

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

**EFEITO DE UM COLUTÓRIO EXPERIMENTAL EM
BIOFILME POLIMICROBIANO FORMADO SOBRE
SUPERFÍCIES ABIÓTICAS**

Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção

SAPIENTIA AEDIFICAT

Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção

**EFEITO DE UM COLUTÓRIO EXPERIMENTAL EM BIOFILME
POLIMICROBIANO FORMADO SOBRE SUPERFÍCIES ABIÓTICAS**

**EFFECT OF AN EXPERIMENTAL MOUTHWASH ON
POLYMICROBIAL BIOFILM FORMED ON ABIOTIC SURFACES**

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

Orientadora: Prof.^a Dra. Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida Cavalcanti

João Pessoa

2025

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
BIBLIOTECÁRIO:

D231e D'Assunção, Veronica Cabral dos Santos Cunha.
Efeito de um colutório experimental em biofilme
polimicrobiano formado sobre superfícies abióticas /
Veronica Cabral Dos Santos Cunha D'Assunção. - João
Pessoa, 2025.
90 f. : il.

Orientação: Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida
Cavalcanti.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Odontologia. 2. Biofilme. 3. Saliva. 4. Titânio.
5. Produtos Naturais. 6. Cinamaldeído. I. Cavalcanti,
Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida. II. Título.

UFPB/BC CDU 616.314(043)

Informações Complementares:

Effect of an Experimental Mouthwash on Polymicrobial Biofilm Formed on Abiotic Surfaces

Key words: Biofilm; Saliva; Titanium; Natural Products; Cinnamaldehyde.

Área de concentração: Ciências Odontológicas

Linha de Pesquisa: Fisiopatologia dos tecidos buco-maxilo-faciais

Banca examinadora: Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida Cavalcanti (Orientadora,UFPB); Carolina Patrícia Aires Garbellini (USP); Fernanda Lourenção Brighenti (UNESP); Sabrina Garcia de Aquino (UFPB); Mayara Abreu Pinheiro (UFPB).

Data da defesa:26/06/2025

Informações acadêmicas e profissionais do(a) aluno(a)

- ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4321-8635>

- Link do Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1681120774227956>



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



ATA DA DEFESA PÚBLICA DE TESE DE DOUTORADO
(DOCUMENTO ANEXO – 2)

João Pessoa, 26 de junho de 2025.

CANDIDATA(O): VERONICA CABRAL DOS SANTOS CUNHA D'ASSUNCAO
TÍTULO DA TESE: "EFEITO DE UM COLUTÓRIO EXPERIMENTAL EM BIOFILME POLIMICROBIANO FORMADO SOBRE SUPERFÍCIES ABIÓTICAS"

1º Examinador: Prof(a). Dr(a). FERNANDA LOURENÇÃO BRIGHENTI (Membro Externo)

Parecer: (x)Aprovado () Insuficiente () Reprovado

gov.br
Documento assinado digitalmente
FERNANDA LOURENCAO BRIGHENTI
Data: 30/06/2025 14:45:16-0300
verifique em https://validar.it.gov.br

1º Examinador

2º Examinador: Prof(a). Dr(a). CAROLINA PATRÍCIA AIRES GARBELLINI (Membro Externo)

Parecer: (x)Aprovado () Insuficiente () Reprovado

[Redacted Signature]

2º Examinador

3º Examinador: Prof(a). Dr(a). MAYARA ABREU PINHEIRO (Membro interno)

Parecer: (x)Aprovado () Insuficiente () Reprovado

gov.br
Documento assinado digitalmente
MAYARA ABREU PINHEIRO
Data: 30/06/2025 14:56:17-0300
verifique em https://validar.it.gov.br

3º Examinador

4º Examinador: Prof(a). Dr(a). SABRINA GARCIA DE AQUINO (Membro interno)

Parecer: (x)Aprovado () Insuficiente () Reprovado

[Redacted Signature]

4º Examinador

5º Examinador: Prof(a). Dr(a). LEOPOLDINA DE FÁTIMA DANTAS DE ALMEIDA (orientador(a) e Presidente)

Parecer: (x)Aprovado () Insuficiente () Reprovado

[Redacted Signature]

5º Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus filhos, Tiago e Maria Clara, que, depois da cruz, são a maior expressão do amor de Jesus por mim.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar a minha grande alegria pela chegada deste marco em minha vida: a conclusão do meu doutorado na Universidade Federal da Paraíba-UFPB.

Foram 4 anos de muito aprendizado, esforço e renúncias e sem o apoio de muitos não teria concluído esta jornada. Assim, quero externar o meu profundo agradecimento a todos que de alguma forma me SUSTENTARAM nesse processo.

Primeiramente a Deus, que guiou todos os meus passos conduzindo cada dia e cada luta de todo esse processo. Obrigada Senhor porque me sustentaste e me revelaste todos os dias que eu não estava sozinha. Senti a Tua mão poderosa a me amparar a cada momento, até nas dores e humilhações que me permitiste passar.

A minha amada mãezinha, Nossa Senhora das Graças, que tanto intercedeu por mim. Minha mãe, como foi bom estar contigo ao meu lado nessa jornada! Obrigada por teres antecipado o “vinho” para mim tantas e tantas vezes. O seu colo de mãe foi o meu socorro em todos os dias desse processo.

Ao meu esposo, Fábio Luiz, meu grande incentivador e exemplo de dedicação e diligência. Obrigada por todo sustento e por dividir todos esses dias de construção árdua comigo. Você me inspira!

Aos meus amados filhos, Tiago Cabral e Maria Clara Cabral, por toda alegria que vocês depositaram nos meus dias. Vocês foram os maiores responsáveis pelo meu equilíbrio, porque quando o cansaço chegava vocês me lembravam que há algo muito maior: o nosso amor.

Aos meus amados pais, José Francisco Cabral de Vasconcelos e Maria Cavalcanti dos Santos Vasconcelos, por todo amor que a mim dedicaram ao longo de toda minha vida, por cada esforço e renúncia que fizeram por minha vida e educação. Obrigada paiinho, obrigada mainha. Amo vocês!

A minha irmã, Bárbara Cabral, que sempre esteve na torcida por mim e por ter dispensado seu ouvido atento aos meus momentos de alegria e angústia. Como é maravilhoso te ter em minha vida!

A minha funcionária Jailma, esse título também é seu “Jaja”. Obrigada por toda doação e por suas orações.

A toda minha família, que sempre esteve na torcida e no meu sustento através das orações.

Aos meus amigos do Carisma Resgate, especialmente às amigas do “Mulheres em Partilha”. Obrigada por todas as orações de vocês que me sustentaram ao longo desses anos. Obrigada por terem sido “ouvido atento” e “palavras de ânimo e discernimento” para mim.

A todos os meus amigos, que sempre estiveram na torcida como grandes incentivadores, especialmente às amigas Ana Cláudia Dantas, Talitha Ribeiro, Christiane Vitalino, Kátia, Elida Batista, Mônica Cabral, Raquel Cabral e Juliana Alves.

A minha orientadora Prof.^a Dra Leopoldina de Fátima, por todos os ensinamentos ao longo desses anos. Obrigada por me ajudar na construção desse processo que tanto desejei viver. Você me ajudou a crescer como aluna e como pessoa. Você me ajudou a realizar um sonho! Meu sincero agradecimento!

Aos colegas do grupo de pesquisa, que caminharam ao meu lado me ajudando nos tantos momentos de dúvida, Sandson, Isis, Francisco Naldo, Arella, Camilla, Maria Beatriz, Kauanne, Anderson, Lucas, Ananda, Lívia, Bruna, Anne Poline, Luis Fellipe e especialmente a Maria Heloísa, que de forma sempre tão paciente procurava responder minhas dúvidas. Vocês foram verdadeiros anjos nesse processo!

Aos meus amigos de disciplina Ennyo Sobral e Sabrina Garcia, obrigada por todo apoio e por terem tido tanta resiliência com os meus atrasos e correrias. Vocês foram essenciais nesse processo. Vocês também me inspiram. Agora completaremos um time de doutores!

Aos meus tantos alunos, que me ajudaram com a execução desta pesquisa e que torceram e me acompanharam ao longo desses anos.

Aos funcionários do Numetrop, que de alguma forma foram facilitadores de tantas demandas. Muito obrigada!

A UFPB e a PROPESQ/PRPG/UFPB 03/202(PVG13277-2020), por todo o suporte concedido ao longo da minha formação profissional, especialmente ao PPGO-UFPB, na pessoa do Prof. Dr. Yuri Wanderley Cavalcanti e ao meu departamento, DCOS, na pessoa da Prof.^a Dra Maria Germana Galvão por todas as oportunidades conferidas a mim enquanto aluna.

Aos Profs. Dr. Francisco Humberto, Dr. Rodrigo Othávio e Dr. Frederico Barbosa pela parceria e disponibilidade.

A conclusão deste doutorado não teve o fim principal da obtenção de um título. Há muitos anos sonhava em viver TODO ESSE PROCESSO na minha vida profissional. Desde 2013 esse sonho estava adormecido em Deus, mas Ele sabe todas as coisas. E agora, concluo essa etapa com muita alegria e gratidão a todos, mas também com uma grande bagagem, não só para minha profissão, mas para VIDA.

Assim, espero que seja o começo de uma nova jornada e que possa compartilhar o que aprendi.

Com sincero agradecimento,

Verônica Cabral

EPÍGRAFE

E agora, eis o que diz o Senhor, aquele que te criou, Jacó, e te formou, Israel:
“Nada temas, pois eu te resgato, eu te chamo pelo nome, és meu. Se tiveres de
atravessar a água, estarei contigo. E os rios não te submergirão; se caminhares
pelo fogo, não te queimarás, e a chama não te consumirá.

Isaías 43,1-2

RESUMO

Os implantes dentários são amplamente utilizados para a reabilitação oral, entretanto, também são substratos onde pode acontecer a adesão microbiana e acúmulo de biofilme, o que pode conduzir à inflamação, perda da osteointegração e até perda do implante dentário. Diversas possibilidades terapêuticas são estudadas para tentar minimizar esses danos, uma vez que a prevalência das complicações peri-implantares, apesar de variável, tem se mostrado crescente. Neste estudo, avaliou-se, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de um colutório experimental com cinamaldeído a 1% em um modelo de biofilme polimicrobiano, a partir da saliva de doadores com saúde periodontal (SS) e de doadores com gengivite (SG), em superfícies de titânio e de zircônia que simulavam uma reabilitação com implante e coroa protética. Biofilmes polimicrobianos foram semeados (1×10^8 UFC/mL) em superfícies de zircônia (n=6/grupo) e titânio (n=6/grupo) a partir da coleta da saliva estimulada de 2 doadores com saúde periodontal e 2 com gengivite. Foram realizados *pool* salivar por tipo de condição (saudável e gengivite). Os espécimes foram submetidos a formação de película salivar por 60 minutos. O inóculo foi semeado (1×10^8 UFC/mL) em meio McBain suplementado com 10% de saliva filtrada e os biofilmes cultivados em microaerofilia por 24h. Foram realizados desafios diários com sacarose a 10% três vezes ao dia seguidos de troca de meio. Após as 72h iniciais, o meio foi aspirado de todos os poços e as amostras foram expostas ao colutório experimental durante 1 minuto, 2 vezes ao dia, por 72 horas consecutivas. Digluconato de clorexidina a 0,12% e solução salina (NaCl 0,9%) foram utilizados como controles. Os biofilmes foram mantidos em cultura por mais 24 horas, completando um tempo total de cultivo de 168h para posterior contagem do número de células viáveis (UFC/mL) nos meios ASD (Agar Sabouraud Dextrose), BHI (Brain Heart Infusion) e MSA (Mitis Salivarius Agar), avaliação da biomassa por meio do teste com cristal violeta (CV) e avaliação metabólica do biofilme por meio do teste do sal de metiltetrazolium (ensaio de MTT). Os dados foram analisados por estatística inferencial através do teste de Kruskal-Wallis complementado por Mann-Whitney ou DSCF com nível de significância de 5%. Em relação aos biofilmes semeados sobre superfícies de zircônia, verificou-se que não foram detectadas diferenças estatísticas significativas entre as condições do biofilme nem entre as substâncias ($p > 0,05$), não havendo diferenças para a

contagem de UFC/ mL e biomassa dos biofilmes avaliados. Quanto à avaliação do metabolismo celular, não se verificou diferença estatística significativa entre as condições do biofilme ($p>0,05$). Por outro lado, verificou-se que o metabolismo celular diminuiu a partir da exposição ao colutório e clorexidina, havendo diferença em relação ao controle negativo ($p<0,05$). A contagem de UFC/mL nas superfícies de titânio nos meios BHI e MSA, assim como a biomassa, para os biofilmes dos doadores com saúde periodontal ($p<0,05$) foi superior. Verificou-se também que houve diminuição na biomassa dos biofilmes expostos ao colutório experimental, em ambas as condições salivares. Quanto à avaliação do metabolismo celular em titânio, biofilmes dos doadores com gengivite apresentaram maior atividade metabólica ($p<0,05$). Para os biofilmes de ambas as condições salivares houve diminuição na atividade metabólica frente à exposição ao colutório experimental e a clorexidina em relação ao controle negativo ($p<0,05$). O colutório experimental com cinamaldeído a 1% apresentou atividade antimicrobiana semelhante ao da clorexidina frente biofilmes polimicrobianos desenvolvidos a partir da saliva de doadores com saúde periodontal e com gengivite em um modelo de mucosite peri-implantar.

Palavras-chave: Biofilme; Saliva; Titânio; Produtos Naturais, Cinamaldeído.

ABSTRACT

Dental implants are widely used for oral rehabilitation; however, they are also substrates where microbial adhesion and biofilm accumulation can occur, which can lead to inflammation, loss of osseointegration, and even loss of the dental implant. Several therapeutic possibilities are studied to try to minimize this damage, since the prevalence of peri-implant complications, although variable, has been shown to be increasing. In this study, the antimicrobial activity of an experimental mouthwash with 1% cinnamaldehyde was evaluated *in vitro* in a polymicrobial biofilm model, from the saliva of donors with periodontal health (SS) and donors with gingivitis (SG), on titanium and zirconia surfaces that simulated rehabilitation, with an implant and its prosthetic crown. Polymicrobial biofilms were seeded (1×10^8 CFU/mL) on zirconia (n=6/group) and titanium (n=6/group) surfaces from stimulated saliva collection from 2 donors with periodontal health (SS) and donors with gingivitis (SG). Salivary *pools* were performed by condition type (healthy and gingivitis). Specimens were subjected to salivary pellicle formation for 60 minutes. Inoculum was seeded (1×10^8 CFU/mL) in McBain medium supplemented with 10% filtered saliva, and the biofilms were cultured in microaerophilic conditions for 24 hours. Daily challenges with 10% sucrose were performed three times a day, followed by medium change. After the initial 72 hours, the medium was aspirated from all wells, and the samples were exposed to the experimental mouthwash for 1 minute, twice a day, for 72 consecutive hours. Chlorhexidine digluconate 0.12% and saline solution (0.9% NaCl) were used as controls. Biofilms were kept in culture for an additional 24 hours, completing a total culture time of 168 hours for subsequent counting of the number of viable cells (CFU/mL) in the ASD (Sabouraud Dextrose Agar), BHI (Brain Heart Infusion) and MAS (Mitis Salivarius Agar) media, biomass evaluation using the crystal violet (CV) test and metabolic evaluation of the biofilm using the methyltetrazolium salt test (MTT assay). Data were analyzed by inferential statistics using the Kruskal-Wallis test complemented by Mann-Whitney or DSCF with a significance level of 5%. Regarding the biofilms seeded on zirconia surfaces, it was observed that no statistically significant differences were detected between the biofilm conditions or between the substances ($p > 0.05$), with no differences for the CFU/mL count, nor for the evaluation of the biomass of the microorganisms evaluated. Regarding the evaluation of cellular metabolism, no statistically

significant difference was observed between the biofilm conditions ($p>0.05$). On the other hand, it was observed that cellular metabolism decreased after exposure to mouthwash and chlorhexidine, with a difference in relation to the negative control ($p<0.05$). The CFU/mL count on titanium surfaces in BHI and MSA media, as well as the biomass, for the biofilms of donors with periodontal health ($p<0.05$) was higher. It was also observed that there was a decrease in the biomass of the biofilms exposed to the experimental mouthwash for both salivary conditions. Regarding the evaluation of cellular metabolism in titanium, biofilms of donors with gingivitis presented greater metabolic activity ($p<0.05$). For the biofilms of both salivary conditions, there was a decrease in metabolic activity when exposed to the experimental mouthwash and chlorhexidine in relation to the negative control ($p<0.05$). Experimental mouthwash with 1% cinnamaldehyde showed an antimicrobial activity similar to that of chlorhexidine against polymicrobial biofilms developed from the saliva of donors with periodontal health and those with gingivitis in a model of peri-implant mucositis.

Keywords: Biofilm; Saliva; Titanium; Natural Products, Cinnamaldehyde.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Associação Americana de Periodontia
ASD	Agar Sabouraud Dextrose
BHI	Brain Heart Infusion
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CHX	Clorexidina
CV	Cristal violeta
EPS	Matriz Exopolissacarídica
mL	mililitro
MSA	Mitis Salivarius Agar
MTT	Metiltetrazolium
NaCl	Cloreto de sódio
Ra	Rugosidade de Superfície
SG	Doador com gengivite
SS	Doador com saúde periodontal
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. BIOFILMES ORAIS	5
2.1.1. INTERAÇÃO ENTRE ESPÉCIES	6
2.1.2. MODELO POLIMICROBIANO	7
2.2. DOENÇAS PERI-IMPLANTARES	8
2.3. CINAMALDEÍDO	10
3. OBJETIVOS	16
3.1. OBJETIVO GERAL	16
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4. ARTIGO	17
5. CONSIDERAÇÕES GERAIS	48
6. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE	63
ANEXOS	66

1.INTRODUÇÃO

Os microrganismos orais aderem às superfícies dentais e/ou à superfície de diversos materiais e formam biofilmes. Biofilmes são comunidades microbianas rodeadas por matriz polissacarídica extracelular tridimensional (Souza et al.,2020), o que oferece várias vantagens para colonizar ambientes, incluindo suscetibilidade antimicrobiana reduzida, quando comparado a microrganismos planctônicos (Costa et al., 2020).

No microbioma oral, os microrganismos residentes vivem em um estado simbiótico com o hospedeiro aderindo a superfícies bióticas (Xu et al., 2017) ou abióticas (Costa et al., 2020). No entanto, mudanças ambientais locais ou do hospedeiro podem interromper o estado comensal levando à disbiose, com proliferação de espécies com potencial patogênico, muitas vezes levando ao desenvolvimento de doenças orais (Belibasakis et al., 2019).

A gengiva e a mucosa peri-implantar são constantemente desafiadas pelo ambiente oral, incluindo a exposição constante a microrganismos no biofilme presente nas superfícies do dente e do implante (Araújo; Lindhe,2017). Enquanto os biofilmes que se formam nas superfícies dentais são os fatores etiológicos primários da cárie dentária e/ou das doenças periodontais, os biofilmes que se aderem as superfícies dos implantes são prejudiciais à mucosa peri-implantar e ao osso de ancoragem (Souza et al.,2020).

