trial. *Biometrics*, v. 38, n. 1, p. 143-151, 1982;

FLORES IL, SOUZA LT, NEUTZLING GOMES AP. Is Topical Antifungal the Appropriate First Choice for Denture Stomatitis? *Ann Clin Lab Res*. 5: 1, 2017;

FREIRES, I. A., DENNY, C., BENSO, B., DE ALENCAR, S. M., & ROSALEN, P. L. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules*, 20, 7329-7358, 2015;

GENDREAU, L.; LOEWY, Z. G. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*; 20(4): 251-60, 2011;

- GLEIZNYS, A.; ZDANAIVIČIENĖ, E.; ŽILINSKAS, J. *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, v. 17, n. 17, p. 54–66, 2015;
- HAN X.; PARKER T. L. Antiinflammatory Activity of *Cinnamon* (*Cinnamomum zeylanicum*) Bark Essential Oil in a Human Skin Disease Model. *Phytother. Res.*, 31: 1034–1038 (2017);
- 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;
- JACKSON, S.; COULTHWAITE, L.; LOEWY, Z.; SCALLAN, A.; VERRAN, J. Biofilm development by blastopores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. *J Prosthet Dent*; Apr 14. Doi: 10.1016, 2014;
- JAIN, D.; SHAKYA, P. An in vitro on effect of Delmopinol application on *Candida albicans* adherence on heat cured denture base acrylic resin: a thorough study. *Indian J Dent Res*; 24(5): 645, 2013;
- JAINKITTIVONG, A.; ANEKSUK, V.; LANGLAIS, R. P. Oral mucosal lesions in denture wearers. *Gerodontology*; 27: 26-32, 2010;
- JANTAN, I. B., KARIM MOHARAM, B. A., SANTHANAM, J., & JAMAL, J. A. Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight *Cinnamomum* species. *Pharmaceutical Biology*, 46, 406-412, 2008;
- LYU X, ZHAO C, YAN Z-M, HUA H (2016) Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Drug design, development and therapy* 10:1161
- MARÍN ZULUAGA DJ, GÓMEZ VELANDIA OC, RUEDA CLAUJIO DM. Denture-related stomatitis managed with tissue conditioner and hard autopolymerising reline material. *Gerodontology*. 2010 Nov 5. doi: 10.1111/j.1741-2358.2010.00398.x.

MARTORI E, AYUSO-MONTERO R, WILLAERT E, VIÑAS M, PERAIRE M, MARTINEZ-GOMIS J: Status of Removable Dentures and Relationship with Oral *Candida*-Associated Factors in a Geriatric Population in Catalonia. *Journal of Prosthodontics* 2017, 26(5):370-375.

MILLEZI, A. F., PICCOLI, R. H., OLIVEIRA, J. M., & PEREIRA, M. O. Anti-biofilm and Antibacterial Effect of Essential Oils and Their Major Compounds. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19, 624-631, 2016;

MIMA EG, VERGANI CE, MACHADO AL, MASSUCATO EMS, COLOMBO AL, BAGNATO VS, PAVARINA AC. Comparison of photodynamic therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect*; 18: 380-8, 2012;

MINISTÉRIO DA SAÚDE; Secretaria de Atenção à Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais. *Brasília : Ministério da Saúde*, 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pesquisa_nacional_saude_bucal.pdf>;

MORACE, G., PERDONI, F., & BORGHI, E. Antifungal drug resistance in *Candida* species. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4), 254-259, 2014;

NABAVI, S. F., DI LORENZO, A., IZADI, M., SOBARZO-SÁNCHEZ, E., DAGLIA, M., & NABAVI, S. M. Antibacterial effects of *cinnamon*: from farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. *Nutrients*, 7, 7729-7748, 2015;

NAVABI, N.; GHOLAMHOSEINIAN, A.; BAGHAEI, B.; HASHEMIPOUR, M.A. Risk factors associated with denture stomatitis in healthy subjects attending a dental school in southeast Iran. *Sultan Qaboos Univ Med J*; 13 (4): 574-80, 2013;

OLIVEIRA, J.; SILVA, I.; TRINDADE, L.; LIMA, E.O.; CARLO, H.L.; CAVALCANTI, A.L.; CASTRO, R.D. 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;

PAUL, S., MOYE-ROWLEY, W. S. Multidrug resistance in fungi: regulation of transporter encoding gene expression. *Frontiers in physiology*, 5, 143, 2014;

