

Avaliação *in vitro* da Atividade Antimicrobiana de Extratos de Própolis Produzidos no Norte do Espírito Santo Sobre a Microbiota Bucal

In vitro evaluation of the Antimicrobial Activity of Propolis Extracts Produced in the North of Espírito Santo on the Oral Microbiota

*Evaluación *in vitro* de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos Producidos en el Norte de Espírito Santo Sobre la Microbiota Oral*

Rhyelly Gonçalves Muner¹
Gabriel Henrique Santos Areal²
Guilherme Bicalho Nogueira³

Resumo: O conhecimento da constituição da microbiota bucal é imprescindível para compreender os mecanismos que levam ao desenvolvimento da cárie e das doenças periodontais. A própolis, portanto, se destaca como fitoterápico, e por meio das técnicas de análise de sensibilidade e diluição seriada, este estudo avaliou e confirmou a ação antimicrobiana de dois extratos de própolis produzidos no norte do Espírito Santo sobre a microbiota oral de humanos.

Palavras-chave: Microbiota bucal; Extrato de própolis; Ação antimicrobiana; Fitoterápico.

Abstract: Knowledge of the constitution of the oral microbiota is essential to understand the mechanisms that lead to the development of caries and periodontal diseases. Propolis, therefore, stands out as a herbal medicine, and through sensitivity analysis and serial dilution techniques, this study evaluated and evidenced the antimicrobial action of two propolis extracts produced in the north of Espírito Santo on the oral microbiota of humans.

Key-words: Oral microbiota; Propolis extract; Antimicrobial action; Phytotherapy.

Resumen: El conocimiento de la constitución del microbiota oral es fundamental para comprender los mecanismos que conducen al desarrollo de caries y enfermedades periodontales. El propóleo, por lo tanto, se destaca como un medicamento a base de hierbas, y a través de técnicas de análisis de sensibilidad y dilución en serie, este estudio evaluó y evidenció la acción antimicrobiana de dos extractos de propóleo producidos en el norte de Espírito Santo sobre el microbiota oral de humanos.

Palabras-llave: Microbiota oral; extracto de propóleo; acción antimicrobiana; fitoterapia.

¹ Graduanda em Odontologia. Centro Universitário Vale do Cricaré, E-mail: rhyelly.gon.muner@gmail.com;

² Graduando em Odontologia. Centro Universitário Vale do Cricaré. E-mail: ghsaareal@hotmail.com;

³ Doutor em Microbiologia Agrícola. Universidade Federal de Viçosa. E-mail: guilherme.nogueira@ivc.br.

1. INTRODUÇÃO

A constituição da microbiota bucal é um dos fatores mais estudados no intuito de compreender melhor os mecanismos que levam ao desenvolvimento da cárie dentária e das doenças periodontais (GONDIM, 2011). Entretanto, no que se refere ao tratamento das doenças relacionadas à microbiota bucal, a antibioticoterapia tem se tornado um problema atual em vista da crescente resistência bacteriana (BREIJYEH et al., 2020). Nesse contexto, existe um grande interesse pela ação farmacológica de produtos naturais, dentre os quais tem se destacado a própolis, uma substância produzida pelas abelhas. A própolis é um poderoso agente antimicrobiano e anti-inflamatório, que apresenta também atividade antiviral *in vitro*, ação anti úlcera (auxílio na cicatrização), antioxidante, anti-cancerígena, imunoestimuladora, hipotensiva e citostática (PACKER, 2007). Nesse contexto, nos últimos anos, têm se destacado no cenário científico, a busca por soluções que envolvam o uso de novas alternativas, por meio da utilização de produtos naturais com as mesmas propriedades antimicrobianas e princípios ativos biocompatíveis com o organismo humano.

Atualmente, existem alguns estudos sobre o potencial uso do extrato de própolis. De acordo com Burdock (1998), a própolis é definida como uma resina de coloração e consistência variada, coletada, por abelhas de diversas espécies, de algumas partes de plantas como brotos, botões florais e exsudatos resinosos, enriquecida com secreções salivares desses insetos. Essa resina possui importante papel na saúde da população no mercado brasileiro, especialmente devido às suas importantes atividades biológicas antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e imunomoduladoras. Estudos atuais têm avaliado sua potencial atividade antimicrobiana sobre o crescimento da microbiota bucal.

