



Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e
Clínica Integrada

ISSN: 1519-0501

apesb@terra.com.br

Universidade Federal da Paraíba
Brasil

GONDIM, Brenna Louise C.; VIEIRA, Thiago Isidro; Alves da CUNHA, Diego; Marques
SANTIAGO, Bianca; Gondim VALENÇA, Ana Maria

Atividade Antimicrobiana de Produtos Naturais Frente a Bactérias Formadoras do
Biofilme Dentário

Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada, vol. 11, núm. 1, enero-marzo,
2011, pp. 123-127

Universidade Federal da Paraíba
Paraíba, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63719237019>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Atividade Antimicrobiana de Produtos Naturais Frente a Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário

Antimicrobial Activity of Herbal Products against Dental Biofilm Forming Bacteria

Brenna Louise C. GONDIM¹, Thiago Isidro VIEIRA¹, Diego Alves da CUNHA¹, Bianca Marques SANTIAGO², Ana Maria Gondim VALENÇA³

¹Acadêmico do Curso de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

²Professora Assistente do Departamento de Clínica e Odontologia Social da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

³Professora Associada do Departamento de Clínica e Odontologia Social da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

RESUMO

Objetivo: Verificar, *in vitro*, o efeito antimicrobiano do pólen e dos extratos alcoólico e aquoso da própolis em suas formas pura e diluídas sobre cepas de referência *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus salivarius* ATCC 7073, *Streptococcus mitis* ATCC 903 e *Lactobacillus casei* ATCC 9595 pela determinação da Diluição Inibitória Máxima (DIM).

Método: Utilizou-se a clorexidina como controle positivo e água destilada e álcool de cereais 70% como controles negativos. Efetuou-se a diluição das soluções de 1:1 até 1:64 dos extratos alcoólico e aquoso da própolis diluídos em álcool 70% e água destilada, respectivamente. O pólen foi diluído em álcool, por ser uma substância apolar, nas concentrações de 5% (quantidade presente na composição química da própolis) e 50%. Cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo nutritivo *Brain Heart Infusion* (BHI) e semeadas as placas com auxílio de swabs, procedendo-se com testes de suscetibilidade, em duplicata, por meio do método da difusão em ágar e técnica do ágar recortado. Em seguida, foram incubadas a 37°C, em microaerofilia, por 48h.

Resultados: Constatou-se que todas as diluições da própolis alcoólica inibiram o crescimento bacteriano enquanto a própolis aquosa mostrou os menores resultados tendo efeito apenas sobre *S. mitis* na forma pura e nas diluições de 1:1 até 1:4. O pólen a 5% foi eficiente sobre todas as bactérias, porém o pólen a 50% teve ação apenas sobre *S. mitis*. Os controles negativos não apresentaram atividade.

Conclusão: Apesar da própolis e do pólen apresentarem atividade antimicrobiana contra as cepas de referência superior à do placebo, esta, porém, foi inferior à da clorexidina.

ABSTRACT

Objective: To evaluate, *in vitro*, the antimicrobial effect of pollen and alcoholic and aqueous propolis extracts in their pure and diluted forms against reference strains *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus salivarius* ATCC 7073, *Streptococcus mitis* ATCC 903 and *Lactobacillus casei* ATCC 9595, by determination of Maximum Inhibitory Dilution (MID).

Methods: Chlorhexidine was used as a positive control and distilled water and 70% grain alcohol as negative controls. The alcoholic and aqueous propolis extracts were subjected to dilutions from 1:1 to 1:64 in 70% alcohol and distilled water, respectively. For being an apolar substance, pollen was diluted in alcohol at the concentrations of 5% (amount present in the chemical composition of propolis) and 50%. Each bacterial strain was reactivated in Brain Heart Infusion (BHI) broth and seeded onto plates with swabs, and the susceptibility tests were performed in duplicate by the agar diffusion method using the agar well technique. Next, the plates were incubated at 37°C in microaerophilia during 48 hours.

Results: All dilutions of alcoholic propolis extract inhibited the bacterial growth while the aqueous propolis extract showed less efficient results, being effective only against *S. mitis* in its pure form and in the 1:1 to 1:4 dilutions. Pollen at 5% was efficient against all bacteria, but pollen at 50% had action only against *S. mitis*. The negative controls did not present antimicrobial activity.