PEIXOTO, L. R., ROSALEN, P. L., FERREIRA, G. L., FREIRES, I. A., CARVALHO, F. G., CASTELLANO, L. R. & CASTRO, R. D. Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of oral biology*, 73, 179-185, 2016;

PERFECT, J. R. Is there an emerging need for new antifungals? Expert opinion on emerging drugs. *Journal Expert Opinion on Emerging Drugs*, vol 21, 129-131, 2016;

PIANALTO KM, ALSPAUGH JA. New Horizons in Antifungal Therapy. *Journal of Fungi*; 2(4):26, 2016;

RANA, I. S., SINGH, A., GWAL, R. In vitro study of antibacterial activity of aromatic and medicinal plants essential oils with special reference to *cinnamon* oil. *Seeds*, 1, 4., 2011;

RANASINGHE, P., PIGERA, S., PREMAKUMARA, G. S., GALAPPATHTHY, P., CONSTANTINE, G. R., & KATULANDA, P. Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 1, 2013;

RANGEL, M.L., AQUINO, S.G., LIMA, J., CASTELLANO, L.R., CASTRO, R.D. In Vitro Effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume Essential Oil on *Candida* spp. Involved in Oral Infections. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol 2018, Article ID 4045013, 13 pages, 2018;

RAO, P. V., & GAN, S. H. *Cinnamon*: a multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014

ROEMER T, KRYSAN DJ. Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*; 4(5):a019703, 2014;

SALERNO, C.; PASCALE, M.; CONTALDO, M.; ESPOSITO, V.; BUSCIOLANO, M; MILILLO, L.; GUIDA, A.; PETRUZZI, M.; SERPICO, R. *Candida*-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, Mar 1;16(2):e139-43, 2011;

SALLES MM, BADARO MM, ARRUDA CNFD, LEITE VMF, SILVA CHLD, WATANABE E, OLIVEIRA VDC, PARANHOS HDFO (2015) Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis*—a randomized clinical study. *Journal of Applied Oral Science* 23 (6):637-642

SILVA MM, MIMA EGO, COLOMBO AL, SANITA PV, JORGE JH, MASSUCATO EMS, VERGANI CE. Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*; 114:469-79, 2012;

SILVA, N. P.; PALUCH, L. R. B.; CERQUEIRA, T. P. S.; NOVA, M. X. V.; COSTA, T. B. A.; JACOBI, C. C. B. Prevalence of *Candida* in oral cavity of patients wearing dental prosthesis. *O Mundo da Saúde, São Paulo*, 39(3):325-332, 2015;

SINGH, A., VERMA, R., MURARI, A., & AGRAWAL, A. Oral candidiasis: An overview. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 18(4), 81, 2014;

SKUPIEN, J.Á.; VALENTINI, F.; BOSCATO, N.; PEREIRA-CENCI, T. Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: a systematic review. *J Prosthet Dent*; 110(5): 356-62, 2013;

TOBUDIC, S.; KRATZER, C.; PRESTERL, E. Azole-resistant *Candida* spp. – emerging pathogens? *Mycoses*, v.55, n.1, p.24-32, 2012;

UZUNOGLU, E.; YILDIRIM BICER, A.Z.; DOLAPCI, I.; DOGAN, A. Biofilm-forming ability and adherence to poly-(methyl-methacrylate) acrylic resin materials of oral *Candida albicans* strains isolated from HIV positive subjects. *J Adv Prosthodont*; 6 (1):30-4, 2014;

VALENTINI, F; LUZ, MS; BOSCATO, N; PEREIRA-CENCI, T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *Journal of Dentistry*, v. 41, n. 5, p. 420–427, 2013;

VANGALAPATI, M., SATYA, S., PRAKASH, S., & AVANIGADDA, S. A review on pharmacological activities and clinical effects of *cinnamon* species. *Research Journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 3, 653-663, 2012;

VASCONCELOS LC, SAMPAIO MCC, SAMPAIO FC, HIGINO JS: Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. *Mycoses* 2003, 46(5-6):192-196.

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

ANEXO

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

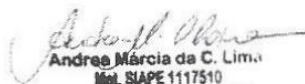


UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 7ª Reunião realizada no dia 31/07/2012, o projeto de pesquisa intitulado: “AVALIAÇÃO CLÍNICA DE UM COLUTÓRIO A BASE DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM BLUME (CANELA) SOBRE ESPÉCIES DE CÂNDIDA EM PACIENTES PORTADORES DE ESTOMATITE PROTÉTICA” da Pesquisadora Julyana de Araújo Oliveira. Prot. nº 0286/12, CAAE: 03235012.5.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.