No Brasil a própolis é dividida em doze tipos diferentes e esta divisão é feita levando-se em consideração a sua composição química. Dentre os diferentes tipos de própolis brasileira, cinco se destacam, entre elas estão a própolis verde, a vermelha, a marrom, a preta e a amarela (PINTO, 2011). Além disso, de acordo com a Associação Paulista de Apicultores Criadores de Abelhas Melíferas Européias (APACAME), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de própolis e este produto apresenta grande potencial econômico para o país. Portanto, sua extração cumpre ainda o papel de atividade de inclusão produtiva, gerando emprego e renda em pequenas comunidades rurais.

Nesse contexto, a apicultura tem ganhado força no estado brasileiro do Espírito Santo e é

considerada uma excelente fonte de renda para os produtores rurais de São Mateus, Norte do Estado, segundo o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). O potencial uso do extrato de própolis, fitoterápico de baixa toxicidade, como um método alternativo de controle da população microbiana da cavidade oral, se destaca como uma área para estudos e pesquisa em potencial.

Sob essa perspectiva, o presente trabalho teve como propósito executar uma estratégia inovadora para o estudo do uso da ação antimicrobiana do extrato de própolis na cavidade oral, a partir de duas diferentes categorias de extratos de própolis produzidos no Espírito Santo, sobre os micro-organismos presentes na saliva total de humanos. Ademais, a relevância prática e intelectual da futura pesquisa estará em torno de se desenvolver uma possível futura aplicação de métodos de controle da cárie e de doenças periodontais baseados no uso fitoterápico e antimicrobiano do extrato de própolis.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Ao longo da história, o homem aperfeiçoou seu conhecimento sobre a utilização dos produtos naturais na medicina, e o interesse do homem pela ação benéfica que pode decorrer do uso destes produtos tem crescido e encontrado significativa aceitação popular. Dentre eles, a própolis tem se destacado e há séculos vem sendo utilizada pela medicina popular (Gregio et al., 2005; Ahuja et al., 2011).

A própolis é uma mistura complexa de substâncias resinosas, gomas e balsâmicas, de consistência, textura e coloração variada. Pereira (2002) afirma que as propriedades da própolis estão diretamente relacionadas à sua composição química, tendo em vista que a sua composição varia de acordo com fatores diversos e associados diretamente como a vegetação da região, a época da coleta e a técnica empregada, bem como em função da espécie da abelha e do grau de africanização da *Apis mellifera* no Brasil. O Brasil é considerado um dos países com maior biodiversidade do mundo, tendo em seu território diferentes biomas. Conseqüentemente, existe uma grande diversidade de própolis brasileiras, as quais tem se tornado objeto de grande interesse por parte dos cientistas (Trusheva et al., 2006).

O potencial de atividade antimicrobiana da própolis desperta grande interesse pelo uso na Odontologia, e existem pesquisas que abrangem diversas áreas como Cariologia, Estomatologia, Endodontia, Dentística, Periodontia e Cirurgia, de modo que agrega enorme valor quanto à avaliação da aplicabilidade deste produto no tratamento e prevenção de problemas bucais (Da Silva

et al., 2006).

Um estudo feito em 1991 pelos pesquisadores japoneses Ikeno e Miyazawa, em ratos, observou o efeito da própolis sobre a cárie dentária e demonstrou a eficácia da própolis na inibição do crescimento da microbiota cariogênica, especificamente os *Streptococcus* do grupo *mutans*, os quais são micro-organismos considerados como os agentes etiológicos primários da cárie dentária (VAN HOUTE, 1994). Estes são uma espécie de bactérias Gram-positivas com morfologia de coco e são altamente cariogênicas devido às suas características como anaeróbios facultativos, acidogênicos (produção de ácido lático), acidúricos (sobrevivem em pH ácido), e tem também, juntamente com *Streptococcus sobrinus* e outros membros de *Streptococcus* bucais do grupo *mutans*, a capacidade de produzir enzimas que reagem quimicamente com a sacarose da dieta em glicose e frutose, para formar glicanos insolúveis, responsáveis por conferir aos micro-organismos a capacidade de aderir às superfícies lisas dos dentes e formar a matriz do biofilme dentário. A aderência específica de *S. mutans* e de outros micro-organismos aos glicanos aderentes e insolúveis e a subsequente formação de ácidos, promovem a desmineralização do esmalte dentário e o início das lesões de cárie (LOECHE, 1986).

