

Efeito inibitório de fitoconstituintes em biofilmes de *Candida albicans* sobre superfícies de reembasadores protéticos

Inhibitory effect of phytochemicals on *Candida albicans* biofilms on denture liners surfaces

Efecto inhibidor de los fitoconstituyentes sobre las biopelículas de *Candida albicans* en las superficies de recubrimiento protésico

Recebido: 18/09/2020 | Revisado: 21/09/2020 | Aceito: 23/09/2020 | Publicado: 24/09/2020

Isis Morais Bezerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5090-1622>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: isismoraisbezerra@hotmail.com

Arella Cristina Muniz Brito

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5482-9592>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: arellabrito@gmail.com

Yuri Wanderley Cavalcanti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3570-9904>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: yuri.wanderley@yahoo.com.br

Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5997-6612>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: leopoldinalmeida@hotmail.com

Resumo

Objetivo: Avaliar in vitro atividade antimicrobiana do α -terpineol, cinamaldeído, hipoclorito de sódio 1%, clorexidina 0,12%, e corega® em biofilme de *Candida albicans* (ATCC 90028) desenvolvidos sobre superfícies de reembasador protético macio. Metodologia: Espécimes do reembasador Bosworth Trusoft (Bosworth Company- USA) foram confeccionados de acordo com instruções do fabricante e foi induzida a formação da película salivar artificial por 60 minutos, a 37°C. O biofilme foi semeado (1×10^6 UFC/mL), sendo, após adesão inicial (24h,

37°C) expostos ao α -terpineol (10 mg/mL), cinamaldeído (10 mg/mL), hipoclorito de sódio 1%, clorexidina 0,12%, corega e solução salina (controle crescimento). Os espécimes permaneceram por 1 ou 10 minutos, em cada solução, sendo as exposições realizadas 24h, 48h e 72 h após a semeadura do biofilme. Avaliou-se a atividade metabólica, pelo teste de MTT e dureza Shore A, utilizando-se microdurômetro. A análise estatística foi realizada pelos testes de Kruskal-Wallis/ Mann Whitney e teste t ($\alpha=5\%$). Resultados: Observou-se que para a exposição por 1 min o cinamaldeído, clorexidina e hipoclorito foram eficientes ($p>0,05$). Aos 10 minutos, o α -terpineol apresentou atividade similar ao controle de crescimento ($p>0,05$) diferindo das demais substâncias. Em relação à dureza, não houve diferença entre os grupos, apenas para o hipoclorito de sódio e corega. Conclusão: O cinamaldeído, clorexidina e hipoclorito demonstraram atividade antifúngica sobre biofilme de *Candida albicans* sobre superfície de reembasador protético.

Palavras-chave: Higienizadores de dentadura; Antifúngicos; Estomatite.

Abstract

Objective: To evaluate in vitro antimicrobial activity of α -terpineol, cinnamaldehyde, 1% sodium hypochlorite, 0,12% chlorhexidine, and corega® in biofilm of *Candida albicans* (ATCC 90028) developed on soft prosthetic resurfacing surfaces. Methodology: Specimens from the Bosworth Trusoft (Bosworth Company- USA) material were made according to the manufacturer's instructions and the formation of the artificial salivary film was induced for 60 minutes at 37 ° C. The biofilm was seeded (1×10^6 CFU/mL) and, after initial adhesion (24h, 37°C), exposed to α -terpineol (10 mg/mL), cinnamaldehyde (10 mg/mL), 1% sodium hypochlorite, chlorhexidine 0,12%, corega and saline (growth control). The specimens remained for 1 or 10 minutes, in each solution, with exposures made 24h, 48h and 72h after sowing the biofilm. Metabolic activity was evaluated by the MTT test and Shore A hardness, using a microdurometer. The statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis/ Mann Whitney tests and the t test ($\alpha = 5\%$). Results: It was observed that for exposure for 1 min, cinnamaldehyde, chlorhexidine and hypochlorite were efficient ($p > 0,05$). At 10 minutes, α -terpineol showed activity similar to growth control ($p > 0,05$), differing from other substances. Regarding hardness, there was no difference between groups, only for sodium hypochlorite and corega. Conclusion: Cinnamaldehyde, chlorhexidine and hypochlorite demonstrated antifungal activity on *Candida albicans* biofilm on prosthetic resurfacing surface.

Keywords: Denture cleansers; Antifungal agents; Stomatitis.

Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de α -terpineol, cinamaldehído, hipoclorito de sodio al 1%, clorhexidina al 0,12% y corega® en la biopelícula de *Candida albicans* (ATCC 90028) desarrollada sobre superficies blandas de recubrimiento protésico. **Metodología:** Se prepararon muestras de material Bosworth Trusoft (Bosworth Company-USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se indujo la formación de una película salival artificial durante 60 minutos a 37°C. La biopelícula se sembró (1×10^6 UFC mL) y, después de la adhesión inicial (24h, 37°C), se expuso a α -terpineol (10 mg/mL), cinamaldehído (10 mg/mL), hipoclorito de sodio al 1%, clorhexidina 0,12%, corega y solución salina (control de crecimiento). Las muestras permanecieron durante 1 o 10 minutos en cada solución, realizándose exposiciones 24h, 48h y 72h después de la siembra del biofilm. La actividad metabólica se evaluó mediante la prueba MTT y dureza Shore A, utilizando un microdurómetro. El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de Kruskal-Wallis/Mann Whitney y la prueba t ($\alpha = 5\%$). **Resultados:** Se observó que para una exposición de 1 min, el cinamaldehído, la clorhexidina y el hipoclorito fueron eficientes ($p > 0.05$). A los 10 minutos, el α -terpineol mostró una actividad similar al control del crecimiento ($p > 0,05$), a diferencia de otras sustancias. En cuanto a la dureza, no hubo diferencia entre grupos, solo para hipoclorito de sodio y corega. **Conclusión:** El cinamaldehído, la clorhexidina y el hipoclorito mostraron actividad antifúngica en el biofilm de *Candida albicans* en la superficie de rejuvenecimiento protésico.

Palabras clave: Limpiadores de dentadura; Antifúngicos; Estomatitis.

1. Introdução

Reembasadores protéticos macios são materiais utilizados em próteses totais para distribuir tensões, reduzir o efeito traumático sob a mucosa e amortecer a carga mastigatória, gerando um maior conforto para o usuário da prótese, anteriormente a substituição da mesma (Altinci, Mutluay, Soderling & Tezvergil-Mutluay, 2018; Vandakara, Hallikerimath, Patil, Bhat & Doddamani, 2017). Pacientes em que a adaptação da prótese é dificultada devido à anatomia do rebordo reabsorvido são os casos mais utilizados, embora também possam ser

indicados em locais em processo de cicatrização, como forma de proteção ao estresse do trauma oclusal, bem como em casos pós-cirúrgicos (Altinci et al., 2018).

Os reembasadores macios, por sua composição, apresentam uma superfície porosa e resiliente, devido a sua finalidade. Entretanto, sua textura e composição propiciam a adesão, proliferação e acúmulo do biofilme (Lee et al., 2018). Dessa forma, a colonização microbiana é favorecida, podendo causar estomatite protética, uma doença multifatorial, prevalente em usuários de prótese (Altinci et al., 2018; Vankadara et al., 2017). A estomatite protética resulta em inflamação, hiperplasia e sensação de prurido dos tecidos sob a prótese (Heidrich et al., 2018; Vankadara et al., 2017).

Esta reação inflamatória tem como agente causador a *Candida albicans*, fungo comensal presente na microbiota normal dos indivíduos. Devido a capacidade da *C. albicans* de adesão e morfogênese, possui papel importante na patogênese da estomatite, e como formas de tratamento, pode-se realizar renovação ou correções de irregularidades das próteses, melhoria da higiene oral, prescrições antifúngicas ou sistêmicas para casos mais graves (Altinci et al., 2018; Thein, Samaranayake, & Samaranayake, 2007; Vankadara et al., 2017). O uso de soluções para desinfecção, associada a melhoria na higienização oral também é uma medida simples para reduzir a colonização pelo fungo (Farzin, Bahrani, & Adelpour, 2013).

As soluções empregadas para esta finalidade devem ter poucos efeitos às propriedades físico-mecânica dos materiais, além disto, não devem ser tóxicas aos tecidos orais. Hipoclorito de sódio (1%), clorexidina (0,12%), pastilhas efervescentes, peróxido de hidrogênio e glutaraldeído são exemplos de produtos usados para desinfecção das próteses (Heidrich et al., 2018; Pero et al., 2013). O hipoclorito de sódio e a clorexidina reduzem a proliferação de microrganismos, incluindo a *C. albicans* (Pero et al., 2013).

Apesar do uso dos produtos mencionados, a busca por produtos que possuam menor toxicidade e menos efeitos adversos nas propriedades dos materiais, tem sido frequente (Heidrich et al., 2018; Pedroso et al., 2019). Produtos de origem natural, extraídos de plantas têm sido propostos, com intuito de superar as limitações dos produtos sintéticos, além do crescente interesse por fitoconstituintes (Heidrich et al., 2018; Kumar, Kumar, Natarajan & Sreenivasan, 2018; Li et al., 2015; Pero et al., 2013).

Com base no conhecimento da ação dos microrganismos na estomatite protética, este estudo objetivou avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana das substâncias α -terpineol, cinamaldeído, hipoclorito de sódio 1%, clorexidina 0,12%, e corega efervescente frente a

biofilmes de *C. albicans* (ATCC 90028) em superfícies de reembasador protético macio, bem como o efeito sobre a dureza superficial do material.