Os implantes dentários fabricados a partir de titânio são amplamente utilizados para a reabilitação oral, contribuindo para restaurar a função e a estética do paciente, com alta taxa de sucesso e longevidade clínica. A zircônia, utilizada como material reabilitador em próteses, já amplamente utilizada na odontologia, apresenta diversas vantagens, principalmente por ser altamente biocompatível e com uma aparência esteticamente agradável (Tan et al.,2022).

Qualquer que seja a finalidade, é sabido que materiais restauradores usados na cavidade oral devem ter características de superfície que inibam a adesão bacteriana e a formação de biofilme (Matalon et al.,2021). Entretanto, os implantes dentários acabam funcionando como substratos para adesão microbiana (Souza et al.,2020).

Biofilmes polimicrobianos formados em superfícies de titânio são considerados o principal fator etiológico para as doenças inflamatórias conhecidas

como mucosite peri-implantar e peri-implantite. A instalação da comunidade inicial do biofilme, composta por colonizadores precoces, a exemplo de *Streptococcus* e *Actinomyces* promove a fase de transição para a proliferação de outros microrganismos mais virulentos que aumentam a patogenicidade geral do biofilme (Schincaglia et al.,2017).

Assim, o acúmulo de biofilme sobre superfícies de implantes, com a adesão de colonizadores precoces como citado anteriormente, permitirá a proliferação de bactérias patogênicas do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) na região dos tecidos peri-implantares, conduzindo à inflamação, perda da osteointegração, e podendo haver também perda do implante dentário (Carinci et al., 2019).

Dessa forma, apesar de não ter sido um objetivo deste trabalho identificar organismos comensais, é importante estudar modelos de formação de biofilme que permitam desenvolver técnicas ou tratamentos que reduzam a possibilidade de amadurecimento do biofilme em uma comunidade microbiana mais virulenta, o que pode evitar o aparecimento de doenças como, por exemplo, a mucosite peri-implantar e a peri-implantite (Souza et al.,2020), que são as principais causas na falha do tratamento reabilitador.

A terapia peri-implantar básica com manutenção regular, por meio da desorganização do biofilme, é uma estratégia preventiva para a reversibilidade da conversão da mucosite peri-implantar em saúde e contra a progressão da mucosite peri-implantar para a peri-implantite (Heitz-Mayfield; Salvi,2018), favorecendo a rebiose. Dentro desse aspecto, se inclui a terapia não-cirúrgica, envolvendo métodos mecânicos, associando ou não a agentes químicos.

Como as superfícies dos implantes podem facilitar a adesão microbiana e a formação de biofilmes complexos, dificultando o seu desbridamento, terapia adicional com antibióticos e antissépticos foi proposta como ação coadjuvante sobre os biofilmes patogênicos e para melhora dos resultados do tratamento mecânico (Schwarz et al., 2006; Lindhe & Meyle, 2008).

O potencial de reparo de defeitos peri-implantares após a supressão do biofilme microbiano peri-implantar, utilizando-se o debridamento mecânico com ou sem terapias adjuvantes já foi relatado; no entanto, as recomendações de um protocolo de tratamento e o agente químico mais adequado para descontaminação de implantes ainda são inconclusivas (Verardi et al., 2014; Herrera et al., 2023).

Além da clorexidina, a literatura relata o efeito *in vivo* e *in vitro* de outras substâncias com efeito antimicrobiano com resultados satisfatórios para a terapia peri-implantar (Gosau et al., 2010; Verardi et al., 2014). Este conjunto de resultados englobam o uso de substâncias como extratos de origem natural e moléculas isoladas, os fitoconstituintes. Entretanto, apesar de resultados promissores, mais estudos precisam ser realizados com a utilização destas moléculas, já que se mostram como alternativas em potencial, podendo causar efeitos adversos de menor magnitude (Wang et al., 2018; Yanakiev, 2020).

O cinamaldeído é um desses exemplos de substâncias promissoras. Ele é o principal fitoconstituente extraído da canela e pode ser encontrado em diversas regiões do mundo, sendo as espécies mais conhecidas a *Cinnamomum cassia* (canela chinesa) e a *Cinnamomum verum*, também chamada de *Cinnamomum zeylanicum* e, comumente, identificada como canela verdadeira (Doyle; Stephens, 2019).

O cinamaldeído está associado a diversos seguimentos do mercado alimentício, medicinal e cosmético (Friedman, 2017). Entretanto, a principal atividade biológica relatada para este fitoconstituente é sua atividade antibacteriana (Shreaz et al., 2016). Mais estudos sobre as propriedades biológicas precisam ser realizados na área odontológica (Bakhtiari et al., 2019; Balasubramanian et al., 2021).

Nos últimos anos, uma variedade de modelos *in vitro* tem sido proposta para investigar potenciais interações entre os materiais dentários e os biofilmes orais. Foram desenvolvidos, por exemplo, modelos que empregam consórcios de até nove espécies, incorporando misturas de microrganismos comensais e patógenos tardios, mas esses modelos também não configuram uma amostra representativa das espécies às quais os materiais podem ser expostos na boca. Uma alternativa é usar um inóculo oral para gerar um biofilme polimicrobiano (de microcosmo) complexo e diverso, *in vitro*. Neste modelo, mais comumente, a saliva de um único doador ou de doadores combinados pode ser usada para fornecer o inóculo (Rudney et al., 2012; Janus et al., 2015).

Os modelos polimicrobianos podem ser manipulados de várias maneiras para simular aspectos das condições orais, como a inserção de carboidratos da dieta através da estrutura dos biofilmes (Sissons et al., 1991; Cenci et al., 2009). Assim, esse modelo de biofilme *in vitro* tem sido considerado o modelo mais

próximo da realidade *in vivo*, possibilitando simular a complexidade de um biofilme dentário real (Santos et al., 2019; Tang et al., 2003).

Nessa perspectiva, mesmo havendo literatura sobre o uso de substâncias antimicrobianas advindas de produtos naturais no controle químico do biofilme dental, a avaliação da ação do cinamaldeído no tratamento coadjuvante da mucosite peri-implantar através desse tipo de modelo de biofilme polimicrobiano precisa ser considerada e justifica a relevância desse estudo.

Para tanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar, por meio de um estudo *in vitro*, a atividade antimicrobiana de um colutório experimental com cinamaldeído a 1% na formação de biofilmes polimicrobianos em superfícies de reabilitação (zircônia e titânio), a partir da saliva de doadores com saúde periodontal e de doadores com gengivite, a fim de testar a seguinte hipótese: “Há diferença na atividade antimicrobiana do colutório experimental no modelo de biofilme proposto entre os dois grupos de doadores dos quais foi obtida a saliva?”

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BIOFILMES ORAIS

Os biofilmes são comunidades microbianas altamente organizadas, incorporadas em uma matriz extracelular tridimensional que proporciona diversas vantagens às espécies colonizadoras, incluindo a redução da suscetibilidade antimicrobiana, quando comparado a microrganismos planctônicos (Costerton et al., 1995; Socransky, Haffajee, 2002; Bowen et al., 2018).

No ambiente oral, os microrganismos residentes deste microbioma vivem em estado simbiótico com o hospedeiro aderindo a superfícies bióticas (Xu et al., 2017) ou abióticas (Arciola, Campoccia, Montanaro, et al., 2018). No entanto, as alterações ambientais locais ou do hospedeiro podem perturbar o estado comensal, levando à disbiose, com crescimento excessivo de espécies com potencial patogênico, e muitas vezes levando ao desenvolvimento de doenças bucais (Belibasakis et al., 2019).

Os fatores que influenciam a transição de um estado de saúde oral a um microbioma associado a doenças ainda não são totalmente compreendidos. O ambiente inflamatório (Marsh, Moter, Devine, 2011), a presença de um patógeno fundamental, como *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), que explora o sistema complemento para inibir a atividade dos leucócitos (Hajishengallis et al., 2011), e o consumo de carboidratos (Marsh, Moter, Devine, 2011; Rosier, Marsh, Mira, 2018) foram apontados como potenciais fatores na disbiose de biofilmes orais (Bowen et al., 2018).

O carboidrato mais consumido na dieta, a sacarose, é o mais associado a disbiose oral sobre titânio (Souza et al., 2019) e superfícies dentárias (Anderson et al., 2018). A matriz do biofilme também pode ser alterada por açúcares, que podem remodelar o microambiente local (Bowen et al., 2018). A clivagem da sacarose por exoenzimas bacterianas leva à síntese de exopolissacarídeos insolúveis como o glucano, um componente essencial da estrutura da matriz do biofilme (Oliveira, Cury, Ricomini Filho, 2017). Essas propriedades, garantem a esses biofilmes alta disponibilidade de nutrientes e baixa concentração de O₂ (Xiao et al., 2012). Este ambiente, com baixa reserva de oxigênio, propicia um microambiente adequado

para a proliferação de diversos microrganismos, incluindo patógenos anaeróbios estritos.

2.1.1. INTERAÇÃO ENTRE ESPÉCIES

A estrutura tridimensional e a composição de um biofilme formado em quaisquer nichos dentro da cavidade oral, incluindo mucosa, dentes, língua, superfície de implantes e materiais restauradores, podem ser moduladas por características desses diferentes microambientes (Seidel et al., 2020). Essas comunidades de biofilmes polimicrobianos incluem bactérias, fungos e espécies de *archaea* em contato próximo, proporcionando diversas oportunidades para interações físicas e metabólicas entre reinos e entre espécies distintas (Ghannoum et al., 2010).

É provável que essas interações polimicrobianas, célula-célula, afetem a composição da comunidade e possam modular o perfil microbiano. As mudanças aparecem em termos de resistência e capacidade de resiliência para promover um estado estacionário de comensalismo ou desencadear patogenicidade do biofilme no desenvolvimento de doenças (Diaz, Strausbaugh, Dongari-Bagtzoglou, 2014).

A interação microbiana em doenças biofilme-dependentes tem sido verificada na literatura (Souza et al., 2022). Entretanto, interações *Candida*-bactérias em biofilmes relacionados a doença peri-implantar ainda não estão claras. No contexto dos periodontopatógenos, tem sido relatada interação entre *C. albicans* e *P. gingivalis* por meio de proteínas específicas, as quais subsidiam co-agregação, aumentando a capacidade de invasão epitelial pelo biofilme (Sztukowska et al., 2018).

No que diz respeito às “espécies centrais” presentes na periodontite e peri-implantite, a interação entre reinos como de espécies de *Candida* e *Streptococcus* tem sido investigada; e alguns efeitos podem ser aplicados a infecções relacionadas a implantes (Souza et al., 2020), demonstrando, por exemplo, que espécies de *Streptococcus mitis* (*S. mitis*) formam biofilmes robustos, hipervirulentos e com sinergia patogênica com *C. albicans* (Bertolini et al., 2015).

No entanto, como as bactérias podem produzir numerosas moléculas de sinais químicos, é de extrema importância destacar que o resultado da interação *Candida*-bactéria para a promoção ou supressão da virulência e patogenicidade da

levedura não é apenas impulsionado pela comunicação entre reinos, mas também dependem da influência da condição ambiental, da carga e composição das comunidades microbianas e da resposta imunológica do hospedeiro.

Outro parâmetro importante que sugere que a *Candida* desempenha um papel nas infecções relacionadas com implantes é o efeito na matriz do biofilme (Bowen et al., 2018). *C. albicans* afetou positivamente a síntese de polímeros relacionados à matriz, o que melhorou a colonização por *Candida* em superfícies abióticas (Souza et al., 2020).

Assim, considerando o impacto direto da *Candida* no crescimento bacteriano e na síntese de polímeros extracelulares, parâmetros que levam à mudança microbiológica, este fungo pode ser visto como um importante fator potencializador da disbiose em biofilmes relacionados ao implante, com efeito no crescimento de bactérias e na virulência do biofilme, bem como seu efeito tecidual indireto na mucosa (Bertolini et al., 2019; Costa et al., 2020). Daí a importância das modalidades terapêuticas atuais para as doenças peri-implantares também precisarem considerar o efeito antifúngico (Souza et al., 2020).

2.1.2. MODELO POLOMICROBIANO

Nos últimos anos, uma variedade de modelos *in vitro* tem sido proposta para investigar potenciais interações entre os materiais dentários e os biofilmes orais. Dentre essa variedade de modelos *in vitro*, uma alternativa é o estudo de biofilmes polimicrobianos (também conhecidos como biofilmes “microcosmo”), entre os quais se destaca o modelo proposto por Sissons (1997). Neste modelo, a fonte de microrganismos para o crescimento do biofilme é a própria saliva e tem sido frequentemente usada (Sissons et al. 2007; Signori et al. 2016).

Biofilmes polimicrobianos formados *in vitro* de acordo com o protocolo sugerido por Sissons (1997) apresentam características semelhantes às dos biofilmes que crescem na cavidade oral, uma vez que a interação e a competição por nutrientes entre os microrganismos podem modular o seu comportamento, bem como a sua resposta aos agentes antimicrobianos (Farias et al., 2020).

Embora esses modelos sejam estáticos, os biofilmes gerados capturam grande parte das espécies e da diversidade funcional das amostras originais. Além disso, quando amostras de biofilme subgengival de pacientes saudáveis e daqueles

com periodontite foram usadas como inóculos, foram gerados biofilmes com uma grande semelhança com os biofilmes clínicos, com clara distinção entre os microbiomas derivados da saúde e da periodontite (Baraniya et al., 2020).

2.2. DOENÇAS PERI-IMPLANTARES

O tratamento com implantes dentários melhora significativamente a qualidade de vida dos pacientes pela restauração da função, da estética e da fonética. No entanto, apesar de altas taxas de sobrevivência dos implantes relatadas, chegando até a 93% em indivíduos periodontalmente tratados, um número crescente de pacientes está sofrendo de doenças peri-implantares (Kajimoto et al., 2024; Ciurescu et al., 2025).

Os valores da prevalência dessas doenças apresentam ampla variação devido a discrepâncias das definições de casos. Esta lacuna começará a ser preenchida, uma vez que o Workshop Mundial de Periodontologia, 2017, estabeleceu definições claras para as doenças peri-implantares, tanto para prática clínica quanto para estudos epidemiológicos e, dessa forma, em breve, ter-se-ão valores confiáveis para a prevalência das doenças peri-implantares

As doenças peri-implantares têm, de fato, se tornado um problema crescente ameaçando a estabilidade a longo prazo e a satisfação dos resultados clínicos da instalação de implantes. Dentre essas condições está a mucosite peri-implantar. A mucosite peri-implantar, considerada precursora da peri-implantite, é uma das complicações mais comuns causadas pela disbiose do microambiente peri-implantar na interface implante-mucosa (Zhou et al., 2022).

Notavelmente, a ocorrência de doenças peri-implantares está intimamente relacionada à colonização microbiana e à resposta do hospedeiro, como acontece com as doenças periodontais (Derks, Tomasi, 2015; Kajimoto et al., 2024., Ciurescu et al., 2025). A proliferação do biofilme nas superfícies dos implantes, sem sua remoção, leva à inflamação persistente, promovendo falhas no tratamento reabilitador (Arciola, Campoccia, Montanaro, et al., 2018).

A mucosite peri-implantar é caracterizada por um processo inflamatório confinado aos tecidos em torno do implante dentário, sem o comprometimento do suporte ósseo (Schwarz et al., 2018). Os critérios clínicos para a definição dessa condição são inflamação na mucosa peri-implantar e a ausência de perda óssea

peri-implantar marginal contínua. O sinal clínico de inflamação é sangramento à sondagem, enquanto sinais adicionais podem incluir eritema, edema e supuração (Heitz-Mayfield, Salvi, 2018).

Do ponto de vista microbiano, as espécies bacterianas envolvidas nesta doença são similares as que causam gengivite, tais como cocos, bacilos móveis e espiroquetas (Charalampakis, Belibasakis, 2015), com níveis mais elevados de *Actinomyces*, *Peptococcus*, *Campylobacter* e *Streptococcus* (Kumar et al., 2012). Estes resultados foram recentemente corroborados em uma revisão sistemática e por outros estudos (Retamal-Valdes et al., 2019; Kajimoto et al., 2024) que concluíram que existem mais semelhanças do que diferenças entre as espécies bacterianas que colonizam sítios peri-implantares e periodontais.

Já a peri-implantite é caracterizada por um processo inflamatório nos tecidos em torno do implante, comprometendo o suporte ósseo, de modo a prejudicar o processo de osteointegração (Schwarz et al., 2018). Do ponto de vista microbiológico, bactérias presentes neste tipo de biofilme são caracterizadas por bacilos gram-negativos aeróbios, anaeróbios facultativos, espécies anaeróbicas, *Staphylococcus* spp., *Tannerella forsythia*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium necrophorum*, *Campylobacter rectus*, aparecendo também entre os microrganismos a *Candida* spp (Charalampakis; Belibasakis, 2015; Yu et al., 2019; Kajimoto et al., 2024).

Sendo então essas condições consideradas “condições patológicas associadas ao biofilme”, os sinais clínicos de progressão delas também têm sido associados ao aumento das cargas microbianas, às alterações microbiológicas e à transição para um biofilme mais patogênico nas superfícies dos implantes dentários (Berglundh et al., 2018).

Dessa forma, sabendo que o sucesso a longo prazo das reabilitações com implantes dentários depende tanto da osseointegração quanto da estabilidade dos tecidos moles (Spriano et al., 2018) é crucial prevenir a formação e proliferação de biofilme nas superfícies reabilitadoras, assim como evitar/controlar fatores que possam levar à disbiose para prevenir ou minimizar a ocorrência de infecções polimicrobianas e danos nos tecidos.

No entanto, os fatores que influenciam a transição de um microbioma oral associado à saúde para um microbioma associado a doenças ainda não são totalmente compreendidos. Até o momento, acredita-se que componentes

multifatoriais estejam associados ao processo inflamatório, como má higiene bucal, falta de terapia de manutenção, consumo de carboidratos fermentáveis, liberação de partículas de titânio e até mesmo polímeros extracelulares de matriz de biofilme (Souza et al., 2022).

Do ponto de vista da reabilitação protética, em uma prótese dentária suportada por implante, a colonização microbiana começa nas áreas protéticas expostas ao ambiente oral, levando em consideração que a formação de biofilme depende do desenho protético, das condições da superfície e da microbiota oral parecendo depender dos mesmos fatores relacionados à formação da microbiota nos dentes naturais. Poucos estudos relataram a adesão de biofilmes orais em estruturas à base de zircônia, que tem sido um dos materiais mais utilizados para este fim (Souza et al., 2016). A zircônia, um material já amplamente utilizado na odontologia, apresenta diversas vantagens, principalmente por ser altamente biocompatível e com uma aparência esteticamente agradável (Tan et al., 2022).

Entretanto, nenhum dos materiais descritos (titânio e zircônia) é repulsivo à adesão microbiana em sua superfície, após introdução na cavidade oral, onde uma temperatura adequada e alta umidade favorecem a adesão de biofilmes complexos e organizados. Esses fatores, associados a outros já sugeridos nesta revisão, podem levar a uma disbiose na área peri-implantar podendo culminar na ocorrência de infecções peri-implantares, cuja etiologia é condicionada pela presença de biofilme entre o implante inserido e o tecido mole circundante (Vulovic et al., 2022).

2.2. CINAMALDEÍDO

Atualmente o digluconato de clorexidina (CHX) é o antimicrobiano mais utilizado para inibir a proliferação de microrganismos orais. Entretanto, as limitações deste agente englobam principalmente o manchamento dental e alterações gustativas (Shino et al., 2016).

