

Resultados da aplicação tópica do extrato de própolis na redução da progressão da doença periodontal

RIBEIRO, M.R.G.^{1*}; GUALBERTO, A.M.²; SILVA, M.A.S.²; SOUZA, S.F.C.¹; SOUZA, E.M.¹; SILVA, V.C.¹.

¹Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Odontologia II, Av dos Portugueses 1966, Campus Universitário do Bacanga, São Luís, MA, CEP: 65080-805, ²Centro de Ensino Universitário do Maranhão, Departamento de Odontologia, Rua Josué Montello 1, Renascença II, São Luis, MA, CEP 65075-110. *Autor para correspondência: michaelgarciaodonto@gmail.com

RESUMO: Agentes químicos têm sido usados para auxiliar na inibição da formação do biofilme e impedir desenvolvimento da doença periodontal (DP). O objetivo deste estudo foi avaliar radiograficamente a ação do extrato de própolis na progressão da DP induzida em ratos. Foram utilizados 48 ratos *Wistar*, divididos em 4 grupos (n=12): Controle, Pincel, Própolis e Clorexidina. Os grupos foram subdivididos para análise aos 7 e 21 dias. A progressão da DP foi avaliada radiograficamente pela distância entre a junção cimento-esmalte e a crista óssea alveolar na face mesial do 1º molar inferior. A perda óssea foi significativamente menor nos animais do grupo própolis em ambos os períodos ($p \leq 0,01$). Concluiu-se por análise radiográfica que a aplicação tópica do extrato de própolis interfere reduzindo a progressão da doença periodontal induzida por ligadura em ratos, demonstrando a importância desse composto como substância auxiliar no tratamento periodontal.

Palavras-Chave: Periodontia, Própolis, Radiografia.

ABSTRACT: Results of topical application of propolis extracts in reducing progression of periodontal disease. Chemical agents have been used to assist on inhibiting biofilm formation and on preventing the development of periodontal disease (PD). The aim of this study was to radiographically evaluate the action of propolis extract on the progression of PD induced in rats. 48 Wistar rats were divided into 4 groups (n = 12): Control, Brush, Propolis and Chlorhexidine. The groups were subdivided for analysis at 7 and 21 days. The progression of the periodontal disease was radiographically assessed by the distance between the cement-enamel junction and the alveolar bone crest mesial of the 1st molar. Bone loss was significantly lower in the Propolis group in both periods ($p \leq 0.01$). By radiographic analysis, it is concluded that the topical application of propolis extract interferes by reducing the progression of ligature-induced periodontal disease in rats, demonstrating the importance of this compound as an auxiliary substance in periodontal treatment.

Keywords: Periodontitis, Propolis, Radiography.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) ocorre devido a um desequilíbrio entre a agressão bacteriana e a resposta do hospedeiro (Page et al., 1997), pode tornar-se irreversível, e constitui-se um problema de saúde pública em vários países (Botero et al., 2015). Pode resultar em perda dentária impactando negativamente sobre a fala, nutrição, qualidade de vida, e auto-estima, além de apresentar potencial em gerar consequências inflamatórias sistêmicas (Gaffen et al., 2014).

O controle do biofilme supra-gengival tem um efeito redutor sobre periodontopatógenos

como *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythenses* e *Treponema denticola* (Haffajee et al., 2003a). Embora o tratamento mecânico de raspagem e alisamento radicular seja usado para eliminar o biofilme e cálculo que predisõem à progressão da doença, existem algumas limitações para esses métodos, como barreiras anatômicas dentárias, que podem dificultar o acesso e remoção dos microorganismos subgengivais (Haffajee et al., 1997).

Além disso, certas bactérias podem invadir

os tecidos gengivais se não forem removidas pelo tratamento mecânico (Renvert et al., 1990). Desse modo, o uso de antimicrobianos locais e/ou sistêmicos como adjuntos para eliminar periodontopatógenos pode ser indicado como preventivo ou auxiliar no tratamento da DP (Haffajee et al., 2003b)

Clorexidina (Paraskevas, 2005), Cloreto de cetilpiridínio (Alves et al, 2012), Triclosan (Davies et al, 2004) e outras substâncias químicas são utilizadas como auxiliares na inibição da formação de placa bacteriana com o intuito de impedir o desenvolvimento da DP. O digluconato de clorexidina a 0,2% ou 0,12% é um agente antimicrobiano de amplo espectro, e tem tido destaque por seu baixo custo e alta substantividade (Calderini et al, 2013), principalmente quando usado em uma superfície dentária que foi previamente limpa, dessa forma atuando como preventivo na progressão da DP (Brecx, 1997). No entanto, apresenta efeitos colaterais como alteração do paladar e formação de manchas extrínsecas nos dentes e língua, quando usado por períodos prolongados (Eley, 1999).