Fica evidente, portanto, que a própolis traz consigo boas perspectivas na atuação anticariogênica, uma vez que possui atividade antibacteriana principalmente contra bactérias Gram-positivas, como o *Streptococcus* do grupo *mutans* (Marcucci et al., 2001). Assim, devido a sua atividade antimicrobiana, a própolis tem ação preventiva contra a formação do biofilme dental e conseqüentemente a prevenção da cárie (KOO et al., 2006).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Seleção de voluntários doadores de saliva

Para a realização desta pesquisa de natureza experimental e laboratorial, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro Universitário Vale do Cricaré (UNIVC), foram selecionados 5 doadores voluntários de saliva que atenderam as exigências relativas às condições satisfatórias de saúde bucal, mas principalmente ausência de lesões de cárie e de periodontopatias.

Antes de serem iniciados os procedimentos experimentais, o projeto passou por avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do UNIVC e obteve aprovação sob o número CAAE 67848422.1.0000.8207.

A escolha de doadores recaiu sobre universitários do Curso de Graduação em Odontologia

do Centro Universitário Vale do Cricaré (UNIVC), visando assegurar o grau de cooperação necessário à realização das experimentações deste trabalho, com horário e localização favoráveis. Portanto, foram escolhidos 5 doadores, 3 homens e 2 mulheres (dentre elas uma grávida).

Uma vez selecionados, os voluntários foram devidamente informados sobre os objetivos e a metodologia traçados para a realização do presente trabalho e, após firmarem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido, foram direcionados à ambientes privados para coleta inicial de aproximadamente 2,5 mL de saliva em recipientes esterilizados.

3.2 Caracterização da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis

Inicialmente os extratos de própolis foram avaliados em meio de cultura para verificar alguma evidência de contaminação. Para isso, uma amostra de cada um dos extratos foi plaqueada em Ágar Nutriente e as Placas de Petri foram incubadas à 37° por 3 dias para verificação da presença/ausência de micro-organismos.

Após o recolhimento da saliva de dois doadores, de 200 µL foram plaqueados em Ágar Nutriente. As placas foram dispostas na incubadora a uma temperatura de cerca de 37°C por 3 dias.

Seguiu-se com a coleta de duas colônias de bactérias em cada plaqueamento, para que pudesse ser feita a técnica de esgotamento e a suas respectivas estriações, a fim de se obter colônias isoladas. A técnica de esgotamento foi repetida até que as culturas estivessem puras.

Após obtidas as culturas isoladas, estas foram inoculadas em meio de cultura líquido e ficaram incubadas à 37°C por 3 dias para crescimento das colônias. Finalizado o período de incubação, plaqueou-se 100 µL da solução do meio de cultura líquido nas placas de Petri para realizar a análise de sensibilidade utilizando 5 discos contendo os respectivos componentes: (1) 7 µL de água estéril, (2) 7 µL de extrato de própolis verde, (3) 7 µL de extrato de própolis vermelha, (4) Amoxicilina + Clavulanato e (5) Azitromicina. No quadro 1 são apresentadas as características das substâncias utilizadas no teste.

Tabela 1 - Extrato de própolis e antibióticos.

Substância	Concentração	Substância	Concentração
Extrato de própolis Verde	11%	Amoxicilina + Clavulanato	30 mcg
Extrato de própolis Vermelha	30%	Azitromicina	15 mcg
Amoxicilina	10 mcg	Bacitracina	10 mcg

Foi utilizado como controle positivo discos de Amoxicilina, Amoxicilina + Clavulanato, Azitromicina, Bacitracina. Como controle negativo foi utilizada a água destilada previamente

autoclavada. Sendo assim, a avaliação da capacidade inibitória dos extratos foi realizada pelo método de análise de halos de inibição. Além do teste de sensibilidade, foi realizada a coloração diferencial de GRAM com as culturas isoladas.

Após os resultados da parte anterior, novamente os extratos de própolis foram avaliados em meio de cultura para verificar alguma evidência de contaminação. Em seguida, foi realizada a coleta de saliva de mais 3 doadores, e repetindo-se os métodos experimentais descritos acima, foram selecionadas 5 colônias de bactérias para isolamento. Todavia, de forma diferente no teste de análise de sensibilidade utilizou-se em uma das colônias novamente: água estéril, extrato de própolis verde, extrato de própolis vermelho, azitromicina, amoxicilina + clavulanato, enquanto em outras duas: água estéril, extrato de própolis verde, extrato de própolis vermelho, amoxicilina e amoxicilina + clavulanato, e nas últimas duas: água estéril, extrato de própolis verde, extrato de própolis vermelho, amoxicilina e bacitracina.

