

Atuação Clínica e Microbiológica da solução de própolis para bochecho em crianças cárie ativas

Clinical and Microbiological performance of propolis mouth wash in children with active caries

Angelinne Ribeiro Angelo¹, Yana Talita de Souza Silva², Ricardo Dias Castro³, Rossana Vanessa Dantas Almeida⁴, Wilton Wilney Nascimento Padilha⁵

RESUMO

Avaliou-se a atuação clínica e microbiológica da solução para bochecho de própolis em crianças cárie ativas. Para tanto, usou-se a solução de fluoreto de sódio a 0,2% como controle positivo. A atividade antimicrobiana do extrato de própolis foi avaliada em meio de cultura sólido para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizando cepas de *S. mutans*. A partir da CIM do extrato, foi confeccionada uma solução para bochecho de própolis a 6,25%. A amostra foi composta de 30 crianças cárie ativas, com idades de 8 a 10 anos, divididas aleatoriamente em: GF-Grupo Flúor (Controle) e GP-Grupo Própolis. Foram coletados índices de biofilme dentário (IHOS e PHP), doença gengival (ISG, IG) e contagem de *S. mutans* de amostra salivar antes (In-inicial) e 24 horas após (Fn-final) a 15ª aplicação das soluções para bochecho. Os resultados mostraram valores In e Fn para GF: IHOS 2,4/2,0; PHP 0,88/0,79; IG 0,34/0,11; ISG 13,22/9,15; e UFC/ml $5,05 \times 10^2 / 4,81 \times 10^2$ e para GP: IHOS 2,0/1,86; PHP 0,77/0,65; IG 0,44/0,37; ISG 22,31/13,48; e UFC/ml $9,41 \times 10^2 / 2,09 \times 10^2$. A diferença entre In e Fn para GF alcançaram significância estatística pelo teste t para IG ($p < 0,01$), ISG ($p < 0,05$), PHP ($p < 0,01$), IHOS ($p < 0,01$) e, para GP: ISG ($p < 0,05$), PHP ($p < 0,05$), UFC/ml ($p < 0,05$). No cruzamento entre GF (Controle) X GP, obteve significância estatística apenas a UFC/ml ($p < 0,05$). Concluiu-se que o desempenho isolado das soluções testadas foi efetivo, observando-se equivalência nos indicadores clínicos e apenas o GP apresentou redução significativa nos níveis de UFC/ml de *S. mutans* de saliva.

Descritores: Própolis. *Streptococcus mutans*. Antissépticos bucais.

INTRODUÇÃO

Um dos conceitos mais aceitos sobre a etiologia da doença cárie a caracteriza como uma patologia multifatorial. Este caráter pode ser explicado através da interação de fatores como: dieta, hospedeiro (dente) e bactérias, somados ao fator tempo para que ocorra a doença. O papel das bactérias nesse processo tem recebido um destaque especial¹.

A lesão cariosa pode apresentar-se em vários estágios de evolução, com quantidades elevadas de *S. mutans* sempre presentes. Este

microorganismo é fundamental no desenvolvimento desta lesão quando se encontra em altos níveis salivares, tornando-se uma das variáveis para a caracterização do quadro de alto risco de cárie dentária para o indivíduo².

Estudos longitudinais demonstram que grupos de indivíduos com altas contagens de *S. mutans* tem significativamente maior atividade de cárie do que aquele com baixas contagens, tendo em vista que os *S. mutans* são agentes essenciais na patogênese da cárie dentária, como observados em experimentos com animais e humanos³⁻⁴.