Conclusion: The antimicrobial activity of propolis and pollen against the reference strains was higher than that of placebo but lower than that of chlorhexidine.

DESCRIPTORES

Microbiologia; Biofilme dentário; Própolis.

KEYWORDS

Microbiology; Dental plaque; Propolis.

INTRODUÇÃO

A microbiota presente no meio bucal é um dos fatores mais estudados no intuito de compreender melhor os mecanismos que levam ao desenvolvimento da cárie dentária, bem como de seu tratamento que, do ponto de vista patológico, é considerado como uma doença infecciosa e, como tal, deve ser tratada de forma a controlar o agente causador¹⁻³.

Como a formação da cárie dentária se dá por bactérias presentes no biofilme dentário, tem-se o *S. mutans* como o mais prevalente nas etapas iniciais, enquanto o *L. casei* é mais encontrado na evolução da cavitação⁴⁻⁶. Percebe-se que a proporção dessas bactérias na saliva e na placa bacteriana esta diretamente correlacionada com a prevalência e a frequência de cárie dentária, isso levou a uma série de experimentos direcionados à diminuição dos mesmos na cavidade bucal⁷.

Produtos naturais têm sido utilizados para fins de medicina popular em todo o mundo por milhares de anos⁸. As substâncias naturais têm demonstrado ação antibacteriana, principalmente pelo fato de que grande parte dos vegetais utilizados na medicina alternativa é constituída por flavanóides, que agem sobre as células bacterianas rompendo a membrana citoplasmática e inibindo a atividade enzimática⁹.

Neste parâmetro, sabe-se que a própolis, uma substância produzida pelas abelhas, é um poderoso agente antimicrobiano e anti-inflamatório, apresentando também atividade antiviral in vitro, ação antiúlcera (auxílio na cicatrização), antioxidante, anti-cancerígeno, imunoestimuladora, hipotensiva e citostática^{10,11}. Em geral, a própolis é composta de 50% de resina e bálsamo de vegetais, cera de 30%, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias, incluindo os restos orgânicos, dependendo do local e tempo de coleta. Os constituintes da própolis variam muito devido ao clima, estação, local e ano, e sua fórmula química não é estável¹². É um produto natural de interesse para a área odontológica, podendo ser utilizada sobre forma de bochechos, ou empregado também na forma sólida; na forma de ungüento à base de vaselina, lanolina, manteiga, azeite de oliva, ou extrato óleo-alcoólico; na forma de extrato alcoólico; e extrato hidro-alcoólico.

Pólen, bem como outros produtos de apicultura, tem ganhado maior atenção para as suas propriedades terapêuticas, como antibacteriana, anti-fúngica, anti-cariogênica¹³⁻¹⁵ e efeitos imunomoduladores. Outras aplicações potenciais do pólen incluem a sua utilização em apiterapia e, como um alimento funcional na indústria

alimentar devido às suas propriedades nutricionais. O pólen é considerado um precioso alimento com efeitos variados para a saúde¹⁶.

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo estudos químicos e farmacológicos que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Nessa perspectiva vê-se a necessidade de se desenvolver uma substância com potente atividade antimicrobiana, capaz de interferir no desenvolvimento do biofilme.

Com base neste fato, o objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade de espécies bacterianas encontradas na cavidade oral: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* e *Lactobacillus casei* frente aos extratos de própolis alcoólico e aquoso, diluídos respectivamente em álcool e água destilada e do pólen diluído em álcool, em concentrações de 5% e 50%.

METODOLOGIA

No teste da atividade antimicrobiana das substâncias selecionadas foram utilizadas linhagens bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus salivarius* ATCC 7073, *Streptococcus mitis* ATCC 903 e *Lactobacillus casei* ATCC 9595.

Nos experimentos realizados, foi testado o efeito do pólen como agente antimicrobiano. Seguindo os objetivos propostos nesta pesquisa, foi selecionada a própolis, utilizando como critério mínimo de inclusão a apresentação de uma atividade anti-séptica descrita na literatura.