A resposta do hospedeiro frente a agressão bacteriana é fundamental no desenvolvimento da DP. Dessa forma, é necessário avaliar outras substâncias que além de possuírem propriedades antimicrobianas, atuem também na modulação dessa resposta apresentando a capacidade de reduzir a progressão da doença com ausência de efeitos colaterais.

Substâncias naturais como a própolis têm sido utilizadas na medicina popular e por possuir atividade antimicrobiana, antiinflamatória, (Sonmez et al., 2005; Stepanovic et al., 2003) e imunomoduladora (Dimov et al., 1992), pode ser usada na prevenção da DP. A precisa composição varia com a região, mas em geral a própolis é composta por resina (50%), cera e óleos aromáticos essenciais (30%), misturada com secreção salivar de abelhas (10%), pólen (5%) e outras substâncias (5%) como aminoácidos, minerais, etanol, vitamina A, B, E, e uma mistura de bioflavonóides (Lustosa et al., 2008; Sonmez et al., 2005).

A irrigação com extrato de própolis subgengival após raspagem e alisamento radicular já demonstrou maior efetividade nos parâmetros clínicos e microbiológicos, com redução de *Porphyromonas gingivalis* (Dimov et al., 1992; Gebara et al., 2003; Coutinho, 2012). Entretanto, são escassos os estudos que utilizam metodologia radiográfica para avaliar o efeito da aplicação tópica de extrato de própolis como substância auxiliar no tratamento da DP.

MATERIAL E MÉTODO

Após aprovação pela Comissão de Ética e Experimentação Animal – CEEA do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (parecer nº 003/2009), 48 ratos *Wistar* saudáveis foram pesados e anestesiados por injeção intramuscular com solução estéril de cloridrato de cetamina (0,08ml/100g; Francotar, Virbac, São Paulo-SP, Brasil) associado ao relaxante muscular, analgésico e sedativo Xylasina 2% (0,04ml/100g; Virbaxil, Virbac, São Paulo-SP, Brasil).

Após a anestesia, os animais foram posicionados em uma mesa operatória para abertura da cavidade bucal mantida por argolas de aço. Realizou-se o afastamento dental temporário entre os primeiros e segundos molares inferiores direito com auxílio de uma sonda exploradora número 5.

A ligadura foi realizada com um fio de algodão (Coats Corrente, São Paulo-SP, Brasil) de cor preta, número 24, com auxílio de duas pinças clínicas inserido no sulco gengival dos primeiros molares inferiores direito na posição mais cervical possível, favorecendo o acúmulo do biofilme bacteriano (Nassar et al., 2004).

Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (N=48): Controle, Pincel, Própolis e Clorexidina. O grupo Pincel serviu para verificar o efeito mecânico do pincel, e o grupo Clorexidina para comparação como solução química irrigante. Para avaliar o efeito da própolis em níveis leve e moderado de severidade da doença periodontal, cada grupo foi subdividido em dois subgrupos conforme o tempo de permanência da ligadura, de 7 ou 21 dias.

O grupo Controle não recebeu qualquer tratamento. No grupo Pincel foi manipulado um pincel de pêlos macios nas faces vestibular e mesial dos molares com ligadura sem substância química associada.

O grupo Própolis foi submetido imediatamente à aplicação tópica de uma gota (0,083 ml) de solução alcoólica de extrato de própolis (Propomax, Apis Flora, Ribeirão Preto-SP, Brasil - Própolis verde, extrato padronizado, produzido com 30% de própolis in natura, resultando numa concentração de 11% de extrato seco). Da mesma forma aplicou-se no grupo Clorexidina uma gota da solução de digluconato de clorexidina 0,12% (Farmácias Garrido, São Luis-MA, Brasil).

A manipulação com pincel, aplicação da solução de extrato de própolis 11% ou digluconato de clorexidina 0,12% era diária para cada grupo. Decorridos os tempos experimentais, a eutanásia dos animais foi realizada por anestesia profunda de tiopental sódico na dose de 50mg/kg (Cristália, Itapira-SP, Brasil.)

Análise radiográfica

A análise da perda óssea induzida na face mesial dos primeiros molares direito (grupos experimentais e controle positivo da DP) e esquerdo (controle negativo – sem DP induzida por ligadura) foi realizada após a remoção das mandíbulas dos animais.