¹ Mestranda em Diagnóstico Bucal pela UFPB

² Cirurgiã Dentista

³ Mestrando em Odontologia Preventiva e Social pela UFRN / Professor Substituto do Dept. de Odontologia da UFRN

⁴ Mestre em Odontologia Preventiva e Infantil pela UFPB / Professora de Odontopediatria da FACIMP-MA

⁵ Doutor em Clínica Integrada pela USP / Professor Titular da UFPB

As estratégias gerais para a prevenção da cárie devem ser realizadas através da diminuição do ataque cariogênico e do aumento da resistência da superfície dentária. Uma das maneiras de se alcançar esse objetivo é pelo controle do biofilme dentário, mecânica e/ou quimicamente⁴. Dessa forma, o uso de soluções para bochecho pode ser útil como coadjuvante da remoção mecânica contribuindo para maior controle dos fatores associados à cárie⁵.

Em face do exposto, vários autores têm pesquisado produtos químicos que, por meio de enxágüe bucal, sejam eficientes na redução da microbiota cariogênica, sendo este um procedimento rápido e de fácil execução⁶.

Os compostos fluoretados, além da sua reconhecida capacidade de interferir na evolução da doença cárie, apresentam propriedades que merecem ser investigadas, no que tange a sua atividade antibacteriana⁷⁻⁸. As soluções fluoretadas, quando aplicadas topicamente no esmalte dos dentes, mesmo em baixas concentrações, estão diretamente relacionadas com a redução da incidência de cárie dentária⁹.

O flúor pode interferir na colonização e composição do biofilme dentário e na atividade metabólica dos depósitos bacterianos e, mesmo em baixas concentrações, atua na remineralização do esmalte, uma vez que o maior efeito cariostático, tanto da água fluoretada quanto dos dentifrícios e dos bochechos deve-se, provavelmente, à manutenção regular dos íons flúor nos fluidos orais¹⁰⁻¹¹.

Entre os métodos de auto-aplicação de flúor, as soluções neutras de fluoreto de sódio a 0,05% e a 0,2% são as mais utilizadas, sendo recomendadas para uso diário e quinzenal, respectivamente. Segundo Carvalho et al.¹², quanto maior a atividade cariogênica do paciente, mais intensivo deve ser o tratamento com flúor, em termos de frequência e concentração. Por esta razão, pacientes com alta atividade da doença podem realizar bochechos diários com soluções de fluoreto de sódio a 0,2%.

O uso de produtos naturais em Odontologia tem sido bastante estudado, e, por essas substâncias serem de origem natural, não apresentam efeitos colaterais. Dentro dessa premissa, a hipótese da própolis atuar sobre a microbiota bucal é viável, isto porque é conhecida sua propriedade como antibiótico¹³.

A própolis é uma substância balsâmica de origem vegetal, coletada e transformada pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, para proteção da colméia e tem sido usada pela população mundial como alternativa de tratamento de doenças infecciosas ou como prevenção de diversas alterações sistêmicas⁸.

Embora sem contra indicações, o uso da própolis deve ser orientado com prudência, pois devido sua atividade antimicrobiana, deve-se ter critérios na sua indicação e administração¹⁴.

Contêm flavonóides, ácido benzóico e seus derivados, derivados do ácido e álcool cinâmico, derivados de benzaldeído, compostos terpênicos e óleos essenciais. Apresentam uma composição extremamente complexa e que tem sido estudada e aplicada em diferentes formas farmacêuticas devido as suas propriedades terapêuticas, tais como: bactericida, bacteriostática, fungicida, antiviral, antiinflamatória, anestésica, cicatrizante, regeneradora tissular e analgésica¹⁵.

Foram descritas inúmeras propriedades terapêuticas da própolis e os flavonóides foram apontados como os componentes responsáveis pelas atividades farmacológicas. Ao analisar a quantidade desse componente em diversas amostras da própolis brasileira, os pesquisadores observaram que as concentrações podem variar de maneira significativa, embora apenas a análise quantitativa de flavonóides não seja suficiente para se determinar a qualidade dos extratos¹⁶.

A composição química da própolis varia de região para região, sendo que a proporção e os tipos de substâncias nela encontrada se alteram dependendo do local da coleta¹⁵.