Considerando esses efeitos adversos e com o objetivo de encontrar substâncias com ação em alvos moleculares mais específicos, tem se tentado investigar sobre outras moléculas e seus potenciais antimicrobianos (Freires et al., 2015; Kumar et al., 2018). Estas substâncias concentram-se em moléculas bioativas isoladas de produtos naturais, conhecidas como fitoconstituintes (de

Fátima Souto Maior et al., 2019; Taguchi et al., 2013). Suas vantagens incluem fontes abundantes (como frutas, sementes e vegetais), baixos níveis de citotoxicidade, alta diversidade química e especificidade bioquímica (He et al., 2019).

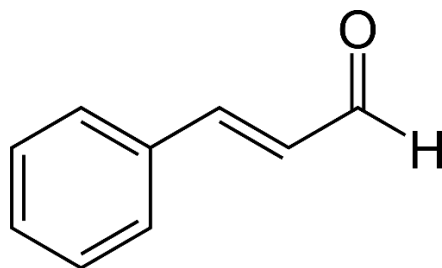
O cinamaldeído (Figura 1), um aldeído aromático β -insaturado, é o fitoconstituente mais importante presente no óleo extraído da casca da espécie *Cinnamomum cassia* (canela chinesa) (Wu et al., 2018; Ribeiro et al., 2018) muito utilizado como agente aromatizante e como condimento (Shreaz et al., 2016). Esta molécula, cuja descrição técnica pode ser vista no Quadro 1, é descrita como supressora da divisão celular bacteriana por meio da inibição da atividade de ATPases, inibição da biossíntese da parede celular e tem a capacidade de interferir na permeabilidade da membrana citoplasmática de bactérias e do fungo *C. albicans*, comprometendo assim a integridade celular (Jailani et al., 2022; Ali et al., 2021; de Fátima Souto Maior et al., 2019; Taguchi et al., 2013).

Apesar da atividade antimicrobiana ser a mais relatada para o cinamaldeído, a literatura também aponta outros efeitos como propriedades anti-inflamatórias, anti-cancer, anti-diabética, anti-oxidante, antiobesidade, anti-depressão, anti-úlceras e anti-viral (Friedman, 2017; Doyle; Stephens, 2018).

Quadro 1 – Descrição técnica do fitoconstituente cinamaldeído

Substância	Fórmula Química	Densidade	Peso molecular
Cinamaldeído	$C_6H_5CH=CHCHO$	1,050g/mL	132,16 g/mol

Figura 1 – Estrutura química do fitoconstituente cinamaldeído



Na área odontológica, alguns estudos disponíveis investigaram as propriedades biológicas do cinamaldeído contra bactérias como o *Streptococcus mutans* (Ribeiro et al., 2018; He et al., 2019; Balasubramanian et al., 2021; Jailani et al., 2022), *Porphyromonas gingivalis* (Gan et al., 2023); *Enterococcus faecalis* (Ali et al., 2021) e fungos (Bakhtiari et al., 2019; de Fátima Souto Maior et al., 2019; Choonharuangde et al., 2021; Martorano et al., 2021;), usando culturas planctônicas e outros modelos de biofilmes.

Ribeiro et al. (2018) avaliaram a ação antimicrobiana de alguns fitoconstituintes, entre eles o trans-cinamaldeído frente *S. mutans*, em cultura planctônica e biofilme. A atividade antibacteriana dos compostos foi avaliada pela determinação da concentração bactericida mínima (CBM). Dentre os fitoquímicos testados, o trans-cinamaldeído foi um dos mais efetivos contra *S. mutans* planctônicos, apresentando uma CBM de 1728µg/mL. No ensaio anti-biofilme, o trans-cinamaldeído também apresentou uma redução estatisticamente significativa (50%) na atividade metabólica do biofilme de *S. mutans*. Esses resultados levaram os pesquisadores a considerarem sua atividade antimicrobiana significativa para o controle de doenças infecciosas orais, uma vez que inibiu o crescimento do *S. mutans* planctônico quanto inativou significativamente o biofilme.

He et al. (2019), avaliaram a atividade antimicrobiana do cinamaldeído em biofilmes de *S. mutans*. Para tanto, foram realizadas algumas análises, dentre elas a concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM), determinação de biomassa e avaliação metabólica dos biofilmes. Os resultados mostraram uma CIM e uma CBM de 1000 e 2000µg/mL respectivamente. Também foi verificado que o cinamaldeído diminuiu a biomassa do biofilme e o metabolismo em concentrações sub-CIM. O cinamaldeído aumentou a hidrofobicidade da superfície celular, reduziu a agregação de *S. mutans*, inibiu a produção de ácido e a tolerância a ácidos nos outros testes avaliados. Os autores concluíram que o cinamaldeído, em nível sub-CIM, suprimiu a atividade microbiana no biofilme de *S. mutans* modulando a hidrofobicidade, agregação, produção de ácido, tolerância a ácido e expressão gênica de virulência.

Balasubramanian et al. (2021) investigaram os efeitos do trans-cinamaldeído (TC) e sua atividade sinérgica com clorexidina (CHX) e flúor contra *Streptococcus mutans*. O perfil de sinergia foi analisado usando o modelo Zero Interaction Potency. TC mostrou forte sinergismo com CHX, mas efeito aditivo com

fluoreto. TC inibiu significativamente a formação de biofilme dependente de sacarose e a produção de ácido por *S. mutans*. A análise do biofilme revelou uma diferença significativa na arquitetura de biofilmes não tratados e tratados. Dentre outros resultados, a biomassa do biofilme, a espessura média, o coeficiente de rugosidade dimensional, a razão entre área de superfície e volume e as distâncias de difusão foram analisadas e ficou evidente que os biofilmes de *S. mutans* não tratados eram mais espessos com maior biomassa do que o biofilme tratado. Assim, os autores puderam concluir que o TC potencializa CHX e fluoreto de sódio na inibição de biofilmes e virulência de *S. mutans* por meio de múltiplos mecanismos.

Gan et al. (2023), investigaram os efeitos antibacterianos e mecanismos moleculares do *trans*-cinamaldeído (TC) em *P. gingivalis*. Concentrações inibitórias mínimas e bactericidas mínimas (CIM e CBM) foram determinadas, e microscopias eletrônicas de varredura e transmissão foram usadas para avaliar as mudanças morfológicas. A biomassa geral foi estimada e a atividade metabólica dos biofilmes foi determinada em diferentes concentrações do fitoconstituente estudado. Os valores da CIM e da CBM foram 39,07 µg/mL e 78,13 µg/mL. Este estudo confirmou que o TC é um agente antimicrobiano natural contra *P. gingivalis*, inibindo sua proliferação e sobrevivência por suprimir a formação do biofilme e atividade metabólica.

Outros estudos têm avaliado a ação do cinamaldeído frente *Candida* (Bakhtiari et al., 2019; Martorano-Fernandes et al., 2021; Choonharuangdei et al., 2021). O tratamento da candidíase oral requer o uso de agentes antifúngicos tópicos ou sistêmicos como Nistatina Miconazol e Fluconazol. Apesar desses agentes antifúngicos serem amplamente utilizados, foi relatado que a aplicação intensiva de Nistatina, Miconazol e Fluconazol poderiam induzir a uma resistência medicamentosa a antifúngicos (Perlin, Rautemaa-Richardson, Alastruey-Izquierdo, 2017). Além disso, o sabor inadequado do enxaguatório bucal com nistatina, seu preparo e uso repetidos durante o dia levam à insatisfação dos pacientes. Portanto, a presença de enxaguatórios bucais com sabor agradável, uso mais fácil e efeito adequado parece necessária e motiva alguns pesquisadores em suas investigações. Dessa forma, Bakhtiari et al. (2019), investigaram a eficácia do cinamaldeído sobre as espécies *C. albicans* e *C. glabrata* e compararam com a nistatina por meio da determinação da CIM e da CFM. O extrato de cinamaldeído

na concentração de 62,5 µl/mL foi capaz de prevenir a proliferação de *C. albicans* e para os casos de *C. glabrata*, concentrações acima de 62,5 µl/mL, inibiram completamente o crescimento deste fungo.

Martorano-Fernandes et al. (2021) investigaram a atividade antifúngica de dois fitoconstituintes, um deles o cinamaldeído, como potencial limpador de prótese dentária, bem como o efeito do tratamento na mudança de cor de espécimes confeccionados a base de poli(metil)metacrilato (PMMA). Para avaliação, os autores utilizaram biofilmes de *C. albicans* formados sobre espécimes de PMMA e expostos a um tratamento diário por 10 minutos com cinamaldeído (10 mg/ mL). Análises de viabilidade celular (UFC/ mL), metabolismo celular (MTT) e rugosidade do biofilme foram realizadas. Os resultados do estudo mostraram que o cinamaldeído foi capaz de diminuir o número de células viáveis, quando comparado ao uso da solução salina (controle de crescimento), em 76% e o metabolismo do biofilme em aproximadamente 70%, sem alterar a cor da resina acrílica.

Choonharuangdej et al. (2021), determinaram a eficácia do óleo essencial de canela na erradicação do biofilme de *Candida albicans* em espécimes de PMMA polimerizados por calor e determinar se eles retardam a formação de biofilme fúngico. O efeito antifúngico foi determinado pelos métodos de disco difusão em ágar e microdiluição para determinação da CIM. A viabilidade do biofilme foi determinada pelo ensaio de XTT. A CIM em culturas planctônicas de *C. albicans* foi de 0,1 µL/mL. Em 8 vezes a concentração inibitória mínima, o óleo de canela (0,8 µL/mL) erradicou o biofilme fúngico pré-estabelecido em 99,0% em um tempo de exposição de 1 hora. Em contraste, altas concentrações de 8 e 16 vezes a concentração inibitória mínima de óleo de canela revestidos em espécimes de PMMA por 24 horas foi capaz de inibir a formação de biofilme fúngico em apenas aproximadamente 70,0%. Esses resultados mostraram que o óleo de canela pode eliminar biofilme pré-estabelecido de *C. albicans* e restringir a formação de biofilme fúngico em espécimes de PMMA polimerizados por calor.

Além dos tantos achados laboratoriais, são encontrados resultados clínicos promissores para o uso do cinamaldeído na área odontológica em pomadas e mucoadesivos (Alves et al., 2022; Molania et al., 2022). São encontrados também, estudos com resultados promissores que utilizam outros produtos naturais como o extrato de própolis para áreas de mucosite peri-implantar (Gonzalez-Serrano et al., 2021) ou da própolis vermelha em culturas planctônicas de espécies de *Candida*

em superfícies de titânio (Martorano-Fernandes, Cavalcanti, Almeida, 2020). Entretanto, não foram verificados relatos na literatura do uso do cinamaldeído, em modelo de biofilme polimicrobiano para mucosite-perimplantar (Yanakiev et al., 2020). Dessa forma, observa-se a necessidade de estudos que executem essa avaliação, justificando a realização do presente trabalho.

3.OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar, por meio de um estudo *in vitro*, a atividade antimicrobiana de um colutório experimental com cinamaldeído a 1% sobre a formação de biofilmes polimicrobianos, a partir da saliva de doadores com saúde periodontal e de doadores com gengivite, em superfícies de titânio e de zircônia que simulavam um implante com sua coroa protética

3.2. Objetivos específicos

- Quantificar as células viáveis presentes nos biofilmes expostos ao colutório experimental por meio da contagem do número das unidades formadoras de colônia (UFC);
- Quantificar a biomassa viável dos biofilmes após a exposição ao colutório experimental por meio do ensaio do cristal-violeta (CV);
- Determinar a atividade metabólica dos biofilmes expostos ao colutório experimental por meio do sal de metiltetrazolium (MTT);

4. ARTIGO

O manuscrito a seguir foi submetido para publicação no periódico Archives of Oral Biology e encontra-se em análise.

ANTIMICROBIAL EFFECT OF CINNAMALDEHYDE IN A PERI-IMPLANT MUCOSITIS MODEL

Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção^a

Maria Heloísa de Souza Borges-Grisi^a

Isis Moraes Bezerra Muniz^a

Francisco Naldo Gomes Filho^a

Camilla Freire de Brito Bastos^a

Luís Felliipe Alves Silva^a

Francisco Humberto Xavier-Júnior^a

Rodrigo Othávio de Assunção e Souza^b

Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida^{a*}

^aFederal University da Paraíba, João Pessoa, Brazil, 58051-900

^bFederal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil, 59056-000

*Corresponding author:

Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida

Department of Clinical and Social Dentistry-Federal University of Paraíba- Campus I, Cidade Universitária, João Pessoa, PB, Brazil. Zip Code 58051-900

leopoldinaalmeida@hotmail.com

Highlights

- Antimicrobial activity of the experimental cinnamaldehyde mouthwash was detected.
- Antimicrobial activity of the experimental cinnamaldehyde mouthwash was similar to chlorhexidine.
- Biomass and metabolic activity of the biofilms decreased.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the antimicrobial effect of an experimental mouthwash containing 1% cinnamaldehyde in a polymicrobial biofilm model for peri-implant mucositis.

Materials and Methods: Polymicrobial biofilms were seeded on zirconia (n=6/group) and on titanium (n=6/group) surfaces from stimulated saliva collection from 2 periodontal health donors and 2 with gingivitis. Salivary pellicle was performed, by 60 min. Inoculum was seeded (1×10^8 CFU/mL) in McBain medium, and biofilms on zirconia were cultured in aerobiosis and biofilms on titanium in microaerophilic conditions for 24h. Daily challenges with 10% sucrose were established. Samples were exposed to the experimental mouthwash for 1 minute, twice a day, for 72 hours. Chlorhexidine digluconate at 0.12% and saline solution (at 0.9%) were used as controls. Biofilms were kept in culture for an additional 24 hours to count viable cells, evaluate biomass and cellular metabolism.

Results: In zirconia, evaluation of cellular metabolism did not detect a statistically significant difference between the biofilm conditions ($p > 0.05$). It was found that cellular metabolism was decreased from exposure to mouthwash and chlorhexidine, with a difference compared to the negative control ($p < 0.05$). In titanium, viable cell count in two media and the biomass were higher for biofilms from the periodontal health salivary condition ($p < 0.05$). There was a decrease in the biomass of biofilms exposed to the experimental mouthwash for both salivary conditions. Metabolic activity was decreased when exposed to experimental mouthwash and chlorhexidine compared to the negative control ($p < 0.05$).

Conclusions: Experimental mouthwash with 1% cinnamaldehyde showed an antimicrobial effect similar to chlorhexidine against polymicrobial biofilms.

Keywords: Biofilm; Saliva; Titanium; Natural Products; Cinnamaldehyde.

INTRODUCTION

The gingiva and peri-implant mucosa are constantly challenged by the oral environment, especially by exposure to dental biofilm and its toxins (Araujo & Lindhe 2018). While biofilms that form on dental surfaces are the primary etiological factors of dental caries and/or periodontal diseases, biofilms that adhere to implant surfaces are harmful to the peri-implant mucosa and anchoring bone. The presence of peri-implant disease may be a key factor in the failure of oral rehabilitation (Gabriel et al., 2020).

The microbial succession that occurs following the formation of biofilms is a triggering factor for biofilm-dependent diseases, such as peri-implant diseases. Early colonizers may promote succession by more pathogenic microorganisms that increase the overall virulence of this peri-implant biofilm (Martorano-Fernandes et al., 2021; Schincaglia et al., 2017). This biofilm has characteristics such as proteolytic activity, associated with the presence of *Porphyromonas gingivalis*, gram negative and anaerobic bacteria. However, it can present saccharolytic species such as *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*, both gram positive and aerobics. In addition, the presence of *Candida albicans* (Jailani et al., 2022; Shreaz et al., 2016) may represent a synergistic character, allowing interactions between species, promoting an increase in EPS.

Non-surgical peri-implant therapy with mechanical disorganization of the biofilm and debridement of the affected surfaces is an important preventive and therapeutic strategy for the reversibility of the conversion of peri-implant mucositis into health and against the progression of peri-implant mucositis to peri-implantitis (Heitz-Mayfield & Salvi, 2018; Verardi & Fundo, 2014). Despite this, well-established biofilms behave in defiance of treatments, as they present a dense polymeric EPS that disturbs the penetration of antimicrobial substances and their mechanical disorganization. Thus, interfering with biofilm development during its early stages and attenuating bacterial pathogenicity are considered promising, innovative, and high-value strategies to avoid the therapeutic challenges associated with infections (Ali et al., 2021; Dudek-Wicher et al., 2022).

Additional therapy with antibiotics and antiseptics may be an indication within non-surgical treatment to help control biofilm especially in patients who have greater difficulty in reaching hard-to-reach areas, with chlorhexidine as the topical antimicrobial substance gold standard (Pitts et al., 2021; Poppolo God & Ouanounou, 2022). Considering the transition from peri-implant mucositis to peri-implantitis, the use of chlorhexidine at a

concentration of 0.12% as an adjuvant solution for abutment surfaces may reduce the stress factor, which is the accumulation of biofilm in this critical transition area between the prosthesis and the implant, possibly interfering with the progression of the disease.

However, in addition to the fact that the various side effects of chlorhexidine, such as tooth staining and taste changes in the mouth, are already known (Shino et al., 2016) recommendations for a treatment protocol with chemical agents for implant decontamination are still inconclusive (Herrera et al., 2023; Verardi & Fundo, 2014). Therefore, other substances such as extracts of natural origin and isolated molecules, the phytoconstituents, have been studied because they have distinct molecular targets and fewer side effects, with satisfactory effects against peri-implant biofilm (Gosau et al., 2010; Guimarães et al., 2019; Herrera et al., 2023; Verardi & Fundo, 2014).

Cinnamaldehyde is one of these promising substances, being the main phytoconstituent extracted from cinnamon (*Cinnamomum cassia*) (Doyle et al., 2019; Shreaz et al., 2016). Its main reported biological activity is its inhibitory effect on bacterial proliferation (Shreaz et al., 2016). Its inhibitory effects occur through inhibition of ATPase activity, inhibition of cell wall biosynthesis, and alteration of membrane structure and integrity (Ali et al., 2021; Jailani et al., 2022; Shreaz et al., 2016).

In the dental field, some available studies have investigated the antibiofilm properties of cinnamaldehyde against bacteria such as *Streptococcus mutans* (He et al., 2019; Ribeiro et al., 2018), *Porphyromonas gingivalis* (Gan et al., 2023) and fungi (Bakhtiari et al., 2019; Martorano Fernandes et al., 2021b) using planktonic cultures and other types of biofilm models that did not have the advantages of a polymicrobial model. The justification and relevance of this research lies in the perspective of finding promising therapeutic possibilities for peri-implant mucositis, based on a biofilm model that better simulates the clinical picture of a rehabilitated patient with this condition.

To this end, an *in vitro* study was used to evaluate the antimicrobial activity of an experimental mouthwash containing cinnamaldehyde on the formation of polymicrobial biofilms on rehabilitation surfaces (zirconia and titanium), using saliva from periodontal health donors and donors with gingivitis, in order to test the following hypothesis: “Is there a difference in the antimicrobial activity of the experimental mouthwash in the proposed biofilm model between the two groups of donors (healthy and gingivitis) from which the saliva was obtained?”

MATERIALS AND METHODS

Ethical Aspects

This study was approved by a local research ethics committee (CAAE 53719721.6.0000.5188) following Brazilian ethical standards (Resolution 466/12, National Health Council) and the Declaration of Helsinki.

