

Elizete Maria Rita Pereira

**EVIDÊNCIAS PRELIMINARES DA EFICÁCIA DE UM
ENXAGUANTE BUCAL CONTENDO 5% DE
PRÓPOLIS PARA O CONTROLE DE PLACA E
GENGIVITE.**

BELO HORIZONTE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Elizete Maria Rita Pereira

**EVIDÊNCIAS PRELIMINARES DA EFICÁCIA DE UM
ENXAGUANTE BUCAL CONTENDO 5% DE
PRÓPOLIS PARA O CONTROLE DE PLACA E
GENGIVITE.**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Odontologia - área de concentração em Estomatologia.

Orientador: Prof. Vagner Rodrigues Santos
Co-orientadora: Prof.^a Telma Campos Medeiros Lorentz

Faculdade de Odontologia – UFMG
Belo Horizonte
2010

Dedico este trabalho:

Ao meu pai, João Rosa, uma pessoa generosa, batalhadora, de fé e muito otimista, que me ensinou a batalhar pelos meus sonhos, trilhando por caminhos justos sem jamais pensar em desistir.

À minha mãe, Maria Antônia, por ser a mais dedicada de todas as mães.

Aos meus irmãos, Márcia, Eliana, Luiz e Júlio, pelo apoio direto e indireto.

Vocês foram muito importantes nesta conquista!

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus por todas as oportunidades concedidas. “Tu és aquele em que tudo confio.”

Ao professor Vagner Rodrigues Santos, pelo apoio, amizade, incentivo, confiança, paciência e ensinamentos, um exemplo profissional e de pessoa tão alegre, bondosa e positiva. Muito obrigada pela valiosa orientação!

Às professoras Telma Campos Medeiros Lorentz, Efigênia Ferreira e Ferreira e Maria Esperanza Córtes Segura, por todo apoio e amizade. A minha eterna gratidão.

À todos os funcionários e professores do Departamento de Clínica, Patologia e Cirurgia, em particular, aos professores Maria Cássia Ferreira de Aguiar, Maria Auxiliadora Vieira do Carmo, Ricardo Alves de Mesquita, Ricardo Santiago Gomez e Tarcília Aparecida Silva pela seriedade, competência e por contribuírem direta e indiretamente para a minha formação.

Aos técnicos de laboratório Silvana Maria de Souza e Bruno Ferreira Lourenço, pela amizade e presteza a mim oferecidas.

Aos meus amigos de mestrado, pela colaboração e convívio harmonioso, especialmente, o Augusto, a Renata Gonçalves, a Ana Cristina, a Cláudia, a Telma, a Mariana, o Vladimir e o Alfonso pela amizade, apoio, incentivo e pelos momentos de descontração. Valeu!

Aos alunos João Luís Duval, Fernando Freitas e Carolina Morsani por terem me ajudado a desenvolver este trabalho.

A todos os funcionários e pacientes da Faculdade de Odontologia da UFMG, em especial os funcionários dos serviços gerais, pela colaboração e apoio, possibilitando a concretização deste trabalho. Sou muito grata a vocês!

Às funcionárias do Colegiado de Pós-Graduação, pela colaboração e gentileza, em particular à Beth, pela amizade e carinho.

Ao Colegiado de Pós-Graduação e ao CNPq por todo apoio concedido, o que possibilitou a realização deste trabalho.

Aos meus amigos, Bruna, Marcel, por todo apoio, amizade e incentivo e em especial, a Lígia pelos conselhos e por ouvir minhas “loucuras”. Adoro vocês!

À minha família, por tudo que fizeram por mim. Amo vocês!

E à todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.”

Galileu Galilei

RESUMO

Enxaguantes bucais à base de extratos de plantas medicinais e própolis existem à venda no mercado brasileiro sem, contudo, terem passado por estudos clínicos cientificamente comprovados quanto à sua eficácia e quanto a possíveis efeitos indesejáveis que possam alterar tecidos duros e moles da cavidade bucal. O objetivo deste estudo foi obter evidências preliminares da eficácia de um enxaguante bucal sem álcool contendo 5% de própolis verde (EBPV 5%) no controle de placa e gengivite durante três meses. Vinte e cinco pacientes, funcionários e/ou indivíduos de ambos os gêneros, que iriam começar o tratamento no projeto de extensão denominado Terapia Periodontal de Suporte da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte, no período de agosto a dezembro de 2009, foram selecionados após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido. Como critérios de inclusão, os mesmos deveriam ter idade variando entre 18 e 60 anos, boa saúde geral, mínimo de 20 dentes, ausência de gravidez e não lactante. Além disso, deveriam apresentar um quadro de gengivite com um índice de placa de 1.5 ou maior (Índice de placa de Quigley-Hein modificado (1970) - IP) e um índice gengival de 1.0 ou maior (Índice de Løe-Silness modificado (1977) - IG), no tempo zero/inicial do estudo. Aqueles que eram portadores de aparelhos ortodônticos, próteses removíveis, neoplasias e crescimentos gengivais por medicamento ou não, alérgicos a própolis e que fizeram uso de terapia antibiótica ou de qualquer outro medicamento que interferisse na resposta ao tratamento com EBPV 5%, até 2 semanas antes do início do estudo, foram excluídos. Os pacientes foram submetidos à profilaxia completa das estruturas dentais antes de iniciarem os bochechos. Em seguida, foram instruídos a bochechar com 10 mL de EBPV 5%, 2 vezes ao dia, por 1 minuto, após as escovações (manhã e noite). Os participantes retornaram após 45 e 90 dias de utilização do produto para avaliação clínica, considerando-se a presença de alterações nos tecidos moles e duros e a coleta dos índices de placa e gengivite. Na última consulta, os pacientes responderam a um questionário para avaliar o nível de apreciação e aceitabilidade deles em relação ao enxaguante. Também foi avaliada a aderência ao tratamento por meio de um formulário de frequência. Para análise estatística, utilizou-se os pacotes estatísticos BioEstat 4.0 e Excel 2007. O IP e IG apresentaram-se significativamente reduzidos, quando se comparou o exame inicial com o de 45 e 90

dias ($p < 0.05$). As alterações encontradas não foram diferentes das relacionadas ao uso de enxaguantes disponíveis no mercado. Apesar de a maioria dos pacientes considerarem o sabor de EBPV 5% desagradável, eles ficaram satisfeitos com o produto, considerando as alterações positivas observadas e a saúde bucal que se apresentou melhor após o período de tratamento. Por isso, a aderência ao tratamento foi alta ($\geq 80\%$). O EBPV 5% mostrou evidências de sua eficácia ao reduzir os IP e IG, sendo necessária a realização de um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado para a validação dessa eficácia.

Palavras chave: ensaio clínico; enxaguante bucal; própolis; placa; gengivite, aderência terapêutica.

ABSTRACT

PRELIMINARY EVIDENCE OF THE EFFICACY OF A MOUTHWASH CONTAINING 5% PROPOLIS FOR THE CONTROL OF PLAQUE AND GINGIVITIS

Mouthwash based on medicinal plants and propolis can be easily found in the Brazilian market even if it has not been tested in reliable clinical trials on its efficacy or possible unpleasant side effects like the ones which alter the hard and soft oral tissues. The aim of this study was to obtain preliminary evidence of efficacy of an alcohol-free mouthwash containing 5% green propolis (MGP 5%) on the control of plaque and gingivitis. Twenty-five subjects, both male and female, were chosen after signing the terms of agreement. These subjects are UFMG employees and individuals who would begin treatment on an extension project called Supportive Periodontal Therapy at the Faculty of Dentistry of Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, from August to December 2009. The criteria for selection stated that subjects should be from 18 to 60 years old, should present good health, a minimum of 20 teeth and not be pregnant or breastfeeding. Also, they should present gingivitis with a plaque level of 1.5 or higher (Modified Quigley-Hein Plaque Index (1970) – PI) and gingivitis level of 1.0 or higher (Modified Löe-Silness Gingival Index (1977) – GI), in the beginning of the research. These subjects who wore braces, retainers or removable prosthetics, presented tumors and gingival growths by medication or not or were allergic to propolis and thus made use of antibiotics two weeks before the study, were excluded. The subjects went through a dental prophylaxis before starting rinse. They were then instructed to rinse twice a day for a minute, immediately after brushing (morning and night), using the 10 ml of the MGP 5%. After 45 and 90 days using the product the individuals returned for a clinical evaluation which considered changes in the soft and hard oral tissues and involved collecting plaque and gingivitis indexes. On their last appointment the subjects answered a questionnaire about their level of appreciation and acceptability of the mouthwash. Compliance with the treatment was also evaluated through an attendance form. For the statistic analysis we used BioEstat 4.0 and Excel 2007. After the period of treatment, the PI and GI were significantly reduced when compared to the first examination ($p < 0.05$). The alterations found were not different from the ones related to the use of the mouthwash available in the market. Although most the individuals found the taste of MGP 5% unpleasant, they were satisfied with the product considering the positive changes and the improvement of oral health after the period of treatment. Thus, compliance with treatment was high ($\geq 80\%$). The MGP 5% showed evidence of its efficacy in reducing PI and GI, with the necessity of doing a double-blind randomized clinical trial to validate such efficacy.

Key words: clinical trial; mouthwash; propolis; plaque; gingivitis, compliance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Própolis verde bruta.....	49
FIGURA 2	Frasco do EBPV 5% (Lote: EBPB0409).....	49
FIGURA 3 A e B	EBPV 5% na tampa medida (10 ml).....	49
FIGURA 4	Sistema de quantificação de gengivite.....	53
FIGURA 5	Sistema de quantificação de placa.....	54
FIGURA 6	Diagrama de fluxo do estudo.....	60
FIGURA 7	Restauração oclusal em resina composta, corada de verde após uso do EBPV 5%.....	62
FIGURA 8 A	Presença/ausência de gengivite <i>baseline</i>	64
FIGURA 8 B	Presença/ausência de gengivite no exame final.....	64
FIGURA 9 A	Presença/ausência de placa <i>baseline</i>	65
FIGURA 9 B	Presença/ausência de placa no exame final.....	65
FIGURA 10 A	Último exame intra-bucal (após 90 dias de uso).....	67
FIGURA 10 B	Exame intra-bucal após 7 dias da realização da raspagem supra e subgengival e polimento coronário.....	67
FIGURA 10 C	Exame intra-bucal após 15 dias da realização da raspagem supra e subgengival e polimento coronário.....	67

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Constituintes químicos identificados e quantificados (marcadores) por cromatografia líquida de alta performance e de fase reversa: flavonoides e outros constituintes químicos presentes em 1 grama da amostra de própolis verde utilizada na manipulação (SBN 97).....	48
TABELA 2	Hábitos e comportamento de vida.....	62
TABELA 3	Escores do índice gengival médio (DP), comparados entre os períodos.....	63
TABELA 4	Escores do índice de gravidade gengival médio (DP), comparados entre os períodos.....	63
TABELA 5	Escores do índice de placa médio (DP), comparados entre os períodos.....	64
TABELA 6	Escores do índice de gravidade de placa médio (DP), comparados entre os períodos.....	65
TABELA 7	Apreciação e aceitabilidade do enxaguante bucal contendo 5% de própolis.....	70
TABELA 8	Aderência ao programa de bochechos.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	American Dental Association
ANVISA	Associação Nacional de Vigilância Sanitária
CAPE	Éster Fenetil do Ácido Caféico
CD25	Glicoproteína transmembrana de células T reguladoras
CD4+T	Glicoproteína transmembrana de células T reguladoras
CD8T	Glicoproteína transmembrana de células T reguladoras
CHX	Clorexidina
CIAPs	Clínicas Integradas de Atenção Primária
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COX	Ciclooxigenase
COX - 2	Ciclooxigenase - 2
COX-1	Ciclooxigenase - 1
CPC	Cloreto de cetilpiridíneo
EBPV 5%	Enxaguante Bucal contendo Própolis Verde a 5%
Ex-URSS	Ex- União das Repúblicas Socialistas Soviéticas
FO-UFMG	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais
GMP	<i>Good Manufacturing Practice</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
IG	Índice Gengival
IGG	Índice de Gravidade Gengival
IGP	Índice de gravidade de Placa
IL ₂	Interleucina 2
IP	Índice de Placa

ISO 9001	<i>Internacional Organization for Standardization 9001</i>
MBC	Concentração Bactericida Mínima
MIC	Concentração Inibitória Mínima
NF - $\text{K}\beta$	Fator Nuclear – $\text{K}\beta$
NFAT	Fator nuclear de células T ativadas
PGE_2	Prostaglandina E_2
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β 1	Fator de Crescimento de Transformação- β 1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	<i>PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL, GENGIVITE E O USO DE ENXAGUANTES BUCAIS</i>	20
2.2	<i>ANTISSÉPTICOS BISGUANIDAS</i>	22
2.3	<i>COMPOSTOS DE AMÔNIA QUATERNÁRIA</i>	23
2.4	<i>COMPOSTOS FENÓLICOS</i>	24
2.5	<i>OUTROS ANTISSÉPTICOS</i>	24
2.5.1	Triclosan.....	24
2.6	<i>PRODUTOS NATURAIS</i>	25
2.6.1	Sanguinarina.....	25
2.6.2	Própolis.....	25
2.6.2.1	Histórico.....	27
2.6.2.2	Classificação.....	29
2.6.2.3	Composição química.....	30
2.6.2.4	Propriedades terapêuticas da própolis.....	33
2.6.2.4.1	<i>Atividade anti-inflamatória</i>	34
2.6.2.4.2	<i>Atividade antimicrobiana</i>	34
2.6.2.4.3	<i>Atividade antioxidante</i>	37
2.6.2.4.4	<i>Atividade antiviral</i>	37
2.6.2.4.5	<i>Atividade anticâncer ou antineoplásica</i>	38
2.6.2.4.6	<i>Atividade imunomodulatória</i>	39
2.6.2.5	Toxicidade.....	39
2.6.2.6	Padronização.....	40

2.6.2.7	Perspectivas.....	41
3	OBJETIVOS.....	43
3.1	OBJETIVO GERAL.....	44
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	45
4.1	ENXAGUANTE BUCAL.....	47
4.2	UNIVERSO E AMOSTRA.....	50
4.3	EXAME INICIAL.....	51
4.3.1	Coleta do Índice Gengival e do Índice de Placa.....	52
4.3.1.1	Índice Gengival.....	52
4.3.1.2	Índice de Placa.....	53
4.3.1.3	Índice de Gravidade de Placa e Índice de Gravidade Gengival.....	55
4.3.2	Raspagem, polimento coronário e orientações.....	55
4.4	EXAMES DE AVALIAÇÃO.....	57
4.5	ANÁLISE DOS DADOS.....	57
5	RESULTADOS.....	59
5.1	UNIVERSO E AMOSTRA.....	60
5.2	PRESENÇA/AUSÊNCIA DE GENGIVITE.....	62
5.2.1	Índice Gengival (IG).....	62
5.2.2	Índice de Gravidade Gengival.....	63
5.3	PRESENÇA/AUSÊNCIA DE PLACA.....	64
5.3.1	Índice de Placa (IP).....	64
5.3.2	Índice de Gravidade de Placa.....	65
5.4	PRESENÇA/AUSÊNCIA DE ALTERAÇÕES NOS TECIDOS DA BOCA.....	66
5.5	APRECIÇÃO E ACEITABILIDADE DO PRODUTO.....	69

5.6	ADERÊNCIA AO PROGRAMA DE BOCHECHOS.....	71
6	DISCUSSÃO.....	73
7	CONCLUSÕES.....	84
7.1	CONSIDERAÇÃO FINAL.....	86
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

ANEXOS

A	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	
B	FICHA CLÍNICA	
C	EXAME OBJETIVO BUCAL	
D	FICHA PERIODONTAL (PERIODONTOGRAMA)	
E	ÍNDICE GENGIVAL – LÖE SILNESS MODIFICADO (1977)	
F	ÍNDICE DE PLACA DE QUIGLEY & HEIN MODIFICADO (1970)	
G	ORIENTAÇÕES IMPRESSAS PARA PARTICIPAÇÃO	
H	CONTROLE DE USO DIÁRIO DO ENXAGUANTE BUCAL COM PRÓPOLIS	
I	APRECIÇÃO E ACEITABILIDADE DO PRODUTO	
J	PARECER DA COEP	
K	REGISTRO NO <i>ClinicalTrials.gov</i>	

1 INTRODUÇÃO

“As cores estão lá no poente. Mas quem só vê as cores não vê nada.
A beleza nostálgica do sol que se põe é uma dádiva dos olhos
de quem a vê como quem a vê pela última vez.”

Rubem Alves

1 INTRODUÇÃO

O uso de enxaguante bucal como adjuvante às técnicas mecânicas de higienização bucal é muito comum no controle da placa e da gengivite (JANSON, 2006).

Enxaguantes à base de produtos químicos, como a clorexidina e o triclosan, são eficazes contra microorganismos periodontopatogênicos (NABI *et al.*, 1989; GAFFAR *et al.*, 1990; VOLPE *et al.*, 1996; RIEP *et al.*, 1999). Vários agentes estão disponíveis no mercado, embora, esses produtos químicos possam alterar a microbiota oral e ter efeitos colaterais indesejáveis, tais como vômitos, diarreia e coloração do dente (PALOMBO, 2009). Por esse motivo, a procura de medicamentos alternativos à base de produtos naturais, como a própolis, tem sido alvo de pesquisa em todo o mundo. O uso de preparações padronizadas de própolis é seguro e menos tóxico do que alguns medicamentos sintéticos (CASTALDO & CAPASSO, 2002).

A própolis é uma resina complexa, atóxica, produzida por abelhas *Apis mellifera* (PARK *et al.*, 1998a), cuja composição apresenta variabilidade de acordo com a origem botânica (FERNANDES *et al.*, 2007). Realiza diversas atividades biológicas, como antibacteriana, antifúngica, cicatrizante, tumoricida, anti-inflamatória e anestésica (BANKOVA, 2005a). Estudos prévios, *in vitro*, revelaram a atividade bactericida do extrato de própolis sobre microorganismos periodontopatogênicos (MARCUCCI, 1995; PARK *et al.*, 1998b; BOYANOVA *et al.*, 2006; PAULA *et al.*, 2006).

Nos últimos trinta anos, pesquisas com a própolis tem sido desenvolvidas, visando esclarecer as características medicinais atribuídas a ela (BANSKOTA *et al.*, 2001). Na Odontologia, passou a ser aplicada em algumas de suas especialidades (SABIR *et al.*, 2005; HIDAKA *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2008; LIBÉRIO *et al.*, 2009).

Diante do aumento da resistência a antibióticos pelas bactérias, dos efeitos adversos de alguns agentes antibacterianos utilizados na Odontologia e das condições financeiras prevalentes em países em desenvolvimento, sobleva destacar a necessidade de criar opções de prevenção e tratamento que sejam seguros, efetivos e econômicos (PALOMBO, 2009).

É nesse sentido que se julgou pertinente estudar a evidência clínica preliminar em humanos da eficácia de um enxaguante bucal em sua formulação contendo 5% de própolis verde brasileira e sem álcool, originada de *Baccharis dracunculifolia*, no controle de placa dental e da gengivite.

2 REVISÃO DE LITERATURA

“Suba o Primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo.”

Martin Luther King

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL, GENGIVITE E O USO DE ENXAGUANTES BUCAIS

A boca é compreendida por diversas superfícies diferentes, sendo cada uma delas coberta por uma camada de bactérias, compondo o biofilme bacteriano. Algumas dessas bactérias têm sido responsabilizadas pela ocorrência de doenças orais, tais como cáries e periodontites, que estão entre as mais frequentes infecções bacterianas em humanos (FISCHMAN, 1997). Há uma distinta microbiota saudável na cavidade bucal, diferente daquela de doenças bucais (AAS *et al.*, 2005).

Previamente, a formação da placa dental humana é iniciada pela deposição de um biofilme derivado do depósito de glicoproteínas salivares sobre as superfícies dos dentes, também conhecida como “Película adquirida do esmalte” (BRECX, 1997). A placa dental é um meio altamente variável, resultante da colonização e do crescimento de microorganismos nas superfícies do dente e do tecido mole bucal, consistindo em um número de espécies microbianas e cepas embebidas em uma matriz extracelular (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1986).

HAFFAJEE *et al.* (2008) identificaram as comunidades microbianas presentes em amostras de biofilme supragengival de 187 indivíduos. Segundo os autores, os complexos microbianos existentes na placa supragengival foram similares àqueles encontrados em amostras de placa subgengival, apresentando poucas diferenças.

A remoção da placa dental e de sua microbiota é considerada essencial para a obtenção e manutenção da saúde gengival (PALOMO *et al.*, 1989; FISCHMAN, 1997). O acúmulo de placa bacteriana está associado à incidência de gengivite e periodontite, indicando que a remoção mecânica de placa para diminuir o risco de destruição periodontal caracteriza um processo seguro (SHEIHAM, 1997).

A gengivite induzida por placa é definida como “inflamação da gengiva na ausência de perda de inserção clínica”. Pode ser caracterizada pela presença de qualquer dos seguintes sinais clínicos: vermelhidão e edema do tecido gengival, sangramento sob sondagem, mudanças na cor e na consistência, presença de cálculo e/ou placa e nenhuma evidência radiográfica de perda óssea da crista alveolar (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2000).

O uso de agentes mecânicos constitui um método simples e de custo eficaz que demonstra ser eficiente no controle da gengivite. A efetividade desse método é influenciada pela habilidade manual e pela motivação do indivíduo (FRANCO NETO *et al.*, 2008). A utilização de enxaguantes bucais é uma medida adjuvante comum no controle mecânico da higiene bucal, facilitando o controle da placa supragengival e da gengivite (JANSON, 2006). O controle químico de placa dental inclui somente as áreas supragengival e marginal, devido ao fato de os enxaguantes bucais usados sob condições normais não alcançarem a área subgengival (BREX, 1997).

A primeira referência a enxaguante bucal como uma prática oficial é creditada à medicina chinesa, aproximadamente no ano de 2700 a.C, para o tratamento de doenças gengivais (FISCHMAN, 1997).