Os extratos de própolis com e sem álcool oriundos do fabricante Apis Flora Ind. Com. Ltda. foram adquiridos em farmácia homeopática de referência na cidade de João Pessoa/PB. Adquiriu-se também o pólen puro de um centro de pesquisas em fitoterapia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), o qual foi armazenado em refrigeração para posterior diluição em solução alcoólica. A solução de clorexidina a 0,12% foi adquirida em farmácia de manipulação.

Cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo nutritivo *Brain Heart Infusion* (BHI) e semeadas as placas de BHI ágar acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado (ágar sangue) com auxílio de *swabs* e em seguida incubadas a 37°C, em microaerofilia, por 48 horas.

Os extratos de própolis com e sem álcool, foram diluídos em álcool 70° e água destilada nas concentrações de 1:1 e chegando à 1:64, como também foi testada em suas formas puras. O pólen por ser uma substância

apolar foi diluída em álcool 70° nas concentrações de 5% (quantidade presente na composição química da própolis) e 50%.

Foi utilizado como controle positivo a clorexidina 0,12% e como controle negativo o álcool à 70° e a água destilada, utilizados no preparo dos extratos.

Após a observação visual da turvação do meio, realizou-se a determinação da Diluição Inibitória Máxima (DIM) pelo método da difusão em agar e técnica do agar recortado, no qual as linhagens foram semeadas em placas de Petri com auxílio de swabs estéreis, e posterior perfuração de poços de aproximadamente 6mm no meio sólido para colocação de 50µL das diluições em diferentes concentrações. Em seguida as placas foram incubadas a 37°C, em microaerofilia, por 24 horas.

Com auxílio de paquímetro manual foi determinada a DIM, considerada como a maior faixa de diluição dos produtos capaz de inibir crescimento bacteriano com o aparecimento de halos de inibição.

Com o objetivo de controlar o estudo e assegurar a sua reprodutibilidade, os experimentos foram realizados em duplicata.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva e comparativa, verificando-se a atividade antimicrobiana dos produtos selecionados sobre as linhagens padronizadas.

RESULTADOS

A clorexidina, utilizada como controle positivo, apresentou os melhores resultados conforme observado na tabela 1 demonstrando seu potencial antibacteriano sobre os microrganismos selecionados na presente pesquisa. Em contrapartida, constatou-se o álcool de cereais a 70% e a água destilada, controles negativos, não inibiu o crescimento das espécies bacterianas avaliadas. O pólen a 5% apresentou atividade sobre todas as bactérias, enquanto que o pólen a 50% teve ação exclusivamente sobre *S. mitis* (Tabela 1).

Tabela 1. Halos de inibição (em mm) da clorexidina e do pólen a 5% e a 50%.

Microorganismo	Clorexidina	Pólen a 5%	Pólen a 50%
<i>S. mutans</i>	26 mm	8 mm	-
<i>S. salivarius</i>	20 mm	12 mm	-
<i>S. mitis</i>	21 mm	8 mm	8 mm
<i>L. casei</i>	21 mm	8 mm	-

Os resultados do teste de difusão da própolis alcoólica são visualizados na Tabela 2, os quais se referem à média dos halos de inibição em mm.

Tabela 2. Halos de inibição (em mm) observados sobre as cepas testadas nas diferentes diluições e na forma pura da própolis alcoólica.

Diluições	Própolis alcoólica			
	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>L. casei</i>
Puro	16 mm	19 mm	17 mm	0 mm
1:1	11 mm	17 mm	15 mm	0 mm
1:2	11 mm	14 mm	13 mm	0 mm
1:4	11 mm	14 mm	12 mm	0 mm
1:8	11 mm	12 mm	12 mm	0 mm
1:16	10 mm	10 mm	12 mm	0 mm
1:32	9 mm	8 mm	9 mm	0 mm
1:64	9 mm	7 mm	9 mm	0 mm

A Diluição Inibitória Mínima (DIM) registrada para as cepas de *S. mutans*, *S. salivarius* e *S. mitis* foi a de 1:64 enquanto a observada para *L. casei* foi 1:32 (Tabela 3).