Preparation of Titanium specimens

Specimens of commercially pure titanium type IV were used, in the dimensions of 1.3 x 0.2 cm. For the standardization of surface roughness, it was determined using a 3D Optical Profilometer (CCI MP Taylor Hobson Profilometer). The data were used for random allocation of specimens according to their roughness, excluding those with a value lower than 0.20 μm .

Preparation of Zirconia Specimens

Ultratranslucent zirconia discs (Katana Zirconia Block, Kuraray South America LTDA, São Paulo, Brazil) were obtained in the dimensions 4 x 4 x 4 mm. The surfaces were regularized with abrasive sandpaper with increasing grit (#600, #800, and #1200, 3M ESPE / Irvine, CA, USA). The sintering protocol followed the manufacturer's recommendations (temperature of 1550°C (2822°F) with a heating rate of 10°C/min (18°F/min.), cooling rate of -10°C/min (-18°F/min.) with a duration of 2 hours.

Collection of salivary samples

Salivary samples were collected from 2 periodontal health donors and 2 donors diagnosed with gingivitis without reduced periodontium (Chapple et al., 2018) using the stimulated saliva method (Justino et al., 2017). The exclusion criteria for donors were: age not between 18 and 25 years, systemic involvement, use of antimicrobials or mouthwashes in the last 2 months, presence of active dental caries lesions, smokers, being undergoing orthodontic treatment, and use of dental prosthesis.

For the differential diagnosis between gingival/periodontal health and gingivitis health statuses for the two groups of donors, the parameters of probing depth and bleeding at probing were considered, according to the new classification of periodontal and peri-implant diseases of 2018 (Chapple et al., 2018b).

These donors were evaluated for their oral condition and were instructed to collect the first saliva of the day in 50 mL tubes in the following 5 minutes after chewing a sample of Parafilm® (Sigma Aldrich-Merck KGaA, Darmstadt, Germany) for 5 minutes. After saliva collection, a *pool* of salivary samples (a *pool* of saliva from healthy donors and a *pool* of saliva from donors with gingivitis) was created. Part of the volume of the *pool* of the saliva of the periodontal health donors was diluted 1:1 in adsorption buffer (Lemos et al., 2010) and sterilized using a 0.22 µm filter system and stored at -20 °C, to be used in salivary pellicle formation. Another part of this collected volume was used in the formation of the inoculum for the proposed biofilm model. The entire volume collected from the saliva of donors with gingivitis was used in the formation of the inoculum for the gingivitis biofilm.

Formation of polymicrobial biofilm

Initially, the formation of salivary pellicle (filtered saliva) was induced on the zirconia and titanium surfaces, in aerobiosis for 60 minutes at 37°C. The preparation of the biofilm inoculum was performed from the unfiltered salivary *pool*, considering the cell density of 10⁸ CFU/mL. Two distinct biofilms were prepared: HB (saliva collected from donors with periodontal health) and GB (saliva collected from donors with gingivitis).

The biofilms were developed in McBain medium (Janus et al., 2015), supplemented with 10% filtered saliva. The biofilms on the titanium specimens were cultured on microaerophilia (at 37°C) and the biofilms on the zirconia specimens in aerobiosis, for 3 days (72 hours), simulating the supragingival condition, in which the culture medium was changed every 24 hours (Figure 1). On the 2nd and 3rd days, biofilms were exposed to 10% sucrose solution 3 ×/day (5 min each). Exposure to sucrose was used to simulate carbohydrate intake and to stimulate biofilm formation. The change of means was carried out at each challenge. During this step, no microorganisms were added to the samples (Souza et al., 2018).

Preparation of the experimental mouthwash

Cinnamaldehyde (Sigma Aldrich-Merck® KGaA, Darmstadt, Germany) at 10% was used as a test substance. The technical specifications of the phytoconstituent are shown in Table 1.

Cinnamaldehyde was prepared in a microemulsion system, which was performed using the cold emulsification method. 10% cinnamaldehyde was used as the oil, Kolliphor

(Wang et al., 2023)[®] ELP (4%) as the lipophilic surfactant and Pluronic[®] F-68 (4%) as the hydrophilic surfactant. The components of the formulation were separated into the oily and aqueous phases, considering their respective degrees of lipophilicity. The oil phase was composed of 10% cinnamaldehyde and 4% Kolliphor[®] ELP. The aqueous phase was composed of a solution of Pluronic[®]F-68 at a concentration of 4%. These percentages are correlated to the total mass of the formulation (Table 2).

For preparation of the mouthwash, a microemulsion diluted in a mouthwash base in a ratio of 1:10 (formulation: base) was used (Table 3).

Exposure to the experimental mouthwash

After 72-hour incubation period of the biofilm, the culture medium was replaced, and the specimens were exposed to the experimental mouthwash for 1 minute. These exposures were performed 2x/day, with an interval of 6 hours between them, for 3 days, mimicking the effect of a possible chemical agent in the oral cavity. After exposure, the samples were washed with saline solution (0.9%) 2 times, and then a new aliquot of McBain medium supplemented with saliva was inserted, without additional of inoculum. After the last exposure, the plates were incubated for an additional 24 hours, and then the proposed tests were performed (Figure 2). Alcohol-free 0.12% chlorhexidine digluconate (Periogard[®]- New York, USA) was used as the positive control, and saline solution (0.9% NaCl) was used as the negative control.

Quantification of viable cells

To determine the number of viable cells, the specimens were transferred to tubes containing 1.0 mL of sterile 0.9% saline solution, subjected to shaking for 60 seconds, followed by serial dilution of the aliquots, to determine the number of viable microorganisms (10^0 to 10^{-5}). Aliquots of 10 μ l of each serial dilution were seeded on plates with different culture media.

ASD culture medium was used for quantification of *Candida* and MSA medium was used for streptococci of the *mitis* group and streptococci of the *mitis-mutans* subgroup. Total microorganism counts were performed on plates with BHI medium. After sowing, the plates were incubated at 37°C for 24 hours in an aerobic atmosphere (ASD and BHI). The samples seeded in MSA medium were incubated in a microaerophilic environment by the

sail technique. The amount of viable microorganisms was expressed in Log₁₀CFU/mL. Analyses were performed in triplicate, so that for this test an n=6 was reached.

Total Biomass Quantification

The biomass quantification was performed by the violet crystal method. The culture medium was removed, and the samples were dried for 60 minutes at 45°C. 500 µL of 0.5% violet crystal (Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema, SP, Brazil) was inserted into an aqueous solution, followed by stirring for 30 minutes. The dye was removed, and three successive washes were performed with 0.9% saline solution, and then 600µL of 33% acetic acid was added to dilute the dye. The result of this chemical reaction was determined by spectrophotometry at 595 nm. Analyses were performed in triplicate, so that for this test an n=6 was reached.

Biofilm Metabolic Analysis

After the incubation period, the culture medium was removed, and 10% methyltetrazolium salt (MTT-5mg/mL) was added to the McBain medium. The specimens were incubated for 3 hours at 37 °C in the presence of MTT salt, and the system was protected from light. Afterwards, the medium was removed, and acid isopropanol was inserted, and the homogenization of the samples was performed. The supernatant was removed and absorbance determined at 570 nm. The absorbance values obtained were used absolutely. Analyses were performed in triplicate, so that for this test an n=8 was reached for titanium and an n=6 for zircônia.

Data analysis

The sample size was based on previous pilot studies.

The tabulation and statistical analysis of the collected data were performed using the Jamovi[®] Software (version 2.8-Sydney, Australia). Normality was determined by the Shapiro-Wilk test and homoscedasticity by the Levene test. Thus, according to the normality of the data obtained, the test used was Kruskal-Wallis, complemented by Mann-Whitney or DSCF test. The level of significance adopted for this study was 5%.

RESULTS

Evaluating the antimicrobial effect of the experimental mouthwash with 1% cinnamaldehyde, the results will be presented in two sessions, considering the abiotic surface.

TITANIUM

It was found that the count of yeasts of the genus *Candida* in the biofilm seeded on titanium surfaces (Figure 3) did not show differences in the comparison between biofilms from saliva of periodontal health individuals or those diagnosed with gingivitis ($p>0.05$). In addition, there were no differences in exposure to the experimental mouthwash and positive and negative control groups ($p>0.05$).

The total aerobic microorganism count verified in BHI medium (Figure 4) was higher in biofilms seeded from the salivary collection of periodontal health individuals ($p<0.05$). However, there were no differences regarding the effect of the solutions ($p>0.05$).

Regarding the count in the medium, MSA, it was found that the biofilm from patients with periodontal health had a higher CFU count (Figure 5). Regarding the effect of the solutions, there were no differences in them ($p>0.05$).

Regarding the biomass evaluation, using the violet crystal test (Figure 6), it was found that the biofilms from the saliva of individuals with periodontal health presented higher biomass ($p<0.05$), as well as those subjected to exposure to the negative control ($p<0.05$). It was also observed that there was a decrease in the biomass of the biofilms submitted to the experimental mouthwash in both salivary conditions.

In the evaluation of cell metabolism performed by MTT assay (Figure 7), it was observed for the biofilms from the saliva of individuals with gingivitis a higher metabolic activity ($p<0.05$), which was also observed for the negative control groups. It could also be observed that for the biofilms of both salivary conditions, there was a decrease in metabolic activity in the face of exposure to the experimental mouthwash and chlorhexidine, with a statistically significant difference in comparison to the negative control ($p<0.05$).

ZIRCONIA

Regarding the biofilms seeded on zirconia surfaces, it was found that no statistically significant differences were detected between the biofilm conditions or between the

solutions ($p>0.05$), with no differences for the CFU/mL count (Figures 8, 9 and 10), nor for the evaluation of the biomasses (Figure 11) of the microorganisms evaluated.

Regarding the evaluation of cell metabolism, no statistically significant differences were detected between the biofilm conditions ($p>0.05$). On the other hand, it was found that cell metabolism was decreased from exposure to mouthwash and chlorhexidine (Figure 12), with a difference in comparison to the negative control ($p<0.05$).

DISCUSSION

This study evaluated, *in vitro*, the antimicrobial effect of an experimental mouthwash with 1% cinnamaldehyde in a polymicrobial biofilm model of peri-implant mucositis, from the saliva of healthy donors and donors with gingivitis. Characterization and use of this experimental model were due to the need to simulate a peri-implant mucositis, with the titanium and zirconia surfaces simulating an implant with its prosthetic crown, mimicking a prosthetic rehabilitation on an implant. However, it is worth noting that it was not the objective of this study to use the type of surface as a variable, so there is no comparison between them.

Polymicrobial biofilms are models that are rarely used to evaluate the antimicrobial effect of products of natural origin, such as cinnamaldehyde, due to its complexity (Didehdar et al., 2022). Recent study has shown that polymicrobial biofilms formed *in vitro* according to the protocol suggested have characteristics similar to those of biofilms that grow in the oral cavity, since the interaction and competition for nutrients between microorganisms can modulate their behavior, as well as their response to antimicrobial agents (Farias et al., 2020).

Although these models are static, the generated biofilms capture a large part of the species and functional diversity of the original samples. Furthermore, when subgingival biofilm samples from healthy patients and those with periodontitis were used as inocula, biofilms with great similarity to clinical inocula were generated, with a clear distinction between health-derived and periodontitis-derived microbiomes (Baraniya et al., 2020).

Still on the methodological aspects, it is worth noting that the experimental model used in this study used a daily cariogenic challenge, with exposure to sucrose. This factor makes the environment conducive to the metabolism of many microorganisms that are fundamental in the formation and establishment of oral bacterial biofilms (Bowen et al., 2018; Carinci et al., 2019; Cenci et al., 2009; Santos et al., 2019; Sissons et al., 1991).

Studies evaluating the antimicrobial effect and even other actions of this phytoconstituent have been published. However, many of these studies evaluate the potential of this molecule by determining the MIC against planktonic cultures or in mono- or duospecies biofilms models. Although these data are important, caution is needed when comparing this information with that of studies evaluating the antimicrobial effect on a developed biofilm as in the present study (Bakhtiari et al., 2019; Doyle & Stephens, 2019; Friedman, 2017; Gan et al., 2023; He et al., 2019; Martorano -Fernandes et al., 2021; Ribeiro et al., 2018).

In addition, as many methodological differences are found in studies evaluating the antimicrobial activity of cinnamaldehyde, the MIC values found have presented different values (Ali et al., 2021; Balasubramanian et al., 2021; de Fátima Souto Maior et al., 2019; He et al., 2019; Ribeiro et al., 2018). In this study, cinnamaldehyde was used at a concentration of 1% (10mg/mL). This choice was based on previous research (data not yet published) by the research group involved in this work.

Regarding the results found, the experimental mouthwash used did not significantly affect cell viability, considering the gingival condition when counting the microorganisms evaluated. This discrete activity of the mouthwash on cell viability may be related to the culture conditions employed, such as the daily cariogenic challenge, since the matrix becomes thicker and more compact, making it difficult for the antimicrobial to act (He et al., 2019). On the other hand, although no statistical difference was demonstrated, there was a reduction in the cell viability of yeasts of the genus *Candida* and total microorganisms when compared to chlorhexidine, results similar to those found in other studies (Bakhtiari et al., 2019; Martorano-Fernandes et al., 2021b).

Although chlorhexidine has its antimicrobial nature established in the literature as the gold standard, the results obtained in this study for this substance in MSA medium were similar to the results of the negative control. However, it is noteworthy that under the conditions of the present study, in which there is a polymicrobial and mature biofilm, there is less efficacy of the treatments (Jeyakumar et al., 2020), so that their properties become limited. This result may be linked to the time of biofilm cultivation. Mature biofilms have an extensive variety of microorganisms, thick architecture, well-developed water channels, as well as proteins and exopolysaccharides, which hinder the diffusion of antimicrobial substances into the matrix (Balasubramanian et al., 2021). Perhaps the substances used in this study could have had a better effect in a shorter evaluation time.

Regarding the quantification of biomass and the evaluation of cell metabolism, the experimental mouthwash significantly reduced these parameters in a similar way to chlorhexidine. These results corroborate other studies that also confirmed that cinnamaldehyde attenuated the formation of biofilms and reduced the metabolic activity of viable microorganisms when their concentration increased (Choonharuangdej et al., 2021; He et al., 2019; Ribeiro et al., 2018).

This study was the first to provide experimental evidence of the promising effect of this phytoconstituent in this type of biofilm model, contributing to the investigation of alternative, preventive and therapeutic strategies for the control of peri-implant biofilm. Although this effect was evaluated in a model for dental caries, in this study, it was evaluated for peri-implant mucositis, since it is not found in the literature (Jeong et al., 2021).

The use of cinnamaldehyde in another form of presentation, in microemulsion, is also a strong point of this study. Micro and nanoemulsions allow greater availability of bioactive molecules and better solubility, and these factors must be considered, since low stability and bioavailability of the molecule interfere with the action (Jailani et al., 2022). Thus, the current study tried to overcome the challenge of cinnamaldehyde, which is its hydrophobicity, which hinders its availability in biofilms.

In summary, the results of the present investigation demonstrate that the experimental mouthwash studied in the biofilm model used presents a promising antimicrobial effect similar to that of chlorhexidine, mainly related to the decrease of biomass and cellular metabolism, suggesting its potential use as a mouthwash in the prevention of peri-implant mucositis.

The main limitation of this study is that it only provides *in vitro* evidence. Another limitation is the failure to perform cytotoxicity tests for 1% cinnamaldehyde. Thus, although promising, the effect and safety of this treatment strategy need to be further explored through complementary *in vitro* studies. To advance in this field, it is suggested to evaluate the cytotoxic effect of the phytoconstituent on the oral mucosa, in addition to conducting animal and clinical studies, considering the complexity of the peri-implant biofilm. Thus, there will be more evidence on the use of phytoconstituents in the chemical control of biofilm as an adjuvant to peri-implant therapy.

CONCLUSION

The experimental mouthwash with 1% cinnamaldehyde showed an antimicrobial effect against polymicrobial biofilms developed from the saliva of healthy donors with gingivitis in a model of peri-implant mucositis. This effect was similar to that of chlorhexidine.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest related to the present work.

Author Contributions

VCSCA: Conceptualization of the work, conducting laboratory experiments, writing the original article and subsequent revisions.

MHSB: Conducting laboratory experiments.

IMBM: Conducting laboratory experiments.

CFBB: Conducting laboratory experiments.

LFAS: Development of the substances tested.

FHXJ: Development of the substances tested.

ROAS: Development of the substances tested.

LFDA: Conceptualization of the work, performance of laboratory experiments, analysis and interpretation of data, critical review and approval of the manuscript.

Funding

Internal Call for Research Productivity PROPESQ/PRPG/UFPB N° 03/2020 - PVG13277-2020.

Acknowledgments

The authors are thankful to NUMETROP (Tropical Medicine Center) and to BioTechFarm (Pharmaceutical Biotechnology Laboratory).

REFERENCES

- Ali, I. A. A., Matinlinna, J. P., Lévesque, C. M., & Neelakantan, P. (2021). Trans-cinnamaldehyde attenuates enterococcus faecalis virulence and inhibits biofilm formation. *Antibiotics*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060702>
- Araujo, M. G., & Lindhe, J. (2018). Peri-implant health. *Journal of Periodontology*, 89, S249–S256. <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0424>
- Bakhtiari, S., Jafari, S., Taheri, J. B., Kashi, T. S. J., Namazi, Z., Iman, M., & Poorberafeyi, M. (2019). The effects of cinnamaldehyde (Cinnamon derivatives) and nystatin on candida albicans and candida glabrata. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(7), 1067–1070. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.245>
- Balasubramanian, A. R., Vasudevan, S., Shanmugam, K., Lévesque, C. M., Solomon, A. P., & Neelakantan, P. (2021). Combinatorial effects of trans-cinnamaldehyde with fluoride and chlorhexidine on Streptococcus mutans. *Journal of Applied Microbiology*, 130(2), 382–393. <https://doi.org/10.1111/jam.14794>
- Baraniya, D., Naginyte, M., Chen, T., Albandar, J. M., Chialastri, S. M., Devine, D. A., Marsh, P. D., & Al-hebshi, N. N. (2020). Modeling Normal and Dysbiotic Subgingival Microbiomes: Effect of Nutrients. *Journal of Dental Research*, 99(6), 695–702. <https://doi.org/10.1177/0022034520902452>
- Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2018). Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. In *Trends in Microbiology* (Vol. 26, Issue 3, pp. 229–242). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>
- Carinci, F., Lauritano, D., Bignozzi, C. A., Pazzi, D., Candotto, V., de Oliveira, P. S., & Scarano, A. (2019). A new strategy against peri-implantitis: Antibacterial internal coating. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16). <https://doi.org/10.3390/ijms20163897>
- Cenci, M. S., Pereira-Cenci, T., Cury, J. A., & Ten Cate, J. M. (2009). Relationship between gap size and dentine secondary caries formation assessed in a microcosm biofilm model. *Caries Research*, 43(2), 97–102. <https://doi.org/10.1159/000209341>
- Chapple, I. L. C., Mealey, B. L., Van Dyke, T. E., Bartold, P. M., Dommisch, H., Eickholz, P., Geisinger, M. L., Genco, R. J., Glogauer, M., Goldstein, M., Griffin, T. J., Holmstrup, P., Johnson, G. K., Kapila, Y., Lang, N. P., Meyle, J., Murakami, S., Plemons, J., Romito, G. A., ... Yoshie, H. (2018a). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89, S74–S84. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0719>
- Chapple, I. L. C., Mealey, B. L., Van Dyke, T. E., Bartold, P. M., Dommisch, H., Eickholz, P., Geisinger, M. L., Genco, R. J., Glogauer, M., Goldstein, M., Griffin, T. J., Holmstrup, P., Johnson, G. K., Kapila, Y., Lang, N. P., Meyle, J., Murakami, S., Plemons, J., Romito, G.