Na literatura, existem alguns estudos que mostram eficácia antiplaca e anti-gengivite dos enxaguantes bucais. Entretanto, grande parte desses produtos contém álcool em sua formulação (CHARLES *et al.*, 2004; WELK *et al.*, 2005; FINE *et al.*, 2007).

Alcoóis, especialmente o etanol, são agentes químicos comuns usados na dissolução de outras substâncias que compõem os enxaguantes bucais. Enquanto o álcool isopropil e outros alcoóis são usados como antissépticos para as mãos (BERNARD *et al.*, 1980; BARTZOKAS *et al.*, 1987), o etanol isoladamente mostrou pouca eficácia e efetividade antibacteriana contra microorganismos da cavidade bucal em estudos *in vitro* e *in vivo* (GJERMO *et al.*, 1970; MYKLEBUST, 1985; SISSONS *et al.*, 1996). Por outro lado, o etanol existe em 90% dos preparados de enxaguantes bucais em diversos países (FRIEDMANN, 1991; NETUSCHIL, 1995). Muitos enxaguantes contêm menos de 10% de volume de etanol, mas alguns

possuem acima de 30%. Em alguns concentrados e sprays, existe uma concentração de etanol acima desse valor (CARRETERO-PELÁEZ *et al.*, 2004). Após acidentes em que crianças ingeriram enxaguantes bucais, surgiram recomendações para a indicação pelos produtores dos possíveis riscos, a criação de frascos com tampas mais seguras e a limitação da concentração em 5% de álcool. Aspectos adicionais contra a existência de álcool em soluções de higiene bucal são discutidos, por exemplo, ressecamento, mal-estar e ardência da mucosa bucal (PENUGONDA *et al.*, 1994) e possível potencial carcinogênico na mucosa oral e na orofaringe (SMIGEL, 1991; LLEWELYN, 1994). Por isso, é interessante retirar o álcool dos enxaguantes bucais, que são utilizados rotineiramente pelas pessoas.

Diversos agentes antimicrobianos têm sido estudados em relação ao controle de placa supragengival. Eles podem ser divididos em antissépticos bisguanidas, antissépticos de amônia quaternária, antissépticos fenólicos, outros antissépticos e produtos naturais (ELEY, 1999).

2.2 ANTISSEPTICOS BISGUANIDAS

Vários antissépticos bisguanidas possuem atividade antiplaca, incluindo a clorexidina, a alexidina e a octenidina. O gluconato de clorexidina, entretanto, é o mais estudado das bisguanidas e o que existe mais informações de toxicologia (ELEY, 1999).

A clorexidina (CHX) é uma bisguanida catiônica com ampla atividade antibacteriana, baixa toxicidade em mamíferos e forte afinidade de ligação com a pele e as membranas mucosas (JONES, 1997). É um agente antimicrobiano de amplo espectro, cujos efeitos são mais potentes em microorganismos gram-positivos do que em microorganismos gram-negativos (GRÖNROOS *et al.*, 1995).

Ensaio clínico mostrou que a CHX reduz o *Streptococcus mutans* em relação a outras bactérias na placa e na saliva (EMILSON & FORNELL, 1976; LÖE *et al.*, 1976; EMILSON, 1981). A ação antibacteriana da CHX baseia-se em sua

adsorção na superfície bacteriana. Em menores concentrações, o efeito bacteriostático é baseado em distúrbios das funções da célula bacteriana, das enzimas e dos receptores celulares. Em altas concentrações, a CHX causa precipitação citoplasmática ou coagulação (GRÖNROOS *et al.*, 1995; ELEY, 1999).

A CHX é pobremente absorvida pelo trato gastrointestinal. Portanto, mostra baixíssima toxicidade. Embora seja atóxica, possui um sabor desagradável, altera o paladar e produz uma coloração marrom nos dentes, que é muito difícil de ser removida. Também, pode afetar as membranas mucosas e a língua, além de aumentar a formação de cálculo, resultando em áreas calcificadas, coradas e fortemente aderidas aos dentes. Por essa razão, o uso prolongado de clorexidina deve ser evitado em indivíduos com o periodonto normal (ELEY, 1999).

2.3 COMPOSTOS DE AMÔNIA QUATERNÁRIA

Trata-se de um agente amplamente utilizado em bochechos, devido a suas propriedades antimicrobianas (TORRES *et al.*, 2000). O cloreto de cetilpiridíneo (CPC), por exemplo, possui moderada atividade inibitória de placa (ELEY, 1999). O mecanismo de ação está relacionado ao aumento da permeabilidade da parede celular, que favorece a lise e diminui o metabolismo celular e a habilidade da bactéria em se aderir à superfície dentária (TORRES *et al.*, 2000). Sua atividade antimicrobiana é igual ou superior a da clorexidina, ao passo que sua propriedade de inibição de placa é inferior (GJERMO *et al.*, 1970). Essa diferença na atividade antiplaca pode estar relacionada ao fato de ele perder parte de suas propriedades antimicrobianas com sua adsorção nas superfícies (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1995). A retenção inicial do CPC é mais alta do que a da clorexidina, mas ele é removido mais rapidamente da cavidade bucal (BONESVOL & GJERMO, 1978). Como efeitos adversos podem ocorrer o manchamento dentário e a sensação de ardência na boca (TORRES *et al.*, 2000). Uma razão para isso pode ser atribuída à rápida dessorção dele da mucosa bucal (ELEY, 1999).

2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

O Listerine® é um óleo essencial/fenólico constituinte de enxaguante bucal que tem mostrado moderado efeito inibitório de placa e fraca atividade anti-inflamatória na gengivite (ELEY, 1999). O mecanismo de ação parece estar associado à alteração da parede celular bacteriana. Este produto não tem carga, o que o faz apresentar baixa substantividade. Como efeitos adversos podem-se citar: sensação de queimação e gosto ardido (TORRES *et al.*, 2000).

DEWHIRST (1980) demonstrou, em estudos *in vitro*, que os componentes fenólicos possuem atividade anti-inflamatória e inibidora de prostaglandina sintetase. O fraco efeito do Listerine® sobre a gengivite pode estar relacionado a baixa quantidade dos componentes fenólicos incorporados ao enxaguante (SEKINO & RAMBERG, 2005).

2.5 OUTROS ANTISSÉPTICOS

2.5.1 Triclosan

Triclosan é um agente antibacteriano lipossolúvel e de largo espectro, muito utilizado em cremes dentais e em enxaguantes bucais para reduzir a formação de placa e melhorar a saúde gengival (KJAERHEIM & WAALER, 1994). Sua ação baseia-se na desorganização da membrana celular e na inibição inespecífica de enzimas da membrana. Possui amplo espectro antimicrobiano, com atividade contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1995). Inibe a incorporação e o metabolismo da glicose por *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* e *Actinomyces naeslundii*, e a atividade de proteases tipo tripsina de *Porphyromonas gingivalis* e *Capnocytophaga gingivalis in vitro* (CURY, 1997). *In vivo*, a eficácia antiplaca e a substantividade do triclosan sozinho são limitadas. Duas técnicas diferentes são adotadas para aumentar a sua ação. A

primeira consiste em aumentar a retenção oral e diminuir o índice de liberação mediante a adoção de um copolímero, comercialmente conhecido como Gantrez. A segunda consiste em potencializar o seu efeito adicionando citrato de zinco (TORRES *et al.*, 2000).

2.6 PRODUTOS NATURAIS

2.6.1 Sanguinarina

Sanguinarina é uma substância derivada da *Sanguinaria canadensis*. O produto pode ser catiônico e o grau de substantividade é incerto. Como efeito adverso cita-se a sensação de ardência na boca. É encontrada sob o nome comercial de Viadent (dentifrício e solução). O teor alcoólico da solução é de 11,5%. O proposto mecanismo de ação é atribuído à alteração da superfície celular bacteriana, de modo que a agregação e a adesão tornam-se reduzidas (TORRES *et al.*, 2000). Demonstrou-se que a sanguinarina na concentração de 16 µg/ml inibiu 98% de microorganismos isolados da placa dental humana. Também quando associada ao zinco, os dois atuam sinergicamente na supressão do crescimento de várias espécies de estreptococos e actinomicetes bucais (ELEY, 1999).

2.6.2 Própolis

O termo *própolis* deriva do grego *pro*, de “em frente de, na entrada de”, e *polis*, “comunidade ou cidade” (CASTALDO & CAPASSO, 2002; SALATINO *et al.*, 2005). A própolis é uma substância natural não tóxica coletada por abelhas *Apis mellifera* em várias espécies de plantas. Tem sido usada na medicina popular através dos séculos (CASTALDO & CAPASSO, 2002; BANKOVA, 2005b). Caracteristicamente, é um material lipofílico, duro e frágil quando frio, mas mole, flexível e muito pegajoso quando quente. Daí o nome “cera de abelha” (MARCUCCI,

1995). Tem cheiro característico e mostra propriedades adesivas por interagir fortemente com óleos e proteínas da pele (SFORCIN, 2007).

A composição química da própolis é complexa (BURDOCK, 1998; BOYANOVA *et al.*, 2006). Alguns fatores, como a origem botânica da própolis e a sua época de coleta podem influenciar a composição química deste material resinoso (FERNANDES *et al.*, 2007).

A coloração da própolis varia do verde amarelado ao marrom escuro, dependendo do local – savana, florestas tropicais, deserto, regiões litorâneas e montanhosas – onde é produzida. (BANKOVA *et al.*, 1998; MARCUCCI, 2000; BANKOVA, 2005b).

A própolis é utilizada pelas abelhas como proteção contra a entrada de microorganismos, fungos e bactérias na colméia, e como um material para vedação, impedindo a entrada de luz e umidade em seu interior. É utilizada também para forrar os favos, de modo a permitir a deposição de ovos pela rainha, e para embalsamar pequenos animais mortos (besouros e insetos) que as abelhas não conseguiram tirar da colmeia, evitando sua putrefação, o que poderia causar-lhes infecções e doenças (MARCUCCI, 1995; BURDOCK, 1998; SALATINO *et al.*, 2005).

O interesse pela ação farmacológica de produtos naturais tem crescido e encontrado significativa aceitação popular. Dentre esses produtos, a própolis tem se destacado devido à sua aplicabilidade na indústria de alimentos e cosméticos, por ser utilizada como princípio ativo em vários produtos, dentre os quais os dentifrícios e os cremes dermatológicos (SIMÕES *et al.*, 2008). Também está disponível sob a forma de cápsula (pura ou combinada), extrato (hidroalcoólico ou glicólico), enxaguante bucal (combinado com melissa, salva, malva e/ou alecrim), pastilhas, cremes e pó (para ser usada em gargarejos ou para uso interno, uma vez dissolvida em água) (CASTALDO & CAPASSO, 2002).

Quanto ao aspecto etnofarmacológico, a própolis é um dos poucos "remédios naturais" que continuam sendo utilizados por um longo período por diferentes civilizações (MENEZES, 2005). A própolis é largamente empregada na medicina

popular, principalmente em comunidades com condições inadequadas de saúde pública. Tem sido estudada em sequência para descobrir mais efetividade e menos compostos tóxicos (AMARAL *et al.*, 2006; MELLO *et al.*, 2006).

2.6.2.1 Histórico

A própolis é um remédio natural que tem sido empregado extensivamente desde a Antiguidade. Os egípcios, que conheciam muito bem as propriedades anti-putrefativas da própolis, a utilizaram para embalsamar cadáveres (GHISALBERTI, 1979). Era reconhecida por suas propriedades medicinais por médicos gregos e romanos, como Aristóteles, Dioscorides, Plínio e Galeno. A droga foi empregada como antisséptico e cicatrizante no tratamento de feridas e como desinfetante bucal, sendo o seu uso perpetuado na Idade Média entre médicos árabes (CASTALDO & CAPASSO, 2002). Também, foi muito utilizada, sob a forma de pomada e bálsamo, no tratamento de ferimentos de soldados em batalhas, devido ao seu efeito cicatrizante. Essa propriedade curativa da própolis, conhecida como “Bálsamo de Gileade”, é também referida na Bíblia Sagrada (PARK *et al.*, 1999).

Do ponto de vista farmacológico, a própolis tem sido empregada na forma sólida; na forma de unguento à base de vaselina, lanolina, manteiga e azeite de oliva, ou extrato óleo-alcoólico; e na forma de extrato alcoólico e de extrato hidroalcoólico. A proporção própolis/veículo pode variar, para que se obtenham resultados bacteriostáticos ou bactericidas (GERALDINI *et al.*, 2000).

Nas décadas de 1980 e 1990, surgiu um grande número de publicações no mundo inteiro, sobressaindo o Japão em quantidade de trabalhos publicados, seguindo-se o Brasil e a Bulgária (PEREIRA *et al.*, 2002).

Na Odontologia, tem-se estudado a atividade farmacológica da própolis em algumas situações, como: gengivites, periodontites, aftas, mumificação pulpar em dentes de cães e cárie dental em ratos (GERALDINI *et al.*, 2000). Também, tem sido usada em curativos pré e pós-cirúrgicos e em tratamentos da candidose, herpes

labial e higiene bucal. Verificou-se, ainda, a capacidade antisséptica e cicatrizante da própolis em indivíduos internados em vários hospitais, cujos resultados foram extremamente positivos (GRÉGIO *et al.*, 2005). Assim, este produto natural revelou-se de grande interesse para o tratamento das doenças bucais (MANARA *et al.*, 1999).

Internacionalmente, a primeira licença comercial de medicamento contendo própolis foi registrada na Romênia, em 1965. Em todo o mundo, no mesmo período analisado, apurou-se um total de 239 licenças comerciais. Na década de 1980, as licenças comerciais foram predominantes na ex-URSS e países satélites. Atualmente, 43% das licenças comerciais são de origem japonesa. Dessas licenças, 6.2% correspondem a produtos para tratamento dental. No Japão, a produtividade científica relatada para a própolis aumentou 660% entre as décadas de 1980 e 1990 (PEÑA, 2008).

O interesse global em pesquisar a própolis aumentou consideravelmente e está relacionado a suas várias propriedades biológicas (PEREIRA *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2002a; BOYANOVA *et al.*, 2005; AMARAL *et al.*, 2006; AURICCHIO *et al.*, 2007; PARKER & LUZ, 2007).

Outro estímulo para a realização de pesquisas sobre própolis é o alto valor agregado no mercado internacional, principalmente no Japão, onde um frasco do extrato etanólico é vendido a preços dez vezes superior ao praticado no Brasil. O Brasil é considerado o terceiro maior produtor de própolis do mundo, ficando atrás somente da Rússia e da China. Apesar de o País ser responsável por 10% a 15% da produção mundial, atende a cerca de 80% da demanda japonesa. O interesse dos japoneses pela própolis brasileira deve-se a suas propriedades terapêuticas e características organolépticas, além da presença de menor quantidade de metais pesados e demais poluentes ambientais (PEREIRA *et al.*, 2002).

Nos últimos trinta anos, vários estudos e pesquisas científicas foram realizadas para esclarecer as características medicinais atribuídas à própolis (BANSKOTA *et al.*, 2001; PEREIRA *et al.*, 2002).

2.6.2.2 Classificação

Houve uma tentativa de classificação da própolis brasileira em doze tipos de acordo com as propriedades físico-químicas e relatos da localização geográfica. Entretanto, até o momento, somente três tipos tiveram a sua origem botânica identificada. A principal origem botânica dos tipos Sul (três), Nordeste (seis) e Sudeste (doze) da própolis brasileira, fora relatadas como resinas de *Populus sp.*, *Hyptis divaricata* e *Baccharis dracunculifolia*, respectivamente.

Os diferentes compostos presentes na própolis brasileira foram identificados e quantificados por meio de processo químico de tipificação, empregando-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Estabeleceu-se o processo de separação por cromatografia líquida, capaz de identificar os componentes majoritários de amostras de própolis (marcadores principais). Com base nos resultados obtidos a partir da investigação de centenas de amostras, foram estabelecidas metodologias de análise química de própolis brasileiras para o controle de qualidade. Por meio da técnica de CLAE e da quantificação dos compostos identificados por ela, estabeleceu-se uma tipificação para a própolis brasileira, com base na presença de marcadores. A principal característica desta tipificação prende-se à agilidade com que este produto apícola poderá chegar ao mercado, desde o campo até a indústria farmacêutica e cosmética, favorecendo a estas utilizarem a tipificação para a confecção de seus medicamentos e cosméticos, com controle de qualidade estabelecido, já que todos estes marcadores foram separados nos tipos por faixa de concentração. Isto é, a classificação é quantitativa. Outro fator importante da tipificação é que será possível confeccionar produtos farmacêuticos, cosméticos e de higiene bucal conhecendo-se o tipo de própolis empregada e as quantidades dos componentes bioativos presentes, características nunca antes relatadas em publicações e patentes sobre própolis (MARCUCCI, 2006).

O Cerrado brasileiro é uma das áreas mais ricas em *Baccharis sp.* Essas plantas são um grupo de arbustos lenhosos perenes, que são dióicas com inflorescências masculinas e femininas que aparecem nas plantas separadas. Das

várias espécies de *Baccharis*, *Baccharis dracunculifolia* é a fonte dominante de própolis no sudeste do Brasil (Estado de São Paulo e área de cerrado de Minas Gerais), onde a maioria dos produtos a base de própolis comercializados são produzidos (PARK *et al.*, 2004).

Recentemente, foi encontrada uma própolis vermelha em colmeias localizadas em regiões de mangues na região Nordeste. Observou-se que as abelhas coletam o exsudato vermelho da superfície da *Dalbergia ecastophyllum* (Linnaeus; Taubert), sugerindo que essa é a origem botânica da própolis vermelha. Analisaram-se, então, comparativamente, as amostras de exsudatos da planta e da própolis vermelha, demonstrando que o perfil cromatográfico da própolis é exatamente o mesmo da *D. ecastophyllum* (LUSTOSA *et al.*, 2008).

O melhor caminho para encontrar a planta de origem da própolis seria mediante a comparação da composição química da própolis com a da suposta planta de origem (SILVA *et al.*, 2008).

2.6.2.3 Composição química

Mais de 300 componentes químicos são descritos em própolis de diversas origens (PEÑA, 2008). Entre as substâncias químicas encontradas na própolis estão ceras, resinas, bálsamos, óleos aromáticos e éter, pólen e material orgânico. A proporção dessas substâncias varia e depende do lugar e do período de coleta (MARCUCCI, 1995).

A própolis recolhida de uma colmeia de abelhas, também conhecida como própolis bruta, apresenta em sua composição básica cerca de 50% de resinas vegetais, 30% de cera de abelha, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de detritos de madeira e terra (BURDOCK, 1998; MENEZES, 2005; SFORCIN, 2007). A própolis é composta também de vários ácidos orgânicos, quantidade considerável de substâncias minerais (entre as quais, manganês, zinco, cálcio, fósforo e cobre), vitaminas B1, B2, B6, C e E, ácidos (nicotínico e pantotênico) e aminoácidos já

comprovados (MARCUCCI, 1995; BURDOCK, 1998; BANKOVA *et al.*, 2000; MARCUCCI *et al.*, 2000). Essas características constitutivas podem variar de acordo com a região e com o período do ano (AHN *et al.*, 2007a; FISCHER *et al.*, 2007). Contudo, a composição da planta de origem determina a composição química da própolis (BANKOVA, 2005a; AHN *et al.*, 2007b; FISCHER *et al.*, 2007).

Hoje, são conhecidas na própolis diversas substâncias de estruturas químicas distintas, pertencentes às seguintes classes: alcoóis, aldeídos, ácidos alifáticos, ésteres alifáticos, aminoácidos, ácidos aromáticos, ésteres aromáticos, flavonoides, ésteres hidrocarboidratos, éter, ácidos graxos, cetonas, terpenoides, esteroides e açúcares (MANARA *et al.*, 1999).

Os primeiros trabalhos de identificação dos elementos ativos da própolis foram realizados em 1911 por pesquisadores alemães (VERONESE, 2009), em que foram identificados: a vanilina, o ácido e o álcool cinâmico. Já na década de 1970, POPRAVKO (1975) conseguiu isolar e identificar onze elementos, destacando-se como os mais importantes os de tipo flavonoides, especialmente flavonas, flavonóis e flavononas, os terpenos, o alfa aceto-butilenol e a isovanilina. Nessa mesma época, CIZMARIK & MATEL (1975) identificaram os ácidos aromáticos não saturados, como os ácidos cafeico e ferúlico. Na mesma década, KADAKOV *et al.* (1978) relataram a presença de treze aminoácidos presentes em amostras de própolis.

Os efeitos terapêuticos são atribuídos aos diversos compostos fenólicos que compõem a própolis verde, os quais estão largamente distribuídos no reino vegetal. Destes, os flavonoides podem ser considerados os principais compostos (BURDOCK, 1998; BOYANOVA *et al.*, 2006), encontrando-se ainda alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, alcoóis e acetonas (ENDLER *et al.*, 2003).

Os flavonoides e o éster fenetil do ácido cafeico (CAPE) são compostos fenólicos que possuem a capacidade de inibir o crescimento e a divisão celular, aumentar a permeabilidade da membrana e interferir na motilidade celular dos microrganismos (SIMÕES *et al.*, 2008).

Apesar de serem os componentes mais estudados da própolis, os flavonoides não são os únicos responsáveis pelas propriedades farmacológicas. Diversos outros componentes têm sido relacionados às propriedades medicinais da própolis (AWALE *et al.*, 2005). A própolis da Europa e da China contém muitos flavonoides e ácidos ésteres fenólicos. Flavonoides estão presentes somente em pequenas quantidades na própolis brasileira. Os principais componentes da própolis de origem brasileira são: terpenoides e prenilatados derivados de ácidos ρ -coumarínicos (AHN *et al.*, 2007a).

Na região Sudeste do Brasil existe em abundância a espécie botânica fornecedora de resina verde, que é a *Baccharis dracunculifolia*, também chamada de “alecrim do campo”, ou “vassourinha”, que é uma espécie de planta típica das Américas, pois precisa de solo ácido para crescer, sendo de excelente crescimento no território do estado de Minas Gerais. O alecrim nasce e se desenvolve facilmente no Brasil, tanto em áreas plantadas como em espaços abandonados (PARK *et al.* 2004; SALATINO *et al.* 2005; FUNARI & FERRO, 2006).