Amostras de própolis do Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, São Paulo e Rio Grande do Sul, foram analisadas, quanto à capacidade antibacteriana e de inibir a enzima glicosiltransferase (GTF). Foram testadas cepas de *S. mutans*, *S. sanguis*; *S. sp.* isolados da saliva e *Actinomyces naeslundii*. Observou-se que, todas as amostras testadas inibiram a produção de GTF por *S. mutans*, porém, resultados mais significativos foram obtidos pela amostras do Rio Grande do Sul (inibição de 30,5%) seguida do Mato Grosso do Sul (19,4%). Os melhores efeitos antibacterianos foram observados pelas amostras do Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul, cujos halos de inibição contra *S. mutans* foram de 3,00 mm e 1,50 mm, respectivamente. A concentração utilizada no experimento foi de 7,4% de própolis com etanol a 80%¹⁷.

Com referência a cárie dentária, diversas investigações foram desenvolvidas a fim de verificar a atividade da própolis no controle da doença. Atualmente, sabe-se que a própolis é capaz de inibir o desenvolvimento da lesão em animais e a síntese da enzima glicosiltransferase^{3, 15}.

Um dentifrício contendo própolis a 3% foi testado no controle do índice gengival. Esse

dentifrício foi comparado com outro dentifrício semelhante, porém, sem própolis (placebo) e clinicamente testados em um ensaio duplo-cego envolvendo adultos. Os índices gengivais foram medidos nos tempos de zero, quinze e trinta dias, observando que houve uma considerável redução no índice gengival no grupo que utilizou o dentifrício com própolis. Na análise microbiológica, o dentifrício contendo própolis foi eficiente, entre outras bactérias, contra cocos gram-positivos e, os bastonetes gram-negativos foram os mais resistentes¹⁸.

A ação da própolis na forma de bochecho sobre o biofilme dentário e a gengivite foi testada, onde se coletou índice gengival e de biofilme dentário de 20 pacientes, os quais foram orientados a usar a solução de própolis a 0,84% 2 vezes ao dia, durante 10 dias, e em seguida, novos índices foram coletados. Não houve alteração estatisticamente significativa nos índices de biofilme e gengival, quando avaliados antes e após o uso do bochecho a base de própolis¹³.

A atividade antibacteriana de três soluções: fluoreto de sódio 0,05%, fluoreto de sódio 0,2%, e própolis 5% acrescida de fluoreto de sódio 0,05% foram comparadas em crianças cárie ativas, as quais realizaram bochechos diários durante 15 dias. Foram feitas coletas de saliva antes, 24 horas, 7 e 15 dias após a aplicação dos bochechos. A solução de própolis 5% acrescida de fluoreto de sódio 0,05% apresentou maior atividade antibacteriana contra *S. mutans*, em comparação às outras soluções avaliadas, entretanto esse efeito não foi duradouro².

Com isso, sabe-se que soluções como o fluoreto de sódio apresenta atividades antibacterianas em determinadas concentrações e o extrato hidroalcoólico à base de etanol de própolis tem se comportado bem com relação a esta característica nos experimentos a respeito de sua interferência no metabolismo bacteriano, tanto “*in vitro*” como “*in vivo*”².

Em vista disso, o objetivo desse trabalho é analisar o efeito da solução para bochecho de própolis a 6,25%, como auxiliar químico no controle do biofilme, da gengivite e na redução da microbiota cariogênica. Com isso serão obtidas maiores informações a respeito da ação da própolis para que esta possa ser utilizada como um método alternativo para prevenção em Odontologia.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho, utilizou-se uma abordagem indutiva, com procedimento estatístico e comparativo e técnica de documentação direta por

meio de pesquisa de campo experimental¹⁹.

Inicialmente foram realizados testes *in vitro* para determinar a concentração da solução de própolis para bochecho.