- A., ... Yoshie, H. (2018b). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89, S74–S84. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0719>
- Choonharuangdej, S., Srithavaj, T., & Thummawanit, S. (2021). Fungicidal and inhibitory efficacy of cinnamon and lemongrass essential oils on *Candida albicans* biofilm established on acrylic resin: An in vitro study. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 125(4), 707.e1-707.e6. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.12.017>
- de Fátima Souto Maior, L., Maciel, P. P., Ferreira, V. Y. N., de Lima Gouveia Dantas, C., de Lima, J. M., Castellano, L. R. C., Batista, A. U. D., & Bonan, P. R. F. (2019). Antifungal activity and Shore A hardness of a tissue conditioner incorporated with terpinen-4-ol and cinnamaldehyde. In *Clinical Oral Investigations* (Vol. 23, Issue 7, pp. 2837–2848). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02925-w>
- Didehdar, M., Chegini, Z., Tabaeian, S. P., Razavi, S., & Shariati, A. (2022). Cinnamomum: The New Therapeutic Agents for Inhibition of Bacterial and Fungal Biofilm-Associated Infection. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.930624>
- Doyle, A. A., Krämer, T., Kavanagh, K., & Stephens, J. C. (2019). Cinnamaldehydes: Synthesis, antibacterial evaluation, and the effect of molecular structure on antibacterial activity. *Results in Chemistry*, 1. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2019.100013>
- Doyle, A. A., & Stephens, J. C. (2019). A review of cinnamaldehyde and its derivatives as antibacterial agents. In *Fitoterapia* (Vol. 139). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104405>
- Dudek-Wicher, R., Junka, A. F., Migdał, P., Korzeniowska-Kowal, A., Wzorek, A., & Bartoszewicz, M. (2022). The antibiofilm activity of selected substances used in oral health prophylaxis. *BMC Oral Health*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02532-4>
- Farias, A. L. de, Carvalho, L. P. F. de, Méndez, D. A. C., Cruvinel, T., & Brighenti, F. L. (2020). Characterization of polymicrobial biofilms obtained from saliva or carious lesions in dentin. *Biofouling*, 36(7), 877–887. <https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1826454>
- Friedman, M. (2017). Chemistry, Antimicrobial Mechanisms, and Antibiotic Activities of Cinnamaldehyde against Pathogenic Bacteria in Animal Feeds and Human Foods. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 65, Issue 48, pp. 10406–10423). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04344>
- Gabriel, J., Souza, S., Bertolini, M., Thompson, A., Adelino, V., Barão, R., & Dongari-Bagtzoglou, A. (2020). *Biofilm Interactions of Candida albicans and Mitis Group Streptococci in a Titanium-Mucosal Interface Model*. <https://doi.org/10.1128/AEM>

- Gan, N., Fang, Y., Weng, W., Jiao, T., & Yu, W. (2023). Antibacterial effects and microarray-based molecular mechanisms of trans-cinnamaldehyde against *Porphyromonas gingivalis*. *Heliyon*, 9(12). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23048>
- Gosau, M., Hahnel, S., Schwarz, F., Gerlach, T., Reichert, T. E., & Bärgers, R. (2010). Effect of six different peri-implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clinical Oral Implants Research*, 21(8), 866–872. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01908.x>
- Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. (2019). Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 24(13). <https://doi.org/10.3390/molecules24132471>
- He, Z., Huang, Z., Jiang, W., & Zhou, W. (2019). Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde on *Streptococcus mutans* Biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02241>
- Heitz-Mayfield, L. J. A., & Salvi, G. E. (2018). Peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, S237–S245. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12953>
- Herrera, D., Berglundh, T., Schwarz, F., Chapple, I., Jepsen, S., Sculean, A., Kebschull, M., Papapanou, P. N., Tonetti, M. S., Sanz, M., Aimetti, M., Blanco, J., Bostanci, N., Bouchard, P., Božić, D., Buduneli, N., Calciolari, E., Carra, M. C., Cosgarea, R., ... Wilensky, A. (2023). Prevention and treatment of peri-implant diseases—The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 50(S26), 4–76. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13823>
- Jailani, A., Kalimuthu, S., Rajasekar, V., Ghosh, S., Collart-Dutilleul, P. Y., Fatima, N., Koo, H., Solomon, A. P., Cuisinier, F., & Neelakantan, P. (2022). Trans-Cinnamaldehyde Eluting Porous Silicon Microparticles Mitigate Cariogenic Biofilms. *Pharmaceutics*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071428>
- Janus, M. M., Keijser, B. J. F., Bikker, F. J., Exterkate, R. A. M., Crielaard, W., & Krom, B. P. (2015). In vitro phenotypic differentiation towards commensal and pathogenic oral biofilms. *Biofouling*, 31(6), 503–510. <https://doi.org/10.1080/08927014.2015.1067887>
- Jeong, Y. J., Kim, H. E., Han, S. J., & Choi, J. S. (2021). Antibacterial and antibiofilm activities of cinnamon essential oil nanoemulsion against multi-species oral biofilms. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85375-3>
- Jeyakumar, J., Sculean, A., & Eick, S. (2020). Anti-biofilm Activity of Oral Health-care Products Containing Chlorhexidine Digluconate and Citrox. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 18(1), 981–990. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a45437>
- Justino, A. B., Teixeira, R. R., Peixoto, L. G., Jaramillo, O. L. B., & Espindola, F. S. (2017). Effect of saliva collection methods and oral hygiene on salivary biomarkers. *Scandinavian*

Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 77(6), 415–422.
<https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1334261>

Lemos, J. A., Abranches, J., Koo, H., Marquis, R. E., & Burne, R. A. (2010). Protocols to study the physiology of oral biofilms. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 666, 87–102. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-820-1_7

Martorano Fernandes, L., Lacerda, M. C., Cavalcanti, Y. W., & Almeida, L. de F. D. de. (2021). Cinnamaldehyde and α -terpineol inhibit the growth of planktonic cultures of *Candida albicans* and non *albicans*. *Research, Society and Development*, 10(10), e554101019027. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.19027>

Martorano-Fernandes, L., Rodrigues, N. C., Bezerra, N. V. F., Borges, M. H. de S., Cavalcanti, Y. W., & Almeida, L. de F. D. de. (2021). Cinnamaldehyde and α -terpineol as an alternative for using as denture cleansers: antifungal activity and acrylic resin color stability. *Research, Society and Development*, 10(3), e28010313512. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13512>

Pitts, N. B., Twetman, S., Fisher, J., & Marsh, P. D. (2021). Understanding dental caries as a non-communicable disease. *British Dental Journal*, 231(12), 749–753. <https://doi.org/10.1038/s41415-021-3775-4>

Poppolo Deus, F., & Ouanounou, A. (2022). Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. In *International Dental Journal* (Vol. 72, Issue 3, pp. 269–277). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.01.005>

Ribeiro, M., Malheiro, J., Grenho, L., Fernandes, M. H., & Simões, M. (2018). Cytotoxicity and antimicrobial action of selected phytochemicals against planktonic and sessile *Streptococcus mutans*. *PeerJ*, 2018(6). <https://doi.org/10.7717/peerj.4872>

Santos, D. M. S. dos, Pires, J. G., Braga, A. S., Salomão, P. M. A., & Magalhães, A. C. (2019). Comparison between static and semidynamic models for microcosm biofilm formation on dentin. *Journal of Applied Oral Science*, 27. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0163>

Schincaglia, G. P., Hong, B. Y., Rosania, A., Barasz, J., Thompson, A., Sobue, T., Panagakos, F., Burleson, J. A., Dongari-Bagtzoglou, A., & Diaz, P. I. (2017). Clinical, Immune, and Microbiome Traits of Gingivitis and Peri-implant Mucositis. *Journal of Dental Research*, 96(1), 47–55. <https://doi.org/10.1177/0022034516668847>

Shino, B., Peedikayil, F. C., Jaiprakash, S. R., Ahmed Bijapur, G., Kottayi, S., & Jose, D. (2016). Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on *Candida albicans* Isolated in Children with Early Childhood Caries: An in Vitro Study. *Scientifica*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7061587>

Shreaz, S., Wani, W. A., Behbehani, J. M., Raja, V., Irshad, M., Karched, M., Ali, I., Siddiqi, W. A., & Hun, L. T. (2016). Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of

antifungal agents. In *Fitoterapia* (Vol. 112, pp. 116–131). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.05.016>

Sissons, C., Cutress, T., Hoffman, M., & Wakefield, Js. (1991). A Multi-station Dental Plaque Microcosm (Artificial Mouth) for the Study of Plaque Growth, Metabolism, pH, and Mineralization. In *J Dent Res* (Vol. 70, Issue 11).

Souza, J. G. S., Lima, C. V., Costa Oliveira, B. E., Ricomini-Filho, A. P., Faveri, M., Sukotjo, C., Feres, M., Del Bel Cury, A. A., & Barão, V. A. R. (2018). Dose-response effect of chlorhexidine on a multispecies oral biofilm formed on pure titanium and on a titanium-zirconium alloy. *Biofouling*, 34(10), 1175–1184.
<https://doi.org/10.1080/08927014.2018.1557151>

Verardi, G., & Fundo, P. (2014). *UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO AÇÃO ANTIBACTERIANA DE ANTISSEPTICOS FRENTE A BIOFILME FORMADO POR MICROCOSMO EM SUPERFÍCIES DE TITÂNIO.*

Wang, Y., Geng, M., Zhang, X., Yan, M., Sun, L., & Zhao, Q. (2023). Preparation of lutein nanoemulsion by ultrasonic homogenization method: Stability and in vitro anti-inflammatory activity. *Algal Research*, 73, 103154.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103154>

TABLES

Table 1-Technical description of the phytoconstituent cinnamaldehyde.

Substance	Chemical formula	Density	Molecular weight
Cinnamaldehyde	C ₆ H ₅ CH=CHCHO	1.050g/mL	132.16 g/mol

Table 2-Composition of the system with cinnamaldehyde in microemulsion.

	OILY PHASE		AQUEOUS PHASE
	Cinnamaldehyde	Kolliphor [®]	Pluronic [®]
CE 10	200mg (10%)	80mg (4%)	1720uL (4%)

Table 3 - Basis for experimental mouthwash

SUBSTANCE	CONCENTRATION
Sodium Benzoate	0,1%
Saccharin	0,75%
Propylene glycol	15,0%
Poloxamer 407	0,5%
Sodium Hydroxide 20%	q.s.p. pH 6,3
Disodium Edta	0,05%
DMSO	0,1%
H ₂ O q.s.p.	100,0mL

FIGURES

Fig.1: Experimental design of a polymicrobial biofilm model. Biofilm was developed to simulate a supragingival condition. After the formation of the salivary film (stimulated filtered human saliva) on titanium discs and zirconia blocks for 60 min in aerobiosis, the inoculum was prepared from the unfiltered salivary *pool*. Biofilms were developed for 72 hours (supragingival phase) in McBain medium supplemented with 10% filtered human saliva. Biofilms were exposed to 10% sucrose solution 3x/day, 5min each (2nd and 3rd days), with medium change at each challenge.

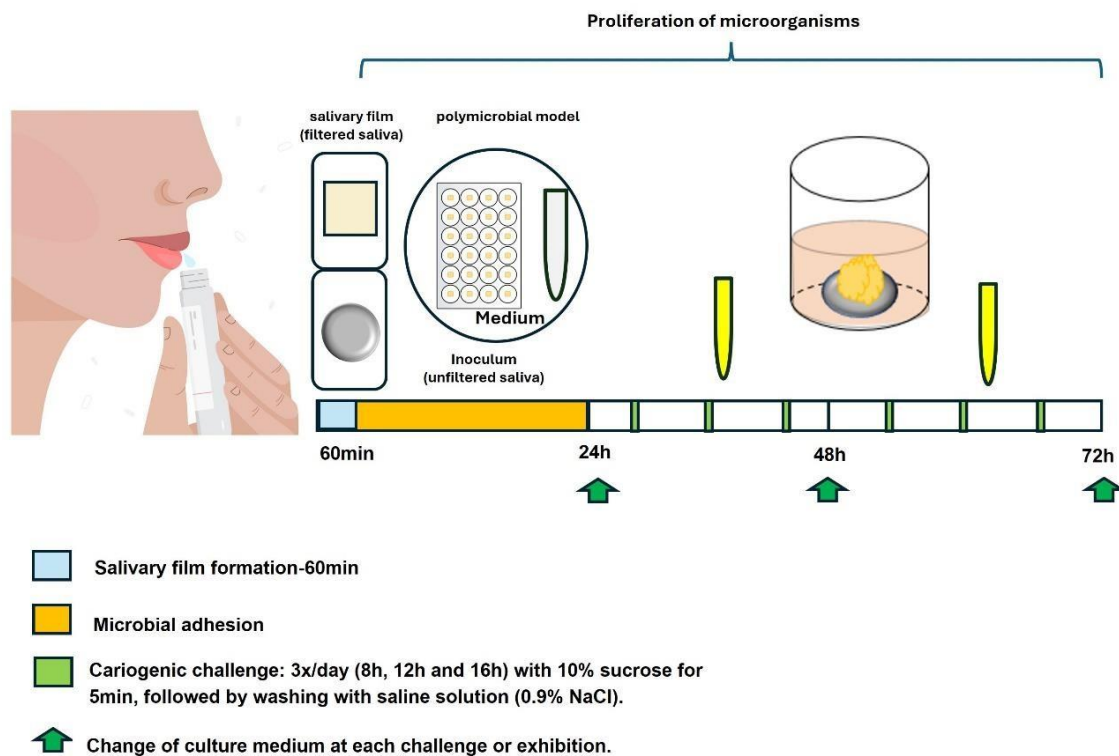


Fig.2: Experimental design of a polymicrobial biofilm model. Biofilm was developed to simulate a supragingival condition. After formation of the salivary film (stimulated filtered human saliva) on titanium discs and zirconia blocks for 60 min in aerobiosis, the inoculums were prepared from the unfiltered salivary *pool*. Biofilms were developed for 72 hours (supragingival phase) in McBain medium supplemented with 10% filtered human saliva. Biofilms were exposed to 10% sucrose solution 3x/day, 5min each (2nd and 3rd days), with medium change at each challenge. After 72 hours, the biofilms were exposed to the experimental mouthwash for 1 min 2x/day (for another 72 hours). After a final incubation of another 24 hours (completing 168 hours), tests were performed.

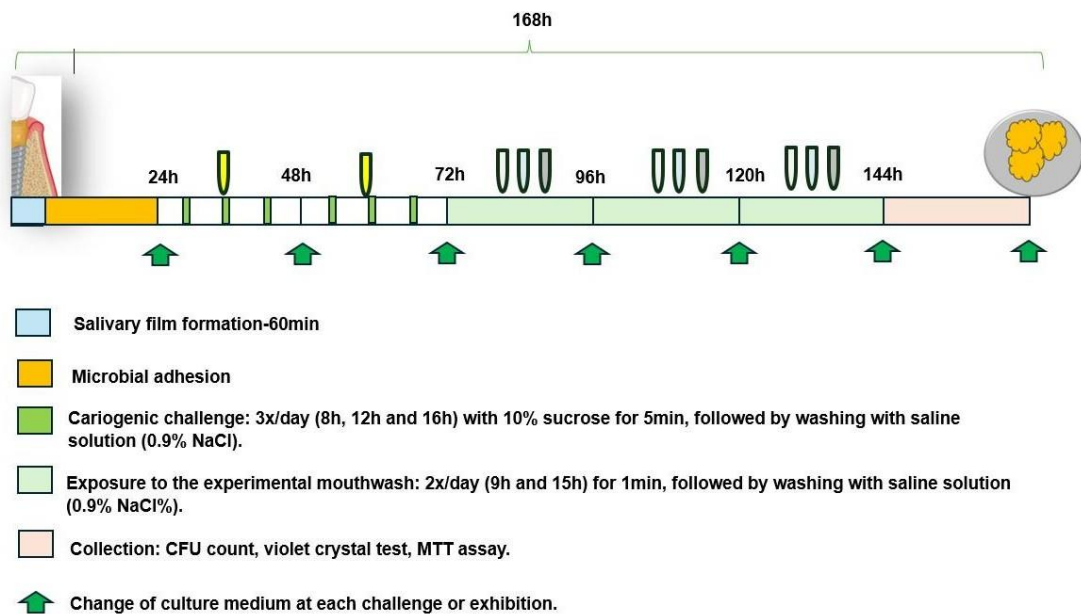


Fig.3 – Count of viable cells of the biofilms ($\text{Log}_{10}\text{CFU/mL}$) in ASD medium for quantification of yeasts of the genus *Candida* in titanium. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, $n=6$. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

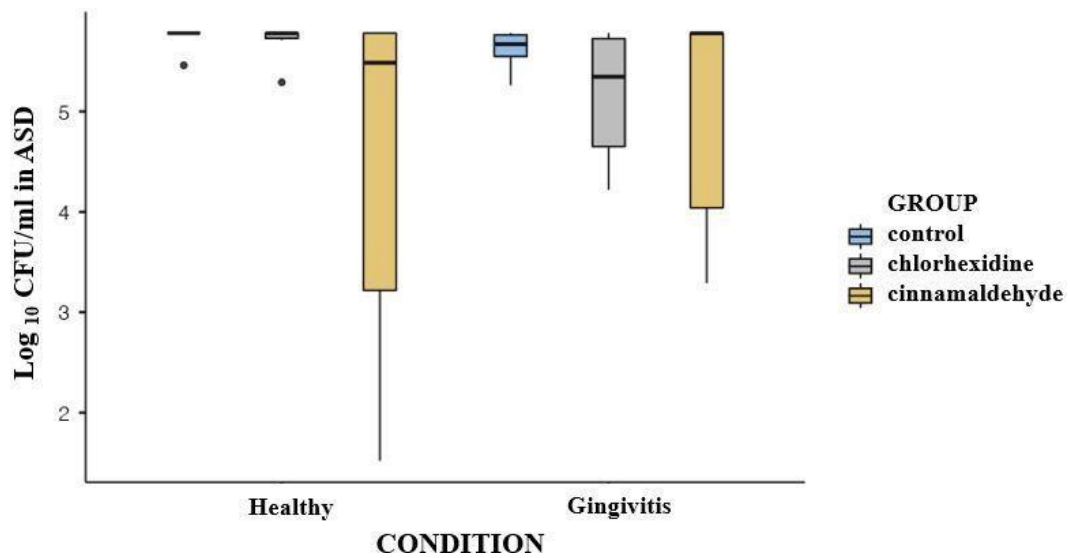


Fig.4 – Count of viable cells of biofilms ($\text{Log}_{10}\text{CFU/mL}$) in BHI medium, to count total aerobic microorganisms in titanium. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, $n=6$. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

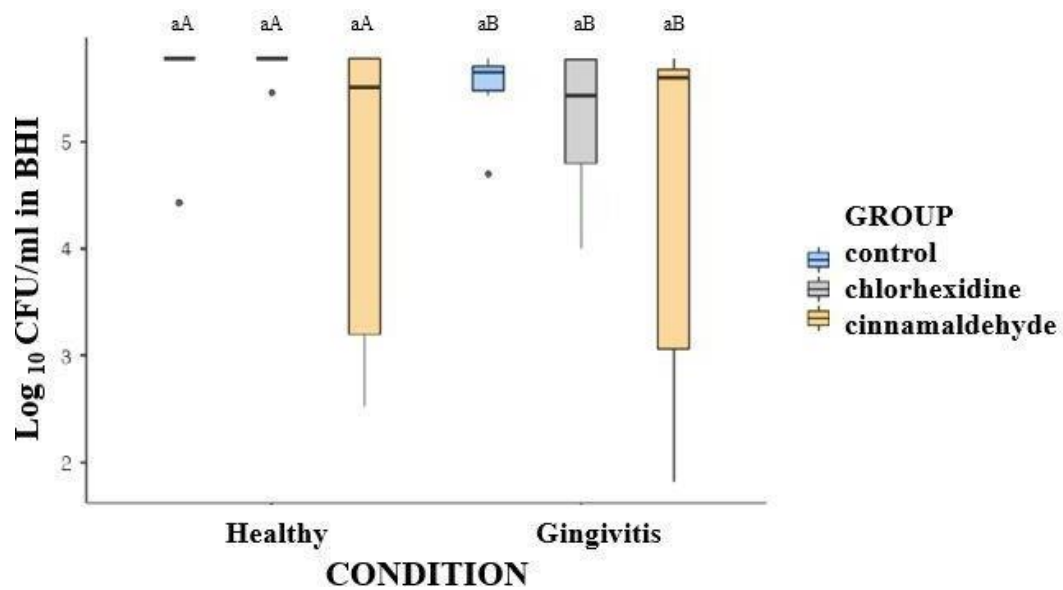


Fig.5 – Count of viable cells of the biofilms ($\text{Log}_{10}\text{CFU/mL}$) in MSA medium for counting *Streptococcus* of the *mitis-mutans* groups in titanium. Each box displays 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antennae ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, $n=6$. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent statistical difference between salivary conditions.