Ela é muito diversificada em sua composição química devido à rica biodiversidade do País. Precisa ser investigada como origem de novas substâncias bioativas, tais como derivados de ácido cinâmico, principalmente artepilin C, flavonoides e outras com propriedades farmacológicas ou funcionais (SILVA *et al.*, 2008).

O renovado interesse sobre a composição da própolis brasileira deve-se ao fato de o Brasil possuir uma flora muito diversificada, clima tropical e abelhas africanizadas da espécie *Apis mellifera* que produzem a própolis, durante o ano, no período de abril a setembro (MARCUCCI, 1995; BANKOVA *et al.*, 1998; PARK *et al.*, 2002).

Os típicos constituintes da própolis verde brasileira derivada da *Baccharis dracunculifolia* são ácido cafeoquinico e derivados prenilatados de ácido cinâmico, tais como artepilin C e baccharina. Outras própolis verdes brasileiras são quimicamente diferentes, pois além de prenilatados de ácido cinâmico, contêm triterpenoides (MOURA *et al.*, 2009a).

Ao lidar com a composição química e a ação biológica da própolis verde, não se pode apontar um componente de determinada substância ou uma classe de substâncias que poderiam ser responsáveis por suas distintas atividades farmacológicas. Obviamente, em diferentes amostras diferentes combinações de substâncias são essenciais para a atividade biológica da própolis (KUJUMGIEV *et al.*, 1999; MENEZES, 2005). É importante observar que todas as investigações sobre a atividade antibacteriana de substâncias específicas isoladas da própolis mostraram que um único componente não tem uma atividade superior à do extrato total (PAULA *et al.*, 2006). As propriedades químicas da própolis não são apenas benéficas para as abelhas; têm, também, valor farmacológico como uma mistura natural, e não como uma poderosa fonte de novos agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirais e compostos individuais (KUJUMGIEV *et al.*, 1999).

2.6.2.4 Propriedades terapêuticas da própolis

Atualmente, sabe-se que a própolis brasileira exibe diversas atividades biológicas, como antimicrobiana, antiinflamatória, imunomodulatória, citostática entre outras (BANKOVA, 2005b).

A composição química da própolis é muito complexa. Observam-se: atividade antibacteriana, conferida pela presença de flavonoides, ácidos aromáticos e ésteres em sua composição; ação bactericida, decorrente da presença dos ácidos cinâmico e cumarínico; atividade antiviral, *in vitro*, (*herpes simplex*, *influenza*), em função da ação de flavonoides e derivados de ácidos aromáticos; e ação antiúlcera (auxílio na cicatrização), imunoestimuladora, hipotensiva e citostática (MANARA *et al.*, 1999).

Os métodos de extração da própolis podem influenciar em sua atividade, desde diferentes solventes solúveis a diferentes componentes do extrato (SFORCIN, 2007).

2.6.2.4.1 Atividade anti-inflamatória

Como um agente anti-inflamatório, a própolis verde é conhecida por inibir a síntese de prostaglandinas; ativar a glândula tímica; auxiliar o sistema imune, pela promoção da atividade fagocítica, estimulando a imunidade celular; e aumentar os efeitos cicatrizantes no tecido epitelial. Adicionalmente, a própolis contém elementos, como o ferro e zinco, que são importantes para a síntese de colágeno (ÖZAN *et al.*, 2007; LUSTOSA *et al.*, 2008).

Recentemente foi relatado que o artemisinina C tem um efeito inibitório sobre a prostaglandina E₂ e óxido nítrico através da modulação NF- κ B usando a linha de células de macrófagos RAW 264.7 (TANI *et al.*, 2010).

A atividade anti-inflamatória observada na própolis verde parece ser decorrente da presença de flavonóides e prenilatados do ácido cinâmico. Estes compostos apresentam atividade inibitória contra a ciclooxigenase (COX) e a lipooxigenase. Verifica-se também que o éster fenetil do ácido cafeico (CAPE) possui atividade anti-inflamatória, por inibir a liberação de ácido aracídico da membrana celular, suprimindo as atividades das enzimas COX-1 e COX-2 (BORRELLI *et al.*, 2002; BARROS *et al.*, 2007).

A própolis também exibiu efeitos anti-inflamatórios contra modelos de inflamação agudo e crônico (formaldeído e artrite adjuvante-induzida, carragenina e PGE₂, induzindo edema na pata e granuloma com *pellete* de algodão). O exato mecanismo da ação anti-inflamatória da própolis ainda não é claro (CASTALDO & CAPASSO, 2002).

2.6.2.4.2 Atividade antimicrobiana

Estudos prévios revelam que extratos de própolis verde inibem o crescimento de estreptococos do grupo mutans *in vitro* (MARCUCCI, 1995; PARK *et al.*, 1998a;

BOYANOVA *et al.*, 2006; PAULA *et al.*, 2006). Esses microorganismos, principalmente *Streptococcus mutans*, estão relacionados etiologicamente à formação de cárie dental em animais e humanos.

A própolis mostrou eficiente poder antimicrobiano nas proporções de 30% e 15% para as bactérias *Pseudomonas sp* e *Staphylococcus aureus*, corroborando que o álcool não possui eficiência sem extrato (BERA *et al.*, 2007). O efeito antimicrobiano da própolis é diretamente proporcional a sua concentração (ENDLER *et al.*, 2003).

Extratos etanólicos de própolis verde exibiram significativa atividade antimicrobiana contra diversos patógenos da cavidade bucal, incluindo *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum* (SANTOS *et al.*, 2002b), que é a principal microbiota envolvida na doença periodontal relacionada à placa dental.

Verificou-se, também, que bactérias Gram-positivas se mostram mais sensíveis que as gram-negativas aos extratos de própolis (JUNIOR *et al.*, 2006). Até o momento, não se têm dados que respondam o porquê dessa menor atividade dos extratos de própolis contra bactérias gram-negativas. Estas bactérias possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, o que pode explicar essa maior resistência (VARGAS *et al.*, 2004).

A atividade antibacteriana da própolis verde decorre declaradamente dos flavonoides, ácidos aromáticos e ésteres presentes em resinas, galangina, pinocembrina e pinostrobina, os quais têm sido conhecidos como os agentes flavonóides mais efetivos contra bactérias. O ácido ferúlico e o ácido cafeico, também contribuem para a ação bactericida da própolis (MARCUCCI, 1995). Uma simples analogia não pode ser feita ao modo de ação de antibióticos clássicos. Não existem relatos considerando a resistência bacteriana aos constituintes da própolis, e essas propriedades podem influenciar o sucesso da terapia antibiótica na cavidade bucal (ÖZAN *et al.*, 2007).

O solvente empregado para a extração de própolis pode influenciar a potência de sua atividade antimicrobiana. De fato, as preparações oleosas obtiveram elevada taxa de atividade antimicrobiana, as soluções de glicerina mostraram pequena inibição de bactéria gram-positiva e soluções de etanol e propilenoglicol mostraram boa atividade contra leveduras (TOSI *et al.*, 1996).

Diversos trabalhos relataram, ao longo de vários anos de pesquisa, a atividade sinérgica da própolis associada a diversos antibióticos, inclusive contra cepas resistentes a benzilpenicilina, tetraciclina e eritromicina. Esses estudos concluíram que a própolis possui ação sinérgica relevante, podendo se constituir em alternativa terapêutica para a resistência microbiana, porém dependente de sua composição (STEPANOVIC *et al.*, 2003; FERNANDES Jr. *et al.*, 2005; ONLEN *et al.*, 2007).

A própolis também demonstrou excelente atividade fungistática e fungicida em testes *in vitro* contra leveduras identificadas como causadoras de onicomicoses (LUSTOSA *et al.*, 2008).

Embora a própolis verde não seja largamente usada em cuidados convencionais com a saúde, é recomendada para uso como remédios caseiros no tratamento de candidíase oral, estomatite por dentadura e lesões de pele por numerosos livros e artigos na imprensa popular (MELLO *et al.*, 2006). Embora alguns estudos tenham focado em mostrar a atividade antifúngica de extrato de própolis, poucos têm demonstrado seus efeitos na morfologia e estrutura da *Candida albicans* (DE NOLLIN & BORGES, 1974; TAJIMA *et al.*, 1981).

Combinações de algumas drogas antimicóticas com própolis (10%) aumentam a sua atividade contra leveduras da *Candida albicans*. O grande efeito sinérgico contra diversas cepas foi obtido quando a própolis foi adicionada a drogas antifúngicas (MARCUCCI, 1995).

2.6.2.4.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante merece especial interesse, pois a própolis poderia ser aplicada topicamente com sucesso para prevenir e tratar a pele danificada (MARQUELE *et al.*, 2006).

Compostos fenólicos encontrados em concentrações elevadas na própolis verde brasileira, incluindo artepillin C, apresentam uma ampla gama de propriedades biológicas, incluindo a capacidade de agir como um anti-oxidante de radicais livres como os radicais de óxido nítrico, e também a capacidade de interferir com os processos inflamatórios por inibição da iNOS e COX-2 atividades (PAULINO *et al.*, 2008)

Embora estudos com extratos etanólicos de própolis sejam muito comuns, é relatado que o extrato aquoso possui boa atividade antioxidante, associada ao alto teor de compostos fenólicos (MANI *et al.*, 2006; VICENTINO & MENEZES, 2007).

Alguns estudos indicaram que a própolis é capaz de inibir a formação de ânion superóxido, que é produzido durante autoxidação de β -mercapto-etanol (RUSSO *et al.*, 2001; CASTALDO & CAPASSO, 2002).

2.6.2.4.4 Atividade antiviral

Não existem muitos relatos sobre a atividade antiviral da própolis. Em estudo realizado na Ucrânia foi comparada a eficácia de pomada de própolis canadense com pomadas de aciclovir e placebo (veículo) no tratamento de indivíduos com herpes genital tipo 2 recorrente. A preparação de própolis contendo flavonoides apresentou-se mais efetiva que as outras duas na cicatrização das lesões e na redução dos sintomas locais (VYNOGRAD *et al.*, 2000).

HULEIHEL & ISANU (2002) relataram potente atividade antiviral da própolis contra infecção de herpes simples-1 *in vitro* e *in vivo*. Eles sugeriram que a própolis pode prevenir a absorção do vírus dentro das células hospedeiras e interferir nos ciclos de replicação viral.

Estudos *in vitro* sugerem que a própolis verde tem uma potente atividade antiviral contra as variantes X4 e R5 do HIV-1. Atividade similar foi observada com linfócitos CD4+ operando, pelo menos em parte, como inibidor da entrada viral (GEKKER et al., 2005; LUSTOSA et al., 2008).

A atividade antiviral de constituintes da própolis, tais como ésteres de substitutos ácidos cinâmicos, foi estudada *in vitro* (MARCUCCI, 1995).

2.6.2.4.5 Atividade anticâncer ou antineoplásica

Vários pesquisadores relataram a propriedade antitumoral da própolis *in vitro* e *in vivo* (RAO et al., 1995; HUANG et al., 1996; BANSKOTA et al., 2001). A própolis mostrou atividade antiproliferativa em células tumorais e alguns componentes responsáveis foram isolados (SFORCIN, 2007).

O artepilin C, componente principal da própolis verde brasileira, possui atividade antiangiogênica. Embora alguns investigadores tenham relatado que a própolis pode suprimir o crescimento do tumor *in vivo*, o atual mecanismo desses efeitos não é totalmente esclarecido (ORSOLIC et al., 2005; AHN et al., 2007b).

A própolis mostra propriedades antitumorais, e seu potencial anticarcinogênico e antimutagênico é promissor, mas os mecanismos envolvidos na quimioprevenção por própolis ainda são obscuros (SZLISZKA et al., 2009).

2.6.2.4.6 Atividade imunomodulatória

A ação imunomodulatória da própolis parece estar limitada aos macrófagos, com nenhuma influência na proliferação de linfócitos (DIMOV *et al.*, 1991).

O efeito inibitório da própolis verde (5-100 µg/ml) em proliferação de esplenócitos foi observado *in vitro* (SÁ-NUNES *et al.*, 2003). Estudos prévios mostraram que flavonoides têm um efeito imunossupressor na resposta linfoproliferativa (YOU *et al.*, 1998). Desde que própolis contém flavonoides, isso pode explicar o efeito relatado (BANKOVA *et al.*, 1998). Outra explicação para os efeitos inibitórios em linfoproliferação provém da observação de que a CAPE tem ambos os efeitos inibitórios na transcrição de fatores NF-kB e NFAT. Como consequência, o CAPE inibiu IL-2 gene de transcrição, IL-2R (CD25) expressão e proliferação de células T humanas, proporcionando novas perspectivas para os mecanismos moleculares envolvidos nas atividades antiinflamatórias e imunomodulatórias deste componente natural (SFORCIN, 2007).

A própolis verde exibiu efeitos imuno-estimulatórios e imunomodulatórios *in vitro* em macrófagos. *In vivo*, aumentou a proporção de células CD4/CD8T em camundongos (KIMOTO *et al.*, 1998).

2.6.2.5 Toxicidade

Há de se enfatizar que a própolis possui a vantagem de ser um produto natural, com maior diversidade molecular. Ou seja, possui inúmeras substâncias terapêuticas compatíveis com o metabolismo dos mamíferos em geral, o que reduz a possibilidade de causar reações adversas aos tecidos bucais, em comparação aos produtos industrializados testados (SIMÕES *et al.*, 2008).

Os extratos aquosos e alcoólicos de própolis não causam irritação aos tecidos (GHISALBERTI, 1979) e são considerados relativamente não tóxicos (BURDOCK, 1998).

Soluções experimentais de enxaguante bucal contendo própolis não demonstraram significativa atividade inibitória de microorganismos tão efetiva quanto a clorexidina, mas encontrou-se menor citotoxicidade em fibroblastos gengivais humanos (ÖZAN *et al.*, 2007).

A própolis é considerada segura em pequenas doses. Portanto, efeitos adversos são comuns em doses acima de 15g/dia. Os efeitos adversos muito comumente experimentados são reações alérgicas, assim como irritações da pele ou membranas mucosas (ZEDAN *et al.*, 2009). Cautela deve ser usada no tratamento de asmáticos e em indivíduos com eczema e urticáceas em erupção (CASTALDO & CAPASSO, 2002).

2.6.2.6 Padronização

Uma padronização química universal seria impossível. Por essa razão, uma investigação detalhada de sua composição, origem botânica e propriedades biológicas é significativa (SFORCIN, 2007).

Postulou-se que própolis diferentes podem apresentar diversas propriedades químicas e farmacológicas. Portanto, a padronização da própolis é necessária. A maior parte dos estudos sobre a química da própolis compreende aqueles direcionados à própolis europeia composta de *Populus* sp. Esses estudos têm sido realizados por meio de cromatografia de gás pareada com espectrometria de massa. Portanto, devido à menor reprodutibilidade desses métodos, o uso de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) é atualmente recomendado (PEÑA, 2008).

Um método alternativo, usando eletro-aspersão, foi recentemente testado para determinar os padrões e o conteúdo de componentes polifenólicos da própolis

(VOLPI & BENGONZINI, 2006). A ressonância magnética nuclear é um dos melhores métodos de detecção, pois reconhece componentes sensíveis ou insensíveis à luz ultravioleta (GÓMEZ-CARAVACA *et al.*, 2006, WATSON *et al.*, 2006). Adicionalmente, métodos quimiométricos têm se tornado os mais comuns na literatura, e é possível que possam ser usados para detectar adulterações. Portanto, os métodos usados para a extração de componentes da própolis requerem adequada padronização (PEÑA, 2008).

2.6.2.7 Perspectivas

A investigação de produtos naturais com atividade farmacológica potencial, especialmente na atividade antimicrobiana, tem atraído a atenção de diversos pesquisadores, motivados principalmente pelo aumento da resistência bacteriana a agentes antimicrobianos tradicionais e aos efeitos colaterais, frequentemente, observados após o uso deles (LIBÉRIO *et al.*, 2009).

Muitos enxaguantes bucais com álcool em sua composição são utilizados como adjuvantes no controle da placa dental e da gengivite, mas têm-se observado efeitos colaterais indesejáveis, apesar de sua eficácia. Isso estimula a procura de produtos alternativos, como o uso de dentifrícios e colutórios à base de produtos naturais, pois há a necessidade de opções de prevenção e tratamento que sejam seguros, efetivos e econômicos. Enxaguantes bucais à base de extratos de plantas medicinais e própolis existem à venda nos mercados brasileiro e mundial, sem, contudo, terem passado por estudos clínicos cientificamente comprovados quanto à sua eficácia e quanto a possíveis efeitos indesejáveis que possam alterar os tecidos duros e moles da cavidade bucal.

Estudos anteriores comprovam a eficácia de extratos de própolis como antimicrobiano sobre microrganismos periodontopatogênicos em estudos *in vitro* (SANTOS *et al.*, 2002a; MELLO *et al.*, 2006; PAULA *et al.*, 2006; KORU *et al.*, 2007). Portanto, considerando-se a incidência de doença bucal, o uso de colutórios à base de produtos naturais sem um estudo prévio em relação a sua eficácia e a atividade antibacteriana da própolis significativa em estudos *in vitro*, o aumento da resistência

a antibióticos pelas bactérias, o fato de efeitos indesejáveis serem observados na cavidade bucal com o uso de enxaguantes que não são fitoterápicos e a consideração financeira em países em desenvolvimento, torna-se importante estudar a evidência clínica preliminar em humanos da eficácia de um enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde brasileira e sem álcool em sua formulação, originada de *Baccharis dracunculifolia*, no controle de placa dental e da gengivite.

3 OBJETIVOS

“Dormir, acordar. Lutar; lutar sempre,
sempre assim, até o fim”.

Cora Coralina

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Evidenciar preliminarmente a eficácia de um enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde no controle de placa dental e gengivite em indivíduos assistidos durante três meses.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) avaliar os índices de placa em indivíduos usuários de enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde nos períodos de zero, 45 e 90 dias de uso;
- b) avaliar o índice gengival em indivíduos usuários de enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde nos períodos de zero, 45 e 90 dias de uso;
- c) calcular os índices de gravidade de placa e gengival em indivíduos usuários de enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde nos períodos de zero, 45 e 90 dias de uso;
- d) avaliar a presença de reações adversas ou diferenciadas nos tecidos moles e duros da cavidade bucal dos indivíduos sob o uso de enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde após os períodos de 45 e 90 dias de uso;
- e) verificar a apreciação e aceitabilidade do enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde pelos usuários após 90 dias de uso;
- f) avaliar a aderência do indivíduo ao seguimento do protocolo de uso do enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde após 90 dias de uso.

4 MATERIAL E MÉTODOS

“O tempo é a minha matéria, o tempo presente, os
homens presentes, a vida presente.”

Carlos Drummond de Andrade

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa caracteriza-se como um estudo clínico de fase II intervencional, do tipo *follow-up*, que teve duração de três meses. Foi conduzida na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, no período de agosto de 2009 a abril de 2010.

HAYNES *et al.* (2008) assim definem estudo clínico de fase II:

Se o composto ainda parece promissor depois dos testes da fase I, nós o administramos para duas a três dúzias de pacientes que apresentam a doença-alvo para a qual o composto é desenhado. Nossos objetivos aqui são quatro: primeiro, ajustar e confirmar a dose necessária para obter o efeito farmacodinâmico desejado; segundo, estimar a proporção de pacientes que respondem (respondedores) e não respondem (não respondedores) ao composto, apresentando o efeito desejado; terceiro, confirmar os resultados dos estudos farmacocinéticos e metabólicos prévios; e o quarto, prosseguir na busca por toxicidade... Podemos empregar vários delineamentos diferentes na fase II, desde séries de casos até Ensaios Clínicos Randomizados (ECRs) paralelos ou cruzados.

Segundo o ClinicalTrials.gov (2010, adaptado), são: “Estudos clínicos controlados conduzidos para avaliar a eficácia da droga para uma particular indicação ou indicações em indivíduos com a doença ou condição em estudo e determinar os efeitos colaterais comuns e riscos em curto prazo.”

A ideia de desenvolver um enxaguante bucal contendo própolis verde e de pesquisar o seu efeito surgiu após o grupo de pesquisa responsável pela elaboração deste trabalho estudar *in vitro* e obter resultados positivos sobre a susceptibilidade de microorganismos patogênicos da cavidade bucal à própolis verde da *Baccharis dracunculifolia* (MARTINS *et al.*, 2002; AMARAL *et al.*, 2006; MELLO *et al.*, 2006; PAULA *et al.*, 2006 GOMES *et al.*, 2007). Dentre esses estudos desenvolvidos, PAULA *et al.* (2006) avaliaram *in vitro* a atividade de frações de extrato etanólico dessa própolis verde, variando de 0.1% a 14.0% v/v, sobre 16 microorganismos bucais patogênicos em teste de difusão em ágar. Os resultados demonstraram que todos os micro-organismos testados foram susceptíveis a esse extrato. Dessa forma, por meio deste teste, obtiveram-se a concentração inibitória mínima (MIC) e a

concentração bactericida mínima (MBC), que variaram de 20 a 60 µg/ml e 100 a 500 µg/ml, respectivamente. Essa variação da MBC corresponde a uma concentração de 5 % da própolis no extrato.

4.1 ENXAGUANTE BUCAL

Foi utilizado neste trabalho um enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde (EBPV 5%). Ele foi manipulado, de acordo com o pedido dos pesquisadores, pela PharmaNéctar® (Belo Horizonte), obedecendo às normas exigidas pela ANVISA (Brasil, 2000) e às exigências da ISO 9001 e GMP Internacionais. A própolis utilizada na manipulação do enxaguante é padronizada, pois foi realizada a identificação de flavonóides e outros constituintes químicos, por meio de cromatografia líquida de alta performance e de fase reversa (HPLC) (TABELA 1 e FIGURAS 1, 2 e 3).

TABELA 1

Constituintes químicos identificados e quantificados (marcadores) por cromatografia líquida de alta performance e de fase reversa: flavonoides e outros constituintes químicos presentes em 1 grama da amostra de própolis verde utilizada na manipulação (SBN 97).