A origem da própolis utilizada no presente estudo é a região sul do estado de São Paulo. Realizou-se a avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de própolis a 60% sobre a linhagem de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

A Concentração Inibitória Mínima do extrato hidroalcoólico de própolis foi de 1:32 (3,12%). A partir da CIM, elaborou-se a solução de bochecho em uma concentração de 1:16 (6,25%), conforme metodologia descrita por Zárate²⁻⁸.

A solução de fluoreto de sódio foi utilizada na concentração de 0,2% (controle positivo), como indicado na literatura para uso diário em pacientes com alta atividade de cárie¹².

Selecionou-se 30 crianças cárie ativas para compor a amostra. Os critérios de inclusão foram: 1) ter experiência anterior de cárie (CPOD/CPOS); 2) não ter feito aplicação tópica de flúor ou qualquer outro antimicrobiano há pelo menos um mês, 3) não ser portador de aparelho ortodôntico, 4) apresentar o termo de consentimento previamente assinado pelos responsáveis.

As crianças foram divididas aleatoriamente em grupos: GF (Controle) e GP, cada criança recebeu uma escova dentária, e então foram coletados índices de acúmulo de biofilme dentário (IHOS- Índice de Higiene Oral Simplificado e PHP- Índice de Performance de Higiene Oral do Paciente), índices gengivais (ISG- Índice de Sangramento Gengival e IG- Índice Gengival) como também as amostras de saliva para cultura microbiológica de *S. mutans*.

Estes índices foram coletados antes da aplicação das soluções para bochecho de própolis a 6,25% e fluoreto de sódio a 0,2% e, 24 horas após a 15ª aplicação dos bochechos para então fazer a comparação.

A saliva foi coletada em placas de Petri e introduzida em tubos estéreis utilizando pipeta automática num volume de 0,5 mL. As amostras eram conduzidas até o laboratório sendo armazenados em recipiente com gelo para evitar que houvesse crescimento bacteriano. O meio de cultura empregado foi o Agar Mitis Salivarius Bacitracina (MSB - DIFCO®) segundo a técnica preconizada por Gold et al²⁰.

Após a coleta inicial dos índices, iniciou-se a aplicação dos bochechos. Cada criança recebeu 10mL da solução do seu grupo e foi orientada a fazer

o bochecho durante 1 minuto e a passar trinta minutos sem nada ingerir, por 15 dias consecutivos, sempre no mesmo horário, sob supervisão.

Nos finais de semana, cada criança levava para casa a solução específica, de acordo com o grupo ao qual pertencia em dois recipientes estéreis com identificação, o nome da criança e o dia indicado para o uso, juntamente com um folheto explicativo para os pais ou responsável.

Os dados apurados foram submetidos ao teste *t Student*, através do programa estatístico GMC com margem de significância de 5%.

RESULTADOS

Atividade Antimicrobiana da Própolis

A menor concentração do extrato hidroalcoólico de própolis a apresentar atividade antimicrobiana frente à *Streptococcus mutans* foi

de 1:32, ou seja, o extrato hidroalcoólico de própolis numa concentração de 3,12% foi considerado a concentração inibitória mínima sobre a referida cepa. A partir da CIM, elaborou-se o bochecho em uma concentração de 1:16 (6,25%), conforme metodologia descrita por Zárata²⁻⁸.

Grupo Flúor (GF) e Grupo Própolis (GP)

O GF apresentou CPOD e CPOS médios equivalentes a 2,46 e 4,33, respectivamente, e as idades variaram entre 8 e 14 anos. O GP apresentou CPOD e CPOS médios equivalentes a 1,66 e 3,06 respectivamente, e idades entre 9 e 11 anos.

Antes e após a aplicação das soluções para bochechos, nos grupos GF (Controle) e GP, observou-se a seguinte variação nos indicadores clínicos e microbiológicos (Tabela 1).

Tabela 1- Valores médios absolutos dos indicadores clínico e microbiológico do GF e GP, antes (In) e após (Fn) os bochechos.