3.3 Análise de medida de densidade populacional

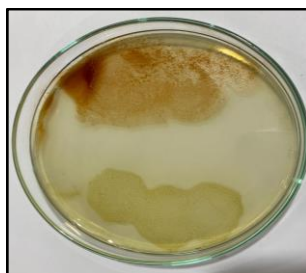
Além da análise de sensibilidade dos extratos de própolis em comparação com antibióticos sob culturas puras de bactérias isoladas, realizou-se a análise da medida da densidade populacional através da contagem de colônias em placa pelo método de diluições seriadas ou “*spread plate*”. Através da saliva coletada de um doador voluntário, preparou-se 3 diluições decimais seriadas, as quais foram advindas das seguintes amostras: (1) 100 µL de saliva + 50 µL de água, (2) 100 µL de saliva + 50 µL de própolis verde e (3) 100 µL de saliva + 50 µL de própolis vermelho, transferido assepticamente 100 µL de cada amostra para tubos contendo 900 µL de água estéril, passando por 5 tubos para fazer a diluição de 10^{-1} até 10^{-5} . 100 µL de cada uma das diluições foram plaqueados em Ágar Nutriente e incubados a 37°C por 3 dias. Após o crescimento, contou-se o número de colônias por placa, sendo possível avaliar a densidade populacional na amostra por meio do cálculo de unidades formadoras de colônia (UFC) por mL:

$$\text{UFC/mL} = (\text{Média do N}^\circ \text{ de colônias por placa} \times \text{Fator de diluição}) / \text{Volume da alíquota}$$

4. RESULTADOS

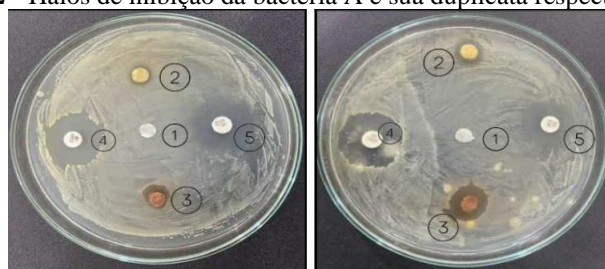
Os extratos de própolis foram avaliados em meio de cultura para verificar alguma evidência de contaminação. Sendo assim, após 3 dias de incubação não foi observado crescimento de micro-organismos de nenhum tipo, mostrando então estar livre de qualquer contaminante.

Figura 1 - Análise de contaminação dos extratos de própolis.



Foi realizada a análise de sensibilidade de duas colônias de bactérias denominadas bactéria A e bactéria B. Neste procedimento as bactérias foram isoladas e suas respectivas análises de sensibilidade foram avaliadas através da medida dos halos de inibição. O teste foi realizado em duplicatas, de modo a estabelecer com mais precisão a correta relação entre o efeito inibitório das substâncias utilizadas e seu respectivo halo de inibição. Como os plaqueamentos das bactérias foram feitos em duplicatas e os halos apresentaram seus respectivos tamanhos, foi realizada uma média entre os tamanhos dos halos e computados em um gráfico (Gráfico 1).

Figura 2 - Halos de inibição da bactéria A e sua duplicata respectivamente.



Seus referentes tamanhos também foram avaliados e catalogados em tabelas de forma a facilitar sua compreensão e visualização.

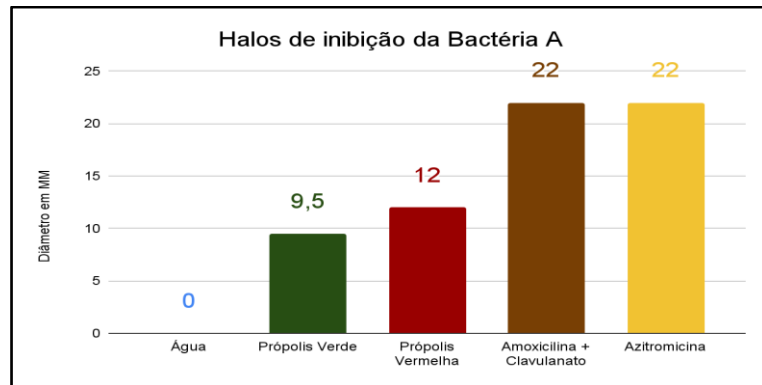
Tabela 2 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria A.