Nº	Componente	Unidade	Resultados
1	Ácido cumarínico	mg/g	3.56
2	Ácido cinâmico	mg/g	1.66
3	Quercentin	mg/g	1.38
4	Kaempferol	mg/g	1.77
5	Isorhamnetin	mg/g	0.91
6	Sakuranetin	mg/g	5.57
7	Pinobanskin-3-acetato	mg/g	13.92
8	Crisina	mg/g	3.51
9	Galangina	mg/g	9.75
10	Kaempferide	mg/g	11.60
11	Artepilin C (3,5-diprenil-4-ácido hidroxicinâmico)	mg/g	82.96

Fonte: PHARMANECTAR, 2007 (adaptado)

O tempo de tratamento de três meses foi escolhido por ser suficiente para verificar as modificações que ocorreram na condição bucal do indivíduo e, também, para observar a presença de efeitos adversos. Além disso, esse período foi escolhido devido ao fato de a gengivite ser uma doença crônica e os participantes terem permanecido com os seus hábitos usuais de higienização bucal. Como este estudo é de fase II, não há uma exigência determinante em relação ao tempo de estudo (MURRAY *et al.*, 1997; KOO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006; ANGELO *et al.*, 2007). A concentração de 5% foi escolhida considerando-se que a própolis é uma substância resinosa, que em concentrações maiores poderia causar a sua precipitação no frasco, coloração nos dentes e não ser aceita pelos indivíduos, devido ao forte sabor. Até o momento, quanto aos estudos clínicos que avaliaram o enxaguante bucal à base de própolis no controle de placa e gengivite, nenhum realizou o tratamento em um período tão longo como esse de três meses (MURRAY *et al.*, 1997; KOO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006; ANGELO *et al.*, 2007).



FIGURA 1 - Própolis verde bruta



FIGURA 2 - Frasco do EBPV 5%
(Lote: EBPB0409)

A)



B)



FIGURAS 3A e 3B - EBPV 5% na tampa medida (10 ml)

4.2 UNIVERSO E AMOSTRA

O universo deste estudo foi constituído por adultos, homens e mulheres, funcionários e/ou indivíduos que iriam começar o tratamento no projeto de extensão denominado “Terapia Periodontal de Suporte”, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (FO-UFMG), Belo Horizonte, no período de agosto a dezembro de 2009.

Quanto à elegibilidade para participar deste estudo, foram considerados os seguintes critérios:

a) Inclusão:

- ter idade entre 18 e 60 anos, boa saúde geral e possuir, no mínimo, 20 dentes,
- ausência de gravidez,
- não lactante,
- não apresentar sensibilidade a nenhum componente do produto teste,
- estar disponível no prazo de duração do estudo,
- concordar e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A),
- apresentar um quadro de gengivite com gengiva eritematosa, edemaciada e profundidade de sondagem de no máximo 3 mm (CARRANZA *et al.*, 2004); índice de placa ≥ 1.5 (índice de QUIGLEY-HEIN modificado, 1970) e índice gengival ≥ 1.0 (índice de LÖE-SILNESS modificado, 1977).

b) Exclusão:

- portadores de aparelhos ortodônticos ou próteses removíveis,
- presença de tumores de tecidos duros e moles e crescimentos gengivais hiperplásicos por uso ou não de medicamentos,
- hipersensibilidade confirmada a própolis,
- uso da terapia antibiótica até duas semanas antes do início do estudo.

Os critérios de inclusão e exclusão deste estudo foram estabelecidos de acordo o manual da *American Dental Association*, publicado em 1986, e sua revisão (IMREY *et al.*, 1994) para aceitação de produtos quimioterápicos no controle de placa dental supragengival e gengivite, com modificações.

A seleção dos indivíduos participantes se deu por conveniência, condicionada, sobretudo, à disponibilidade de participar do estudo ao longo do tempo.

Nenhum dos participantes selecionados apresentava necessidade de tratamento restaurador no momento da seleção e inclusão no estudo.

4.3 EXAME INICIAL

Todos os participantes passaram por um exame inicial (*baseline*) e responderam a um questionário, utilizando-se de instrumentos próprios do estudo, construído com base nos prontuários das clínicas de Semiologia e Patologia Bucal e de Periodontia da mesma instituição. O exame clínico foi realizado por um único examinador, calibrado e treinado, para otimizar a consistência do exame.

Inicialmente, foram coletados dados de identificação e anamnese, seguindo-se o exame objetivo geral e bucal. Completando as anotações, os participantes responderam a um questionário sobre hábitos e comportamento de vida, adaptado de LORENTZ *et al.* (2007) (ANEXO B).

Durante o exame bucal, deu-se especial atenção à coleta de dados com relação à presença de placa e gengivite, e à presença de alterações nos tecidos da boca (ANEXOS C e D).

4.3.1 Coleta do Índice Gengival e do Índice de Placa

4.3.1.1 Índice Gengival

Antes de a coleta de dados para o índice gengival ser realizada, o professor, “padrão ouro”, treinou o examinador, supervisionando-o. O examinador foi orientado a introduzir a sonda periodontal, levemente, no sulco gengival e, mantendo o instrumento paralelo ao longo eixo do dente, deslizá-lo da distal para mesial, de maneira delicada, nas faces vestibular e lingual de cada dente avaliado. Durante o treinamento, a pesquisadora examinou 9 indivíduos que não foram incluídos no estudo.

O índice gengival foi obtido considerando o Índice Gengival de LÖE & SILNESS (1963) modificado por TALBOTT *et al.* (1977) (ANEXO E). As superfícies vestibular e lingual de cada dente foram quantificadas (FIGURA 4). Assim, cada dente foi avaliado em seis áreas: a) méso-vestibular, b) porção média da face vestibular, c) disto-vestibular, d) méso-lingual, e) porção média da face lingual e f) disto-lingual. A pontuação máxima por dente era igual a 18. Foram excluídos desta análise os terceiros molares e aqueles dentes com restaurações cervicais ou possuidores de coroas protéticas. O índice gengival total foi obtido calculando-se a média dos valores observados em todas as áreas gengivais avaliadas de cada dente. Ou seja, somando-se todas as pontuações individuais (seis por dente) e dividindo-se essa soma pelo número de medições (número de dentes avaliados multiplicado por 6).

Metodologia de Pontuação da Gengivite

0 = Ausência de inflamação.

1 = Inflamação leve: ligeira alteração da cor e textura. Não há sangramento na exploração.

2 = Inflamação moderada: brilho, vermelhidão, edema e hipertrofia moderados. Há sangramento na exploração.

3 = Inflamação grave: vermelhidão e hipertrofia acentuadas, tendência a sangramento espontâneo e ulceração.

Fonte: Loe and Silness and Talbott, Mandel, Chilton.



FIGURA 4 - Sistema de quantificação de gengivite

Fonte: ALLEN *et al.*, 1998 (adaptado)

4.3.1.2 Índice de Placa

Primeiramente, realizou-se uma calibração teórica. Depois, por meio de fotos, para obter uma padronização intraexaminador. As fotos foram mostradas pelo professor, “padrão ouro”, ao examinador, que anotou os valores dos índices de placa correspondentes a cada foto. Após 15 dias, as mesmas fotos foram mostradas ao examinador, que, novamente, anotou os valores dos índices de placa. Em seguida, compararam-se os índices de placa obtidos no primeiro e no segundo momento, para verificar o nível de concordância intraexaminador. Então, obteve-se o valor de Kappa de 0,73, considerado substancial estimativa de confiabilidade (LANDIS e KOCH, 1977).

A quantidade de placa supragengival foi definida conforme o método do Índice de Placa utilizado por QUIGLEY-HEIN (1962) modificado por TURESKY *et al.* (1970) (ANEXO F). A classificação da quantidade de placa obedeceu ao critério especificado na FIGURA 5.

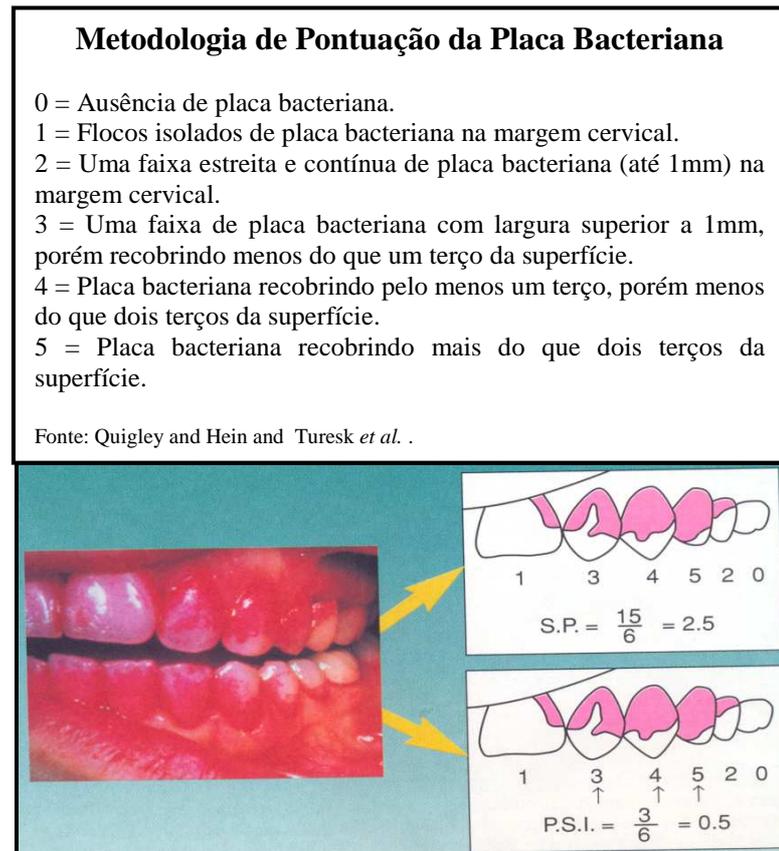


FIGURA 5 - Sistema de quantificação de placa

Fonte: ALLEN *et al.*, 1998 (adaptado)

Para aplicar esse índice, foi necessário usar uma solução evidenciadora (eritrosina a 3%), que permitiu pontuar a formação de placa bacteriana em uma escala numérica (FIGURA 5). Dessa forma, cada dente foi avaliado em seis áreas: a) méso-vestibular, b) porção média da face vestibular, c) disto-vestibular, d) méso-lingual, e) porção média da face lingual e f) disto-lingual. A pontuação máxima por dente foi igual a 30. Foram excluídos desta análise os terceiros molares e aqueles dentes com restaurações cervicais ou possuidores de coroas protéticas.

O índice total de placa foi obtido calculando-se a média dos valores observados em todas as superfícies avaliadas de cada dente. Ou seja, somando-se todas as pontuações de placa bacteriana individuais (seis por dente) e dividindo-se essa soma pelo número total de medições (número de dentes avaliados multiplicado por 6).

4.3.1.3 Índice de Gravidade de Placa e Índice de Gravidade Gengival

Acrescentados ao índice gengival (IG) e ao índice de placa (IP), foram também avaliados o índice de gravidade da placa e o índice de gravidade gengival (PALOMO *et al.*, 1989; VOLPE *et al.*, 1993). Esses índices mediram a proporção daquelas superfícies dentais avaliadas que tinham apresentado elevada quantidade de placa e elevado índice gengival. O índice de gravidade de placa (IGP), especificamente, indicou a proporção de superfícies dentais contadas que mostraram contagem igual aos índices 3, 4 ou 5 do Índice de Placa de QUIGLEY-HEIN modificado (1970), dividido pelo número total dos pontos de superfícies dentárias de toda a boca, avaliados para a formação de placa bacteriana (número de dentes avaliados multiplicado por 6). O índice de gravidade gengival indicou a proporção de superfícies contadas dos dentes de toda a boca com índices iguais a 2 ou 3 do Índice Gengival de LÖE-SILNESS modificado (1977) – ou seja, locais de sangramento, divididos pelo número total de pontos avaliados na boca toda para gengivite (número de dentes avaliados multiplicado por 6).

4.3.2 Raspagem, polimento coronário e orientações

Completado o exame inicial, os participantes foram submetidos à profilaxia da cavidade bucal, com a remoção completa de placa e depósitos de cálculos, supra e subgengival.

Em seguida os participantes receberam orientações sobre a participação no estudo, incluindo texto impresso (ANEXO G), e o material necessário: escovas dentais macias (troçadas a cada 45 dias), enxaguantes bucais com própolis (distribuídos a cada 10 dias) e o formulário de frequência de bochechos (ANEXO H). Os participantes foram orientados a fazer o bochecho com 10 ml (tampa medida), durante 1 minuto, sem diluir, duas vezes ao dia, após as escovações da manhã e da noite. Os participantes permaneceram com os hábitos usuais de higiene bucal e foram orientados também a não utilizar qualquer outro enxaguante bucal durante a realização do estudo.

Cada frasco continha 200ml de enxaguante bucal, sendo a sua duração de 10 dias, com consumo total de 9 frascos por participante (90 dias – 3 meses). Para mensurar a aderência ao programa de bochechos, a cada distribuição de novo frasco de enxaguante (de 10 em 10 dias) o participante devolvia o frasco já usado e o formulário de frequência preenchido, que era vistoriado e rubricado pela pesquisadora. Nesse formulário os indivíduos anotaram as datas e os períodos (manhã ou noite) correspondentes e se utilizaram ou não o enxaguante bucal. Os participantes foram estimulados a preencher este formulário o mais corretamente possível. Relatos próprios dos indivíduos em relação à aderência também foram considerados. Além disso, no momento da reposição do enxaguante, foi verificado se o frasco devolvido continha algum volume de enxaguante de acordo com o anotado no formulário. Nesses períodos de troca, os indivíduos eram sempre motivados a realizar os bochechos. E, também, foram considerados os relatos de cada um sobre o contato que estavam tendo com o enxaguante bucal. A taxa de aderência foi computada, com base na soma dos bochechos realizados com o produto-teste no período de 90 dias, dividido por 180 (número total de bochechos durante três meses), encontrando a porcentagem individual de bochechos realizados. Em seguida, realizou-se a média das porcentagens encontradas, considerando o nível adequado de aderência $\geq 80\%$ (CHENG, 2004).

4.4 EXAMES DE AVALIAÇÃO

Os participantes retornaram após 45 e 90 dias de utilização do produto para a avaliação clínica. Estas avaliações foram feitas pelo mesmo examinador, com a utilização dos mesmos critérios iniciais. Foram considerados nesta avaliação: exame bucal, para a verificação de alterações dos tecidos moles e duros, e a coleta de dados sobre a presença de placa e gengivite até o momento da avaliação; e questionário, para verificar a apreciação e aceitabilidade do produto que os participantes responderam na última chamada (ANEXO I). Esse questionário foi construído com base em estudos anteriores (ADAMS & ADDY, 1994; MORAN, 2008; PARASKEVAS *et al.*, 2008). Foram realizadas perguntas que abrangiam temas sobre: observação de alterações na cavidade bucal, influência do enxaguante no relacionamento pessoal, atual condição da saúde bucal, dificuldade de seguir protocolo de uso e grau de satisfação em relação ao produto disponibilizado.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Foram considerados indicadores para a análise dos resultados:

1. presença/ausência de placa;
2. presença/ausência de gengivite;
3. gravidade de placa;
4. gravidade da gengivite;
5. presença/ausência de alterações nos tecidos da boca;
6. apreciação e aceitabilidade do produto;
7. aderência ao programa de bochechos.

Os programas estatísticos BioEstat versão 4.0 e Excel 2007 foram utilizados para a análise dos dados obtidos no estudo. As médias ajustadas do tempo zero, tanto para as contagens do Índice de Placa de Quigley-Hein modificado (1970) e do Índice Gengival de Löe-Silness modificado (1977) quanto para os índices de gravidade correspondentes, por apresentarem uma distribuição não paramétrica,

foram comparadas por meio da análise de covariância, pelo teste de Friedman, para os dados obtidos em 45 e 90 dias do estudo. Para verificar se houve diferença estatisticamente significativa entre o número de bochechos realizados nos períodos da manhã e noite, que apresentou uma distribuição paramétrica, utilizou-se o Teste-t. Todos os testes estatísticos das hipóteses possuíam duas vertentes. Foi considerado um nível de significância $p < 0.05$ (ALLEN *et al.*, 1998; ARWEILER *et al.*, 2001).

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética da UFMG, sob o número 0600/09 (ANEXO J). Também, está cadastrada no ClinicalTrials.gov sob o registro NCT01142843 (ANEXO K).

5 RESULTADOS

“Que ninguém se engane, só se consegue a simplicidade através de muito trabalho.”

Clarice Lispector

5 RESULTADOS

5.1 UNIVERSO E AMOSTRA

Durante o período disponível para o desenvolvimento da pesquisa procedeu-se a uma seleção por conveniência na qual 73 indivíduos foram submetidos a uma triagem. Em razão dos critérios de inclusão e de exclusão e disponibilidade para participar no estudo, foi possível conseguir apenas uma amostra composta de 25 indivíduos, estando de acordo com o que foi proposto pelo ClinicalTrials.gov (2010) e HAYNES *et al.* (2008) para ensaios de fase II (FIGURA 6).

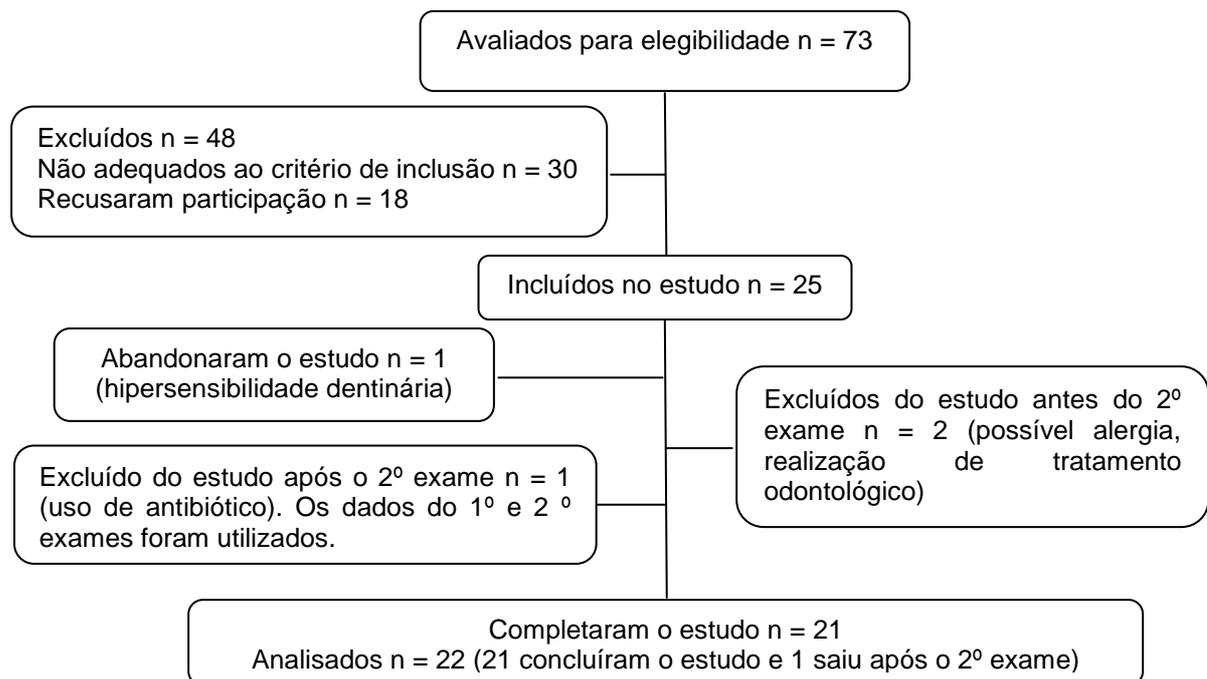


FIGURA 6 - Diagrama de fluxo do estudo

Fonte: Dados da pesquisa

Como mostra a Figura 6, a principal causa de exclusão foi a inadequação dos indivíduos elegíveis aos critérios de inclusão. A maioria desses indivíduos não possuía os valores de índices de placa e gengival mínimos requeridos para inclusão

no estudo. Os indivíduos que recusaram a participação alegaram ter receio ao produto, por não ser de marca conhecida, e que não gostavam do cheiro da própolis.

Dos 25 indivíduos incluídos, 10 são homens e 15 são mulheres, com idade que varia entre 18 e 60 anos (mínima 18 e máxima 54, média de 35.92 ± 9.7). Apenas um indivíduo, durante a anamnese, relatou ser diabético (*diabetes mellitus* do tipo I), mas que se encontrava controlado. Assim, este e os demais indivíduos possuíam boa saúde geral no início do estudo. Por meio da realização de um periodontograma, foi confirmada a presença de gengivite em todos os indivíduos, com uma profundidade de sondagem máxima de 3 mm.

Dos indivíduos incluídos no estudo, 21 completaram o período total de três meses de uso do enxaguante bucal. Dos outros 4 indivíduos que não concluíram a pesquisa, 2 foram excluídos antes do segundo exame, 1 foi excluído após o segundo exame e 1 desistiu do estudo.

O primeiro indivíduo excluído, antes da realização do segundo exame, não seguiu as orientações de participação na pesquisa ao procurar, paralelamente, tratamento restaurador. Em virtude disso, as restaurações estéticas que realizou durante os 30 dias em que utilizou o enxaguante foram coradas de verde (FIGURA 7). O segundo indivíduo foi excluído após ter apresentado uma provável reação alérgica ao produto. O indivíduo excluído após a realização do segundo exame foi acometido por infecção nos ouvidos após 68 dias de uso do produto teste e teve que fazer uso de antibiótico, que é um critério de exclusão. Os dados dele, coletados no primeiro e no segundo exame (*baseline* e 45 dias), foram incluídos nos resultados e análise estatística correspondentes aos períodos de coleta. Um indivíduo abandonou o estudo após 10 dias de bochecho porque passou a ter forte sensibilidade dentinária desde o momento que iniciou os bochechos.



FIGURA 7 - Restauração oclusal em resina composta corada de verde após uso do EBPV 5%

Fonte: Dados da pesquisa

Durante a anamnese, foram coletados dados relacionados a hábitos e comportamento de vida de cada indivíduo (TABELA 2).