	GF		GP	
	In	Fn	In	Fn
IG	0,34	0,11	0,44	0,37
ISG	13,22	9,15	22,31	13,48
PHP	0,88	0,19	0,77	0,65
IHOS	2,4	2	2	1,86
UFC/ml	5,05x 10 ⁵	4,81x10 ⁵	9,41 x 10 ⁵	2,09x 10 ⁵

Pelo teste t, no nível de 1%, as diferenças entre os valores inicial (In) e final (Fn) para o GF apresentaram significância estatística para as variáveis IG (p=0,002), PHP (p=0,000) e IHOS (p=0,000) e ao nível de 5% para ISG (p=0,040). Para a variável UFC/ml não houve diferença estatisticamente significativa no teste utilizado (p=0,887).

Ao considerar-se o GP, as diferenças entre os valores inicial (In) e final (Fn) alcançaram significância estatística, através do teste t (nível de 5%) para as variáveis: ISG (p=0,027), PHP (p=0,034) e UFC/ml (p=0,010). As variáveis IG e IHOS não apresentaram resultados estatisticamente significativos (p=0,622 e p=0,151 respectivamente).

No cruzamento entre o GF x GP as diferenças entre os valores inicial (In) e final (Fn) foram estatisticamente significativas apenas para a variável UFC/ml, no nível de significância de 5% (p=0,044). Os demais valores foram: ISG (p=0,290), IG (p=0,275), PHP (p=0,686) e IHOS (p=0,280).

DISCUSSÃO

Com base nos resultados da Tabela 1, para o GF-Grupo Flúor, observou-se uma redução numérica acentuada nos indicadores clínicos de biofilme dentário (PHP e IHOS) e de doença gengival (IG,ISG), sendo estatisticamente significativa.

No GP- Grupo Própolis houve uma redução numérica nos indicadores de doença gengival e de biofilme, mas as diferenças entre In e Fn para as variáveis IG e IHOS não foram estatisticamente significativas, concordando com o estudo de Duarte et al¹³. Nesse estudo, numa amostra de 20 pacientes, foram coletados índice gengival e de biofilme dentário antes e após o uso de uma solução a base de própolis a 0,84%, duas vezes ao dia, durante 10 dias. Foi constatado que não houve alteração tanto no índice de biofilme quanto no índice gengival, quando se utilizou a própolis na forma de bochecho. Por outro lado, o ISG e o PHP apresentaram significância estatística no nível de 5%, contrariamente ao estudo relatado acima.

Quanto à ação antimicrobiana, a solução de fluoreto de sódio a 0,2% não reduziu, de forma significativa o número de UFC/mL de saliva após a aplicação do último bochecho. Esse resultado vai de encontro ao estudo de Zárate², onde houve uma redução significativa de UFC/mL de saliva, 24 horas após a última aplicação da solução para bochecho com fluoreto de sódio a 0,2%.

A solução de própolis a 6,25% interferiu de forma significativa nos níveis salivares de *S. mutans*, pois houve uma redução acentuada na média do número de UFC/mL de saliva da amostra estudada. A variável citada apresentou significância estatística. Corroboram com esse estudo, Steinberg et al.²¹, que utilizaram uma solução para bochecho de própolis a 0,2%, em 10 estudantes, que fizeram bochecho com 10 mL da solução por um 1 minuto e 30 segundos. Coletou-se amostra de saliva antes, 10 e 60 minutos após o uso da solução. Houve redução significativa da contagem de *S. mutans* nos primeiros 10 minutos após o uso da solução, com uma média de 42% ($p < 0,05$) e 60 minutos depois um pequeno aumento na contagem de *S. mutans* foi detectado. A atividade antimicrobiana do extrato de própolis sobre *S. mutans in vitro* foi testada por outros autores^{3, 22-23} e foi confirmado o seu efeito sobre a microbiota bucal.