Substância	Tamanho (mm)	Substância	Tamanho (mm)
Água	Controle Negativo	Amoxicilina + Clavulanato	22
Própolis Verde	09	Azitromicina	23
Própolis Vermelha	10		

Tabela 3 - Representação do tamanho dos halos de inibição da duplicata A.

Substância	Tamanho (mm)	Substância	Tamanho (mm)
Água	Controle Negativo	Amoxicilina + Clavulanato	22
Própolis Verde	10	Azitromicina	21
Própolis Vermelha	14		

Gráfico 1 - Representação do tamanho médio dos halos de inibição da bactéria A



Agora apresentam-se os respectivos dados e resultados referentes a bactéria B em imagens, tabelas e gráficos.

Figura 3 - Halos de inibição da bactéria B e sua duplicata respectivamente

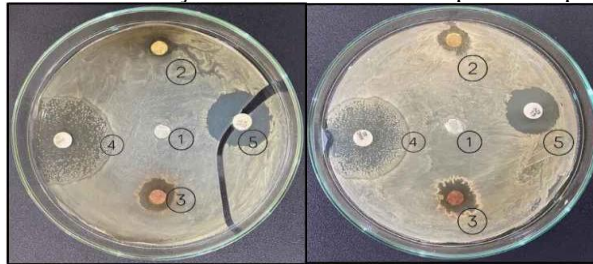


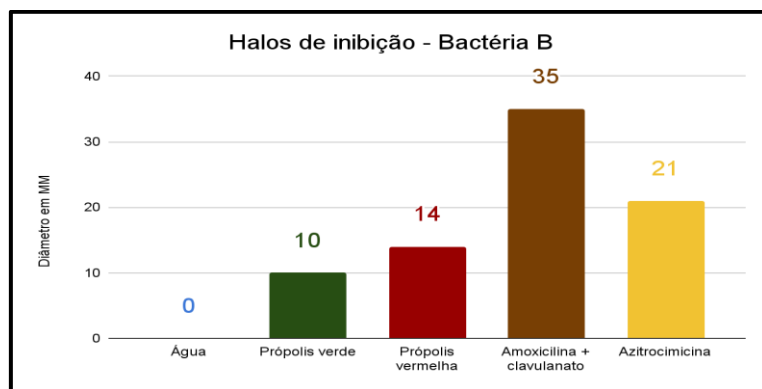
Tabela 4 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria B.

Substância	Tamanho	Substância	Tamanho
Água	Controle Negativo	Amoxicilina + Clavulanato	36
Própolis Verde	08	Azitromicina	23
Própolis Vermelha	12		

Tabela 5 - Representação do tamanho dos halos de inibição da duplicata B.

Substância	Tamanho	Substância	Tamanho
Água	Controle Negativo	Amoxicilina + Clavulanato	34
Própolis Verde	12	Azitromicina	19
Própolis Vermelha	16		

Gráfico 2 - Representação do tamanho médio dos halos de inibição da bactéria B.



Para facilitar a análise comparativa entre o poder de inibição dos extratos de própolis utilizados nos experimentos, com os antibióticos utilizados como controle positivo, e que já possuem atividade antimicrobiana constatada, foi feita a tabela abaixo, que apresenta as porcentagens relativas da capacidade de inibição dos extratos em relação aos antibióticos já conhecidos.

Tabela 6 - Representação do poder de inibição da bactéria A.

Substância	Azitromicina	Amoxicilina + clavulanato
Própolis vermelha	54%	54%
Própolis Verde	43%	43%

Dessa forma, com relação ao extrato de própolis verde usado na bactéria A, foi constatada uma capacidade de inibição de 43% em relação a azitromicina e a amoxicilina + clavulanato. Já o extrato de própolis vermelho apresentou 54% dessa capacidade, mostrando aqui ser mais eficaz.

Tabela 7 - Representação do poder de inibição da bactéria B.

Substância	Azitromicina	Amoxicilina + clavulanato
Própolis vermelha	47%	28%
Própolis Verde	67%	40%

Já com relação a bactéria B, o extrato de própolis verde apresentou 28% da capacidade da amoxicilina + clavulanato e 47% da azitromicina, e o extrato de própolis vermelho mostrou 40% e 60% da capacidade da amoxicilina + clavulanato e da azitromicina, respectivamente.