2. Metodologia

Delineamento Geral do Estudo

Trata-se de um estudo experimental, quantitativo, *in vitro*, cego quanto às análises e randomizado (n=8/grupo).

Preparo dos espécimes

Espécimes de reembasador protético macio (Bosworth Trusott- Bosworth Company-USA) foram preparados de acordo com as recomendações do fabricante, utilizando um molde de matriz metálica. Os espécimes foram inseridos em placas de 24 compartimentos e esterilizados por óxido de etileno.

Preparo do Inóculo e desenvolvimento do biofilme

A cepa de *Candida albicans* (ATCC 90028) foi reativada a partir de sua cultura original em meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (Kasvi®) e incubada a 37 °C em estufa (Callmex, Florianópolis, Brasil), por 24 h. Em seguida, as colônias foram coletadas e suspensas em RPMI 1640 (Inlab diagnóstica, Brasil). Após incubação a 37 °C, por 24 h, centrifugou-se o conjunto e a concentração de células foi determinado com espectrofotômetro (LGL Scientific 0741/16, Brasil), utilizando-se o comprimento de onda de 600 nm, com densidade celular $1,0 \times 10^6$ células/mL.

Foi induzida a formação da película salivar, inserindo-se 900 uL/espécime de saliva artificial (Laboratório Dilecta, João Pessoa, Brasil), composta por carboximetil 1%, cloreto de sódio 0,0084%, cloreto de potássio 0,12%, fosfato de potássio 0,0342%, cloreto de cálcio 0,0146% e cloreto de magnésio 0,052%, nas placas de 24 compartimentos, sobre os espécimes. As placas foram incubadas em estufa por 60 minutos (37°C), sendo após esse período, a saliva aspirada e inóculo, em meio RPMI, dispensados sobre os espécimes, e as amostras incubadas a 37° C, por 24 h, para adesão do biofilme.

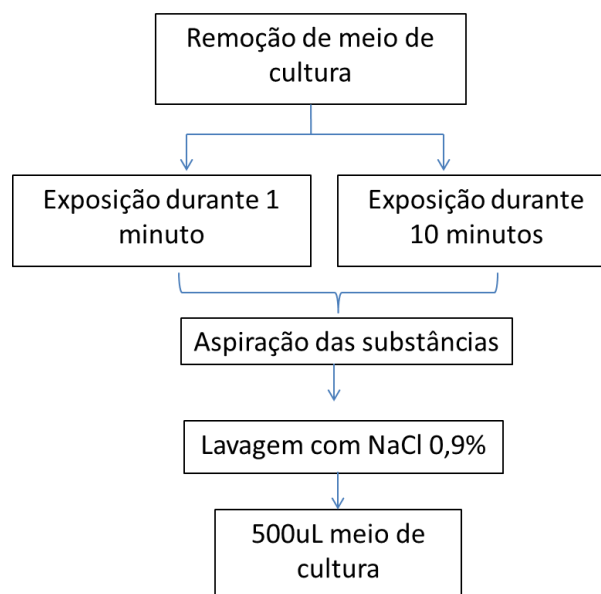
Preparação e exposição as substâncias testes

Os espécimes foram alocados em seis grupos distintos (n=8/grupo): α -terpineol, cinamaldeído, corega Tabs (solução efervescente), hipoclorito de sódio 1%, clorexidina 0,12% (Colgate- Palmolive, São Paulo, Brasil), e solução salina estéril como controle de crescimento.

O α -terpineol e o cinamaldeído, foram preparados a 10 mg/mL em meio RPMI 1640 (Inlab diagnóstica, Brasil) com 0,1% Tween 80 (Laboratório Dilecta, João Pessoa, Brasil). A solução efervescente Corega Tabs (CoregaTabs, Stafford Miller Ind, Rio de Janeiro, Brasil) foi preparado em 200 mL de solução salina estéril aquecida, de acordo com a recomendação do fabricante. A exposição dos biofilmes as substâncias foram realizadas em 24 h, 48 h e 72 horas após a semeadura do biofilme. Em cada exposição, os espécimes foram individualmente imersos nas substâncias testes (500 uL), permanecendo em contato durante 1 ou 10 minutos.

Os espécimes destinados ao controle de crescimento (controle negativo) foram submetidos a imersão em solução de NaCl a 0,9%, do mesmo modo que realizado para os demais grupos. Após a exposição, as amostras foram lavadas com solução salina estéril e o meio de cultura renovado, seguida de incubação a 37°C. As análises foram conduzidas após de 96 h (4 dias) da semeadura do biofilme. Destaca-se a Figura 1, observando-se a sequência metodológica das etapas realizadas durante a exposição das amostras às substâncias testes e controle.