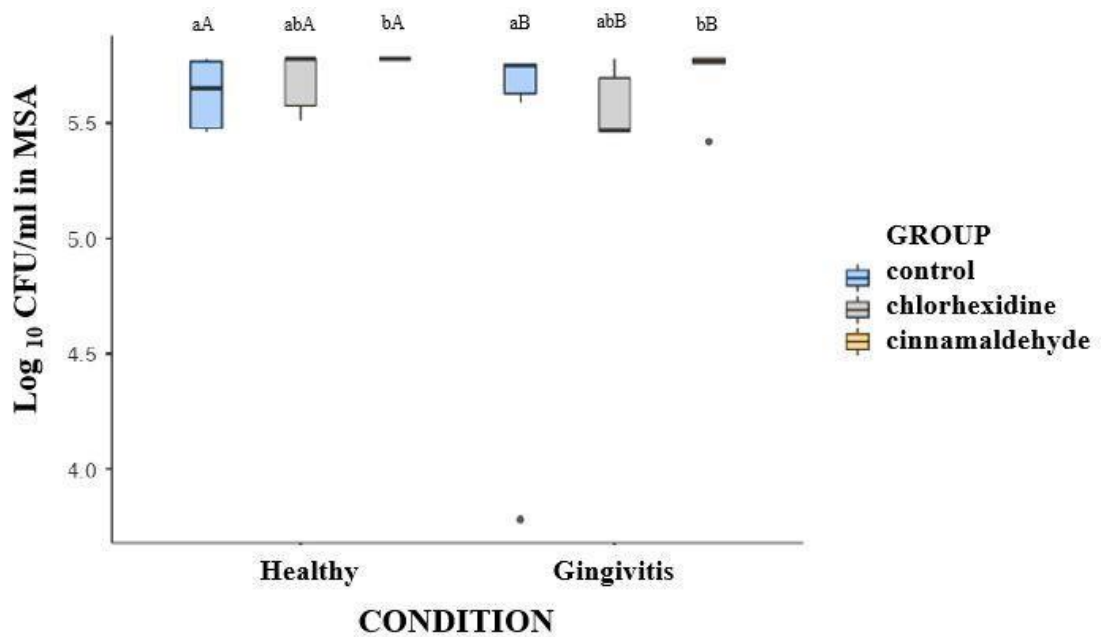


Fig.6 – Quantification of biomass of titanium biofilms (absorbance values by spectrophotometry at 595nm) by crystal violet test. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, n=6. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

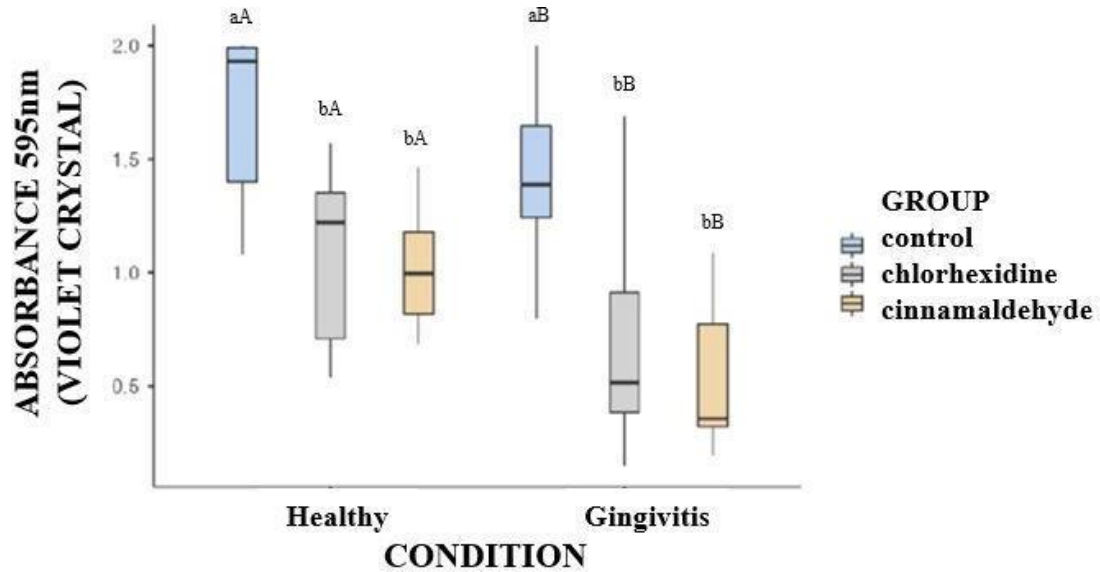


Fig.7 – Evaluation of cellular metabolism in titanium using the MTT assay represented by absorbance at 570nm. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, n=8. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

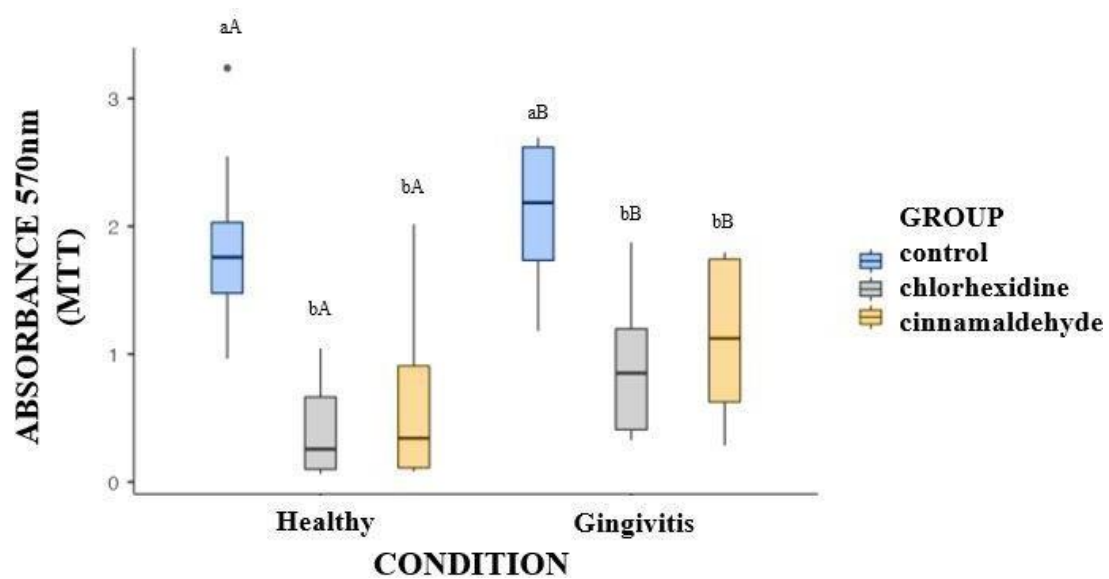


Fig.8 – Count of viable cells of the biofilms ($\text{Log}_{10}\text{CFU/mL}$) in ASD medium for quantification of yeasts of the genus *Candida* in zirconia. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, $n=6$. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

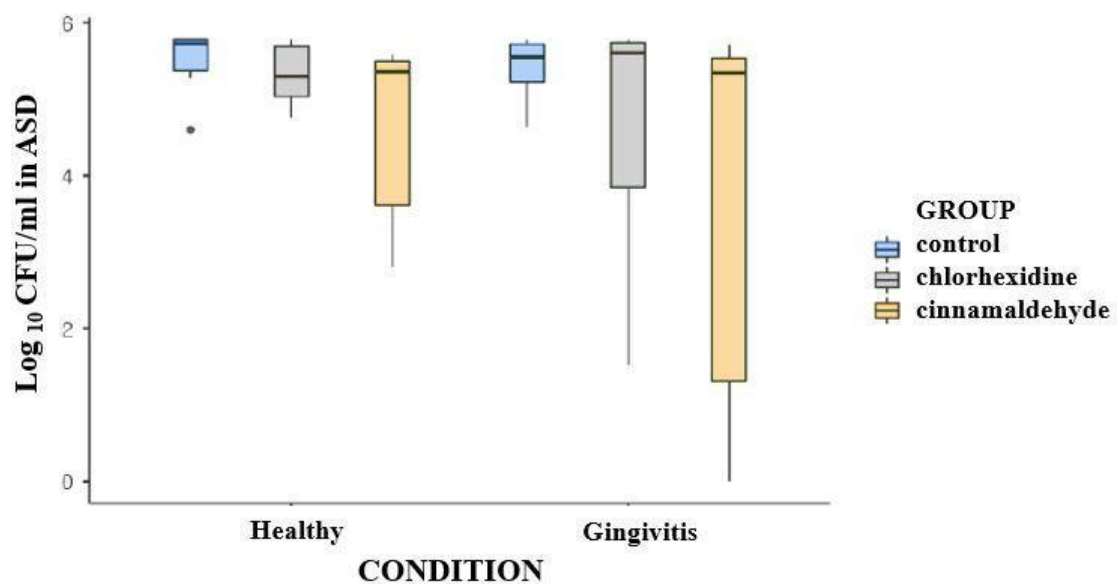


Fig.9 – Count of viable cells of the biofilms ($\text{Log}_{10}\text{CFU/mL}$) in BHI medium, to count total aerobic microorganisms in zirconia. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, $n=6$. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

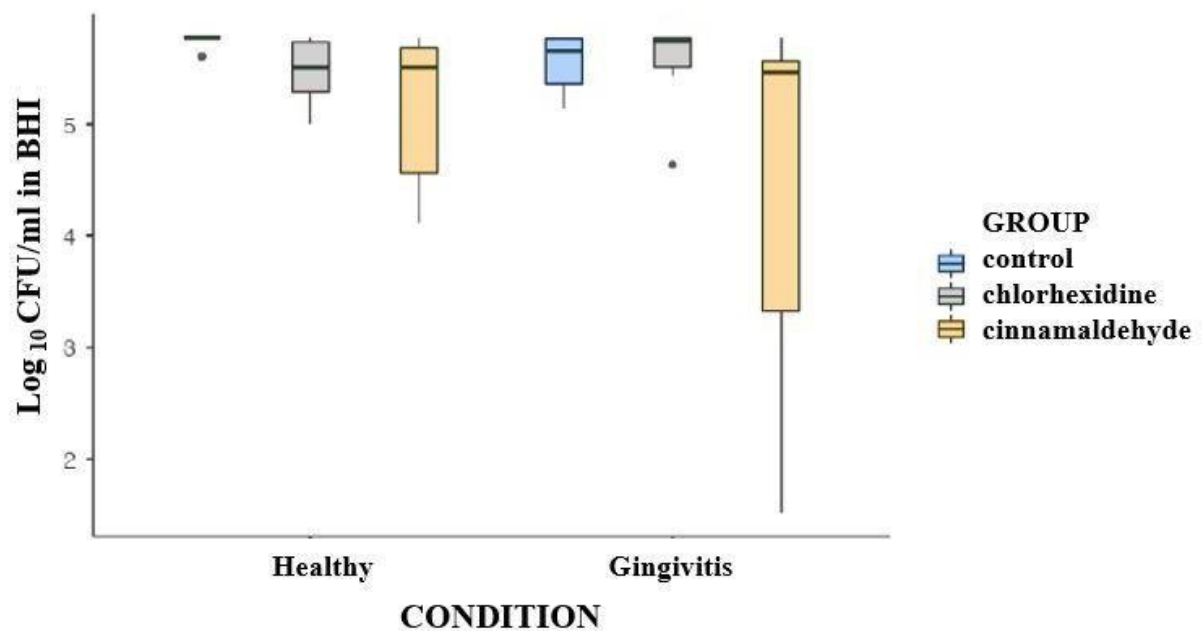


Fig.10 – Count of viable cells of the biofilms ($\text{Log}_{10}\text{CFU/mL}$) in MSA medium for counting *Streptococcus* of the *mitis-mutans* groups in zirconia. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antennae ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, $n=6$. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p<0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between the groups of substances. Capital letters represent statistical difference between salivary conditions.

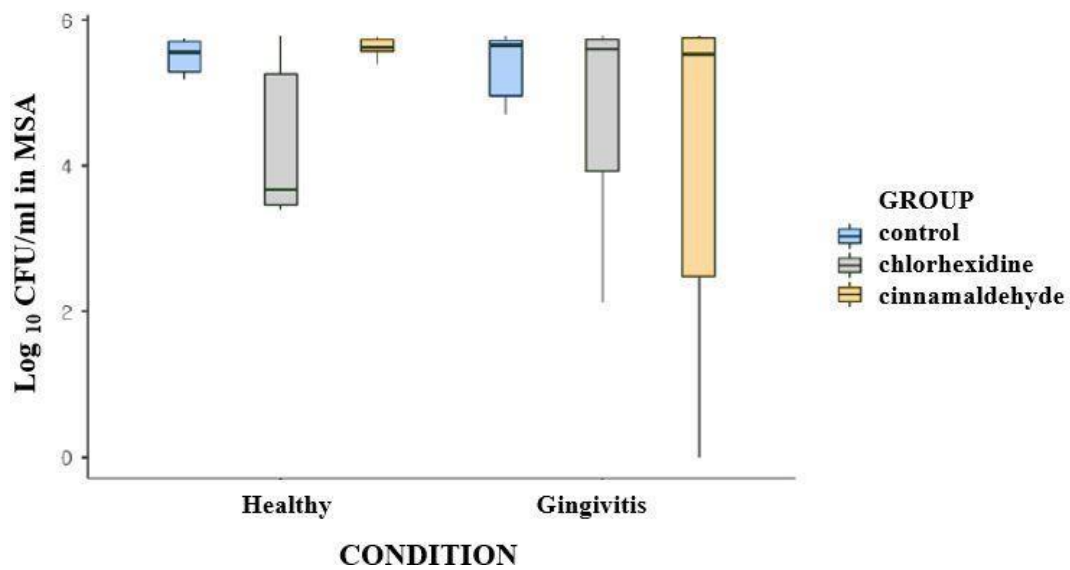


Fig.11 – Quantification of biomasses of zirconia biofilms (absorbance values by spectrophotometry at 595nm) using the crystal-violet test. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, n=6. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.

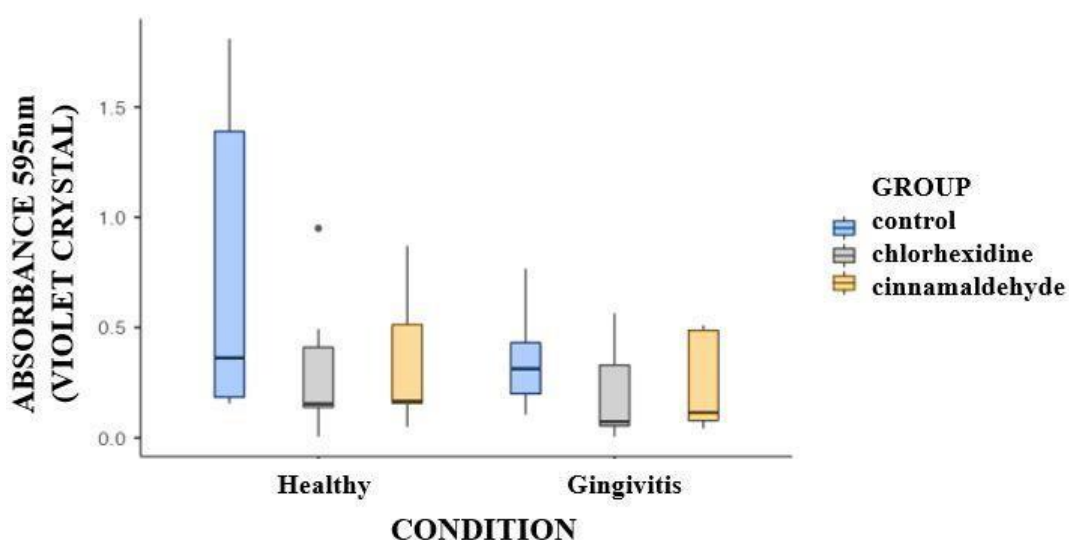
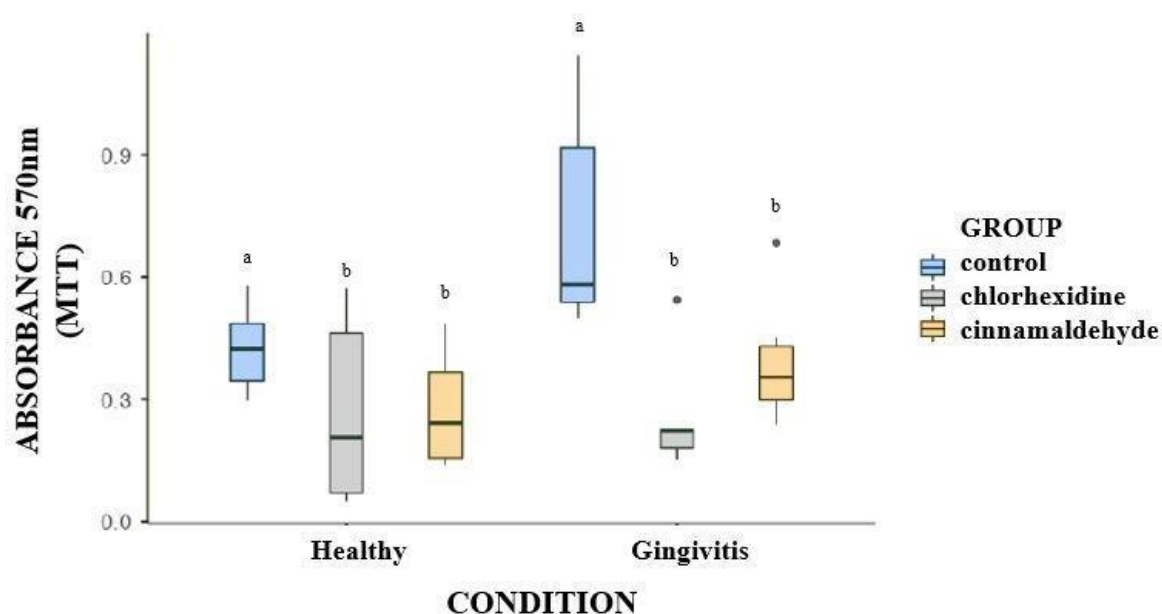


Fig.12 – Evaluation of cellular metabolism in zirconia using the MTT assay represented by absorbance at 570nm. Each box presents 50% of the group's data; the lower and upper limits of the boxes represent the 25th and 75th percentiles, respectively; the antenna ends represent the minimum and maximum values of the group; and the horizontal line inside the box represents the median, n=6. *Different letters represent statistical difference (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$). **Lowercase letters represent statistical differences between groups of substances. Capital letters represent a statistical difference between salivary conditions.