Tabela 3. Diluição Inibitória Máxima (DIM) das substâncias sobre as linhagens bacterianas testadas.

Bactérias	Substância	
	Própolis alcoólica	Própolis aquosa
<i>S. mutans</i>	1:64	-
<i>S. salivarius</i>	1:64	-
<i>S. mitis</i>	1:64	1:4
<i>L. casei</i>	1:32	-

DISCUSSÃO

O principal fator etiológico local da cárie é o biofilme com característica de acidogenicidade, no qual estejam presentes principalmente bactérias do gênero *Streptococcus*, como também de *Lactobacillus sp.*, podendo-se estabelecer uma relação positiva entre esses microrganismos e a cárie em humanos⁶.

Na prevenção de doenças da cavidade oral, é de fundamental importância o emprego da remoção mecânica do biofilme dental, podendo associá-la ou não ao uso de agentes químicos⁶. Procurando promover o controle químico do biofilme, várias pesquisas vêm sendo realizadas para desenvolver e testar a atividade de diversas substâncias contra esses microrganismos^{17,18}.

Entre as substâncias utilizadas com a função anti-séptica bucal a mais indicada é a clorexidina 0,12%, pois nessa concentração há uma redução dos efeitos adversos causados pela substância quando em concentrações mais elevadas e, ainda assim, mantém a eficácia contra os microrganismos¹⁹. A atividade antimicrobiana da clorexidina tem sido relatada em diversos estudos e os achados do presente trabalho concordam com os resultados descritos na literatura pesquisada^{20,21}.

O desenvolvimento de novas terapias para o tratamento das doenças da cavidade oral é de grande importância uma vez que a administração local e sistêmica

de agentes antimicrobianos acarreta vários problemas, como: seleção de microrganismos multirresistentes, transferência interbacteriana de determinantes de resistência e efeitos colaterais desagradáveis, o que torna o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica. Diante disso, o uso de antimicrobianos naturais pode contribuir no controle do crescimento desordenado da microbiota oral^{18,19}.

Em relação ao extrato etanólico da própolis, constatou-se sua eficácia sobre cepas de *S. sobrinus*, *S. mutans* e *S. aureus*²². Em adição, ao se avaliar a susceptibilidade dos extratos etanólicos de própolis provenientes dos estados do Paraná, Minas Gerais e São Paulo e de óleos essenciais frente às bactérias cariogênicas *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* usando o método de difusão foi observado que os extratos de própolis não apresentam atividade para *L. casei*²³.

Ação antibacteriana do extrato alcoólico de própolis a 50% foi demonstrada sobre 161 isolados bacterianos, tanto gram positivos dentre eles o *Streptococcus sp.*, bem como para gram negativos. Observou-se inibição bacteriana de 67,7% das bactérias testadas; 92,6% dos isolados Gram positivos e 42,5% dos Gram negativos foram sensíveis ao extrato²⁴.

Ao se avaliar a atividade antimicrobiana de tinturas fitoterápicas sobre bactérias bucais, verificou-se sua ação sobre *S. mutans*, *S. mitis* e *L. casei*, com DIM's de 1:16, 1:4 e 1:8 respectivamente⁵. Estes achados divergem dos resultados obtidos no presente estudo. Isso pode ser justificado pelo fato da utilização de diluição de tintura da própolis enquanto que neste trabalho foi empregado o extrato alcoólico da própolis, registrando-se melhores resultados para este último.

O extrato de própolis aquoso mostrou menor ação antimicrobiana, tendo efeito apenas sobre *S. mitis* na forma pura e nas diluições de 1:1 até 1:4. Resultados diferentes foram verificados ao ser avaliada a atividade antimicrobiana de soluções aquosas e hidroalcoólicas da própolis da região do Vale do Paraíba sobre vinte e uma cepas de *S. mutans* em diversas concentrações, observando-se que a própolis aquosa inibiu todas as cepas de *S. mutans* até a concentração de 20%²⁵. Contudo, corroborando os achados do presente estudo, a solução hidroalcoólica obteve resultados significativamente mais eficazes²⁵.