Figura 1. Diagrama da sequência utilizada para exposição às substâncias testes.



Fonte: Autores.

Avaliação do metabolismo celular (MTT)

Para análise do metabolismo celular, as amostras (n= 8/grupo) foram incubadas em 500 uL de meio RPMI contendo 10% de sal de metil-tetrazolium (MTT). Durante 3 horas à 37°C, as amostras permaneceram incubadas na presença do sal de MTT e o sistema protegido da luz. Logo após, aspirou-se o meio e inseriu-se 400 uL de isopropanol ácido (6N-HCl) e a homogeneização das amostras foi realizada. O sobrenadante foi removido e a absorbância analisada, em duplicata, na Leitora de Absorbância para Microplacas, utilizando comprimento de onda entre 450 nm (Martorano-Fernandes, Cavalcanti, & Almeida, 2020).

Avaliação da dureza superficial

A dureza superficial dos espécimes foi determinada por meio da análise com Microdurômetro do tipo Shore A (Hongbo, Shanghai City) no início e ao final do experimento. A medição da dureza foi realizada no centro dos espécimes, de forma padronizada, por um único avaliador.

O valor da dureza (em unidade Shore A, numa escala 0 a 100) foi dado pela profundidade da penetração do endentador no material sob teste. Esse parâmetro foi avaliado a partir do delta entre a dureza inicial e final da formação dos biofilmes (Mancuso, Goiato, Zuccolotti, Moreno, & Santos, 2009).

Análise dos Dados

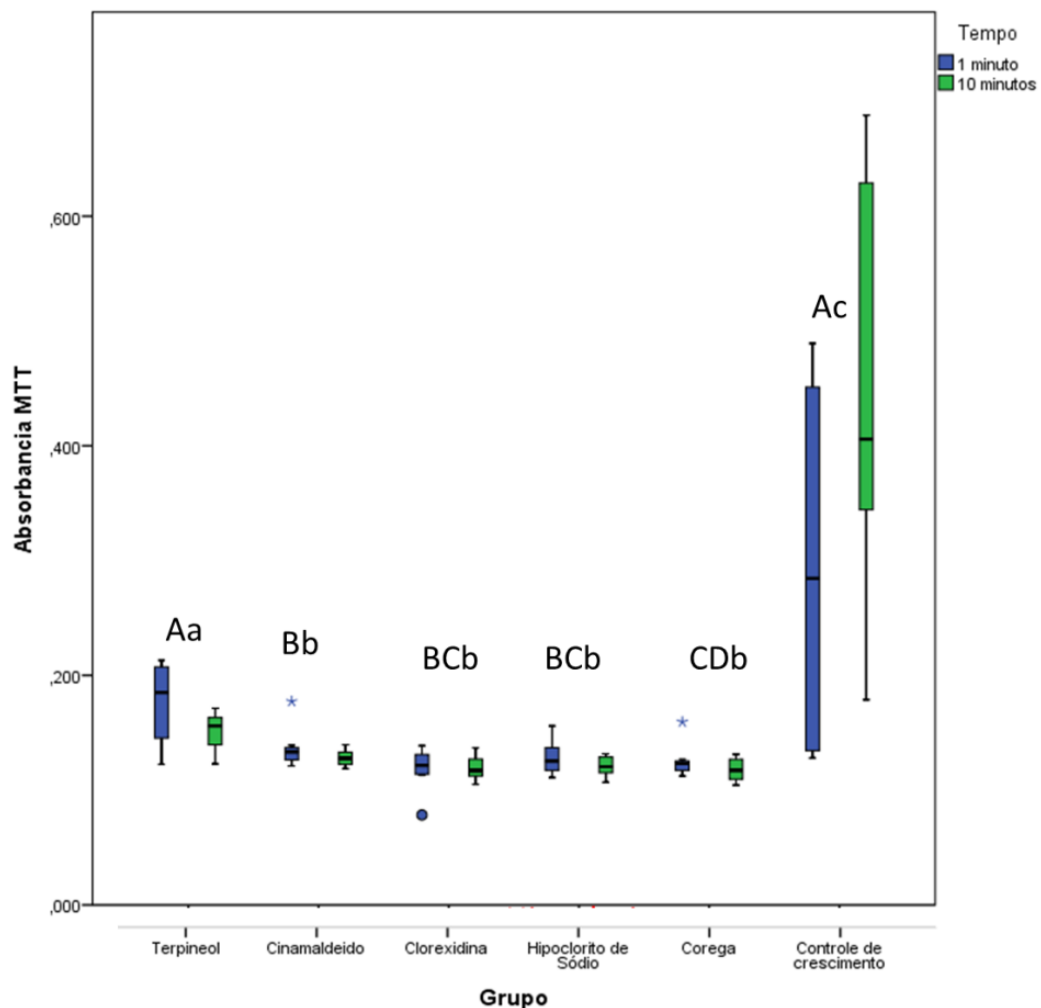
O software SPSS (Statistical Package for Social Sciences, IBM, Chicago, IL, USA) foi empregado para análise dos dados. Os valores do delta da dureza e absorbância foram avaliados quanto a sua normalidade e homocedasticidade. A análise estatística foi realizada utilizando-se o Teste t pareado para avaliação da dureza ($p < 0,05$). Para avaliação do MTT foi utilizado Kruskal-wallis e Mann-whitney ($p < 0,05$).