TABELA 2
Hábitos e comportamento de vida

Cuidados com a saúde bucal	Nenhuma	1 vez/dia	2 vezes/d	3 vezes/d	4 vezes/d	alg. vez/s
Escova os dentes	0	1	4	14	5	1
Usa o fio dental	4	8	8	1	0	4
Consome açúcar	Sempre	Frequentemente	Às vezes	Raramente	Nunca	
	7	11	4	1	2	
Tabagista	sim	não	ex-fumante			
	2	20	3			
Já utilizaram algum colutório	21	4				

Fonte: Dados da pesquisa

5.2 PRESENÇA/AUSÊNCIA DE GENGIVITE

5.2.1 Índice Gengival (IG)

Os escores médios do IG nos períodos de exame inicial, 45 dias e 90 dias, foram registrados. O enxaguante bucal à base de própolis 5% demonstrou redução na gengivite de mais de 40%, sendo estatisticamente significativa, comparando-se os escores de 45 e 90 dias com os escores do exame inicial ($p < 0.05$). Mas,

comparando-se os escores de 90 dias com o de 45 dias, não houve uma redução da gengivite estatisticamente significativa (TABELA 3 e FIGURAS 8A e 8B).

TABELA 3
Escores do índice gengival médio (DP), comparados entre os períodos

EBPV 5%	Ex. Inic.	45 dias	90 dias	Redução - %		
	n = 22	n = 22	n = 21	Ex. Inic. - 45 dias	Ex. Inic. - 90 dias	45 dias - 90 dias
	1.17 (0.20)	0.64 (0.24)	0.70 (0.18)	45	40	-

Teste Friedman (ANOVA) $p < 0.05$

Fonte: Dados da pesquisa

5.2.2 Índice de Gravidade Gengival

O enxaguante bucal à base de própolis 5% demonstrou uma redução na proporção de superfícies pontuadas com índice gengival iguais aos valores de 2 e 3 do índice gengival modificado. Essa redução foi estatisticamente significativa, comparando-se os escores do exame inicial com o de 45 e o de 90 dias ($p < 0.05$), sendo a redução observada de mais de 70%. Comparando-se os escores médios dos exames realizados em 45 e 90 dias, não houve uma diferença estatisticamente significante (TABELA 4 e FIGURAS 8A e 8B).

TABELA 4
Escores do índice de gravidade gengival médio (DP), comparados entre os períodos

EBPV 5%	Ex. Inic.	45 dias	90 dias	Redução - %		
	n = 22	n = 22	n = 21	Ex. Inic. - 45 dias	Ex. Inic. - 90 dias	45 dias - 90 dias
	0.30 (0.17)	0.08 (0.06)	0.07 (0.03)	73	77	13 (ns)*

Teste Friedman (ANOVA) $p < 0.05$

*não significativo.

Fonte: Dados da pesquisa

A)



B)



FIGURA 8A - Presença/ausência de gengivite *baseline*. FIGURA 8B - Presença/ausência de gengivite no exame final

Fontes: Dados da pesquisa

5.3 PRESENÇA/AUSÊNCIA DE PLACA

5.3.1 Índice de Placa (IP)

As médias dos escores do IP no exame inicial, 45 dias e 90 dias, foram obtidas. A análise de variância, utilizando teste de Friedman, foi realizada com os escores do exame inicial como covariados, demonstrando que o enxaguante bucal contendo 5% de própolis sem álcool teve efeito sobre a placa nos exames realizados em 45 e 90 dias estatisticamente significativo ($p < 0.05$), com uma redução de 26% e 24% respectivamente. Mas não obteve efeito significativo sobre a placa, comparando-se os escores dos exames realizados em 45 e 90 dias (TABELA 5 e FIGURAS 9A e 9B).

TABELA 5

Escores do Índice de placa médio (DP), comparados entre os períodos

EBPV 5%	Ex. Inic.	45 dias	90 dias	Redução - %		
	n = 22	n = 22	n = 21	Ex. Inic. - 45 dias	Ex. Inic. - 90 dias	45 dias - 90 dias
	2.39 (0.69)	1.77 (0.61)	1.82 (0.62)	26	24	-

Teste de Friedman (ANOVA) $p < 0.05$

Fonte: Dados da pesquisa

5.3.2 Índice de Gravidade de Placa

O enxaguante bucal à base de própolis 5% demonstrou uma redução na proporção de superfícies com placa pontuadas com os valores de 3, 4 e 5 do índice de placa modificado. Foi observada uma diferença estatisticamente significativa quando se compararam os escores médios do exame inicial e o de 45 e 90 dias. Essa redução foi de 41% no segundo exame e manteve-se a mesma após o terceiro exame, sendo estatisticamente significativa ($p < 0.05$). Mas o mesmo não ocorreu quando a comparação foi realizada entre os exames de 45 e 90 dias (TABELA 6 e FIGURAS 9A e 9B).

TABELA 6
Escores do índice de gravidade de placa médio (DP), comparados entre os períodos.

EBPV 5%	Ex. Inic.	45 dias	90 dias	Redução - %		
	n = 22	n = 22	n = 21	Ex. Inic. - 45 dias	Ex. Inic. - 90 dias	45 dias - 90 dias
	0.44 (0.19)	0.26 (0.14)	0.26 (0.15)	41	41	-

Teste Friedman (ANOVA) $p < 0.05$

Fonte: Dados da pesquisa

A)



B)



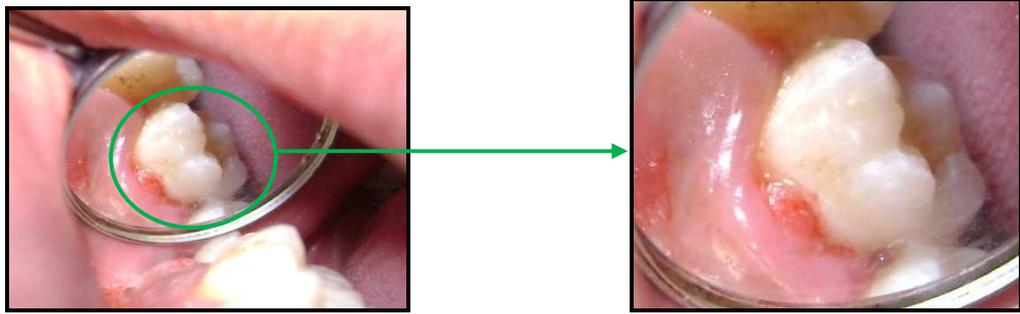
FIGURA 9A - Presença/ausência de placa *baseline*. FIGURA 9B - Presença/ausência de placa no exame final

Fonte: Dados da pesquisa

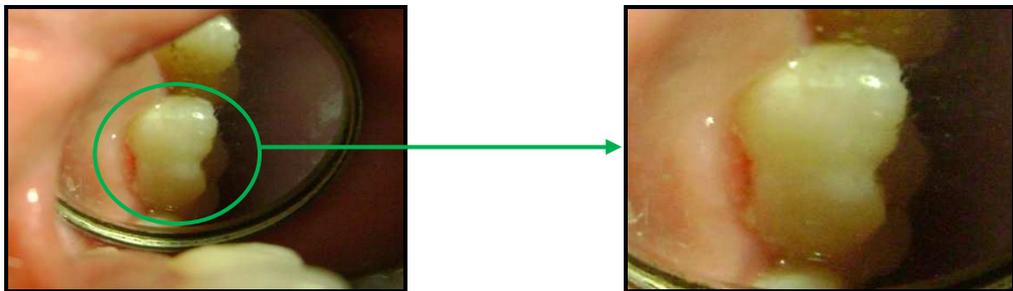
5.4 PRESENÇA/AUSÊNCIA DE ALTERAÇÕES NOS TECIDOS DA BOCA

No exame bucal realizado pela pesquisadora, observou-se em apenas um indivíduo a presença de uma lesão exofítica, localizada na gengiva marginal livre da face vestibular do elemento 27 no último exame bucal (90 dias). Essa lesão possuía a superfície eritematosa, lisa, sangrante ao toque, assintomática e medindo 2 x 2 mm. Também, foi observado acúmulo de placa próximo à lesão. Diante desses fatos, foi sugerido como hipótese diagnóstica o granuloma piogênico. Então, após a avaliação do último exame bucal, realizou-se raspagem supra e subgengival e polimento coronário na região da lesão, o que resultou em seu desaparecimento por completo em 15 dias de acompanhamento. A inflamação gengival regrediu, apesar do imperfeito controle de placa do indivíduo (FIGURAS 10A, 10B e 10C).

A)



B)



C)

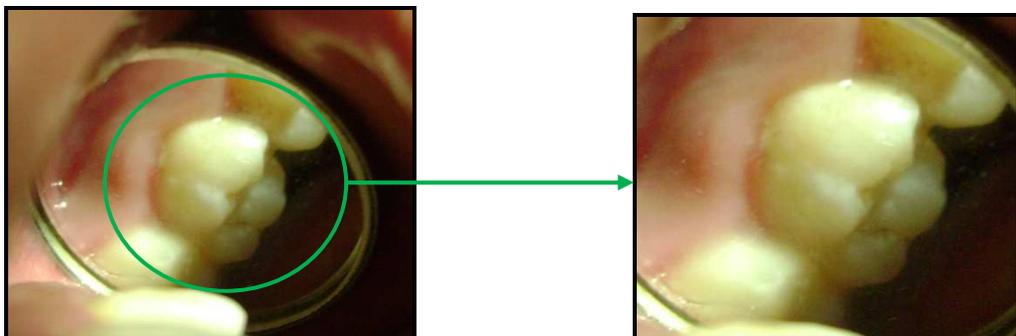


FIGURA 10A - Último exame bucal (após 90 dias de uso)

FIGURA 10B - Exame bucal após 7 dias da realização da raspagem supra e subgengival e polimento coronário

FIGURA 10C - Exame bucal após 15 dias da realização da raspagem supra e subgengival e polimento coronário

Fonte: Dados da pesquisa

Além da alteração citada, foram registradas alterações subjetivas mencionadas pelos demais indivíduos no momento da troca do frasco cheio pelo vazio. Os relatos dos indivíduos abordaram tanto mudanças negativas como positivas.

Mudanças negativas:

- a) alergia – um dos participantes foi excluído do estudo por apresentar provável reação alérgica ao enxaguante após realizar três bochechos. Ele relatou que começou a sentir dor na mucosa bucal vestibular próxima à região dos elementos 43 e 33. Ao fazer uma inspeção na mucosa bucal, observou duas ulcerações irregulares, cobertas por uma pseudomembrana branca, que depois se espalharam para outras regiões da boca. Essas lesões desapareceram três dias após a suspensão do bochecho com o enxaguante. Este indivíduo só procurou a pesquisadora após a remissão dos sinais e sintomas da possível reação alérgica, e por isso não há nenhuma imagem de registro. Ele relatou ser hiperalérgico a diversas substâncias durante a anamnese.
- b) hipersensibilidade dentinária – o participante que desistiu do estudo relatou que sentiu forte sensibilidade durante os dez dias em que utilizou o produto nos elementos 13, 23, 33 e 43, os quais possuem recessão gengival decorrente de trauma por escovação.
- c) desconforto estomacal – um indivíduo relatou que na primeira semana de uso do enxaguante, logo após a realização do bochecho sentia acidez estomacal (azia) por até dez minutos. Depois de ser orientado a cuspir mais vezes após o bochecho perdeu essa sensação.
- d) perda do paladar – houve um indivíduo, que nos primeiros três dias de uso do enxaguante, relatou perda do paladar. Nesse mesmo período, ele informou que tinha se resfriado.
- e) ardência bucal – um indivíduo informou que sentia ardência na mucosa jugal por um curto período de tempo (aproximadamente sete minutos) todas as vezes que fazia o bochecho durante os três meses de tratamento.
- f) boca seca e áspera – três participantes relataram que durante o período no qual utilizaram o enxaguante bucal tiveram a sensação de boca seca. Um

deles queixou-se de que sentia a mucosa bucal áspera. Esses indivíduos foram questionados se o hábito de beberem água era satisfatório. Como a resposta foi negativa, foram aconselhados a beberem água regularmente, o que resultou na perda dessa sensação.

Mudanças positivas:

- a) ausência de aftas recorrentes – um participante relatou que durante os três meses no qual utilizou o enxaguante bucal não apresentou nenhuma afta recorrente, pois antes de iniciar a pesquisa as aftas apareciam mensalmente em sua mucosa bucal.
- b) ausência de sangramento gengival – doze indivíduos relataram que após iniciarem a pesquisa não apresentavam mais sangramento gengival no momento da higienização bucal.
- c) perda da halitose – um indivíduo relatou que a forte halitose que possuía desapareceu, fato percebido até pelos parentes: “[...] a halitose que eu tinha desapareceu após o início dos bochechos. Até meus parentes me disseram.”
- d) redução da hipersensibilidade dentinária – o mesmo indivíduo que relatou perda da halitose contou que a hipersensibilidade dentinária existente em seus dentes antes de iniciar os bochechos havia desaparecido.

5.5 APRECIÇÃO E ACEITABILIDADE DO PRODUTO

Na última consulta, cada indivíduo respondeu a um questionário para avaliar a apreciação do programa de bochechos realizado. Somente os 21 indivíduos que concluíram o estudo tiveram acesso a esse questionário. A TABELA 7 sumariza os resultados obtidos.

TABELA 7

Apreciação e aceitabilidade do enxaguante bucal contendo 5% de própolis

	Sim		Não	
	n	%	n	%
Entrevista Final				
Manchamento dos dentes ou língua	4	19	17	81
Boca seca	3	14	18	86
Relacionamento pessoal melhor	6	28,5	15	71,5
Alteração no paladar	1	4,7	20	95,3
Alteração na boca	11	52	10	48
Alteração no hálito	12	57	9	43
Saúde da boca melhor	20	95,3	1	4,7
Gosto agradável	5	23,8	16	76
Satisfeito com o produto	21	100	0	0
Dificuldade em seguir o protocolo	5	23,8	16	76
Recomendaria para outra pessoa	21	100	0	0

Fonte: Dados da pesquisa

Ao serem questionados se notaram algum manchamento dos dentes ou língua, 19% dos indivíduos responderam que durante o período de uso do enxaguante bucal a língua permaneceu manchada, com coloração esverdeada.

Em relação ao relacionamento pessoal, os indivíduos foram questionados se houve ou não melhora após o período de uso do enxaguante bucal. Dos 21 indivíduos, 28,5% relataram que houve uma melhora no relacionamento pessoal. Esses indivíduos também estão entre aqueles que responderam que o hálito ficou mais fresco e agradável.

Em relação à presença de alterações na cavidade bucal, 52% dos indivíduos relataram ter observado alguma alteração, sendo que 54,5% (6) disseram que as alterações foram positivas:

“As aftas que surgiam com frequência, não apareceram durante o período que fiz o uso do enxaguante bucal.”

“A gengiva não sangra mais quando escovo os dentes.”

“Os meus dentes estão mais claros e a sensibilidade ao gelado acabou.”

Alterações no hálito não foram observadas por 9 indivíduos. Os que observaram (12 indivíduos) relataram que o hálito encontrava-se mais fresco. Somente 1 indivíduo relatou que o hálito passou a ter o cheiro da própolis.

Praticamente todos os indivíduos relataram que a saúde da boca tornou-se melhor após o uso do enxaguante bucal. Somente 1 afirmou que a saúde não alterou.

Quando questionados sobre o sabor do enxaguante, 16 indivíduos responderam que o gosto é desagradável. Todavia, quando questionados se ficaram satisfeitos com o produto disponibilizado, todos responderam que estavam satisfeitos e que recomendariam o uso do produto a outras pessoas.

Apenas 5 indivíduos responderam que apresentaram dificuldades em seguir o protocolo de uso do enxaguante.

5.6 ADERÊNCIA AO PROGRAMA DE BOCHECHOS

Todos os frascos devolvidos que continham algum volume de enxaguante estavam de acordo com as anotações feitas no formulário de frequências.

A TABELA 8 exibe os resultados obtidos. Os 21 indivíduos que concluíram os três meses de estudo conseguiram uma aderência ao tratamento aceitável ($\geq 80\%$). Não houve diferença significativa entre os períodos manhã e noite em relação ao número de bochechos realizados. O valor de p encontrado foi de 0,08.

TABELA 8

Aderência ao programa de bochechos

Porcentagem média e desvio padrão do nº de enxágues realizados		
Manhã	Noite	Total
95.33 (3.7)**	92 (12.1)**	93,61 (6.91)

** não significante

Fonte: Dados da pesquisa

Os indivíduos que relataram dificuldades para seguir o protocolo de tratamento, individualmente, apresentaram aderência ao tratamento aceitável ($\geq 80\%$). Apesar de, no geral, não haver diferença significativa entre os períodos de bochecho, esses indivíduos apresentaram menor frequência de bochecho no período da noite.

6 DISCUSSÃO

“Quando deixamos nossa luz própria brilhar, inconscientemente damos às outras pessoas permissão para fazer o mesmo”.

Nelson Rolihlahla Mandela

6 DISCUSSÃO

Este estudo clínico de fase II intervencionista foi realizado para pesquisar qual seria a ação do EBPV 5% sobre a placa periodontopatogênica e a gengivite, utilizando-se de própolis verde padronizada.

Estudos clínicos costumam apresentar limitações, independentes dos esforços dos pesquisadores em fazê-lo de forma criteriosa. Este estudo apresentou limitações, por exemplo: presença de reações inesperadas ao produto, como provável reação alérgica relatada por um participante, que não foi grave, mas resultou na exclusão de um indivíduo e na conseqüente diminuição da amostra; dificuldade para controlar a aderência dos participantes ao estudo, como fazer contato todas as vezes que foram feitas as chamadas para as avaliações. Apesar da instituição de um controle do uso do enxaguante (formulário de freqüências e devolução do frasco vazio), estudos clínicos apresentam limitações com respeito à veracidade sobre a aplicabilidade do produto pelo paciente, que, geralmente, foge ao controle do pesquisador. Também, em determinado momento da pesquisa aconteceu a greve dos trabalhadores do transporte urbano municipal, o que dificultou o acesso dos participantes ao local da pesquisa. Esse problema foi contornado com a ajuda fornecida pelo pessoal dos serviços gerais da FO-UFMG, que disponibilizou um motorista para o transporte dos participantes.

O EBPV 5% reduziu o índice gengival, quando se comparou o exame inicial com os períodos de 45 e 90 dias, sendo a diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$), de 45% e 40%, respectivamente.

Esse efeito do EBPV 5% ocorreu, possivelmente, devido ao efeito anti-inflamatório que é atribuído à própolis. A própolis verde, presente no enxaguante bucal testado, tem como principal componente bioativo o artepilin C, que em outros estudos mostrou potencial atividade anti-inflamatória (PAULINO *et al.*, 2008; MOURA *et al.*, 2009b). Mas outros componentes presentes na própolis verde utilizada também podem estar envolvidos no efeito anti-inflamatório observado nos resultados. A própolis, para produzir o efeito anti-inflamatório, atua na modulação de

citocinas e enzimas inflamatórias, como a supressão da produção de prostaglandinas, leucotrienos, histaminas e TGF- β 1 (GALVÃO *et al.*, 2007; MOURA *et al.*, 2009a). A redução do número de micro-organismos na placa dental resulta na diminuição de produtos liberados por eles, os quais atuam como desencatilhadores do processo inflamatório gengival.

Os resultados da pesquisa também demonstraram que o enxaguante reduziu significativamente o índice de gravidade gengival quando se comparou o exame inicial com os períodos de 45 e 90 dias em 73% e 77%, respectivamente. Esses resultados reforçam a ideia do possível efeito anti-inflamatório do EBPV 5%, uma vez que a redução na proporção de superfícies sangrantes significa diminuição da inflamação gengival.

Em relação aos dados coletados sobre a presença de placa, o índice de placa apresentou-se reduzido quando se comparou o exame inicial com os períodos de 45 e 90 dias, em 26% e 24%, respectivamente, sendo a diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$). A ação antiplaca do enxaguante, possivelmente, justifica-se pela ação antibacteriana e pelo efeito inibitório na atividade de várias glucosiltransferases atribuídas à própolis. Essas enzimas são importantes para a produção de polissacarídeos solúveis e insolúveis, material que promove o acúmulo de estreptococos cariogênicos na superfície dentária e contribui significativamente para elevar o volume de placa dental (KOO *et al.* 2002). Mas como a pesquisa focalizou a relação da própolis com a condição periodontal dos indivíduos, a discussão será elaborada, com base na atividade antibacteriana. A diminuição de volume da placa sugere uma redução do número de micro-organismos presentes nela. Existem alguns estudos *in vitro* e *in vivo* nos quais a própolis, em várias formulações, demonstrou atividade contra os patógenos periodontais (KOO *et al.* 2002; SANTOS *et al.*, 2002a; SONMEZ *et al.*, 2005; PAULA *et al.*, 2006; GOMES *et al.*, 2007).

Há estudos que comparam a susceptibilidade de micro-organismos periodontopatogênicos a antibióticos prescritos no Brasil e a amostras de extrato etanólico de própolis brasileira (SANTOS *et al.*, 2002a; SONMEZ *et al.*, 2005), sendo

que os resultados obtidos foram positivos, sugerindo que a própolis pode ter um valor clínico contra esses microorganismos.

Atribui-se a propriedade microbicida da própolis brasileira à presença de flavonóides, ácidos fenólicos e seus derivados prenilatados em sua composição. A própolis possui uma composição química complexa, e por isso deve-se considerar o tipo de abelha que a produziu, a origem e a época de coleta. Além disso, a sua ação é dose-tempo-dependente, devendo-se neste estudo levar em consideração o tempo de uso, os momentos de avaliação e a concentração do enxaguante.

Os mecanismos da atividade da própolis na inibição do crescimento de microorganismos ainda não estão claros. Alguns componentes presentes na própolis, como flavonoides (quercentin, galangina, pinocembrin), ácido cafeico, ácido benzoico e ácido cinâmico, provavelmente atuam sobre a membrana microbiana ou na superfície da parede celular, causando danos estruturais e funcionais. Sua atividade contra microorganismos está mais relacionada ao efeito sinérgico de seus compostos (flavonoides, compostos fenólicos e outros) do que para os compostos individuais (ÖZAN *et al.*, 2007).