Ainda corroborando com este estudo, o efeito de uma solução hidroalcoólica de própolis a 15% foi analisado sob forma de bochecho, durante 21 dias, e verificaram que o extrato demonstrou atividade positiva sobre a microbiota bucal, sendo que entre os microorganismos analisados, o *S. mutans* foi o que se apresentou mas sensível²⁴.

A solução de própolis a 6,25% apresentou maior capacidade de redução de *S. mutans* quando comparada ao fluoreto de sódio 0,2%, sendo estatisticamente significativa ao nível de 5%. Esse resultado coincide com o estudo de Zárate², onde foram avaliadas três soluções para bochecho, sendo uma de fluoreto de sódio a 0,05%, outra de fluoreto de sódio a 0,2% e outra de própolis a 5% acrescida de fluoreto de sódio a 0,05 e foi observado que entre as três soluções testadas, a solução de própolis 5% acrescida de fluoreto a 0,2% apresentou o melhor desempenho na redução de *S. mutans*.

As soluções para bochecho comparadas no presente estudo se comportaram satisfatoriamente em relação aos indicadores clínicos de saúde bucal, sendo então úteis para a prevenção em Odontologia. No entanto, a solução de própolis apresentou um melhor desempenho na redução do número de *S. mutans* salivares.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que:

- 1) O desempenho isolado das soluções testadas foi efetivo.
- 2) No cruzamento para os indicadores clínicos constatou-se uma equivalência.
- 3) A solução de própolis a 6,25% apresentou maior capacidade de redução de *Streptococcus mutans* quando comparada ao fluoreto de sódio 0,2%.
- 4) O uso da solução de própolis pode ser uma alternativa viável, por se tratar de uma substância natural e que não oferece riscos de efeitos adversos, apresentando ação bactericida sobre a microbiota bucal em especial sobre o *S. mutans*.

ABSTRACT

The objective of the present study was to assess the clinical and microbiological performance of propolis mouth wash in children with active caries. For this, a 0.2% sodium fluoride solution was used as a positive control. The antimicrobiana activity of the propolis extract was carried out in a solid culture medium to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using strains of *S. mutans*. From the extract's MIC, a 6.25% propolis mouth wash was created. The sample was comprised of 30 children with active caries, between 8 and 10 years of age, divided randomly into: GF - Fluorine Group (Control) and PG - Propolis Group. Indices of dental biofilm (IHOS and PHP) and gengival illnesses (ISG, IG), as well as the *S. Mutans* count from the saliva sample were collected. before (In-initial) and 24 hours after (Fn-end) the 15th application of the mouth washes. The results presented values for In and Fn: (1) for GF: IHOS 2.4/2.0; PHP 0.88/0.79; IG 0.34/0.11; ISG 13.22/9.15; and UFC/ml 5.05×10^2 / 4.81×10^2 and (2) for GP: IHOS 2.0/1.86; PHP 0.77/0.65; IG 0.44/0.37; ISG 22.31/13.48; and UFC/ml 9.41×10^2 / 2.09×10^2 . The difference between In and Fn for GF obtained statistical significance by means of the t test for IG ($p < 0.01$), ISG ($p < 0.05$), PHP ($p < 0.01$), IHOS ($p < 0.01$), whereas for GP the same was obtained for ISG ($p < 0.05$), PHP ($p < 0.05$), UFC/ml ($p < 0.05$). In the crisscrossing of GF (Controle) with GP, only the UFC/ml ($p < 0,05$) obtained a statistical significance. It could therefore be concluded that the isolated performance of the tested mouth washes was effective, observing a subsequent equivalence in the

clinical markers. Furthermore, only the GP presented a significant reduction in the UFC/ml levels of *S. mutans* from saliva.

Uniterms: Própolis. Mouthwashes. Fluoride.