3. Resultados

Para análise da atividade metabólica, descrita pela Figura 2 (ensaio de MTT), todos os grupos diferiram quando comparados ao controle de crescimento ($p < 0,05$). Com relação aos tempos, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre 1 e 10 minutos

($p>0,05$). Para o tempo de 1 minuto, menores valores de atividade metabólica foram demonstrados para o Cinamaldeído, Clorexidina 0,12% e Hipoclorito de sódio 1%, sem diferença estatística entre esses três grupos. Para o tempo de 10 minutos, as substâncias α -terpineol e o controle de crescimento apresentaram maior atividade metabólica, diferindo dos demais grupos.

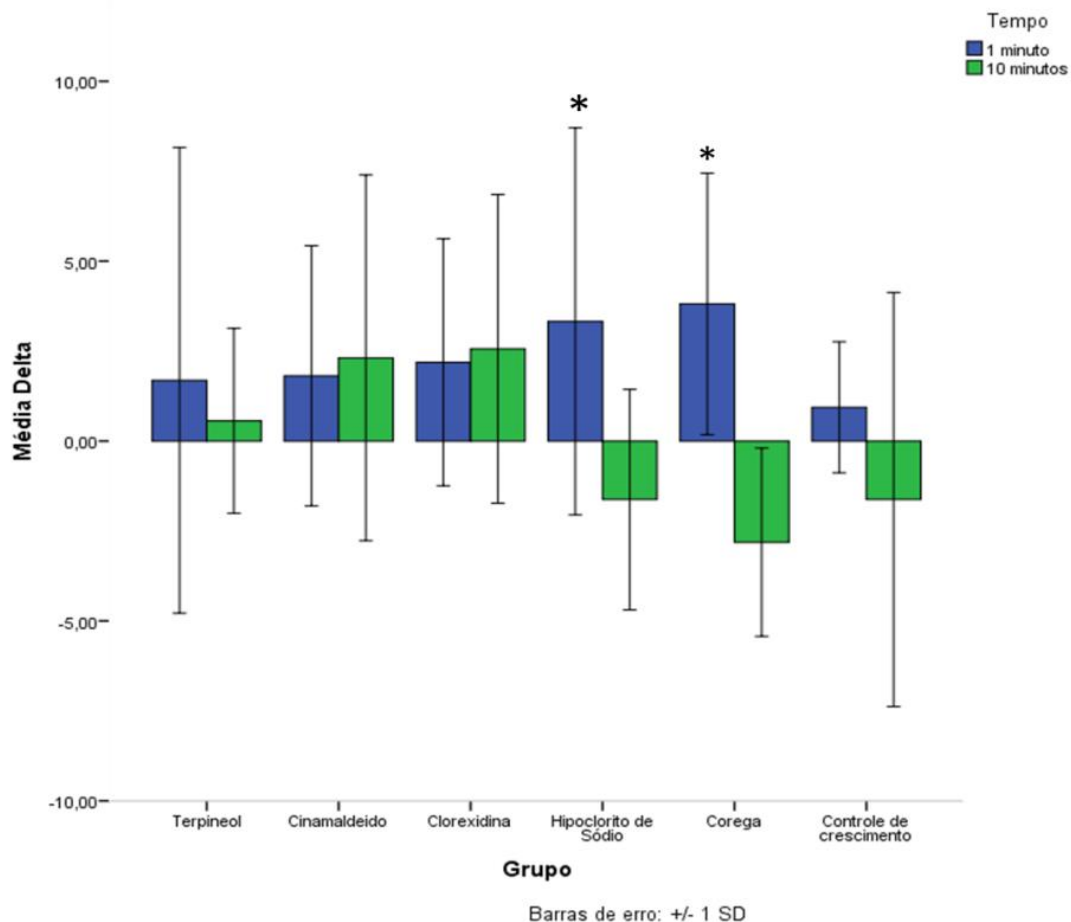
Figura 2. Determinação da absorbância para o teste de MTT em biofilmes de *Candida albicans* submetidos a soluções de descontaminação em superfícies de reembasador protético (n=8).