Pesquisas, *in vitro*, desenvolvidas utilizando como agente antimicrobiano extratos de própolis, frações isoladas, e os compostos purificados mostraram reduções na contagem de *Streptococcus mutans*, bem como interferência com a sua capacidade de adesão e atividade de glicosiltransferase, que são consideradas grandes propriedades no estabelecimento do processo

cariogênico²⁶.

A composição e as propriedades biológicas da própolis estão diretamente relacionadas a sua composição química que pode sofrer variações de acordo com o tipo de vegetação da região, a época da coleta, a técnica empregada e a espécie da abelha^{27,28}.

Neste sentido, ao ser avaliado o perfil de susceptibilidade de extratos etanólicos de própolis oriundos dos estados do Paraná, Minas Gerais e São Paulo e de óleos essenciais frente a bactérias cariogênicas (*Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*), constatou-se que a própolis proveniente de Minas Gerais apresentou a maior atividade, fato que leva a concluir que diferença na composição da própolis pode estar associada com a região de produção e com a estação climática da coleta²³.

Corroborando esta afirmação, em um estudo desenvolvido para determinar a atividade antioxidante, compostos fenólicos e atividade antibacteriana de extratos de pólen obtidos com diferentes concentrações de etanol das regiões de Alagoas e Paraná, observou-se que o *Staphylococcus aureus* foi inibido pelo extrato etanólico de Alagoas, em todas as concentrações, exceto no extrato etanólico do pólen de 90%. O extrato a 60% da solução de etanol (amostra do Paraná) inibiu *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella*²⁹.

É importante compreender que um experimento realizado *in vitro*, por ser um sistema estático, apresenta limitações em comparação com pesquisas *in vivo*. Nestas últimas, aspectos como acúmulo de biofilme, hábitos de higiene, fluxo e composição salivar, dieta e fatores sistêmicos devem ser considerados. Nesta perspectiva, a partir dos resultados obtidos no presente estudo, torna-se perceptível a importância da realização de ensaios pré-clínicos e clínicos, com o propósito de analisar outras propriedades do pólen e da própolis, bem como, na cavidade bucal, sua ação frente a bactérias envolvidas no processo de formação do biofilme.

CONCLUSÕES

- 1) Todas as diluições da própolis alcoólica inibiram o crescimento bacteriano das cepas de *S. mutans*, *S. salivarius* e *S. mitis* enquanto que apenas a diluição de 1:64 não inibiu a cepa de *L. casei*;
- 2) A própolis aquosa exibiu os menores resultados tendo efeito exclusivamente sobre *S. mitis* na forma pura e nas diluições de 1:1 até 1:4;
- 3) O pólen a 5% foi efetivo sobre as bactérias avaliadas, porém, a 50%, teve ação somente sobre *S. mitis*;
- 4) A clorexidina apresentou os melhores resultados tendo

halos de 26, 20, 21 e 21 mm para *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis* e *L. casei*, respectivamente;

5) Os controles negativos não apresentaram atividade antimicrobiana.