Este estudo utilizou a própolis verde, derivada da *Baccharis dracunculifolia*, planta nativa na região Sudeste do Brasil (própolis tipo 12). A empresa que manipulou o EBPV 5% para a pesquisa utilizou amostras padronizadas da própolis verde bruta, o que garante a presença dos principais compostos bioativos desta própolis no enxaguante bucal. Esses compostos possuem propriedades anti-inflamatória e antibacteriana comprovadas, como artepilin C, kaempferol, quercentin e pinobanskin-3-acetato (BURDOCK, 1998; SANTOS *et al.*, 2002a; PAULINO *et al.*, 2008; VIUDA-MARTOS *et al.*, 2008), sendo de excelente qualidade (ISO 9001, GMP internacional).

MURRAY *et al.* (1997) avaliaram o efeito de um enxaguante bucal contendo própolis a 10% na inibição da nova formação de placa dental em um estudo de 14 dias. Os resultados obtidos não foram tão significantes como os encontrados neste estudo. Provavelmente, isso aconteceu devido ao fato de a própolis utilizada ter sido proveniente de regiões temperadas, o que a caracteriza com menor variabilidade

química do que a de regiões tropicais, como a própolis verde utilizada neste estudo. Além disso, o tempo de exposição ao enxaguante bucal contendo própolis neste estudo foi maior, apesar de a concentração utilizada ter sido menor do que no estudo anterior. Esse fato proporciona melhor chance de adesão da própolis, que é um material resinoso, as superfícies bucais, favorecendo, assim, a obtenção dos efeitos desejados. ALMEIDA *et al.* (2006) relataram que a solução do extrato de própolis a 6,25% apresentou satisfatória atividade antimicrobiana e semelhante ação à da clorexidina, além de atuar sob condições clínicas, como a presença de biofilme oral e doença gengival, após quinze crianças utilizarem o bochecho por quinze dias consecutivos. Mesmo que o período de exposição ao produto teste tenha sido menor, esses resultados estão de acordo com os deste estudo, pois a própolis utilizada também foi originada da região Sudeste do Brasil, apesar de não ter sido padronizada. Em outro estudo, um enxaguante contendo própolis a 3% foi eficiente na redução da formação de placa supragengival e de polissacarídeo insolúvel em altas condições de acúmulo de placa em 6 indivíduos no período de três dias (KOO *et al.*, 2002). A própolis utilizada no referido estudo foi selecionada, sendo do tipo SBN-RS (3), a qual contém alta concentração de flavonóides, o que pode ter contribuído para que os resultados sejam semelhantes, apesar de o período de tratamento ter sido menor.

A proporção do número de superfícies nos dentes avaliados que exibiram valores iguais a 3, 4 e 5 do índice de placa (índice de gravidade de placa) também foi reduzida pelo uso diário de EBPV 5% durante os três meses de estudo. A redução de 41% foi estatisticamente significativa quando se comparou o exame inicial com os realizados em 45 e 90 dias, mantendo-se o mesmo valor em ambos os períodos. Esse resultado reforça a ideia do possível efeito redutor de placa do EBPV 5%, uma vez que a redução do índice de gravidade de placa significa diminuição do volume de placa dental.

A redução de pontos sangrantes foi muito maior do que a redução do número de superfícies dentais, que mostraram índices de placa igual a 3, 4 e 5 (maior acúmulo de placa). Isso sugere que o EBPV 5% possui um efeito anti-inflamatório sobre a condição gengival do indivíduo maior do que o efeito antiplaca. Na literatura consultada, nenhum dos trabalhos avaliou os índices de gravidade de placa e

gingival (MURRAY *et al.*, 1997; KOO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006; ANGELO *et al.*, 2007).

Existem na literatura alguns relatos sobre a atuação da própolis na inflamação gengival e na redução de placa, com o intuito de fortalecer a ideia de seu uso como um recurso terapêutico e preventivo no controle de doenças periodontais. Esses estudos utilizaram a própolis em formulações variadas e em diversas concentrações, como gel, solução hidroalcoólica, extrato e enxaguante bucal (MURRAY *et al.*, 1997; KOO *et al.*, 2002; GEBAARA *et al.*, 2003; ALMEIDA *et al.*, 2006; AMARAL *et al.*, 2006). Na maior parte dos trabalhos citados suprajacentes, a própolis foi efetiva na regressão da doença gengival e na redução da formação da placa, estando de acordo com os resultados obtidos neste trabalho (KOO *et al.*, 2002; GEBAARA *et al.*, 2003; ALMEIDA *et al.*, 2006; AMARAL *et al.*, 2006). Além disso, soluções de enxaguante bucal contendo própolis são menos citotóxicas a fibroblastos gengivais humanos do que a clorexidina (ÖZAN *et al.*, 2007).

Durante o período de três meses, também, foi possível avaliar, além das atividades antiplaca e anti-inflamatória do enxaguante, os efeitos adversos que a própolis poderia ocasionar nos indivíduos, como a presença de alterações em tecidos mole e duro da cavidade bucal e alterações da percepção bucal. Na literatura consultada, nenhum tipo de avaliação foi realizado levando-se em conta essas alterações (MURRAY *et al.*, 1997; KOO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006; ANGELO *et al.*, 2007).

Durante os três meses de estudo, foram realizados exames bucais em rechamadas após o exame inicial. Apenas um voluntário apresentou crescimento gengival localizado, clinicamente sugestivo de granuloma piogênico na gengiva marginal vestibular do elemento 27. Isso provavelmente ocorreu devido ao fato de ele não praticar uma higienização bucal adequada, o que foi verificado pelo exame bucal, ao ser constatada a presença do acúmulo de placa e cálculo na região. A remoção da placa por raspagem supra e subgengival e a regressão da lesão após 15 dias reforçam essa hipótese.

Alterações subjetivas positivas e negativas também foram mencionadas pelos indivíduos durante o estudo.

Após analisar o depoimento dos participantes em relação às alterações negativas, constatou-se que a maioria delas, provavelmente, não estava relacionada ao uso do EBPV 5%. Dentre essas alterações não relacionadas, citam-se: desconforto estomacal, boca seca e áspera, perda do paladar e hipersensibilidade dentinária.

O desconforto estomacal provavelmente ocorreu devido ao fato de o indivíduo, nos primeiros bochechos, não ter desprezado o enxaguante de forma correta, apesar das orientações, fazendo com que engolisse um pouco do produto. Ao ser orientado a desprezá-lo corretamente, após o bochecho, o desconforto desapareceu.

Os indivíduos que relataram boca seca e áspera, provavelmente, apresentaram essa sensação por nesse período não terem ingerido quantidade de água necessária à hidratação corporal. Além disso, esses participantes eram do sexo feminino e encontravam-se na faixa etária correspondente ao período de menopausa. Quando passaram a ingerir uma quantidade de água adequada à hidratação corporal, a sensação desapareceu. A água não interfere na atividade da própolis, devido a sua característica de ser resinosa e de aderir facilmente às superfícies e ser insolúvel em água.

A mencionada perda de paladar, provavelmente, ocorreu devido ao fato de o indivíduo ter-se resfriado no período em que iniciou o bochecho. Quando se curou, seu paladar voltou ao normal.

A hipersensibilidade dentinária relatada por um participante, provavelmente, está relacionada ao fato de no exame bucal inicial os elementos 13, 23, 33 e 43 revelarem recessão gengival. Como após o exame inicial foi realizada uma raspagem supra e subgengival, isso provavelmente aumentou a sensibilidade da região. Na literatura não há relatos de sensibilidade dentinária causada por uso de própolis. Existem trabalhos *in vitro* e *in vivo* que avaliaram a capacidade da própolis

de selar os túbulos dentinários e, assim, reduzir a sensibilidade dentinária, sugerindo que ela possui essa propriedade, o que pode torná-la útil no uso clínico (MAHMOUD *et al.*, 1999; ALMAS *et al.*, 2001). Talvez a sensibilidade do participante não diminuiu com o uso da própolis devido ao fato de ele não ter realizado uma quantidade de bochecho suficiente por ter pensado que a própolis era a causa da sensibilidade.

Apenas duas reações indesejáveis, provavelmente, foram relacionadas ao uso do EBPV 5% na boca: lesões ulceradas tipo aftosas e ardência bucal.

O indivíduo que apresentou as lesões ulceradas pelo uso do enxaguante relatou durante a anamnese que ele e outros familiares tinham histórico de alergia a diversas outras substâncias, mas não sabia se a própolis estava incluída. Então, por ser um indivíduo suscetível, apresentava predisposição maior a ter uma reação alérgica ao EBPV 5%. Na literatura, dermatites por contato alérgico a própolis são atribuídas a alguns componentes presentes nela, como ácidos aromáticos livres (ácido cinâmico) e ésteres do ácido cafeico, dependendo, então, da planta de origem (GIUSTI *et al.*, 2004; MÜNSTEDT *et al.*, 2007; RAJPARA *et al.*, 2009). Existem poucos casos na literatura da antigenicidade da própolis sobre a mucosa bucal. Os sinais e sintomas relatados pelo indivíduo estavam de acordo com o encontrado dentre os trabalhos existentes (BRAILO *et al.*, 2005).

Apesar de o EBPV 5% ser livre de álcool, um indivíduo relatou ter sentido ardência bucal quando fazia os bochechos durante os três meses de tratamento. Provavelmente, esse fato ocorreu devido ao fato de este indivíduo ser um pouco mais sensível a própolis do que os demais participantes, o que o fez experimentar um forte sabor refrescante. Tão logo avaliado após a queixa, no exame bucal, não apresentou a mucosa irritada.

As alterações positivas relatadas pelos indivíduos, como ausência de aftas recorrentes, ausência de sangramento gengival, diminuição da hipersensibilidade dentinária e perda da halitose, devido ao uso do EBPV 5% estão de acordo com as propriedades biológicas atribuídas à própolis na literatura (ALMAS *et al.*, 2001; STERER & RUBINSTEIN, 2006; SAMET *et al.*, 2007; PAULINO *et al.*, 2008).

Especula-se que a diminuição de aftas recorrentes seja devido às propriedades antibacteriana, antifúngica e antiviral se agentes infecciosos forem considerados como causa da doença. Caso o fator etiológico seja alteração imunológica, o mecanismo terapêutico pode ser a atividade anti-inflamatória e imunomodilatória obtidas por meio da ação de vários componentes, como o artepilin C (SAMET *et al.*, 2007). A ausência de sangramento gengival também está relacionada à propriedade anti-inflamatória da própolis.

Segundo ALMAS *et al.* (2001), a diminuição da sensibilidade dentinária provavelmente, ocorreu devido ao fato de a própolis promover a obstrução dos túbulos dentinários.

A perda da halitose, provavelmente, está relacionada ao controle da microbiota bucal, por meio dos compostos bioativos da própolis, que possuem atividade antimicrobiana. Na maioria dos casos, a halitose é resultante da atividade de bactérias putrefativas da microbiota residente da cavidade bucal, e esses microorganismos podem estar presentes em várias localidades da boca, como dorso da língua, tonsilas e bolsas periodontais (STERER e RUBINSTEIN, 2006).

A avaliação da aderência ao programa de bochechos, a apreciação e a aceitabilidade do enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde pelos pacientes no controle da placa e da gengivite, até o presente momento, não haviam sido consideradas em nenhum estudo (MURRAY *et al.*, 1997; KOO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006; ANGELO *et al.*, 2007). O uso de enxaguante bucal deve ser considerado um adjunto útil para a higiene bucal (BOTELHO *et al.*, 2007). É importante que o produto não seja apenas efetivo, mas também aceitável. Atualmente, embora alguns pesquisadores não considerem a aceitabilidade e tolerabilidade a medidas de higiene bucal ou a agentes antissépticos como resultados clínicos significantes, a atenção a esse tipo de avaliação é importante para os indivíduos. Portanto, a aceitabilidade, a tolerância e a preferência são componentes integrantes da aderência terapêutica e facilitam a inserção do produto no mercado (CHENG, 2004).

No momento da troca dos frascos, os indivíduos fizeram relatos sobre a experiência que eles tiveram com o enxaguante, como as alterações que observaram, a aceitabilidade e o protocolo de uso.

O enxaguante bucal contendo 5% de própolis livre de álcool foi aceitável e tolerado pelos indivíduos que concluíram o estudo. O nível de aderência foi significativo, acima de 80%. Os períodos de realização dos bochechos (manhã e noite) não foram motivos de interferência na frequência de bochecho dos indivíduos. A padronização dos horários de realização dos bochechos e da quantidade utilizada em cada um diariamente (10 ml de EBPV 5%) pode ser considerada como uma dosagem terapêutica adequada, diante dos resultados obtidos.

Os indivíduos foram fiéis nos relatos de aderência, estando de acordo com as anotações do diário de frequências e o conteúdo dos volumes presentes nos frascos devolvidos por eles.

Após o último exame (90 dias), os indivíduos responderam a um questionário, que avaliou a apreciação e a aceitabilidade deles em relação ao enxaguante bucal disponibilizado. De acordo com os resultados obtidos, as alterações relatadas pelos indivíduos estão em concordância com as relatadas em outros estudos sobre enxaguantes bucais (ELEY, 1999; BOTELHO *et al.*, 2007).

Foi pequena a porcentagem de indivíduos que relataram ter apresentado alterações, como coloração da língua, boca seca e perda do paladar. A maioria dos relatos sobre alterações na boca e no hálito prendeu-se a mudanças positivas, sendo que grande parte dos indivíduos considerou a saúde bucal melhor após o uso do enxaguante. Esses fatores contribuem para a aceitabilidade do indivíduo ao produto. Poucos indivíduos relataram dificuldade em seguir o protocolo, e estas não decorreram de algum tipo de repulsão ao produto ou por ser complicada a administração dele. Segundo esses indivíduos, a dificuldade ocorreu por se esquecerem do compromisso de uso ou por deixarem de usá-lo propositalmente, devido ao desânimo, quando deitavam muito tarde da noite. O fato de a maioria dos indivíduos ter achado o sabor do enxaguante desagradável não influenciou na aderência deles ao tratamento que foi elevada ($\geq 80\%$). De fato, a maioria deles se sentiu

satisfeita com o produto, com base na observação feita em relação às alterações positivas e ao fato de a saúde bucal ter-se apresentado melhor após o tratamento. E, por isso, esses indivíduos disseram que recomendariam o EBPV 5% para outras pessoas.

7 CONCLUSÕES

“O segredo é não correr atrás das borboletas... É cuidar do jardim para que elas venham até você”.

Mário Quintana

7 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou evidências da eficácia do enxaguante bucal contendo 5% de própolis verde livre de álcool no controle de placa e gengivite, sugerindo que ele pode ser utilizado como um recurso terapêutico e preventivo no controle de doenças periodontais. Em virtude dos resultados obtidos, pode-se inferir:

- O EBPV 5% reduziu a presença de placa e gravidade da doença no período de 90 dias de uso, comparando-se o exame inicial com os exames realizados em 45 e 90 dias.
- O EBPV 5% reduziu a presença de gengivite e a gravidade da doença no período de 90 dias de uso, comparando-se o exame inicial com os exames realizados em 45 e 90 dias.
- A redução do índice de gravidade gengival foi maior do que o índice de gravidade de placa no período de 90 dias de uso do enxaguante, comparando-se o exame inicial com os exames realizados em 45 e 90 dias.
- As alterações de tecido mole e duro da cavidade bucal e da percepção bucal mencionadas pelos indivíduos em decorrência do uso do EBPV 5% foram tanto negativas como positivas, sendo que as positivas sobressaíram em relação às negativas. As alterações negativas não foram graves, estando em concordância com as observadas durante o uso de outros colutórios aplicados na Odontologia.
- Apesar de a maioria dos indivíduos achar o sabor do EBPV 5% desagradável, eles ficaram satisfeitos com o produto, considerando a ocorrência de alterações positivas e a saúde bucal, que se apresentou melhor após o período de tratamento.
- Apesar das alterações negativas mencionadas e de alguns indivíduos relatarem dificuldade em seguir o protocolo de bochecho, a aderência ao tratamento foi satisfatória ($\geq 80\%$), sendo inexistente a diferença estatisticamente significativa entre os períodos de bochecho da manhã e da noite.

7.1 CONSIDERAÇÃO FINAL

É necessário realizar um ensaio clínico, randomizado de acordo com as exigências do *Council on Dental Therapeutics of the American Dental Association* (ADA) para comprovar a eficácia do enxaguante bucal contendo própolis verde a 5% livre de álcool para que o uso desse produto se torne habitual na Odontologia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

“Uma mudança deixa sempre patamares para uma nova mudança.”

Nicolau Maquiavel

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AAS, J. A.; PASTER, B. J.; STOKES, L. N.; OLSEN, I.; DEWHIRST, F. E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J. Clin. Microbiol.*; Nov: 5721–5732, 2005.
2. AHN, M. R.; KUNIMASA, K.; OHTA, T.; KUMAZAWA, S.; KAMIHIRA, M.; KAJI, K.; UTO, Y.; HORI, H.; NAGASAWA, H.; NAKAYAMA, T. Suppression of tumor-induced angiogenesis by brazilian propolis: major component artepilin C inhibits *in vitro* tube formation and endothelial cell proliferation. *Canc. Lett.*; 252: 235-243, 2007a.
3. AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; USUI, Y.; NAKAMURA, J.; MATSUKA, M.; Z. H. U. F.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem.*; 101: 1400-1409, 2007b.
4. ALLEN, D. R.; DAVIES, R.; BRADSHAW, B.; ELLWOOD, R.; SIMONE, A. J.; ROBINSON, R.; MUKERJEE, C.; PETRONE, M. E.; CHAKNIS, P.; VOLPE, A. R.; PROSKIN, H. M. Efficacy of a mouthrinse containing 0.05% cetylpyridinium chloride for the control of plaque and gingivitis: A 6-month clinical study in adults. *Compend. Contin. Educ. Dent.* ; 19: 20-26, 1998.
5. ALMAS, K.; MAHMOUD, A.; DAHIAN, A. A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. *Indian J. Dent. Res.*; 12: 21-27, 2001.
6. ALMEIDA, R. V. D.; CASTRO, R. D.; PEREIRA, M. S. V.; PAULO, M. Q.; SANTOS, J. P.; PADILHA, W. W. N. Efeito clínico de solução antisséptica a base de própolis em crianças cárie ativas. *Pesq. Bras. Odont. Clin. Integ.*; 6: 87-92, 2006.
7. AMARAL, R. C.; GOMES, R. T.; ROCHA, W. M. S.; ABREU, S. L. R.; SANTOS, V. R. Periodontitis treatment with Brazilian green propolis gel. *Pharmacology.*; 3: 336-341, 2006.
8. AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Parameters of care. *J. Periodontol.*; 71: 847-883, 2000. Supplement.
9. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS: *Guidelines for Acceptance of Chemotherapeutic Products for the control of supragingival dental plaque and gingivitis.* *J. Am. Dent. Assoc.*;

112: 529-532, 1986.

10. ANGELO, A. R.; SILVA, Y. T. S.; CASTRO, R. D.; ALMEIDA, R. V. D.; PADILHA, W. W. N. Atuação Clínica e Microbiológica da solução de própolis para bochecho em crianças cárie ativas. *Arq. Odontol.*; 43: 60-66, 2007.
11. ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). *Ministério da Saúde. Brasil*. Resolução da Diretoria Colegiada nº 33. Brasília: Anvisa; 2000.
12. ARWEILER, N. B.; NETUSCHIL, L.; REICH, E. Alcohol-free mouthrinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and vitality. A controlled clinical study. *J. Clin. Periodontol.*, 28: 168-174, 2001.
13. AURICCHIO, M. T.; BUGNO, A.; ALMODÓVAR, A. A. B.; PEREIRA, T. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de preparações de própolis comercializadas na cidade de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 65: 209-212, 2007.
14. AWALE, S.; SHRESTHA, S. P.; TEZUKA, Y.; UEDA, J. Y.; MATSUSHIGE, K.; KADOTA, S. Neoflavonoids and related constituents from Nepalese propolis and their nitric oxide production inhibitory activity. *J. Nat. Prod.*; 68: 858-864, 2005.
15. BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J. Ethnopharmacol.*; 100: 114-117, 2005a.
16. BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence- Based Compl. Altern. Med.*; 2: 29-32, 2005b.
17. BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidol.*; 31: 3-15, 2000.
18. BANKOVA, V.; BOUDOUROVA-KRASTEVA, G.; POPOV, S.; SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidol.*; 29: 361-367, 1998.
19. BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y. Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytoter. Res.*; 15: 561-571, 2001.
20. BARROS, M. P.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. Effect of Brazilian green propolis on experimental gastric ulcers in rats. *J.*

Ethnopharmacol.; 110: 567–571, 2007

21. BARTZOKAS, C. A.; CORKILL, J. E.; MAKIN, T.; PARRY, E. Comparative evaluation of the immediate and sustained antibacterial actions of two regimens, based on triclosan and chlorhexidine-containing handwash preparations, on volunteers. *Epidem. Infection.*; 98: 337-344, 1987.
22. BERA, A.; MURADIAN, L. B. A. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do Estado de São Paulo. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*; 27: 49-52, 2007.
23. BERNARD, J.; BEIGNOT-DEVALMONT, M.; SEBASTIEN, F.; POUILLOT, M. J.; DESVIGNES, A. Comparative study of the in vitro and in vivo antimicrobial activity of seven hand antiseptic solutions for use on surgeon's hands. *J. Chirurgie.*; 117: 634-646, 1980.
24. BONESVOL, P.; GJERMO, P. A. Comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque inhibiting effect in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol*; 23: 289-94, 1978.
25. BORRELLI, F.; MAFFIA, P.; PINTO, L.; IANARO, A.; RUSSO, A.; CAPASSO, F.; IALENTI, A. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*; 73: S53-S63, 2002.
26. BOTELHO, M. A.; BEZERRA-FILHO, J. G.; CORREA, L. L.; FONSECA, S. G. C.; MONTENEGRO, D.; GAPSKI, R.; BRITO, G. A. C.; HEUKELBACH, J. Effect of a novel essential oil mouthrinse without alcohol on gingivitis: a doubleblindedrandomized controlled trial. *J. Appl. Oral Sci.*; 15: 175-180, 2007.
27. BOYANOVA, L.; GERGOVA, G.; NIKOLOV, R.; DEREJIAN, S.; LAZAROVA, E.; LATSAROV, N.; MITOV, I.; KRASSTEV, Z. Activity of Bulgarian propolis against 94 *Helicobacter pylori* strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. *J. Med. Microbiol.*; 54: 481-483, 2005.
28. BOYANOVA, L.; KOLAROV, R.; GERGOVA, G.; MITOV, I. In vitro activity of Bulgarian propolis against 94 clinical isolates of anaerobic bacteria. *Anaerobe*; 12: 173-177, 2006.
29. BRAILO, V.; BORAS, V. V.; ALAJBEG, I.; JURAS, V. Delayed contact sensitivity on the lips and oral mucosa due to propolis-case report. *Med. Oral. Patol. Oral*

- Cir. Bucal*; 11: 303-304, 2006.
30. BRECX, M. Strategies and agents in supragingival chemical plaque control. *Periodont. 2000*; 15: 100-108, 1997.
 31. BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food. Chem. Toxicol.*; 36: 347-363, 1998.
 32. CARRANZA, F. A.; NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H. CARRANZA - *Periodontia Clínica*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 1290.
 33. CARRETERO-PELÁEZ, M. A.; ESPARZA-GÓMEZ, G. C.; FIGUERO-RUIZ, E.; CERERO-LAPIEDRA, R. Colutorios con alcohol y su relación con el cáncer oral. Análisis crítico de la literatura. *Med. Oral.*; 9: 116-23, 2004.
 34. CASTALDO, S.; CAPASSO, F. Própolis, na old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*; 1: S1-S6, 2002.
 35. CHARLES, C. H.; MOSTLER, K. M.; BARTELS, L. L.; MANKODI, S. M. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J. Clin. Periodontol.*; 31: 878-884, 2004.
 36. CHENG, K. K. F. Children's acceptance and tolerance of chlorhexidine and benzydamine oral rinses in the treatment of chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis. *Eur. J. Oncol. Nurs.*; 8: 341-349, 2004.
 37. CIZMARIK, J.; MACICKA, M.; MATEL, I. *Propoleos - Investigaciones científicas y opiniones acerca de su composición, características y utilización com fines terapêuticos - Analisis y critica de las teorías acerca de la formacion del Propoleos*. Bucarest: Apimondia, 1975. 175 p.
 38. CLINICALTRIALS. *A service of the U.S. National Institutes of Health*. Disponível em: <http://clinicaltrials.gov/>. Acessado em: 8 de maio de 2010.
 39. CURY, J. A.; KRIGER, L. *Controle químico da placa dental*. ABOPREV: Promoção de saúde bucal. São Paulo: Artes Médicas, 1997. p.129-140.