Letras maiúsculas distintas indicam diferença estatística entre as substâncias para o tempo 1 minuto. Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística entre as substâncias para o tempo 10 minutos. Grupos identificados com a mesma letra não diferem estatisticamente (Kruskal-Wallis/ Mann Whitney, $p<0,05$). **Diagrama de caixas onde: cada caixa contém 50% dos dados do grupo; os limites inferiores e superiores das caixas representam os percentis 25 e 75, respectivamente; as extremidades das antenas representam os valores mínimo e máximo do grupo; e a linha horizontal no interior da caixa representa a mediana. Fonte: Autores.

Quanto a dureza superficial, conforme apresentado na Figura 3, observou-se que não houve diferença entre grupos. Houve diferença com relação ao tempo para os grupos expostos ao hipoclorito de sódio e corega ($p < 0,05$).

Figura 3. Delta da dureza Shore A dos espécimes do reembasador protético submetidos a soluções de descontaminação.



Colunas representam as médias e as barras de erro representam os desvios-padrão ($n=8$). Diferenças estatisticamente significantes entre os tempos de 1 e 10 minutos estão indicados com * (Teste t, $p < 0,05$). Fonte: Autores.

4. Discussão

Os reembasadores macios proporcionam melhor adaptação e retenção às próteses, de modo a tornar o uso do dispositivo mais confortável. Entretanto, devido a sua natureza porosa, estes materiais absorvem água e com o tempo tendem a sofrer alterações, podendo haver distorções como enrijecimento e podem ainda servir como nicho para colonização microbiana (Mahboub et al., 2017; Pero et al., 2013; Vankadara et al., 2017).

As desinfecções destas superfícies são necessárias, para que não ocorra a contaminação das mesmas por microrganismos, especialmente por leveduras de *C. albicans* (Heidrich et al., 2018). Devido à busca por substâncias que proporcionem desinfecção das próteses, porém não causem danos às mesmas, as substâncias naturais vêm sendo alvo de estudos para prevenção e tratamento de estomatite protética (Heidrich et al., 2018; Vankadara et al., 2017). Neste presente estudo buscou-se avaliar, *in vitro*, os fitoconstituintes α -terpineol, cinamaldeído, além do hipoclorito de sódio 1%, clorexidina 0,12%, e corega efervescente.

Soluções de desinfecção como hipoclorito de sódio e clorexidina são indicadas e mostram efetividade contra *C. albicans* e bactérias gram-positivas, ao reduzir e inibir sua proliferação nas superfícies protéticas (Pero et al., 2013). Esse efeito pôde ser observado nos resultados da análise do metabolismo celular, de modo que o biofilme de *C. albicans* exposto a estas substâncias apresentaram menores taxas de atividade metabólica.

Ao analisar o efeito do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil-TTO), nas concentrações de 10, 20, 30 e 40%, incorporados à reembasadores macios contra colonização e inibição da *C. albicans*, observou-se em todas as concentrações avaliadas uma redução nas unidades formadoras de colônias (UFC/mL), demonstrando boas propriedades antifúngicas da substância em questão (Vankadara et al., 2017). O α -terpineol é um dos componentes do TTO, apresentando propriedades antifúngicas e antibacterianas (Li et al., 2015).

Comparando-se os fitoconstituintes cinamaldeído e α -terpineol analisados neste estudo, o biofilme exposto ao cinamaldeído demonstrou menores valores de atividade metabólica para ambos os tempos de exposição, e já o biofilme exposto α -terpineol demonstrou maior atividade metabólica. Infere-se que devido a substância apresentar o mesmo padrão de atividade nos dois tempos avaliados (1 e 10 minutos), a imersão para descontaminação em apenas 1 minutos é efetiva, diminuindo o tempo gasto e podendo assim ser uma vantagem para os pacientes, ao economizar-se tempo, além de ser uma substância natural.

Resultado semelhante ao encontrado neste presente estudo, foi observado para as substâncias naturais de extrato de Neem (*Azadirachta indica*) e de alho, as quais foram incorporadas a reembasadores macios e avaliadas quanto a inibição de *C. albicans* e quanto a variação de dureza Shore A. Ambas as substâncias inibiram a *C. albicans*, diferindo do controle, e a dureza não apresentou diferença entre as substâncias, diferindo apenas para o

tempo (Kumar et al., 2018). Esse padrão de resultado, utilizando substâncias naturais, pôde ser observado nos resultados deste estudo, em que para o metabolismo celular houve diferença das substâncias para o grupo controle e para a dureza houve diferença apenas para os tempos.

Salienta-se que substâncias de origem natural apresentam diferentes composições, além de sofrerem influência do clima, técnica de extrações e período de fertilização, podendo, por isso, apresentar diferenças (Heidrich et al., 2018). Óleos e extratos são compostos por várias moléculas derivadas da substância a qual está sendo utilizada, entretanto, a maior parte não encontra-se isolado, sendo necessário em alguns casos realizar seu fracionamento (AlSheikh et al., 2020; Tonon et al., 2018).