Andréa Márcia da C. Lima
Matr. SUAPE 1117510
Secretária do CEP-CCS-UFPB

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta pesquisa intitulada de “Eficácia de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) no tratamento de candidose bucal associada ao uso de prótese dentaria: ensaio clínico, controlado, randomizado, cego” é sobre a avaliação do uso de um produto natural retirado das folhas da Canela para o tratamento da estomatite protética, uma doença da mucosa bucal caracterizada por uma inflamação da região do “céu” da boca. Essa doença pode estar relacionada à má higiene bucal, prótese mal adaptada, não remoção da prótese à noite, e principalmente a infecções causadas por fungos presentes na boca. A pesquisa está sendo desenvolvida pela mestrandia Maria Rejane Cruz de Araújo, vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba. O principal objetivo do estudo é avaliar a redução nos níveis de candidose bucal associados à Estomatite Protética, após uso diário do medicamento a base de canela por um período de 15 dias, comparando-o com outro medicamento (nistatina), bastante utilizado para o tratamento da doença. A finalidade deste trabalho é contribuir para a busca e desenvolvimento de novas alternativas de tratamento para a candidose bucal e estomatite protética através da canela, visto que, por ser amplamente utilizada como condimento, tempero e aromatizante, espera-se que seus possíveis efeitos indesejáveis sejam mínimos quando comparados àqueles relatados após o uso de antifúngicos sintéticos (não-naturais). Caso venha a ocorrer algum tipo de coramento nos elementos da prótese, a mesma será polida ao final da intervenção. Dessa forma, solicitamos a sua colaboração para submeter-se a um exame bucal (com registro fotográfico) e laboratorial através da coleta de material da superfície da mucosa bucal, utilizando um cotonete especial, e uma vez diagnosticada a Estomatite protética associada à *Candida*, submeter-se ao tratamento através do bochecho de 10 mL de um medicamento antifúngico e uso de um spray sobre a prótese durante 15 dias, 3 vezes ao dia. Ao final do tratamento, o senhor(a) será submetido a novo exame clínico e micológico (laboratorial) para verificação dos níveis de redução do fungo *Candida*, bem como será convidado a responder um questionário a respeito de sua percepção em relação ao tratamento. Solicitamos também a sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicá-los em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos previsíveis para a sua saúde, mediante o benefício do tratamento. Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pela pesquisadora. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência

que vem recebendo na Instituição onde o estudo está sendo realizado. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa. Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura da Testemunha

Impressão digital

Contato com o Pesquisadores Responsáveis: Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para os pesquisadores:

Ricardo Dias de Castro ou Maria Rejane Cruz de Araújo. Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal. Endereço: Cidade Universitária, Campus I, João Pessoa, Paraíba. Telefone: (83) 3216-7200. E-mails: rcastro@ccs.ufpb.br, mrejaneca@gmail.com

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Participante

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde - Campus I – UFPB: Castelo Branco, João Pessoa – PB - Código Postal : 58059-900

APÊNDICE B

FICHA CLÍNICA (DIAGNÓSTICO CLÍNICO)

Anamnese

1. Data de nascimento:
2. Sexo:
3. Endereço:
4. Telefone:
5. Idade:
6. Alergia à canela: () Sim () Não
7. Alergia a algum medicamento: () Sim, Qual? _____ () Não
8. Doenças sistêmicas:

() Hipertensão	() AIDS
() Hipotensão	() Insuficiência renal
() Diabetes	() Câncer
9. Terapia medicamentosa _____
10. Higiene bucal e da prótese: () Favorável () Desfavorável

Inspeção da prótese

1. Tempo de desdentado: _____
2. Número de próteses utilizadas: _____
3. Idade da prótese: _____
4. Uso contínuo: () Sim () Não
5. Apresenta retenção e estabilidade: () Sim () Não

6. Alteração de cor: () Sim () Não
7. Superfície rugosa: () Sim () Não
8. Presença de câmara de sucção: () Sim () Não

Inspeção da área de suporte da prótese

1. Presença de alteração de cor: () Sim. Intensidade: _____ () Não
2. Alteração da textura da mucosa: () Sim. Intensidade _____ () Não
3. Presença de placas esbranquiçadas susceptíveis à remoção por raspagem:
() Sim. Intensidade: _____ () Não
4. Mucosa subjacente eritematosa:
() Sim. Intensidade: _____ () Não
5. Sintomático: () Sim () Não
6. Em caso afirmativo, quais são os sintomas:
() dor. Intensidade _____
() queimação. Intensidade _____
() prurido. Intensidade _____
() halitose. Intensidade _____