Por fim, nessa parte do experimento foi feita a coloração de Gram, procedimento crucial na microbiologia que permite a identificação e diferenciação entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, auxiliando no diagnóstico, escolha de tratamento adequado, monitoramento de epidemias e resistência bacteriana. A bactéria A se mostrou como Gram positiva e a bactéria B

como Gram negativa.

A segunda parte dos experimentos, realizada a fim de se aumentar o campo amostral e suas devidas observações do processo inibitório dos extratos de própolis. Nessa segunda etapa foram feitas as análises de sensibilidade de mais 5 colônias de bactérias que foram isoladas em meio de cultura. Da mesma forma como na etapa anterior, destacam-se as fotos, tabelas e gráficos referentes a cada colônia de bactéria.

Figura 4 - Halos de inibição da bactéria C e tabela representativa.

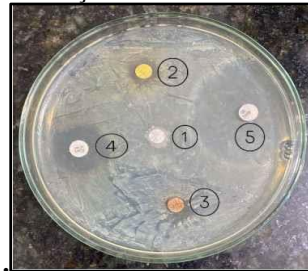


Tabela 8 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria C.

Substância	Tamanho (mm)	Substância	Tamanho (mm)
1- Água	Controle Negativo	4- Azitromicina	40
2- Própolis Verde	12	5- Amoxicilina + Clavulanato	22
3- Própolis Vermelha	11		

Na análise de sensibilidade da bactéria C, o extrato de própolis Verde apresentou capacidade inibitória ligeiramente maior que o extrato de própolis vermelho, mostrando uma capacidade inibitória de 30% referente a azitromicina e 55% referente a amoxicilina + clavulanato. Já a própolis vermelha apresentou cerca de 28% da capacidade da azitromicina e 50% da capacidade da amoxicilina + clavulanato.

Figura 5 - Halos de inibição da bactéria D e tabela representativa.



Tabela 9 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria D.

Substância	Tamanho (mm)	Substância	Tamanho (mm)
------------	--------------	------------	--------------

1- Água	Controle Negativo	4- Bacitracina	22
2- Própolis Verde	14	5- Amoxicilina	21
3- Própolis Vermelha	10		

Imagem 6 - Halos de inibição da bactéria E e tabela representativa.

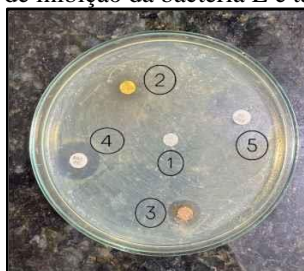


Tabela 10 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria E

Substância	Tamanho (mm)	Substância	Tamanho (mm)
1- Água	Controle Negativo	4- Bacitracina	17
2- Própolis Verde	11	5- Amoxicilina	26
3- Própolis Vermelha	11		

Figura 7 - Halos de inibição da bactéria F e tabela representativa.

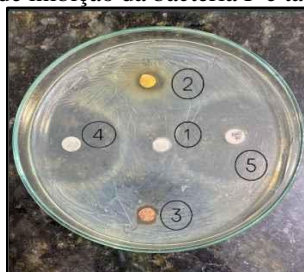


Tabela 11 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria F.

Substância	Tamanho (mm)	Substância	Tamanho (mm)
1- Água	Controle Negativo	4- Amoxicilina	34
2- Própolis Verde	11	5- Amoxicilina + Clavulanato	40
3- Própolis Vermelha	10		

Figura 8 - Halos de inibição da bactéria G e tabela representativa.

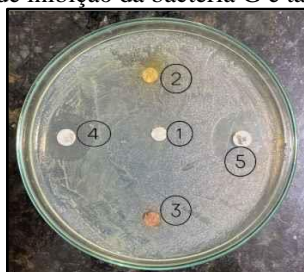


Tabela 12 - Representação do tamanho dos halos de inibição da bactéria G.

Substância	Tamanho	Substância	Tamanho
------------	---------	------------	---------

1- Água	Controle Negativo	4- Amoxicilina	16
2- Própolis Verde	Sem ação	5- Amoxicilina +	23
3- Própolis Vermelha	09	Clavulanato	

A tabela 13 apresenta os resultados da terceira etapa experimental, referente à análise da medida da densidade populacional em amostras de cultura pura. Após 3 dias incubadas à 37°C, contou-se o número de colônias por placa e avaliou-se a densidade populacional na amostra por meio do cálculo de unidades formadoras de colônia (UFC/ mL):

Tabela 13 - Resultados da análise da medida da densidade populacional.