Para realização do processo de limpeza das próteses, o dispositivo deve ser imerso na solução de descontaminação. Entretanto com o tempo, observa-se a diminuição das propriedades do material, principalmente pela absorção de água, alterando a porosidade e rugosidade, favorecendo dessa forma a colonização de fungos, sobretudo a *Candida albicans* (Farzin et al., 2013; Mahboub et al., 2017).

Ao avaliar a imersão de reembasadores macios em Corega e no hipoclorito 2,5% durante 15 minutos/dia, verificou-se que o hipoclorito de sódio reduziu a resistência a tração e ao cisalhamento quando comparado ao Corega e ao grupo controle, dessa forma, verificou-se o Corega como uma substância que trará mais longevidade às bases das próteses (Mahboub et al., 2017).

Destaca-se que o aumento do tempo de imersão causa diminuição da resistência do material ao cisalhamento (Mahboub et al., 2017). Nos resultados da dureza deste presente estudo, para o maior tempo de exposição (10 minutos) houve redução da dureza Shore A apenas para o Corega e hipoclorito de sódio, devido ao fato destas soluções serem mais concentradas.

A resistência a tração entre reembasadores macios e resinas acrílicas foi avaliada ao serem imersos em dois períodos de tempos (15 e 45 minutos), em água destilada, Calgon (a base de hipoclorito de sódio), Fittydent (a base de perborato de sódio) e um grupo controle (sem nenhuma imersão). Quando as soluções foram comparadas ao grupo controle, todas as três soluções diferiram do mesmo, porém as três soluções não diferiram entre si, demonstrando que todas as soluções não influenciaram a resistência a tração, e que esta aumenta-se conforme aumenta-se o tempo de imersão (Farzin et al., 2013).

Embora as propriedades mecânicas quanto ao tipo de força empregado avaliadas não sejam a mesma deste estudo, os desinfetantes utilizados pelos autores citados assemelham-se

ao corega e ao hipoclorito de sódio, utilizados neste estudo. A escolha da solução desinfetante deve ser compatível com o material da prótese, visto que a colonização por *C. albicans* pode ser influenciada pela incompatibilidade do material com a solução para desinfecção (Nikawa et al., 2003).

Além das características da superfície sobre o qual o biofilme fúngico se desenvolve, sua formação depende da adesão, crescimento e co-adesão do microrganismo (Nikawa et al., 2003). As propriedades das resinas acrílicas e dos reembasadores macios podem ser sensíveis à substância desinfetante pelo seu uso diário, podendo desta forma, causar algum tipo de falha no material (Farzin et al., 2013). A ausência de diferença para dureza Shore A pode ser explicada pela curta duração do estudo, onde a análise em questão foi realizada após 96 horas das exposições as substâncias testes, sendo um tempo curto para verificar-se uma intervenção neste tipo de material.

Este estudo apresenta algumas limitações devido sua natureza in vitro não simular a complexidade do ambiente oral. Há de se destacar também a etiologia multifatorial da estomatite protética, além de variações particulares da microbiota oral de cada indivíduo. Outros estudos precisam ser realizados para que mais evidências a respeito de substâncias descontaminantes sejam descobertas, e assim seja possível escolher soluções que causem as mínimas alterações possíveis nas próteses.

5. Considerações Finais

De acordo com os resultados do presente estudo, o cinamaldeído, clorexidina e hipoclorito demonstraram atividade antifúngica sobre biofilme de *Candida albicans* em superfícies de reembasadores protéticos macios.

Como perspectivas futuras, é interessante o delineamento de estudos que avaliem os possíveis efeitos em células da mucosa oral, bem como ensaios clínicos para a avaliação da efetividade e eficiência das substâncias como agentes antimicrobianos.

Financiamento

Os autores receberam financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Conflitos de interesse

Os autores declaram que não têm conflito de interesse.

Referências

AlSheikh, H. M. A., Sultan, I., Kumar, V., Rather, I. A., Al-Sheikh, H., Jan, A. T., & Haq, Q. M. R. (2020). Plant-Based Phytochemicals as Possible Alternative to Antibiotics in Combating Bacterial Drug Resistance. *Antibiotics*, 9(8), E480. doi: 10.3390/antibiotics9080480

Altinci, P., Mutluay, M., Soderling, E., & Tezvergil-Mutluay, A. (2018). Antimicrobial efficacy and mechanical properties of BAC-modified hard and soft denture liners. *Odontology*, 106(1), 83-89. doi: 10.1007/s10266-017-0303-8.