REFERÊNCIAS

1. Marsh PD, Nyvad B. The oral microflora and biofilms on teeth. In: Fejerskov O, Kidd E. Dental caries. The disease and its clinical management. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008. p.163-87.
2. Sbordone L, Bortolaia C. Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. Clin Oral Invest 2003; 7(4):181-8.
3. Silverstone LM. The role of fluorides in remineralization of enamel. Caries Res 1977; 59:38-45.
4. Van Houte J, Russo J. Variable colonization by oral streptococci in molar fissures of monoinfected gnotobiotic rats. Infection and Immunity 1986; 52(2):620-2.
5. Beighton D, Manji F, Baelum V, Fejerskov O, Johnson NW, Wilton JMA. Associations between salivary levels of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacilli*, and caries experience in Kenyan adolescents. J Dent Res 1989; 68(8):1242-6.
6. Zanela NLM, Bijella MFTB, Rosa OPS. The influence of mouthrinses with antimicrobial solutions on the inhibition of dental plaque and on the levels of *mutans streptococci* in children. Pesqui Odontol Bras 2002; 16(2):101-6.
7. Palomer LR. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa Rev Chil Pediatr 2006; 77(1):50-6.
8. Özcan F, Sümer Z, Polat ZA, Er K, Özcan Ü, De er O. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. Eur J Dent 2007; 1(4):195-201.
9. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz J Microbiol 2000; 31(4):247-56.
10. Longhini R, Raksa SM, Oliveira ACP, Svidzinski TIE, Franco SL. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. Rev Bras Farmacogn 2007; 17(3):388-95.
11. Packer JF, Luz MMS. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. Rev Bras Farmacogn 2007; 17(1):102-7.
12. Sforcin JM, Fernandes A, Lopes CA, Bankova V, Funari SR. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. J Ethnopharmacol 2000; 73(1-2):243-9.
13. Almas K, Mahmoud A, Dahlan A. A comparative study of propolis and saline application on human dentin: a SEM study. Indian J Dent Res 2001; 12(1): 21-7.
14. García M; Pérez-Arquillue C, Juan T, Juan ML, Herrera A. Note: pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. Food Science Technology International 2001; 7(2):155-8.
15. Gebara ECE, Lima LA, Mayer MPA. Própolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. Braz J Microbiol 2002; 33(4):365-9.
16. Bogdanov S. Quality and standards of pollen and beeswax. Apiacta 2004; 38:334-41.
17. Cordeiro CHG, Sacramento LVS, Corrêa MA, Pizzolitto ACB, Taís M. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. Rev Bras Ciênc Farmac 2006; 42(3):395-404.
18. Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel-Filho V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Quím Nova 2001; 24(1):147-52.
19. Pinto IL. Prevenção da cárie dental com aplicações tópicas semestrais de flúor-fosfato acidulado. Rev Saúde Pública 1993; 27(4):277-90.
20. Silva NB, Claudino LV, Neves AS, Costa AC, Valença AMG. Avaliação da atividade antibacteriana de tinturas fitoterápicas sobre *Porphyromonas gingivales* e *Prevotella melaninogenica*. Pesq Bras Odontoped Clin Integr 2006; 6(2):167-71.
21. Türkoğlu O, Becerik S, Emingil G, Kütükçüler N, Baylas H, Atilla G. The effect of adjunctive chlorhexidine mouthrinse on clinical parameters and gingival crevicular fluid cytokine levels in untreated plaque-associated gingivitis. Inflamm Res 2009; 58(5):277-83.
22. Uzel A, Sorkun K, Onçag O, Çogulu D, Gençay O, Salih B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiological Res 2005; 160(2):189-95.
23. Nogueira MA, Diaz MG, Tagami PM, Lorscheide J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. Rev Ciênc Farm Básica Apl 2007; 28(1):93-7.
24. Vargas AC, Loguercio AP, Witt NM, Costa MM, Silva MS, Viana LR. Atividade antimicrobiana in vitro de extrato alcoólico de própolis. Ciência Rural 2004; 34(1):159-63.
25. Alves FBC, Carreto LMRC, Jorge AOC, Santos SSF. Eficiência de soluções aquosas e hidroalcoólicas da própolis do Vale do Paraíba sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Biociên 2006; 12(1):74-81.
26. Libério SA, Pereira AL, Araújo MJ, Dutra RP, Nascimento FR, Monteiro-Neto V, Ribeiro MN, Gonçalves AG, Guerra RN. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on *mutans streptococci*. J Ethnopharmacol 2009; 125(1):1-9.
27. Perreira ADS, Seixas FRMS, Neto FRDA. Propolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. Quím Nova 2002; 25(2):321-6.
28. Sforcin JM, Fernandes-Júnior A, Lopes CAM, Funari SRC, Bankova V. Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. J Venom Anim Toxins 2001; 7(1):139-44.
29. Carpes ST, Beghini R, Alencar SM, Masson ML. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. Ciênc Agrotec 2007; 31(6):1818-5.

Recebido/Received: 10/01/10
Revisado/Reviewed: 08/09/10
Aprovado/Approved: 15/10/10

Correspondência:

Brenna Louise C. Gondim
Rua Prof. Severina S. Souto, 55 - Bessa
João Pessoa/PB CEP: 58037-070
Telefones: (83) 3246-9238 / (83) 9382-2911
E-mail: brennalouise@hotmail.com