5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Dentre os resultados encontrados, a redução na biomassa e na atividade metabólica dos biofilmes após a exposição ao colutório experimental com cinamaldeído a 1% foram os achados mais sólidos. Os resultados referentes a contagem de unidades formadoras de colônia também nos mostraram dados promissores, ratificando o que a literatura já nos apontava quanto a sua atividade antimicrobiana, uma vez que esta molécula é descrita como supressora da divisão celular bacteriana por meio da inibição da atividade de ATPases, inibição da biossíntese da parede celular e tem a capacidade de interferir na permeabilidade da membrana citoplasmática de bactérias e do fungo *C. albicans*, comprometendo assim a integridade celular.

Os achados desta investigação, comprovando o potencial antimicrobiano do fitoconstituente avaliado, são respaldados pela literatura que já nos indica e comprova as tantas atividades do cinamaldeído além da antimicrobiana, que são propriedades anti-inflamatórias, anti-cancer, anti-diabética, anti-oxidante, antiobesidade, anti-depressão, anti-úlceras e anti-viral.

Em resumo, os resultados deste estudo demonstram que o colutório bucal experimental estudado no modelo de biofilme utilizado apresenta um efeito antimicrobiano promissor semelhante ao da clorexidina, sugerindo seu potencial uso como enxaguante bucal na prevenção da mucosite peri-implantar, o que pode instigar novas investigações sobre a incorporação desse fitoconstituente em outros produtos de uso odontológico ou até em materiais dentários.

Por outro lado, apesar dos bons resultados obtidos, é importante ressaltar que este estudo apresenta a limitação de não ter realizado a avaliação do efeito citotóxico do cinamaldeído a 1%. Entretanto, consideramos a realização dessa etapa fundamental na validação de sua utilização, uma vez que é necessário a obtenção de segurança quanto a sua manipulação, além da necessidade da realização de estudos clínicos. E aqui já fica registrado o incentivo para a realização de novas pesquisas nesta área.

Por fim, embora haja a necessidade da realização de mais pesquisas para a consolidação dos achados a respeito deste fitoconstituente, os resultados mostrados até aqui sugerem potencial promissor quanto ao uso desta substância

na Odontologia, principalmente como coadjuvante no controle químico do biofilme peri-implantar.

6. CONCLUSÃO

O colutório experimental com cinamaldeído a 1% apresentou efeito antimicrobiano frente aos biofilmes polimicrobianos desenvolvidos a partir da saliva de doadores saudáveis e com gengivite em um modelo de mucosite peri-implantar. Esse efeito foi semelhante ao da clorexidina.

REFERÊNCIAS*

Ali IAA, Matinlinna JP, Lévesque CM, Neelakantan P. Trans-cinnamaldehyde attenuates enterococcus faecalis virulence and inhibits biofilm formation. *Antibiotics*. 2021 Jun 11;10(6):702. doi: [10.3390/antibiotics10060702](https://doi.org/10.3390/antibiotics10060702).

Araujo MG, Lindhe J. Peri-implant health. *J Periodontol*. 2018 Jun 1;89:S249–56.

Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: Adhesion, biofilm formation and immune evasion. Vol. 16, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group; 2018. Jul; 16(7):397–409. doi: [10.1038/s41579-018-0019-y](https://doi.org/10.1038/s41579-018-0019-y).

Bakhtiari S, Jafari S, Taheri JB, Kashi TSJ, Namazi Z, Iman M, et al. The effects of cinnamaldehyde (Cinnamon derivatives) and nystatin on candida albicans and candida glabrata. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019 Apr; 7(7):1067–70. doi: [10.3889/oamjms.2019.245](https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.245).

Balasubramanian AR, Vasudevan S, Shanmugam K, Lévesque CM, Solomon AP, Neelakantan P. Combinatorial effects of trans-cinnamaldehyde with fluoride and chlorhexidine on Streptococcus mutans. *J Appl Microbiol*. 2021 Feb;130(2):382–93. doi: [10.1111/jam.14794](https://doi.org/10.1111/jam.14794).

Baraniya D, Naginyte M, Chen T, Albandar JM, Chialastri SM, Devine DA, et al. Modeling Normal and Dysbiotic Subgingival Microbiomes: Effect of Nutrients. *J Dent Res*. 2020 Jun;99(6):695–702. doi: [10.1177/0022034520902452](https://doi.org/10.1177/0022034520902452).

Belibasakis GN, Bostanci N, Marsh PD, Zaura E. Applications of the oral microbiome in personalized dentistry. *Arch Oral Biol*. 2019 Aug;104:7-12. doi: [10.1016/j.archoralbio.2019.05.023](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.05.023).

Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, Avila-Ortiz G, Blanco J, Camargo PM, et al. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Periodontol. 2018 Jun;89 Suppl 1:S313-S318. doi: [10.1002/JPER.17-0739](https://doi.org/10.1002/JPER.17-0739).

Bertolini M, Ranjan A, Thompson A, Diaz PI, Sobue T, Maas K, et al. Candida albicans induces mucosal bacterial dysbiosis that promotes invasive infection. PLoS Pathog. 2019 Apr 22;15(4):e1007717. doi:[10.1371/journal.ppat.1007717](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007717).

Bertolini MM, Xu H, Sobue T, Nobile CJ, Del Bel Cury AA, Dongari-Bagtzoglou A. Candida-streptococcal mucosal biofilms display distinct structural and virulence characteristics depending on growth conditions and hyphal morphotypes. Mol Oral Microbiol. 2015 Aug 1;30(4):307–22. doi: [10.1111/omi.12095](https://doi.org/10.1111/omi.12095).

Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. Trends Microbiol. Elsevier 2018 Mar;26(3):229-242. doi: [10.1016/j.tim.2017.09.008](https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008).

Carinci F, Lauritano D, Bignozzi CA, Pazzi D, Candotto V, de Oliveira PS, et al. A new strategy against peri-implantitis: Antibacterial internal coating. Int J Mol Sci. 2019 Aug 9;20(16):3897. doi: [10.3390/ijms20163897](https://doi.org/10.3390/ijms20163897).

Cenci MS, Pereira-Cenci T, Cury JA, Ten Cate JM. Relationship between gap size and dentine secondary caries formation assessed in a microcosm biofilm model. Caries Res. 2009 Apr;43(2):97–102. doi: [10.1159/000209341](https://doi.org/10.1159/000209341).

Charalampakis G, Belibasakis GN. Microbiome of peri-implant infections: Lessons from conventional, molecular and metagenomic analyses. Vol. 6, Virulence. Landes Bioscience; 2015. p. 183–7. 2015;6(3):183-7. doi:

[10.4161/21505594.2014.980661](https://doi.org/10.4161/21505594.2014.980661).

Choonharuangdej S, Srithavaj T, Thummawanit S. Fungicidal and inhibitory efficacy of cinnamon and lemongrass essential oils on *Candida albicans* biofilm established on acrylic resin: An in vitro study. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2021 Apr 1;125(4):707.e1-707.e6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.12.017>.

Costa RC, Souza JGS, Bertolini M, Retamal-Valdes B, Feres M, Barão VAR. Extracellular biofilm matrix leads to microbial dysbiosis and reduces biofilm susceptibility to antimicrobials on titanium biomaterial: An in vitro and in situ study. *Clin Oral Implants Res*. 2020 Dec 1;31(12):1173–86. doi: [10.1111/clr.13663](https://doi.org/10.1111/clr.13663).

da Nóbrega Alves D, Melo AKV, Alves AF, de Araújo MRC, da Silva Araújo R, de Castro RD. Safety and tolerability of cinnamaldehyde in orabase for oral candidiasis treatment: phase I clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2022 Jul 1;26(7):4825–33. doi: <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04450-9>.

de Campos Kajimoto N, de Paiva Buischi Y, Mohamadzadeh M, Loomer P. The Oral Microbiome of Peri-Implant Health and Disease: A Narrative Review. 2024 Sep 24;12(10):299. doi: <https://doi.org/10.3390/dj12100299>.

de Fátima Souto Maior L, Maciel PP, Ferreira VYN, de Lima Gouveia Dantas C, de Lima JM, Castellano LRC, et al. Antifungal activity and Shore A hardness of a tissue conditioner incorporated with terpinen-4-ol and cinnamaldehyde. *Clin Oral Investig*. 2019 Jul;23(7):2837-2848. doi: [10.1007/s00784-019-02925-w](https://doi.org/10.1007/s00784-019-02925-w).

Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr;42 Suppl 16:S158-7. doi: [10.1111/jcpe.12334](https://doi.org/10.1111/jcpe.12334).

Diaz PI, Strausbaugh LD, Dongari-Bagtzoglou A. Fungal-bacterial interactions and their relevance to oral health: Linking the clinic and the bench. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014 Jul 29;4:101. doi: [10.3389/fcimb.2014.00101](https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00101).

Doyle AA, Stephens JC. A review of cinnamaldehyde and its derivatives as antibacterial agents. *Fitoterapia*. 2019 Nov;139:104405. doi: [10.1016/j.fitote.2019.104405](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104405).

Elena Ciurescu C, Dima L, Gheorghiu A, Alexandru Ciurescu V, Gabriela Festila D, Alexandru Moga M, et al. Prevalence of Peri-Implant Diseases in a Private Practice and Potential Risk Indicators. *Oral Health Prev Dent [Internet]*. 2025;23:43–9. doi: <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.c.1805>.

Farias AL de, Carvalho LPF de, Méndez DAC, Cruvinel T, Brighenti FL. Characterization of polymicrobial biofilms obtained from saliva or carious lesions in dentin. *Biofouling*. 2020 Aug 8;36(7):877–87. doi: [10.1080/08927014.2020.1826454](https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1826454).

Freires IA, Denny C, Benso B, De Alencar SM, Rosalen PL. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: A systematic review. *Molecules*. 2015 Apr 22;20(4):7329-58. doi: [10.3390/molecules20047329](https://doi.org/10.3390/molecules20047329).

Friedman M. Chemistry, Antimicrobial Mechanisms, and Antibiotic Activities of Cinnamaldehyde against Pathogenic Bacteria in Animal Feeds and Human Foods. *J Agric Food Chem*. 2017 Dec 6;65(48):10406-10423. doi: [10.1021/acs.jafc.7b04344](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04344).

Gabriel J, Souza S, Bertolini M, Thompson A, Adelino V, Barão R, et al. Biofilm Interactions of *Candida albicans* and Mitis Group Streptococci in a Titanium- Mucosal Interface Model. *Appl Environ Microbiol*. 2020 Apr 17;86(9):e02950-19. doi: [10.1128/AEM.02950-19](https://doi.org/10.1128/AEM.02950-19).

Gan N, Fang Y, Weng W, Jiao T, Yu W. Antibacterial effects and microarray-based molecular mechanisms of trans-cinnamaldehyde against *Porphyromonas gingivalis*. *Heliyon*. 2023 Nov 29;9(12):e23048. doi: [10.1016/j.heliyon.2023.e23048](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23048).

Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog*. 2010 Jan 8;6(1):e1000713. doi: [10.1371/journal.ppat.1000713](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000713).

González-Serrano J, López-Pintor RM, Serrano J, Torres J, Hernández G, Sanz M. Short-term efficacy of a gel containing propolis extract, nanovitamin C and nanovitamin E on peri-implant mucositis: A double-blind, randomized, clinical trial. *J Periodontal Res*. 2021 Oct 1;56(5):897–906. <https://doi.org/10.1111/jre.12886>.

Gosau M, Hahnel S, Schwarz F, Gerlach T, Reichert TE, Bürgers R. Effect of six different peri-implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clin Oral Implants Res*. 2010 Aug;21(8):866–72. doi: [10.1111/j.1600-0501.2009.01908.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01908.x).

Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskan MA, et al. Low- abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe*. 2011 Nov 17;10(5):497–506. doi: [10.1016/j.chom.2011.10.006](https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.006).

He Z, Huang Z, Jiang W, Zhou W. Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde on *Streptococcus mutans* Biofilms. *Front Microbiol*. 2019 Sep 25;10:2241. [10.3389/fmicb.2019.02241](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02241).

Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE. Peri-implant mucositis. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S257-S266. doi: [10.1002/JPER.16-0488](https://doi.org/10.1002/JPER.16-0488).

Jailani A, Kalimuthu S, Rajasekar V, Ghosh S, Collart-Dutilleul PY, Fatima N, et al. Trans-Cinnamaldehyde Eluting Porous Silicon Microparticles Mitigate Cariogenic Biofilms. *Pharmaceutics*. 2022 Jul 7;14(7):1428. doi: [10.3390/pharmaceutics14071428](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071428).

Janus MM, Keijser BJJ, Bikker FJ, Exterkate RAM, Crielaard W, Krom BP. In vitro phenotypic differentiation towards commensal and pathogenic oral biofilms. *Biofouling*. 2015 Jul 3;31(6):503–10. DOI: doi: <https://doi.org/10.1080/08927014.2015.1067887>

Kumar PS, Mason MR, Brooker MR, O'Brien K. Pyrosequencing reveals unique microbial signatures associated with healthy and failing dental implants. *J Clin Periodontol*. 2012 May;39(5):425–33. doi: [10.1111/j.1600-051X.2012.01856.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01856.x).

Kumar SM, Anand Kumar V, Natarajan P, Sreenivasan G. Antifungal efficacy and the mechanical properties of soft liners against *Candida albicans* after the incorporation of garlic and neem: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2018 May 1;8(3):212–7. doi: [10.4103/jispcd.JISPCD_343_17](https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_343_17).

Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):282-5. doi: [10.1111/j.1600-051X.2008.01283.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01283.x).

Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11:28-35. doi: [10.1111/j.1600-051X.2010.01673.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01673.x).

Martorano Fernandes L, Lacerda MC, Cavalcanti YW, Almeida L de FD de. Cinnamaldehyde and α -terpineol inhibit the growth of planktonic cultures of *Candida albicans* and non *albicans*. *Research, Society and Development*. 2021 Aug 18;10(10):e554101019027. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.19027>.

Matalon S, Safadi D, Meirowitz A, Ormianer Z. The Effect of Aging on the Roughness and Bacterial Adhesion of Lithium Disilicate and Zirconia Ceramics. *J Prosthodont*. 2021 Jun;30(5):440-446. doi: [10.1111/jopr.13257](https://doi.org/10.1111/jopr.13257).

Molania T, Malekzadeh Shafaroudi A, Saeedi M, Moosazadeh M, Valipour F, Rostamkalaei SS, et al. Evaluation of cinnamaldehyde mucoadhesive patches on minor recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. 2022 Dec 1;22(1). doi: <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02248-5>.

Oliveira BEC, Cury JA, Filho APR. Biofilm extracellular polysaccharides degradation during starvation and enamel demineralization. *PLoS One*. 2017 Jul 17;12(7):e0181168. doi: [10.1371/journal.pone.0181168](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181168).

Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. Vol. 17, *The Lancet Infectious Diseases*. *Lancet Infect Dis*. 2017 Dec;17(12):e383-e392. doi: [10.1016/S1473-3099\(17\)30316-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30316-X).

Retamal-Valdes B, De Carvalho Formiga M, Almeida ML, Fritoli A, Figueiredo KA, Westphal M, et al. Does subgingival bacterial colonization differ between implants and teeth? A systematic review. *Braz Oral Res*. 2019 Sep 30;33(suppl 1):e064. doi: [10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0064](https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0064).

Ribeiro M, Malheiro J, Grenho L, Fernandes MH, Simões M. Cytotoxicity and antimicrobial action of selected phytochemicals against planktonic and sessile *Streptococcus mutans*. *PeerJ*. 2018 Jun 4;6:e4872. doi: [10.7717/peerj.4872](https://doi.org/10.7717/peerj.4872).

Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That Prevent Dysbiosis. *J Dent Res*. 2018 Apr;97(4):371-380. doi: [10.1177/0022034517742139](https://doi.org/10.1177/0022034517742139).

Rudney JD, Chen R, Lenton P, Li J, Li Y, Jones RS, et al. A reproducible oral microcosm biofilm model for testing dental materials. *J Appl Microbiol.* 2012;113(6):1540–53. doi: [10.1111/j.1365-2672.2012.05439.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05439.x).

Santos DMS dos, Pires JG, Braga AS, Salomão PMA, Magalhães AC. Comparison between static and semidynamic models for microcosm biofilm formation on dentin. *J Appl Oral Sci.* 2019 Jan 7;27:e20180163. doi: [10.1590/1678-7757-2018-0163](https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0163).

Schincaglia GP, Hong BY, Rosania A, Barasz J, Thompson A, Sobue T, et al. Clinical, Immune, and Microbiome Traits of Gingivitis and Peri-implant Mucositis. *J Dent Res.* 2017 Jan 1;96(1):47–55. doi: [10.1177/0022034516668847](https://doi.org/10.1177/0022034516668847).

Schwarz F, Bieling K, Bonsmann M, Latz T, Becker J. Nonsurgical treatment of moderate and advanced periimplantitis lesions: A controlled clinical study. *Clin Oral Investig.* 2006 Dec;10(4):279–88. doi: [10.1007/s00784-006-0070-3](https://doi.org/10.1007/s00784-006-0070-3).

Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Periodontol.* 2018 Jun;89 Suppl 1:S267-S290. doi: [10.1002/JPER.16-0350](https://doi.org/10.1002/JPER.16-0350).

Seidel CL, Gerlach RG, Wiedemann P, Weider M, Rodrian G, Hader M, et al. Defining metaniches in the oral cavity according to their microbial composition and cytokine profile. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 3;21(21):8218. doi: [10.3390/ijms21218218](https://doi.org/10.3390/ijms21218218).

Shino B, Peedikayil FC, Jaiprakash SR, Ahmed Bijapur G, Kottayi S, Jose D. Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on *Candida albicans* Isolated in Children with Early Childhood Caries: An in Vitro Study. *Scientifica (Cairo).* 2016;2016:7061587. doi: [10.1155/2016/7061587](https://doi.org/10.1155/2016/7061587).

Shreaz S, Wani WA, Behbehani JM, Raja V, Irshad M, Karched M, et al.

Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. *Fitoterapia*. 2016 Jul;112:116-31. doi: [10.1016/j.fitote.2016.05.016](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.05.016).

Signori C, Van De Sande FH, Maske TT, De Oliveira EF, Cenci MS. Influence of the Inoculum Source on the Cariogenicity of in vitro Microcosm Biofilms. *Caries Res*. 2016;50(2):97-103. doi: [10.1159/000443537](https://doi.org/10.1159/000443537).