40. DE NOLLIN, S.; BORGES, M. The ultrastructure of *Candida albicans* after in vitro treatment with miconazol. *Sabouraudia*; 12: 341- 351, 1974.
41. DEWHIRST, F. E. Structure–activity relationships for inhibition of prostaglandin cyclooxygenase by phenolic compounds. *Prostaglandins*; 20: 209–222, 1980.
42. DIMOV, V.; IVANOVSKA, N.; MANOLOVA, N.; BANKOVA, V.; NIKOLOV, N.; POPOV, S. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infections protection and macrophage function. *Apidol.*; 22: 155-162, 1991.
43. ELEY, B.M. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque – a review. *Brit. Dent. J.*; 186: 286-296, 1999.
44. EMILSON, C. G. Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. *Scand. J. Dent. Res.*; 89: 239–246, 1981.
45. EMILSON, C. G.; FORNELL, J. Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora, oral hygiene, and caries. *Scand. J. Dent. Res.*; 84: 308–319, 1976.
46. ENDLER, A. L.; OLIVEIRA, S. C.; AMORIM, C. A.; CARVALHO, M. P.; PILEGGI, M. *Publ. UEPG Cien. Biol. Saúde*; 9: 17-20, 2003.
47. FERNANDES JR., A.; BALESTRIN, E. C.; BETONI, J. E. C.; ORSI, R. O.; CUNHA, M. L. R. S.; MONTELLI, A. C. Propolis: anti- *Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 100: 563-566, 2005.
48. FERNANDES, F. F.; DIAS, A. L. T.; RAMOS, C. L.; IKEGAK, M.; SIQUEIRA, A. M.; FRANCO, M. C. The “in vitro” antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*; 49: 93-95, 2007.
49. FINE, D. H.; MARKOWITZ, K.; FURGANG, D.; GOLDSMITH, D.; CHARLES, C. H.; LISANTE, T. A.; LYNCH, M. C. Effect of an essential oil-containing antimicrobial mouthrinse on specific plaque bacteria in vivo. *J. Clin. Periodontol.*; 34: 652–657, 2007.
50. FISCHER, G.; CLEFF, M. B.; DUMMER, L. A.; PAULINO, N.; PAULINO, A. S.;

- VILELA, C. O.; CAMPOS, F. S.; STORCH, T.; VARGAS, G. D.; HÜBNER, S.O.; VIDOR, T. Adjuvant effect of green propolis on humoral immune response of bovines immunized with bovine herpesvirus type 5. *Veter. Immunol. Immunopath.*; 116: 79–84, 2007.
51. FISCHIMAN, S. L. The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years?. *Periodontology 2000*; 15: 7-14, 1997.
52. FRANCO-NETO, C. A.; PAROLO, C. C. F.; RÖSING, C. K.; MALTZ, M. Comparative analysis of the effect of two chlorhexidine mouthrinses on plaque accumulation and gingival bleeding. *Braz. Oral. Res.*; 22: 139-144, 2008.
53. FRIEDMANN, A. Instrumente, Materialien und Geräte: Spüllösungen. *Parodontol.*; 2:339-344, 1991.
54. FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. *Cienc. Tecnol. Aliment.*; 26: 171-178, 2006.
55. GAFFAR, A.; ESPOSITO, A.; AFFLITO, J. In vitro and in vivo anticalculus effects of triclosan/copolymer system. *Am. J. Dent.*; 3: 37-42, 1990.
56. GALVÃO, J.; ABREU, J. A.; CRUZ, T.; MACHADO, G. A. S.; NIRALDO, P.; DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Biological therapy using propolis as nutritional supplement in cancer treatment. *International J. Canc. Res.*; 3: 43-53, 2007.
57. GEBARAA, E. C.; PUSTIGLIONI, A. N.; DE LIMA, L. A.; MAYER, M. P. Propolis extract as an adjuvant to periodontal treatment. *Oral. Health. Prev. Dent.*; 1: 29-35, 2003.
58. GEKKER, G. H. U. S.; SPIVAK, M.; LOKENSGARD, J. R.; PETERSON, P. K. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *J. Ethnopharmacol.*; 102: 158-163, 2005.
59. GERALDINI, C. A. C.; SALGADO, E. G. C.; RODE, S. M. Ação de diferentes soluções de própolis na superfície dentinária - avaliação ultra-estrutural. *Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol. S. J. Campos*; 3: 37-42., 2000.
60. GHISALBERTI, E. L. Propolis: A Review. *Bee World*; 60: 59-84, 1979.

61. GIUSTI, F.; MIGLIETTA, R.; PEPE, P.; SEIDENARI, S. Sensitization to propolis in 1255 children undergoing patch testing. *Contact Dermat.*; 51: 255–258, 2004.
62. GJERMO, P.; BAASTAD, K. L.; RÖLLA, G. The plaque inhibiting capacity of 11 antivacterial compounds. *J. Periodont. Res.*; 5: 102-9, 1970.
63. GOMES, R. T.; TEIXEIRA, K. I. R.; CORTÉS, M. E.; SANTOS, V. R. Antimicrobial activity of a propolis adhesive formulation on different oral pathogens. *Braz J Oral Sci.*; 6: 1387-1391, 2007.
64. GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; GÓMEZ-ROMERO, G. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Advances of phenolic compounds in product derived from bees. *J. Pharm. Biomed. Anal.*; 41: 1220-1234, 2006.
65. GRÉGIO, A. M. T.; LIMA, A. A. S.; RIBAS, M. O.; BARBOSA, A. P. M.; PEREIRA, A. C. P.; KOIKE, F.; REPEKE, C. E. P. Efeito da *Propolis mellifera* sobre o processo de reparo de lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos. *Estud. Biolog.*; 27: 43-47., 2005.
66. GRÖNROOS, L.; MÄTTÖ, J.; SAARELA, M.; LUOMA, A. R.; LUOMA, H.; JOUSIMIES-SOMER, H.; PYHÄLÄ, L.; ASIKAINEN, S.; ALALUUSUA, S. Chlorhexidine susceptibilities of Mutans Streptococcal serotypes and ribotypes. *Antimicrob. Ag. Chemoth.* ; 31: 894–898, 1995.
67. HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S.; PATEL, M. R.; SONG, X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol. Immunol.*; 23: 196–205, 2008.
68. HAYNES, R. B.; SACKETT, D. L.; GUYATT, G. H.; TUGWELL, P. EPIDEMIOLOGIA CLÍNICA: *Como realizar pesquisa clínica na prática*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2008, p. 544.
69. HIDAKA, S.; OKAMOTO, Y.; ISHIYAMA, K.; HASHIMOTO, K. Inhibition of the formation of oral calcium phosphate precipitates: the possible effects of certain honeybee products. *J. Periodontal Res.*; 43: 450-458, 2008.
70. HUANG, M. T.; MA, W.; YEN, P.; XIE, J. G.; HAN, J.; FRENKEL, K.; GRUNBERGER, D.; CONNEY, A. H. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells. *Carcinogenesis*; 17: 761–765, 1996.

71. HULEIHEL, M.; ISANU, V. Antiherpes simplex vírus effect of na aqueous extract of propolis. *Isr. Med. Assoc. J.*; 4: 923-927, 2002.
72. IMREY, P. B.; CHILTON, N. W.; PIHLSTROM, B. L. Recommended revisions to American Dental Association Guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for gingivitis control. *J. Periodontol. Res.*; 29: 299-304, 1994.
73. JANSON, H. Studies on periodontitis and analyses of individuals at risk for periodontal diseases. *Swed. Dent. J.*; 180: 5-49, 2006.
74. JONES, C. G. Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontol. 2000*; 15: 55-62, 1997.
75. JUNIOR, A. F.; LOPES, M. M. R.; COLOMBARI, V.; MONTEIRO, A. C. M.; VIEIRA, E. P. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. *Ciên. Rural, Santa Maria*; 36: 294-297, 2006.
76. KADAKOV, V. P.; MULEARCHUK, M. D. Aminoácidos encontrados en el propoleos. *Pchelovodstvo*; 12: 34, 1978.
77. KIMOTO, T.; ARAI, S.; KOHGUCHI, M. Apoptosis and supression of tumor growth by artepillin C extracted from Brazilian propolis. *Canc. Detec. Prevent.*; 22: 506-515, 1998.
78. KJAERHEIM, V.; WAALER, S.M. Experiments with triclosan-containing mouthrinses: dose response and an attempt to locate the receptor site(s) of triclosan in the mouth. *Adv. Dent. Res.*; 8: 302-306, 1994.
79. KOO, H.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; AMBROSANO, G. M. B.; IKEGAKI, M.; PARKY, Y. K. Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Res.*; 36: 445–448, 2002.
80. KORUA, O.; TOKSOYB, F.; ACIKELC, C. H.; TUNCAB, Y. M.; BAYSALLARA, M.; GUCLUA, A. U.; AKCAB, E.; TUYLUD, A. O.; SORKUND, K.; TANYUKSELA, M.; SALIHD, B. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe*; 13: 140–145, 2007.
81. KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y. U.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of

- propolis of different geographic origin. *J. Ethnopharmacol.*; 64: 235–240, 1999.
82. LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*; 33: 159-174, 1977.
83. LIBÉRIO, S. A.; PEREIRA, A. L.; ARAÚJO, M. J.; DUTRA, R. P.; NASCIMENTO, F. R.; MONTEIRO-NETO, V.; RIBEIRO, M. N.; GONÇALVES, A. G.; GUERRA, R. N. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J. Ethnopharmacol.*; 125: 1-9, 2009.
84. LLEWELYN, J. Oral squamous cell carcinoma. Mouthwashes may increase risk. *British Med. J.*; 308: 1508, 1994.
85. LÖE, H.; SCHIOTT, C. R.; GLAVIND, L.; KARRING, T. Two years oral use of chlorhexidine in man. *J. Periodontal. Res.*; 11: 135–175, 1976.
86. LÖE, H.; SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. *Acta Odontol. Scand.*; 21: 533-537, 1963.
87. LORENTZ, T. C. M. *Estudo de coorte prospectivo em terapia de manutenção periodontal: análise dos parâmetros clínicos periodontais, progressão de periodontite, perda dentária e de modelo multifuncional para avaliação do risco periodontal*. 2007. 167 p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
88. LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Braz. J. Pharmacog.*; 18: 447-454, 2008.
89. MAHMOUD, A. S.; ALMAS, K.; DAHLAN, A. A. A. R. The effect of propolis on dentinal hypersensitivity and level of satisfaction among patients from a University Hospital Riyadh, Saudi Arabia. *Indian J. Res.*; 10: 130-137, 1999.
90. MANARA, L. R. B.; ANCONI, S. I.; GROMATZKY, A.; CONDE, M. C.; BRETZ, W. A. . Utilização da própolis em Odontologia. *Rev. FOB*; 7: 15-20, 1999.
91. MANI, F.; DAMASCENO, H. C. R.; NOVELLI, E. L. B.; MARTINS, E. A. M.; SFORCIN, J. M. Propolis: effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. *J. Ethnopharmacol.*; 105: 95-98, 2006.

92. MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*; 26: 83-99, 1995.
93. MARCUCCI, M. C. Própolis tipificada: um novo caminho para a elaboração de medicamentos de origem natural contendo este produto de origem apícola. *Revista Fitos*; 1: 36-46, 2006.
94. MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; CUSTÓDIO, A. Evaluation of phenolic compounds in Brazilian propolis from different geographic regions. *Z. Naturforsch.*; 55: 76-86, 2000.
95. MARQUELE, F. D.; OLIVEIRA, A. R. M.; BONATO, P. S.; LARA, M. G.; FONSECA, M. J. V. Propolis extract release evaluation from topical formulations by chemiluminescence and HPLC. *J. Pharm. Biomed. Anal.*; 41: 461-468, 2006.
96. MELLO, A. M.; GOMES, R. T.; LARA, S. R.; SILVA, L. G.; ALVES, J. B.; CORTÉS, M. E.; ABREU, S. L.; SANTOS, V. R. The effect of brazilian propolis on the germ tube formation and cell wall of *Candida albicans*. *Pharmacology.*; 3: 352-358, 2006.
97. MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. *Arq. Inst. Biol.*; 72: 405-411, 2005.
98. MORAN, J. M. Home-use oral hygiene products: mouthrinses. *Periodontology 2000*; 48: 42-53, 2008.
99. MOURA, S. A. L.; FERREIRA, M. A. N. D.; ANDRADE, S. P.; REIS, M. L. C.; NOVIELLO, M. L.; CARA, D. C. Brazilian Green Propolis Inhibits Inflammatory Angiogenesis in a Murine Sponge Model. *Evidence-Based Compl. Altern. Med. Advance Access. Disponível em: <<http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/content/full>>*. Published December 9, 2009b.
100. MOURA, S. A. L.; NEGRI, G.; SALATINO, A.; LIMA, L. D. C.; DOURADO, L. P. A.; MENDES, J. B.; ANDRADE, S. P.; FERREIRA, M. A. N. D.; CARA, D. C. Aqueous extract Brazilian Propolis: Primary components, evaluation of inflammation and wound healing by using subcutaneous implanted sponges. *Evidence-Based Compl. Altern. Med.*; 18: 1-9, 2009a.
101. MÜNSTEDT, K.; HELLNER, M.; HACKETHAL, A.; WINTER, D.; GEORGI, R. V. Contact allergy to propolis in beekeepers. *Allergol. Immunopathol.*; 35: 95-100, 2007.

102. MURRAY, M. C.; WORTHINGTON, H. V.; BLINKHORN, A. S. A study to investigate the effect of a propolis-containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. *J. Clin. Periodontol.*; 24: 796-798, 1997.
103. MYKLEBUST, S. Comparative antibacterial effectiveness of seven hand antiseptics. *Scand. J. Dent. Res.*; 93: 546-554, 1985.
104. NABI, N.; MUKERJEE, C.; SCHMID, R.; GAFFAR, A. In vitro and in vivo studies on triclosan/PVM/MA copolymer/NaF combination as an anti-plaque agent. *Am. J. Dent.*; 2: 197-207, 1989.
105. NETUSCHIL, L.; WEIGER, R.; PREISLER, R.; BRECX, M. Plaque bacteria counts and viability during chlorhexidine, meridol and Listerine mouthrinses. *Eur. J. Oral Sci.*; 103: 355-361, 1995.
106. ONLEN, Y.; TAMER, C.; OKSUZ, H.; DURAN, N.; ALTUG, M. E.; YAKAN, S. Comparative trial of different anti-bacterial combinations with propolis and ciprofloxacin on *Pseudomonas keratitis* in rabbits. *Microbiol. Res.*; 162: 62-68, 2007.
107. ORSOLIC, N.; TERZIC, S.; MIHALJEVIC, Z.; SVER, L.; BASIC, I. Effects of local administration of propolis and its polyphenolic compounds on tumor formation and growth. *Biol. Pharm-Bull.*; 28: 1928–1933, 2005.
108. ÖZAN, F.; SÜMER, Z.; POLAT, Z. A.; ER, K.; ÖZAN, Ü.; DEGER, O. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. *Europ. J. Dent.*; 1: 195-201, 2007.
109. PALOMBO, E. A. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. eCAM Advance Access. Disponível em: <http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/content/full>>. Published July 13, 2009.
110. PALOMO, F.; WANTLAND, L.; SANCHEZ, A. The effect of a dentifrice containing triclosan and copolymer on plaque formation and gingivitis. A 14-week clinical study. *Am. J. Dent.*; 2: 231-237, 1989.
111. PARASKEVAS, S.; ROSEMA, N. A. M.; VERSTEEG, P.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G. A. Chlorine Dioxide and Chlorhexidine Mouthrinses Compared in a 3-Day Plaque Accumulation Model. *J. Periodontol.*; 79: 1395-1400, 2008.

112. PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *J. Agric. Food. Chem.*; 50: 2502-2506, 2002.
113. PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; MOURA, F. F.; IKEGAKI, F. F. M. Atividades biológicas da própolis. *Rev. OESP – Alimentação*; 27: 46-53, 1999.
114. PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A. S.; ALCICI, N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*; 18: 313-318., 1998a.
115. PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; MOURA, F. F. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. *Honey Bee Science*; 21: 85-90, 2000.
116. PARK, Y. K.; KOO, M. H.; ABREU, J. A. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Currents Microbiol.*; 36: 24-28, 1998b.
117. PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; FUJIWARA, F. Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. *J. Agric. Food. Chem.*; 52: 1100-1103, 2004.
118. PARKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. Bras. Farmacogn.*; 17: 102-107, 2007.
119. PAULA, A. M. B.; GOMES, R. T.; SANTIAGO, W. K.; DIAS, R. S.; CORTÉS, M. E.; SANTOS, V. R. Susceptibility of oral pathogenic bacteria and fungi to Brazilian green propolis extract. *Pharmacology*; 3: 467-473, 2006.
120. PAULINO, N.; ABREU, S. R. L.; UTO, Y.; KOYAMA, D.; NAGASAWA, H.; HORI, H.; DIRSCH, V. M.; VOLLMAR, A. M.; SCREMIN, A.; BRETZ, W. A. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. *Europ. J. Pharmacol.*; 587: 296–301, 2008.
121. PEÑA, R. C. Propolis standardization: a chemical and biological review. *Cien. Inv. Agr.*; 35: 11-20, 2008.
122. PENUGONDA, B.; SETTEMBRINI, L.; SCHERER, W.; HITTELMANN, E.; STRASSLER, H. Alcohol-containing mouthwashes: effect on composite

- hardness. *J. Clin. Dent.*; 5: 60-62, 1994.
123. PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M.; AQUINO-NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. *Quim. Nova*; 25: 321-326, 2002.
 124. PHARMANECTAR. Propolis technical report. Belo Horizonte, Brasil; Agosto de 2004.
 125. PROPAVKO, S. Chemical Composition of Propolis, its origin and Standardization. *Pchelovodstvo*; 2:28, 1975.
 126. QUIGLEY, G. A.; HEIN, J. W. Comparative cleansing efficacy of manual and power brushing. *J. Am. Dent. Assoc.*; 65: 26-29, 1962.
 127. RAJPARA, S.; WILKINSON, M. S.; KING, C. M.; GAWKRODGER, D. J.; ENGLISH, J. S. C.; STATHAM, B. N.; GREEN, C.; SANSOM, J. E.; CHOWDHURY, M. M. U.; HORNE, H. L.; ORMEROD, A. D. The importance of propolis in patch testing—a multicentre survey. *Contact Dermat.*; 61: 287–290, 2009.
 128. RAO, C. V.; DESAI, D.; RIVENSON, A.; SIMI, B.; AMIN, S.; REDDY, B. S. Chemoprevention of colon carcinogenesis by phenylethyl-3-methylcaffeate. *Canc. Res.*; 55: 2310–2315, 1995.
 129. RIEP, B. G.; BERNIMOULIN, J. P.; BARNETT, M. L. Comparative antiplaque effectiveness of an essential oil and an amine fluoride/stannous fluoride mouthrinse. *J. Clin. Periodontol.*; 26: 164-168, 1999.
 130. RUSSO, A.; IZZO, A. A.; CARDILE, V.; BORRELLI, F.; VANELLA, A. Indian medicinal plants as antiradicals and DNA cleavage protector. *Phytomedicine*; 8: 125-132, 2001.
 131. SABIR, A.; TABBU, C. R.; AGUSTIONO, P.; SOSROSENO, W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *J. Oral Sci.*; 47, 135-138, 2005.
 132. SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evidence-Based Compl. Altern. Med.*; 2: 33–38, 2005.