	Nº de colônias por placa	Fator de diluição	UFC/mL
Água	28	10 ⁴	2,8x10 ⁶
Própolis Verde	40	10 ¹	6,0x10 ²
Própolis Vermelha	6	10 ¹	4,0x10 ³

Os resultados da terceira etapa sugerem, portanto, que o extrato de própolis verde teve maior potencial inibitório sobre as colônias de bactérias da saliva avaliada, uma vez que apresentou a menor contagem de unidades formadoras de colônia por mL dentro do fator de diluição de 10¹.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados sugerem uma capacidade inibitória dos extratos de própolis sobre micro-organismos da cavidade oral.

Todavia, não é possível dizer com total exatidão qual das duas opções de extrato de própolis apresenta o maior poder de inibição, uma vez que os dados sugerem capacidades inibitórias maiores tanto para um quanto para outro, a depender do tipo de micro-organismo específico em que age.

Considerando que os micro-organismos utilizados nos experimentos laboratoriais foram isolados da cavidade oral de doadores, destacando assim a especificidade dos testes frente a ao campo odontológico, pode-se concluir que os extratos de própolis apresentam sim uma alternativa potencial a ser usada e ministrada no ramo odontológico, onde os meios convencionais apresentam-se de alguma forma inaptos ou ineficazes.

O presente trabalho também sugere a possibilidade de continuação de mais testes a fim de se obter mais conhecimento sobre tratamentos envolvendo extratos de própolis a curto, médio e longo prazo e também destacar em quais áreas odontológicas este tipo de uso é mais adequado.

REFERÊNCIAS

- LOAD. Apicultura é destaque no Norte do Espírito Santo. Disponível em: <<https://conexaosafra.com/geral/apicultura-destaque-no-norte-espírito-santo-1/>>. Acesso em: 04 jul 2022.
- AHUJA, V.; AHUJA, A. Apitherapy - A sweet approach to dental diseases. Part II: Propolis. *Journal of Advanced Oral Research*, v. 2, n. 2, p. 1–8, maio 2011.
- SIMÕES, C. C.; ARAÚJO, D. B. DE; ARAÚJO, R. P. C. DE. Estudo *in vitro* e *ex vivo* da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 1, mar. 2008.
- BREIJYEH, Z.; JUBEH, B.; KARAMAN, R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*, v. 25, n. 6, p. 1340, 16 mar. 2020.
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, v. 36, n. 4, p. 347–363, abr. 1998.
- DA SILVA, J. F. M. et al. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, v. 99, n. 3, p. 431–435, 2006.
- GONDIM, B. Atividade Antimicrobiana de Produtos Naturais Frente a Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v. 11, n. 1, p. 123–127, 30 mar. 2011.
- GRÉGIO, A. M. T. et al. Efeito da própolis mellifera sobre o processo de reparo de lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos. *Estudos de Biologia*, v. 27, n. 58, 24 nov. 2005.
- IKENO, K.; IKENO, T.; MIYAZAWA, C. Effects of Propolis on Dental Caries in Rats. *Caries Research*, v. 25, n. 5, p. 347–351, 1991.
- KOO, H. et al. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and Arnica montana against oral pathogens. *Archives of Oral Biology*, v. 45, n. 2, p. 141–148, fev. 2000

LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological Reviews*, v. 50, n. 4, p. 353–380, 1986.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, v. 26, n. 2, p. 83–99, 1995.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. DA. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 102–107, mar. 2007.

PEREIRA, A. DOS S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. DE. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Química Nova*, v. 25, n. 2, p. 321–326, maio 2002.

ALVES PINTO, L. D. M.; TAIRONI DO PRADO, N. R.; DE CARVALHO, L. B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 8, n. 3, 29 set. 2011.

SIMÕES, C. C. *Estudo bioquímico da ação da própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos*. repositorio.ufba.br, 16 maio 2013.

TRUSHEVA, B. et al. Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 3, n. 2, p. 249–254, 2006.

VAN HOUTE, J. Role of Micro-organisms in Caries Etiology. *Journal of Dental Research*, v. 73, n. 3, p. 672–681, mar. 1994.