Farzin, M., Bahrani, F., & Adelpour, E. (2013). Comparison of the Effect of two Denture Cleansers on Tensile bond Strength of a Denture Liner. *Journal of dentistry (Shiraz, Iran)*, 14(3), 130–135. PMID: 24724134

Heidrich, D., Fortes, C. B. B., Mallmann, A. T., Vargas, C. M., Arndt, P. B., & Scroferneker, M. L. (2019). Rosemary, Castor Oils, and Propolis Extract: Activity Against *Candida albicans* and alterations on properties of dental acrylic resins. *J Prosthodont*, 28(2), e863-e868. doi: 10.1111/jopr.12746.

Kumar, S. M., Kumar, V. A., Natarajan, P., & Sreenivasan, G. (2018). Antifungal Efficacy and the Mechanical Properties of Soft Liners against *Candida albicans* after the Incorporation of Garlic and Neem: An *In vitro* Study. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 8(3), 212–217. doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_343_17.

Lee, H. L., Wang, R. S., Hsu, Y. C., Chuang, C. C., Chan, H. R., Chiu, H. C., Wang, Y. B., Chen, K. Y., & Fu, E. (2018). Antifungal effect of tissue conditioners containing poly(acryloyloxyethyltrimethyl ammonium chloride)-grafted chitosan on *Candida albicans* growth in vitro. *Journal of Dental Sciences*, 13(2), 160-166. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2017.06.004>

Li, L., Shi, C., Yin, Z., Jia, R., Peng, L., Kang, S., & Li, Z. (2015). Antibacterial activity of α -terpineol may induce morphostructural alterations in *Escherichia coli*. *Brazilian journal of microbiology*, 45(4), 1409–1413. doi: 10.1590/s1517-83822014000400035

Mahboub, F., Salehsaber, F., Parnia, F., Gharekhani, V., Kananizadeh, Y., & Taghizadeh, M. (2017). Effect of denture cleansing agents on tensile and shear bond strengths of soft liners to acrylic denture base. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, 11(3), 183–188. doi: 10.15171/joddd.2017.033

Mancuso, D. N., Goiato, M. C., Zuccolotti, B. C. R., Moreno, A., & Santos, D. M. (2009). Evaluation of Hardness and Colour Change of Soft Liners After Accelerated Ageing. *Prim Dent Care*, 16(3), 127-30. doi: 10.1308/135576109788634232.

Martorano-Fernandes, L., Cavalcanti, Y. W., & Almeida L. F.D. (2020). Inhibitory effect of Brazilian red propolis on *Candida* biofilms developed on titanium surfaces. *BMC Complement Med Ther*, 20(104). <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02893-9>

Nikawa, H., Jin, C., Makihira, S., Egusa, H., Hamada, T., & Kumagai, H. (2003). Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *Journal of oral rehabilitation*, 30(3), 243–250. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2842.2003.01024.x>

Pero, A. C., Scavassin, P. M., Leite, A. R. P., Marin, D. O. M., Paleari, A. G., & Compagnoni, M. A. (2013). Effect of immersion cleansers on the bond strength between a denture base resin and acrylic resin teeth. *International Journal of Adhesion & Adhesives*, 44, 180-183. <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2013.02.011>

Thein, Z. M., Samaranayake, Y. H., & Samaranayake, L. P. (2007). Characteristics of dual species *Candida* biofilms on denture acrylic surfaces. *Archives of oral biology*, 52(12), 1200–1208. doi: 10.1016/j.archoralbio.2007.06.007.

Tonon, C. C., Francisconi, R. S., Bordini, E., Huacho, P., Sardi, J., & Spolidorio, D. (2018). Interactions between Terpinen-4-ol and Nystatin on biofilm of *Candida albicans* and *Candida*

tropicalis. Brazilian dental journal, 29(4), 359–367. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201802073>

Vankadara, S. K., Hallikerimath, R. B., Patil, V., Bhat, K., & Doddamani, M. H. (2017). Effect of *Melaleuca alternifolia* Mixed with Tissue Conditioners in Varying Doses on Colonization and Inhibition of *Candida albicans*: An *In Vitro* Study. *Contemporary clinical dentistry*, 8(3), 446–450. doi: 10.4103/ccd.ccd_542_17.

Pedroso, R., Balbino, B. L., Andrade, G., Dias, M., Alvarenga, T. A., Pedroso, R., Pimenta, L. P., Lucarini, R., Pauletti, P. M., Januário, A. H., Carvalho, M., Miranda, M., & Pires, R. H. (2019). In Vitro and In Vivo Anti-*Candida* spp. Activity of Plant-Derived Products. *Plants (Basel, Switzerland)*, 8(11), 494. doi: 10.3390/plants8110494

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Isis Morais Bezerra – 25%

Arella Cristina Muniz Brito – 25%

Yuri Wanderley Cavalcanti – 25%

Leopoldina de Fátima Dantas de Almeida – 25%