133. SAMET, N.; LAURENT, C.; SUSARLA, S. M.; SAMET-RUBINSTEEN, N. The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: a pilot study. *Clin. Oral Invest.*; 11: 143–147, 2007.
134. SANTOS, F. A.; BASTOS, E. M. A.; RODRIGUES, P. H.; UZEDA, M.; CARVALHO, M. A. R.; FARIAS, L. M.; MOREIRA, E. S. A. Susceptibility of *Prevotella intermedia/ Prevotella nigrescens* (and *Porphyromonas gingivalis*) to própolis (bee glue) and other antimicrobial agents. *Anaerobe*; 8: 9-15, 2002b.
135. SANTOS, F. A.; BASTOS, E. M. A.; UZEDA, M.; CARVALHO, M. A. R.; FARIAS, L. M.; MOREIRA, E. S. A. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J. Ethnopharmacol.*; 80: 1-7, 2002a.
136. SANTOS, V. R.; GOMES, R. T.; MESQUITA, R. A.; MOURA, M. D.; FRANÇA, E. C.; AGUIAR, E. G.; NAVES, M. D.; ABREU, J. A.; ABREU, S. R. Efficacy of Brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: a pilot study. *Phytother. Res.*; 22: 1544-1547, 2008.
137. SÁ-NUNES, A.; FACCIOLI, L. H.; SFORCIN, J. M. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN- γ production. *J. Ethnopharmacol.*; 87: 93-97, 2003.
138. SEKINO, S.; RAMBERG, P. The effect of a mouth rinse containing phenolic compounds on plaque formation and developing gingivitis. *J. Clin. Periodontol.*; 32: 1083–1088, 2005.
139. SFORCIN, J. M. Propolis and the immune system: a review. *J. Ethnopharmacol.*; 113: 1-14, 2007.
140. SHEIHAM, A. Is the chemical prevention of gingivitis necessary to prevent severe periodontitis? *Periodontol. 2000*; 15: 15-24, 1997.
141. SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of brazilian propolis. *Evidence-Based Compl. Altern. Med.*; 5: 313-316, 2008.
142. SIMÕES, C. C.; ARAÚJO, D. B.; ARAÚJO, R. P. C. Estudo *in vitro* e *ex vivo* da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.*; 18: 84-89., 2008.

143. SISSONS, C. H.; WONG, L.; CUTRESS, T. W. Inhibition by ethanol of the growth of biofilm and dispersed microcosm dental plaques. *Arch. Oral Biol.*; 41: 27-34, 1996.
144. SMIGEL, K. High alcohol mouthwashes are under scrutiny. *J. Natl. Cancer Inst.*; 83: 751-756, 1991.
145. SONMEZ, S.; KIRILMAZ, L.; YUCESoy, M.; YÜCEL, B.; YILMAZ, B. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *J. Ethnopharmacol.*; 102: 371–376, 2005.
146. STEPANOVIC, S.; ANTIC, N.; DAKIC, I.; VLAHOVIC, M. S. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol. Res.*; 158: 353-357, 2003.
147. STERER, N.; RUBINSTEIN, Y. Effect of various natural medicinals on salivary protein putrefaction and malodor production. *Quintessence Int.*; 37: 653–658, 2006.
148. SZLISZKA, E.; CZUBA, Z. P.; DOMINO, M.; MAZUR, B.; ZYDOWICZ, G.; KROL, W. Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells. *Molecules*; 14: 738-754, 2009.
149. TAJIMA, H.; KIMOTO, H.; TAKETO, Y.; TAKETO, A. Effects of synthetic hydroxyisothiocyanates on microbial systems. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*; 62: 491-495, 1998.
150. TALBOTT, K.; MANDEL, I.; CHILTON, N. Reduction of baseline gingivitis scores in repeated prophylaxis. *J. Prev. Dent.*; 4: 28-29, 1977.
151. TANI, H.; KEIKO HASUMI, K.; TATEFUJI, T.; HASHIMOTO, K.; KOSHINO, H.; TAKAHASHI, S. Inhibitory activity of Brazilian green propolis components and their derivatives on the release of cys-leukotrienes. *Bioorganic Med. Chem.*; 18: 151–157, 2010.
152. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2. ed. São Paulo : Ed. Santos, 1995. 421p.
153. TORRES, C.R.G.; HIDEKI KUBO, C.; ANIDO, A. A.; RODRIGUES, J. R. Antimicrobial agents and your potential of use in odontology. Pós-Grad. Ver.

Fac. Odontol. São José dos Campos; 3: 43-52, 2000.

154. TOSI, B.; DOMINI, A.; ROMAGNOLI, C.; BRUNI, A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother. Res.*; 10: 335-336, 1996.
155. TURESKY, S.; GILMORE, N. D.; GLIKMAN, I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J. Periodontol.*; 41: 41-43, 1970.
156. VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; DA COSTA, M. M.; SÁ E SILVA, M.; VIANA, L. R. Atividade antimicrobiana "in vitro" de extrato alcoólico de própolis. *Ciê. Rural*; 34: 159-163, 2004.
157. VERONESE, R. Própolis na clínica e cirurgia odontológica. *Revisão*. Disponível em: <http://WWW.brazilianapis.com/public/propolisclinicarespiratoriaeotorrinolarigologia.pdf>. Acesso: 13 de janeiro de 2009.
158. VICENTINO, A. R. R.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. *Rev. Bras. Farmacogn.*; 17: 384-387, 2007.
159. VIUDA-MARTOS, M.; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *J. Food Sci.*; 73: 117-124, 2008.
160. VOLPE, A.; PETRONE, M. E.; DE VIZIO, W.; DAVIES, R. M. A review of plaque, gingivitis, calculus and caries clinical efficacy studies with a fluoride dentifrice containing triclosan and PVM/MA copolymer. *J. Clin. Dent.*; 7: S1- S14, 1996.
161. VOLPI, N.; BERGONZINI, G. Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC/electrospray mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*; 42: 354-367, 2006.
162. VYNOGRAD, N.; VYNOGRAD, I.; SOSNOWSKI, Z. A. Comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine*; 7: 1-6, 2000.
163. WATSON, D. G.; PEYFOON, E.; ZHENG, L.; LU, D.; SEIDEL, V.; JOHNSTON, B.; PARKINSON, J.A.; FEARNLEY, J. Application of principal components analysis to ¹H NMR data obtained from propolis samples of different

geographical origin. *Phytochemical Analysis*; 17: 323-331, 2006.

164. WELK, A.; SPLIETH, C. H.; SCHMIDT-MARTENS, G.; SCHWAHN, C. H.; KOCHER, T. H.; KRAMER, A.; ROSIN, M. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth. *J. Clin. Periodontol.*; 32: 499–505, 2005.
165. YOU, K. M.; SON, K. H.; CHANG, H. W.; KANG, S. S.; KIM, H. P. Vitexicarpin, a flavonoid from the fruits of *Vitex rotundifolia*, inhibits mouse lymphocyte proliferation and growth of cell lines *in vitro*. *Planta Medica*; 64: 546-550, 1998.
166. ZEDAN, H.; HOFNY, E. R. M.; ISMAIL, S. A. Propolis as an alternative treatment for cutaneous warts. *Int. J. Dermatol.*; 48: 1246–1249, 2009.

ANEXOS

“Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida”.

Sócrates

ANEXO-A

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Antônio Carlos, 6627. Campus da Pampulha**

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça a pesquisadora que explique as palavras ou informações que você não tenha entendido completamente.

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa denominada: **“EVIDÊNCIAS PRELIMINARES DA EFICÁCIA DE UM ENXAGUANTE BUCAL CONTENDO 5% DE PRÓPOLIS PARA O CONTROLE DE PLACA E GENGIVITE.”**, a ser executada pela cirurgiã-dentista Elizete Maria Rita Pereira, pelo Professor Vagner Rodrigues Santos e sua equipe e pela Professora Telma Campos Medeiros Lorentz, na Faculdade de Odontologia da UFMG, em Belo Horizonte, e que fará parte de sua dissertação de Mestrado.

Esta pesquisa tem como objetivo verificar a eficácia de um enxaguante bucal contendo 5% de própolis, no controle de placa dental e gengivite em pacientes assistidos durante 3 meses.

A sua participação constará em:

- Responder perguntas a respeito de sua condição de saúde e hábitos de higiene da boca.
- Participar de um estudo no qual fará o uso de enxaguantes bucais a base de própolis, comparecendo a Faculdade de Odontologia da UFMG de 45 em 45 dias por um período de 3 meses para ser examinado, avaliado e questionado quanto a sua saúde bucal e, também, para observações de alterações de tecidos moles e duros e presença de reações adversas. No primeiro momento, será feita a profilaxia completa da cavidade bucal, incluindo raspagem supragengival, remoção de cálculos, polimento coronário e remoção completa da placa por meio de um evidenciador de placas (solução de fucsina básica).
- A você serão doados uma escova dental macia e enxaguantes bucais com própolis.
- A você, também, será entregue um formulário de frequência que deverá ser preenchido o mais corretamente possível, tendo toda a liberdade para informar a pesquisadora quais os períodos em que não fez o bochecho.
- Quando houver necessidade de novos produtos serem doados, você deverá trazer as embalagens dos produtos já usados, para monitoramento e confirmação de que os produtos foram usados.
- Você será orientado sobre como deverá fazer a sua escovação e como deverá usar o produto (também, serão entregues orientações impressas). Os procedimentos em boca serão realizados com instrumentos esterilizados. O polimento dos dentes será feito com pastas profiláticas e taças de borrachas ou escovinhas que são acionadas através de um motor de baixa rotação. Será observado o seu grau de cooperação em relação ao seguimento das instruções e seu comparecimento nas chamadas para tratamento.
- Fotografias do interior da boca poderão ser realizadas, constituindo propriedade exclusiva dos pesquisadores, aos quais dou plenos direitos de retenção e uso para quaisquer fins de ensino e divulgação, preservado o meu direito de não-identificação (o meu rosto não aparecerá).

Há a possibilidade de ocorrer durante a sondagem no exame periodontal um pequeno sangramento. As consultas, os exames e os procedimentos relacionados ao estudo serão inteiramente gratuitos e você não receberá nenhum pagamento pela sua participação.

Pode surgir alguma alteração na cavidade bucal durante o uso do produto, nesse caso, o seu uso será suspenso e a faculdade fará o tratamento de tal alteração.

A sua participação neste estudo é completamente voluntária e você tem o direito de não aceitar ou desistir do mesmo a qualquer momento, sem prejuízo ou perdas de benefícios a que tenha direito. As informações obtidas da coleta dos seus dados são confidenciais. É importante que você se disponha a comunicar eventuais mudanças de endereço e telefone.

Você também poderá ser desligado(a) do estudo a qualquer momento, sem o seu consentimento, nas seguintes situações: caso você não siga as orientações e não faça o uso correto do enxaguante e tratamento realizados no estudo ou em caso do estudo ser suspenso ou concluído.

Você poderá fazer perguntas a qualquer momento do estudo e obter explicações com a Dr^a. Elizete Maria Rita Pereira no telefone (31) 3409-24 97. Em caso de dúvidas em relação aos seus direitos como participante desta pesquisa, você poderá ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, através do número 3409-4592.

Declaro que tive tempo de ler as informações contidas neste documento antes de assiná-lo e declaro que fui informado(a) sobre os métodos do estudo, as inconveniências, riscos, benefícios e eventos adversos que podem vir a ocorrer em consequência dos procedimentos. Autorizo a realização de exame clínico odontológico não invasivo, segundo critérios convencionais e universais de biossegurança.

Declaro, também, que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando também que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade.

Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade para participar como paciente neste estudo.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 200 ____.

Nome do(a) participante (letra de forma) e RG

Assinatura do(a) participante

Atesto que expliquei cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao (à) participante e/ ou representante legal. Acredito que forneci todas as informações necessárias, em linguagem adequada e compreensível.

Assinatura da pesquisadora

Elizete Maria Rita Pereira
Av. Antônio Carlos, 6627.
UFMG - Campus da Pampulha.
CEP 31015 -430. BH - MG.
Belo Horizonte – MG.
Tel: (31) 3409-24 97

Comitê de Ética em Pesquisa COEP – UFMG
Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II
– 2º andar – sala 2005. UFMG – Campus Pampulha.
CEP 31270-901 BH - MG. Tel: (31) 3409-4592.
[www:ufmg.br/bioetica/coep](http://www.ufmg.br/bioetica/coep).
E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Professores Vagner Rodrigues Santos e Telma Campos Medeiros Lorentz
Tel: (31) 3409-2497

ANEXO-B
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UFMG
FICHA CLÍNICA

PESQUISA: “EVIDENCIAS PRELIMINARES DA EFICÁCIA DE UM ENXAGUANTE BUCAL CONTENDO 5% DE PRÓPOLIS PARA O CONTROLE DE PLACA E GENGIVITE.”

Data: / /

Nome:		Pac. nº:	
Data nascimento: / /	Sexo: M [] F []	Idade: anos	
[] Leucoderma [] Feoderma [] Melanoderma		Profissão:	
Estado civil:		Procedência:	
Naturalidade:		Nacionalidade:	
Endereço (rua, av.):			
Bairro:	Cidade:	Estado:	Cep.:
Tel. contato:			

História médica:		
1 Esteve em tratamento médico nos últimos 6 meses?	Sim []	Não []
2 Por quê?		
3 Tem alguma doença endócrina?	Sim []	Não []
4 Faz uso de insulina ou anti-diabético oral?	Sim []	Não []
Qual?		
5 Faz controle com endocrinologista?	Sim []	Não []
6 Tem alguma doença cardiovascular?	Sim []	Não []
7 Tem alguma doença genito-urinária ou DST?	Sim []	Não []
8 Tem alguma doença respiratória?	Sim []	Não []
9 Tem alguma doença gastrointestinal?	Sim []	Não []
10 Tem alguma doença neurológica?	Sim []	Não []
11 Tem alguma doença reumática?	Sim []	Não []
12 Está atualmente tomando algum remédio?	Sim []	Não []
Anticonvulsivante []	Imunossupressor []	Anti-hipertensivo []

Antiinflamatório []	Anticoncepcional []	Antidepressivo []
13 Outro medicamento (especificar):		
14 Internações: Sim [] Não [] Data:		
Motivo:		

Hábitos
15 Você coloca açúcar na sua comida (sobremesa) ou bebida (por ex. suco, refrigerante, chá, café com açúcar, leite com achocolatado)? Sempre [] Frequentemente [] Às vezes [] Raramente [] Nunca []
16 Quantas vezes você comeu ou tomou alimentos doces ontem? nenhuma [] 1 vez [] 2 vezes [] 3 vezes [] 4 vezes [] não sei []
17 Quantas vezes escova os dentes? Nenhuma [] 1 vez por dia [] 2 vezes por dia [] 3 vezes por dia [] 4 vezes por dia [] algumas vezes na semana []
18 Quantas vezes usa fio dental ? nenhuma [] 1 vez por dia [] 2 vezes por dia [] 3 vezes por dia [] 4 vezes por dia [] algumas vezes na semana []
19 Você já usou algum anti-séptico bucal? Sim [] Não [] Qual: [] Cepacol [] Noplack [] Listerine [] PerioGard [] Outros: Por quanto tempo você usou? Você apresentou alguma alteração durante o seu uso? Você ainda faz uso de algum enxaguante bucal? Sim [] Não [] Qual?
20 Você é: Fumante [] Ex-fumante [] Não fumante [] Já fumou mais de 100 cigarros durante toda a sua vida? Sim [] Não []
21 Tipo de fumo: cigarro [] cigarro de palha [] cachimbo [] outro (especificar) []
22 Se você é ex-fumante, parou de fumar a quanto tempo? 0 – 2 anos [] 3 – 5 anos [] 6 – 10 anos [] 11 – 20 anos [] mais de 20 anos []
23 Por quanto tempo você fumou?
24 Se fumante, qual quantidade de cigarros fuma por dia:

ANEXO-C
EXAME OBJETIVO BUCAL

Nome: _____ Reg. Nº: _____

Tel: _____ Profissão: _____ Sexo: ____

Cor: _____ Data do exame: ____/____/____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ anos

Lábios:
Língua:
Assoalho bucal:
Gengiva:
Palato:
Bochecha:
Orofaringe:
Mucosa alveolar e sulcos vestibulares:

Obs:

ANEXO-E
ÍNDICE GENGIVAL DE LÖE & SILNESS MODIFICADO (1977)

Nome: _____ Pac.Nº: _____

PESOS PARA EXAME:

0= Ausência de inflamação.

1= Inflamação leve: ligeira alteração da cor e textura. Não há sangramento na exploração.

2= Inflamação moderada: brilho, vermelhidão, edema e hipertrofia moderados. Há sangramento na exploração.

3= Inflamação grave: vermelhidão e hipertrofia acentuada, tendência ao sangramento espontâneo e ulceração.

Data:

= / > 1.0

Regiões	Dentes														Sub-total
	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	
M-V															
Mé-V															
D-V															
M-L															
Me-L															
D-L															
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	
M-V															
Mé-V															
D-V															
M-L															
Me-L															
D-L															
Total - IG	Soma das pontuações individuais (seis por dente) ÷ (dentes avaliados x seis) = IG														

ANEXO-F
ÍNDICE DE PLACA DE QUIGLEY & HEIN MODIFICADO (1970)

Nome: _____ Pac. Nº: _____

PESOS PARA EXAME:

- 0= Ausência de placa bacteriana;
- 1= Flocos isolados de placa bacteriana na margem cervical.
- 2= Uma faixa estreita e contínua de placa bacteriana (até 1 mm) na margem cervical.
- 3= Uma faixa de placa bacteriana com largura superior a 1 mm, porém recobrimdo menos do que 1/3 da superfície.
- 4= Placa bacteriana recobrimdo pelo menos um terço, porém menos do que 2/3 da superfície.
- 5= Placa bacteriana recobrimdo mais do que dois terços da superfície dental.

Data:

= / > 1.5

Regiões	Dentes														Sub-total
	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	
M-V															
Mé-V															
D-V															
M-L															
Me-L															
D-L															
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	
M-V															
Mé-V															
D-V															
M-L															
Me-L															
D-L															
Total - IP	Soma das pontuações individuais (seis por dente) ÷ (dentes avaliados x seis) = IP														

ANEXO-G
ORIENTAÇÕES IMPRESSAS PARA PARTICIPAÇÃO

- Fazer o bochecho com 10ml (tampa medida), durante 1 minuto sem diluir, duas vezes ao dia, após as escovações da manhã e da noite.

- Cada frasco conterà 200 ml de enxaguante bucal, sendo a sua duração de 10 dias, com consumo total de 09 frascos por participante (03 meses - 90 dias). A cada distribuição de novo frasco de enxaguante, o **participante deverá devolver o frasco já usado e o formulário de freqüência preenchido até a presente data.**

- Você tem toda a liberdade para informar a pesquisadora quais os períodos em que não fez o bochecho.

- Não utilizar qualquer outro enxaguante bucal durante a realização do estudo.

- Caso você faça uso de algum antibiótico durante o estudo, informe a pesquisadora.

- Caso você note alguma alteração em sua boca após o início do uso do enxaguante, informe a pesquisadora.

ANEXO-I
APRECIÇÃO E ACEITABILIDADE DO PRODUTO

Paciente: _____ Pac. nº: _____

Data:

Entrevista Final
1- Notou algum manchamento dos dentes ou língua durante o uso do enxaguante bucal?
2- Sentiu a boca seca em decorrência do uso do enxaguante bucal?
3- O seu relacionamento pessoal melhorou após o uso do enxaguante bucal?
4- Sentiu alguma alteração no seu paladar após o período de uso do enxaguante bucal?
5- Notou alguma alteração em sua boca durante o uso do enxaguante bucal? Qual?
6- Você notou alguma alteração no seu hálito durante o uso do enxaguante?
7- Acha que a saúde da sua boca está atualmente melhor ou pior?
8- O enxaguante bucal disponibilizado tem um gosto agradável?
9- Você ficou satisfeito(a) com o enxaguante disponibilizado?
10- Você teve dificuldade em seguir o protocolo de tratamento?
11- Você recomendaria o uso desse produto para alguém?

Assinatura do paciente

**ANEXO-J
PARECER DA COEP**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Parecer nº. ETIC 0600.0.203.000-09

**Interessado(a): Prof. Vagner Rodrigues Santos
Depto. de Clínica, Patológica e Cirurgia Odontológica
Faculdade de Odontologia - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 09 de março de 2010, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Eficácia de enxaguante bucal contendo 5% de própolis para o controle de placa e gengivite: um ensaio de fase II em adultos por três meses (90) dias"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Maria Teresa Marques Amaral".

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

ANEXO-K

Study 1 of 4 for search of: propolis

[← Previous Study](#) [Return to Search Results](#) [Next Study →](#)

[Full Text View](#)

[Tabular View](#)

[No Study Results Posted](#)

[Related Studies](#)

Preliminary Evidence of the Efficacy of a Mouthwash Containing 5% Propolis for the Control of Plaque and Gingivitis (MGP)

This study has been completed.

First Received: June 10, 2010 No Changes Posted

Sponsor:	Federal University of Minas Gerais
Collaborators:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
Information provided by:	Federal University of Minas Gerais
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01142843

▶ Purpose

Mouthwash based on medicinal plants and **propolis** can be easily found in the Brazilian market even if it has not been tested in reliable clinical trials on its efficacy or possible unpleasant side effects like the ones which alter the hard and soft oral tissues. The aim of this study was to obtain preliminary evidence of efficacy of an alcohol-free mouthwash containing 5% green **propolis** (MGP 5%) on the control of plaque and gingivitis. Were chosen twenty-five subjects that are UFMG employees and individuals who would begin treatment on an extension project called Supportive Periodontal Therapy at the Faculty of Dentistry of Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, from August to December 2009. The subjects went through a dental prophylaxis before starting rinse. They were then instructed to rinse twice a day for a minute, immediately after brushing (morning and night), using the 10 ml of the MGP 5%. After 45 and 90 days using the product the individuals returned for a clinical evaluation which considered changes in the soft and hard oral tissues and involved collecting plaque and gingivitis indexes. On their last appointment the subjects answered a questionnaire about their level of appreciation and acceptability of the mouthwash. Compliance with the treatment was also evaluated through an attendance form. For the statistic analysis we used BioEstat 4.0 and Excel 2007.

Condition	Intervention	Phase
Dental Plaque Gingivitis	Drug: green propolis mouthwash	Phase II

Study Type: Interventional

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)