Diagnóstico

1. Diagnóstico clínico de candidíase: () Positivo () Negativo
2. Diagnóstico laboratorial de candidíase: () Positivo () Negativo
3. Inclusão no ensaio clínico: () Não () Sim, Fase I () Sim, Fase II

Pós-tratamento

Efeitos adversos:

1. Queimação () Ausente () Leve () Moderada () Intensa

2. Alteração de paladar () Ausente () Leve () Moderada () Intensa
3. Prurido () Ausente () Leve () Moderada () Intensa
4. Descamação da mucosa () Ausente () Leve () Moderada () Intensa
5. Eritema () Ausente () Leve () Moderada () Intensa
6. Alteração de cor da prótese e/ ou dentes
() Ausente () Leve () Moderada () Intensa
7. Outros: _____

Inspeção da área de suporte da prótese no pós-tratamento

1. Presença de alteração de cor: () Sim. Intensidade: _____ () Não
2. Alteração da textura da mucosa: () Sim. Intensidade: _____ () Não
3. Presença de placas esbranquiçadas susceptíveis à remoção por raspagem:
() Sim. Intensidade: _____ () Não
4. Mucosa subjacente eritematosa:
() Sim. Intensidade: _____ () Não
5. Sintomático: () Sim () Não
6. Em caso afirmativo, quais são os sintomas:
() dor. Intensidade _____
() queimação. Intensidade _____
() prurido. Intensidade _____
() halitose. Intensidade _____

Diagnóstico

1. Diagnóstico clínico de candidíase: () Positivo () Negativo
2. Diagnóstico laboratorial de candidíase: () Positivo () Negativo

APÊNDICE C

ORIENTAÇÕES PARA O USO DOS MEDICAMENTOS

TRATAMENTO DA ESTOMATITE PROTÉTICA

ORIENTAÇÕES PARA USO DOS MEDICAMENTOS

Antes do uso dos medicamentos você deve higienizar toda a cavidade bucal (gengiva, língua, bochecha e céu da boca), e também a dentadura (por dentro e por fora) com escova.

Usar creme dental para a higiene da boca e sabão neutro para a higiene da prótese.

1. Uso do Colutório Bucal (Bochecho)

- Remover a prótese e fazer a higiene da boca;
- Fazer bochechos com 10 ml da colutório, por um minuto, 3 vezes ao dia (de 8/8 hs), durante 15 dias.

2. Uso do Spray (Prótese)

- Fazer a higiene da prótese;
- Borrifar o spray sobre a prótese (por dentro e por fora), 3 vezes ao dia (de 8/8 hs), no mesmo horário que fizer o bochecho, também durante 15 dias. Colocá-la na boca após fazer o bochecho com o colutório.

ATENÇÃO: À noite, após usar o spray, colocar a prótese em um recipiente **SEM** água.

1. OS PRODUTOS PODEM SER MANTIDOS NA PORTA DA GELADEIRA OU EM UM LOCAL SEM CALOR E SEM RECEBER LUZ DO SOL.

2. NÃO DORMIR COM A PRÓTESE

Caso necessite algum esclarecimento ou assistência, entrar em contato pelos números:
DRA. MARIA REJANE CRUZ - (83) 98730.1088 (OI) - (83) 99982.7512 (TIM)

DURAÇÃO DO TRATAMENTO:

INÍCIO (1º DIA) _____

TÉRMINO (15º DIA) _____

RETORNO _____

APÊNDICE D

CALIBRAÇÃO E OBTENÇÃO DO VALOR KAPPA (K)

	Cat. 1 1	Cat. 2 2	Cat. 3 3
Kappa da categoria	0.749	0.788	1.0
P-valor do Kappa da categoria	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Intervalo de 95% de confiança do Kappa da categoria	sup: 1.0 inf: 0.489	sup: 1.0 inf: 0.528	sup: 1.0 inf: 0.74

Kappa Geral

Kappa Geral	0.822
P-valor geral	< 0.001
Intervalo de 95% de confiança do Kappa	sup: 1.0 inf: 0.628

CALIBRADOR: Prof. Dr. Paulo Rogério Ferreti Bonan (UFPB)