Sissons C, Cutress T, Hoffman M, Wakefield Js. A Multi-station Dental Plaque Microcosm (Artificial Mouth) for the Study of Plaque Growth, Metabolism, pH, and Mineralization. *J Dent Res*. 1991 Nov;70(11):1409-16. doi: [10.1177/00220345910700110301](https://doi.org/10.1177/00220345910700110301).

Sissons CH, Anderson SA, Wong L, Coleman MJ, White DC. Microbiota of plaque microcosm biofilms: Effect of three times daily sucrose pulses in different simulated oral environments. *Caries Res*. 2007 Aug;41(5):413–22. doi: [10.1159/000104801](https://doi.org/10.1159/000104801).

Sissons CH. Artificial dental plaque biofilm model systems. Vol. 11, *Advances in dental research*. 1997. p. 110–26.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28(1):12–55. doi: [10.1034/j.1600-0757.2002.280102.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2002.280102.x).

Souza JCM, Mota RRC, Sordi MB, Passoni BB, Benfatti CAM, Magini RS. Biofilm formation on different materials used in oral rehabilitation. *Braz Dent J*. 2016 Mar- Apr;27(2):141-7. doi: [10.1590/0103-6440201600625](https://doi.org/10.1590/0103-6440201600625).

Souza JG, Costa RC, Sampaio AA, ria Abdo VL, Nagay BE, Castro N, et al. Cross-kingdom microbial interactions in dental implant-related infections: is *Candida albicans* a new villain? *iScience*. 2022 Mar 1;25(4):103994. doi: [10.1016/j.isci.2022.103994](https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103994).

Souza JGS, Cury JA, Ricomini Filho AP, Feres M, Faveri M de, Barão VAR. Effect of sucrose on biofilm formed in situ on titanium material. J Periodontol. 2019 Feb 1;90(2):141–8. doi: [10.1002/JPER.18-0219](https://doi.org/10.1002/JPER.18-0219).

Spriano S, Yamaguchi S, Bairo F, Ferraris S. A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination. Acta Biomater. 2018 Oct 1;79:1-22. doi:[10.1016/j.actbio.2018.08.013](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.08.013).

Sztukowska MN, Dutton LC, Delaney C, Ramsdale M, Ramage G, Jenkinson HF, et al. Community development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* mediated by *inlJ* and *Als3*. mBio. 2018 Apr 24;9(2):e00202-18.doi: [10.1128/mBio.00202-18](https://doi.org/10.1128/mBio.00202-18).

Taguchi Y, Hasumi Y, Abe S, Nishiyama Y. The effect of cinnamaldehyde on the growth and the morphology of *Candida albicans*. Med Mol Morphol. 2013 Mar 1;46(1):8–13.doi: [10.1007/s00795-012-0001-0](https://doi.org/10.1007/s00795-012-0001-0).

Tan NCP, Miller CM, Antunes E, Sharma D. Impact of physical decontamination methods on zirconia implant surface and subsequent bacterial adhesion: An in- vitro study. Clin Exp Dent Res. 2022 Feb 1;8(1):313–21. doi: [10.1002/cre2.486](https://doi.org/10.1002/cre2.486).

Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP. Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: A review. J Dent. 2003 Mar;31(3):161-71. doi: [10.1016/s0300-5712\(03\)00009-5](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(03)00009-5).

Verardi G, Fundo P. UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO AÇÃO ANTIBACTERIANA DE ANTISSEPTICOS FRENTE A BIOFILME FORMADO POR MICROCOSMO EM SUPERFÍCIES DE TITÂNIO. 2014.

Vulović S, Popovac A, Radunović M, Petrović S, Todorović M, Milić-Lemić A. Microbial adhesion and viability on novel CAD/CAM framework

materials for implant-supported hybrid prostheses. Eur J Oral Sci. 2023 Feb;131(1):e12911. doi: [10.1111/eos.12911](https://doi.org/10.1111/eos.12911).

Wang Y, Zhang Y, Shi Y qin, Pan X hua, Lu Y hua, Cao P. Antibacterial effects of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark essential oil on *Porphyromonas gingivalis*. Microb Pathog. 2018 Mar 1;116:26–32. doi: [10.1016/j.micpath.2018.01.009](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.009).

William Costerton J, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol. 1995;49:711-45. doi: [10.1146/annurev.mi.49.100195.003431](https://doi.org/10.1146/annurev.mi.49.100195.003431).

Wu Z, Weng S, Yan D, Xie Z, Zhou Q, Li H, et al. Administration of cinnamaldehyde promotes osteogenesis in ovariectomized rats and differentiation of osteoblast in vitro. J Pharmacol Sci. 2018 Sep 1;138(1):63–70. doi: [10.1016/j.jphs.2018.09.002](https://doi.org/10.1016/j.jphs.2018.09.002).

Xiao J, Klein MI, Falsetta ML, Lu B, Delahunty CM, Yates JR, et al. The exopolysaccharide matrix modulates the interaction between 3D architecture and virulence of a mixed-species oral biofilm. PLoS Pathog. 2012;8(4):e1002623. doi: [10.1371/journal.ppat.1002623](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002623).

Xu H, Sobue T, Bertolini M, Thompson A, Vickerman M, Nobile CJ, et al. *S. oralis* activates the Efg1 filamentation pathway in *C. albicans* to promote cross-kingdom interactions and mucosal biofilms. Virulence. 2017 Nov 17;8(8):1602–17. doi: [10.1080/21505594.2017.1326438](https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1326438).

Yanakiev S. Effects of Cinnamon (*Cinnamomum* spp.) in Dentistry: A Review. Vol. 25, Molecules. MDPI AG; 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25184184> .

Yu XL, Chan Y, Zhuang L, Lai HC, Lang NP, Keung Leung W, et al. Intra-oral single-site comparisons of periodontal and peri-implant microbiota in health and disease. Clin Oral Implants Res.

2019;30(8):760–76. doi: [10.1111/clr.13459](https://doi.org/10.1111/clr.13459).

Zhou N, Huang H, Liu H, Li Q, Yang G, Zhang Y, et al. Microbiota analysis of peri- implant mucositis in patients with periodontitis history. Clin Oral Investig. 2022 Oct 1;26(10):6223–33. doi: [10.1007/s00784-022-04571-1](https://doi.org/10.1007/s00784-022-04571-1).

* 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*.

APÊNDICE

APÊNDICE 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA CIENTÍFICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA E ODONTOLOGIA SOCIAL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Esta pesquisa intitula-se “Análise comparativa da ação antimicrobiana de diferentes agentes (cinamaldeído, clorexidina, triclosan) em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio”, e está sendo desenvolvida pela pesquisadora responsável Verônica Cabral dos Santos Cunha D’Assunção, aluna do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba (PPGO-UFPB). O objetivo da presente pesquisa é comparar o efeito antimicrobiano de 3 agentes químicos, clorexidina, cinamaldeído a 1% e triclosan em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio. A sua participação na pesquisa é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo pesquisador(a). Caso decida não participar da pesquisa, ou resolver a qualquer momento desistir de participar, não sofrerá nenhum dano ou prejuízo. Para o desenvolvimento desta pesquisa será executado o procedimento de coleta salivar:

- O material biológico doado (saliva) será coletado pela pesquisadora responsável;
- Relata-se que os possíveis riscos decorrentes durante o procedimento serão mínimos. Fui informado que: 1) O objetivo da presente pesquisa é comparar o efeito antimicrobiano de 3 agentes químicos, clorexidina, cinamaldeído a 1% e triclosan em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio. 2) O procedimento de coleta da saliva será realizado pela pesquisadora. A coleta será realizada por meio do “ato de cuspir” em recipientes trazidos pela própria pesquisadora. Uma espécie de filme, cortado em pequenos pedaços será entregue e o mesmo será mascado por 5 minutos, como se fosse um chiclete. Após esse tempo, a saliva será coletada por 2 minutos a mais. 3) Fica registrado, que fui informado de que essas informações, dados e material serão usadas pelo (a) responsável pela pesquisa com propósitos científicos. 4) A participação nesta pesquisa será voluntária não sendo oferecido nenhum tipo de pagamento ou troca de serviço perante autorização. 5) Há total liberdade em não participar da pesquisa, sem nenhum prejuízo ao colaborador. 6) Estou ciente que esta pesquisa não irá interferir em minhas condições de saúde geral e oral. 7) Potenciais riscos de engasgo ou deglutição serão prevenidos pela equipe de pesquisadores, com a explicação prévia do procedimento. Mesmo assim, a equipe está apta a intervir se qualquer intercorrência acontecer durante a coleta da saliva, sendo os riscos minimizados. 8) Minha identidade será mantida em sigilo e que tenho total liberdade para solicitar maiores esclarecimentos antes e durante o desenvolvimento da

pesquisa e consultar o Comitê de Ética em Pesquisa para qualquer informação sobre o projeto. 9) Estou ciente que não terei benefício direto com este estudo, mas estou disposto a autorizar minha participação para que os resultados encontrados possam ajudar outras pessoas. 10) Desta forma, confirmo que recebi de maneira clara, todas as informações necessárias ao meu consentimento.

Por este instrumento particular, declaro para os devidos fins éticos e legais, que eu, anos, RG nºresidente à

....., nº....., na cidade de, Estado de fui informado e concordo voluntariamente com a participação na pesquisa “Análise comparativa da ação antimicrobiana de diferentes agentes (cinamaldeído, clorexidina, triclosan) em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio”. E declaro que tomei ciência e que fui esclarecido(a) de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre minha participação no estudo, de acordo com os termos acima relacionados.

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Centro de Ciências da Saúde - 1º andar

Campus I - Cidade Universitária - CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB

Telefones para contato:

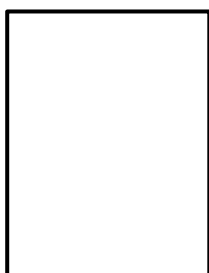
Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa: (83) 3216 7791

e-mail: eticaccsufpb@hotmail.com

Pesquisador responsável: Verônica Cabral dos Santos Cunha D’Assunção Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba Centro de Ciências da Saúde Cidade Universitária - João Pessoa - PB - Brasil CEP: 58051-900

Tel: (83) 9 9603-4100

Email:veronicacabralasca@gmail.com



Assinatura do participante

Assinatura Pesquisador Responsável

João Pessoa, _____ de _____ de _____

**VOCÊ RECEBERÁ UMA CÓPIA DESTE TERMO ASSINADA POR VOCÊ E
POR UM DOS PESQUISADORES RESPONSÁVEIS.**

ANEXOS

ANEXO 1: Certidão de aprovação do CEP

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

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE COMPARATIVA DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES AGENTES (CINAMALDEÍDO, CLOREXIDINA, TRICLOSAN) EM UM MODELO DE BIOFILME DE MICROCOSMOS SOBRE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO

Pesquisador: Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 53719721.6.0000.5188

Instituição Proponente: Centro de Ciência da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.151.282

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma Tese de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPB cuja pesquisadora pretende comparar o efeito antimicrobiano de 3 agentes químicos, cinamaldeído a 1%, clorexidina e triclosan em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar o efeito antimicrobiano de 3 agentes químicos, clorexidina, cinamaldeído a 1% e triclosan em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio a partir da saliva de indivíduos saudáveis e de indivíduos com gengivite.

Objetivo Secundário:

- Determinar a atividade metabólica do biofilme em modelo de microcosmos exposto aos 3 agentes referidos, por meio do sal de metiltetrazolium (MTT);
- Quantificar as células viáveis presentes no modelo exposto aos 3 agentes;
- Quantificar a biomassa viável dos biofilmes após a exposição aos 3 agentes;
- Analisar de forma qualitativa, a partir do DNA, a presença de microrganismos aeróbios e microaerófilos;
- Avaliar o efeito dos agentes antimicrobianos tanto nos

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB / 1º Andar			
Bairro: Cidade Universitária	Município: JOAO PESSOA	CEP: 58.051-900	
UF: PB			
Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791	E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br	

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



Continuação do Parecer: 5.151.282

biofilmes formados a partir da saliva dos doadores com saúde gengival/periodontal com os biofilmes formados a partir da saliva dos doadores com gengivite.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A sua participação na pesquisa é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo pesquisador(a). Caso decida não participar da pesquisa, ou resolver a qualquer momento desistir de participar, não sofrerá nenhum dano ou prejuízo. Relata-se que os possíveis riscos decorrentes durante o procedimento serão mínimos. Riscos de engasgo ou deglutição serão prevenidos pela equipe de pesquisadores, com a explicação prévia do procedimento. Mesmo assim, a equipe está apta a intervir se qualquer intercorrência acontecer durante a coleta da saliva, sendo os riscos minimizados. Leve desconforto pode ser sentido durante o procedimento de sondagem periodontal para o preenchimento do periograma, o que será minimizado pela experiência do avaliador que conhece a força ideal para executar tal exame.

Benefícios:

Não haverá benefício direto com este estudo, mas a participação permitirá que os resultados encontrados possam ajudar outras pessoas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo laboratorial, com documentação direta e abordagem indutiva. Amostras salivares de 08 indivíduos (4 saudáveis e 4 com gengivite) serão coletadas pelo método da coleta estimulada, por 5 minutos. Uma parte das amostras de saliva será filtrada e utilizada para a formação da película salivar e a outra parte não filtrada será utilizada para o inóculo do modelo de biofilme proposto. Discos de titânio (n=16/grupo) serão esterilizados e reservados para posterior avaliação da rugosidade superficial (Ra) em Perfilômetro Óptico 3D. Esses discos serão submetidos a formação de película salivar por 60 minutos, a 37°C. Será realizado o modelo simulando uma condição supragengival por 72h, em meio mFUM modificado. As amostras serão expostas às substâncias avaliadas: cinamaldeído 1%, clorexidina 0,12%, triclosan a 0,3% e solução tamponada de PBS. Estas exposições serão realizadas durante 1 minuto a cada 24 horas, por 3 dias consecutivos. Após a última exposição, os biofilmes serão cultivados por 24 horas adicionais, totalizando 168 h de cultivo. Serão, então, avaliados quanto a atividade metabólica dos microrganismos; quantificação de células viáveis; quantificação da biomassa total; e, realização da análise qualitativa de DNA.

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB, 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

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



Continuação do Parecer: 5.151.282

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória atendem aos requisitos formais do CEP.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sou de parecer favorável a execução desse projeto de pesquisa, salvo melhor juízo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1864499.pdf	25/11/2021 14:41:17		Aceito
Outros	COMPROMISSODOPESQUISADOR.pdf	25/11/2021 14:39:36	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Outros	TERMODEAUTORIZACAODONUCLEO DEMEDICINATROPICALassinado.pdf	25/11/2021 14:34:56	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	MaterialBiologico.pdf	25/11/2021 14:33:55	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Outros	CertidaoPPGOVeronicaCabral.pdf	24/11/2021 21:45:00	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Outros	CartadeAnuenciaVeronicaCabral.docx	24/11/2021 21:44:19	Verônica Cabral dos Santos Cunha	Aceito

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB, 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 5.151.282

Outros	CartadeAnuenciaVeronicaCabral.docx	24/11/2021 21:44:19	D Assunção	Aceito
Outros	Periograma.docx	24/11/2021 21:39:51	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Outros	ICDAS.docx	24/11/2021 21:39:26	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODECONSENTIMENTOLIVREEE SCLARECIDO.docx	24/11/2021 21:38:44	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODOUTORADOVeronicaCabral .docx	24/11/2021 21:38:25	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	24/11/2021 21:38:11	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	24/11/2021 21:37:24	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoVeronicaCabral.docx	24/11/2021 21:36:20	Verônica Cabral dos Santos Cunha D Assunção	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 07 de Dezembro de 2021

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

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**ANEXO 2 – TERMO DE AUTORIZAÇÃO DO NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
(NUMETROP)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
Centro de Ciências da Saúde
Núcleo de Medicina Tropical (NUMETROP)
TERMO DE AUTORIZAÇÃO

João Pessoa, 09 de novembro de 2021

Encaminhamento ao:

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Eu, **Prof. LAURO SANTOS FILHO**, Vice-coordenador do Núcleo de Medicina Tropical (NUMETROP/CCS), comunico que temos ciência da condução do projeto intitulado “**Análise comparativa da ação antimicrobiana de diferentes agentes (cinamaldeído, clorexidina, triclosan) em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio**”.

Outrossim, comunicamos a anuência/autorização ao projeto, ressaltando que o mesmo utilizará as dependências do Laboratório de Microbiologia Oral para a sua execução.

Atenciosamente,



Prof. Lauro Santos Filho
Coordenador do Núcleo de Medicina Tropical
NUMETROP/CCS/UFPB

ANEXO 3 – TERMO DE DECLARAÇÃO PARA USO DE MATERIAL BIOLÓGICO

TERMO DE DECLARAÇÃO PARA USO DE MATERIAL BIOLÓGICO

João Pessoa, 09 de 11 de 2021

PARA:

Comitê de Ética em Pesquisa

Centro de Ciências da Saúde

DECLARAÇÃO DE USO DE MATERIAL BIOLÓGICO E DADOS COLETADOS

Declaro, para os devidos fins, que o material biológico (saliva), os dados e as informações coletadas serão usados exclusivamente para os fins previstos no projeto intitulado: "Análise comparativa da ação antimicrobiana de diferentes agentes (cinamaldeído, clorexidina, triclosan) em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio". Após a utilização na presente pesquisa, o material será descartado em lixo biológico da referida instituição.

Atenciosamente,

Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção

Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção

Aluna do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Matrícula: 20211010639

ANEXO 4 – TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR

TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR

João Pessoa, 09 de 11 de 2021

PARA:

Comitê de Ética em Pesquisa

Centro de Ciências da Saúde

Eu, Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção, aluna do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba, pesquisadora responsável pelo projeto de pesquisa "Análise comparativa da ação antimicrobiana de diferentes agentes (cinamaldeído, clorexidina, triclosan) em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio", comprometo-me a observar e cumprir as normas da Resolução 466/2012 do CNS em todas as fases da pesquisa.

Atenciosamente,



Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção

Aluna do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Matrícula: 20211010639

ANEXO 5 – CARTA DE ANUÊNCIA



CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins, que aceitaremos a pesquisadora Verônica Cabral dos Santos Cunha D'Assunção, a desenvolver parte do seu projeto de pesquisa "Análise comparativa da ação antimicrobiana de diferentes agentes (cinamaldeído, clorexidina, triclosan) em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio", que está sob a orientação da Prof.^a Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida cujo objetivo é comparar o efeito antimicrobiano de 3 agentes químicos, cinamaldeído a 1%, clorexidina e triclosan em um modelo de biofilme de microcosmos sobre superfícies de titânio, nesta Clínica de Periodontia (DCOS-CCS/UFPB).

Esta autorização está condicionada ao cumprimento da pesquisadora aos requisitos da Resolução 466/12 CNS e suas complementares, comprometendo-se a mesma a utilizar os dados pessoais dos sujeitos da pesquisa, exclusivamente para os fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades.

Antes de iniciar a coleta de dados a pesquisadora deverá apresentar a esta Instituição o Parecer Consubstanciado devidamente aprovado, emitido por Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, credenciado ao Sistema CEP/CONEP.

Local, em 09 / 11 / 2021.

Dr. Carlos A. Crispim Junior
Implantodontista
CRO 3550

Nome/assinatura e carimbo do responsável pela Instituição ou pessoa por ele delegada