REFERÊNCIAS

1. Souza FB, Gil JN. Doença cárie: nem infecciosa, nem transmissível. RGO 2001; 49: 139-44.
2. Zárate PP. Análise da atividade de bochechos contendo fluoreto de sódio 0,05%; fluoreto de sódio 0,2% e própolis acrescida de fluoreto de sódio 0,05%, sobre níveis salivares de estreptococos do grupo mutans em pacientes cárie ativos [Dissertação]. São Paulo (SP): Faculdade de Odontologia da USP; 1999.
3. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of própolis on dental caries in rats. Caries Res 1991; 25:347-55.
4. Stookey GK. Caries prevention. J Dent Educ 1998; 62: 803-11.
5. Jardim PS, Jardim EGJ. Influência da remoção mecânica da placa bacteriana associada ao uso diário de solução fluoretada. RGO 1998; 46: 79-84.
6. Ribeiro SK, Bussadori SK. Comparação entre o gel de clorexidina e o verniz de flúor na contagem salivar de *S. mutans*. Rev Paul Odontol 2000; 22: 48-52.
7. Bernado PC, Paiva JAS, Takenaka IT, Rodrigues CRMD. Comparação entre soluções fluoretadas indicadas para bochecho na deposição de placa bacteriana. RPG Rev Pos-grad 1996; 3: 230-3.
8. Zárate PP. Estudo *in situ* sobre a ação da própolis de *Apis mellifera* no desenvolvimento da cárie dentária e na formação do biofilme dental [Tese]. São Paulo (SP): Faculdade de Odontologia da USP; 2003.
9. Santos CF, Santos RE, Tarzia O. Soluções fluoretadas para bochecho: influência do ph sobre o metabolismo da placa dentária humana. Rev Fac Odontol Bauru 1998; 6: 16-21.
10. Ferjerskov O, Thylstrup A, Larsen M.J. Rational use of fluorides in caries preventions: a concept based on possible cariostatic mechanisms. Acta Odontol Scand 1981; 39: 241-9.
11. Markis RE. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria. Can J Microbiol 1999; 41: 955-64.
12. Carvalho J, Maltz M. Tratamento da doença cárie. In: Kriger L. Promoção de saúde bucal. São Paulo: Artes Médicas. 1997; 93-112.
13. Duarte CA, Kfoury LS. Ação da própolis sob forma de bochechos. RGO 1999; 47:82-4.
14. Santos VR. Própolis: antibiótico natural alternativo em Odontologia? RevCROMG 1999; 5:192-5.
15. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park, YK, Bowen, WH. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. Caries Res 1999; 33: 393-400.
16. Koo MH, Park YK. Investigação do teor de flavonóides na própolis comerciais. Rev Bras Apicultura 1996; 6: 6-7.
17. Park YK, Koo MH, Abreu JA, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. Antimicrobial activity of própolis on oral microorganisms. Curr Microbiol 1998; 36: 24-8.
18. Panzeri H, Pedrazzi V, Ogasawara MS, Ito MS, Lara EHG, Gabarra FR. Um dentifrício experimental contendo própolis: avaliações físicas, microbiológicas e clínicas. Rev ABO Nac 1999; 7: 26-30.
19. Lakatos EM, Marconi MA. Fundamentos da metodologia científica. 5 ed. São Paulo: Atlas, 2003.
20. Gold OG, Jordan HV, Van Houte JA. A selective medium for *Streptococcus mutans*. Arch Oral Biol 1973; 18: 1357-64.
21. Steinberg D, Kaine G, Gedalia I. Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria. Am J Dent 1996; 9: 236-9.
22. Duarte S, Koo H, Bowen WH, Hayacibara MF, Cury JA, Ikegaki M. Effect a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and

- adherence of mutans streptococci. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 527-31.
23. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH. Effects of compounds found in propolis on streptococcus mutans growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1302-9.
24. Ota C, Unterkircher CS, Jorge AOC, Khouri S, Shmizu MT. Atividade antibacteriana da Própolis sobre a microbiota bucal. In: 12ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO; Águas de São Pedro. São Paulo: SBPqO; 1995. P.105, resumo 209.