Noventa e seis imagens radiográficas das hemi-mandíbulas direita e esquerda foram obtidas por meio de um sistema de imagem digital direta (Kodak® RVG 6100, Kodak® Dental X-ray Division, EUA). O sensor foi exposto à tomada radiográfica a uma potência de 70KVp e 10mA, com tempo de exposição de 15 impulsos/segundo com uma distância foco-sensor padronizada em 70 cm.

A medida (em milímetros) entre a crista óssea e a junção cimento-esmalte na mesial dos primeiros molares inferiores dos ratos foi realizada sobre as imagens radiográficas em triplicata pelo programa Kodak® Dental Imaging Software 6.8.6.0, com intervalos semanais pelo mesmo examinador cego ao grupo experimental avaliado.

Análise estatística

Foi realizada a estatística descritiva (*software* Stata, versão 11.0, StataCorp, Lakeway Drive, College Station, TX, USA) dos resultados incluindo média e desvio padrão (Tabela 1), em seguida o teste Shapiro-Wilk mostrou normalidade nos resultados e dessa forma testes paramétricos

foram usados. O Test t de Student foi utilizado para comparação intra-grupo entre os períodos 7 e 21 dias. Na análise estatística para avaliar a reabsorção óssea entre os grupos foi usado teste de Anova e teste de comparações múltiplas de Tukey nos casos onde Anova mostrou diferença significativa ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Para avaliar a metodologia da doença periodontal induzida por ligadura, as medidas do controle negativo (lado esquerdo sem ligadura) foram comparadas às medidas do lado experimental (direito) para 7 e 21 dias. Utilizando-se o teste T pareado observou-se diferença significativa de perda óssea radiográfica para todos os grupos com ligadura quando comparados aos controles negativos para ambos os períodos ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Quando comparados os grupos (Figura 1) no período de 7 dias, foram observadas diferenças significativas entre grupo Píncel e Controle ($p < 0,05$) e altamente significativas entre grupo Própolis e Controle ($p < 0,01$). Já para 21 dias, apenas o grupo Própolis manteve-se com diferença altamente significativa com o grupo controle ($p < 0,01$).

No período entre 7 e 21 dias, houve perda óssea radiográfica significativa entre os grupos Píncel e Própolis ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

TABELA 1. Valores absolutos após média da leitura radiográfica em triplicata, média e desvio padrão da perda óssea radiográfica (mm) para os grupos experimentais e [não experimentais] após 7 e 21 dias.

		Grupos: Experimental- com ligadura e [Não Experimental- sem ligadura]								
		Rato	Controle		Píncel		Clorexidina		Própolis	
7 dias	1	1,00	[0,50]	0,77	[0,43]	1,10	[0,50]	0,80	[0,43]	
	2	0,60	[0,70]	0,60	[0,47]	0,56	[0,47]	0,53	[0,43]	
	3	1,20	[0,57]	0,67	[0,50]	0,86	[0,53]	0,60	[0,37]	
	4	1,20	[0,37]	0,83	[0,57]	0,73	[0,40]	0,77	[0,43]	
	5	1,13	[0,43]	0,83	[0,53]	0,70	[0,43]	0,63	[0,43]	
	6	1,03	[0,40]	0,67	[0,43]	0,63	[0,40]	0,77	[0,43]	
		Média e Desvio padrão	1,03/ 0,23	[0,49/ 0,12]	0,73/ 0,1	[0,49/ 0,05]	0,76/ 0,19	[0,46/ 0,05]	0,68/ 0,11	[0,42/ 0,02]
21 dias	1	1,00	[0,43]	0,93	[0,43]	0,87	[0,43]	0,87	[0,47]	
	2	1,33	[0,40]	0,87	[0,43]	1,13	[0,43]	0,77	[0,43]	
	3	1,53	[0,40]	0,97	[0,43]	1,03	[0,33]	0,77	[0,50]	
	4	0,80	[0,37]	1,17	[0,40]	0,87	[0,40]	0,53	[0,43]	
	5	1,60	[0,40]	0,90	[0,47]	0,77	[0,43]	0,93	[0,40]	
	6	1,00	[0,40]	0,80	[0,47]	1,00	[0,33]	0,47	[0,43]	
		Média e Desvio padrão	1,21/ 0,32	0,40/ 0,02	0,94/ 0,13	0,44/ 0,02	0,95/ 0,13	0,40/ 0,05	0,72/ 0,18	0,44/ 0,03

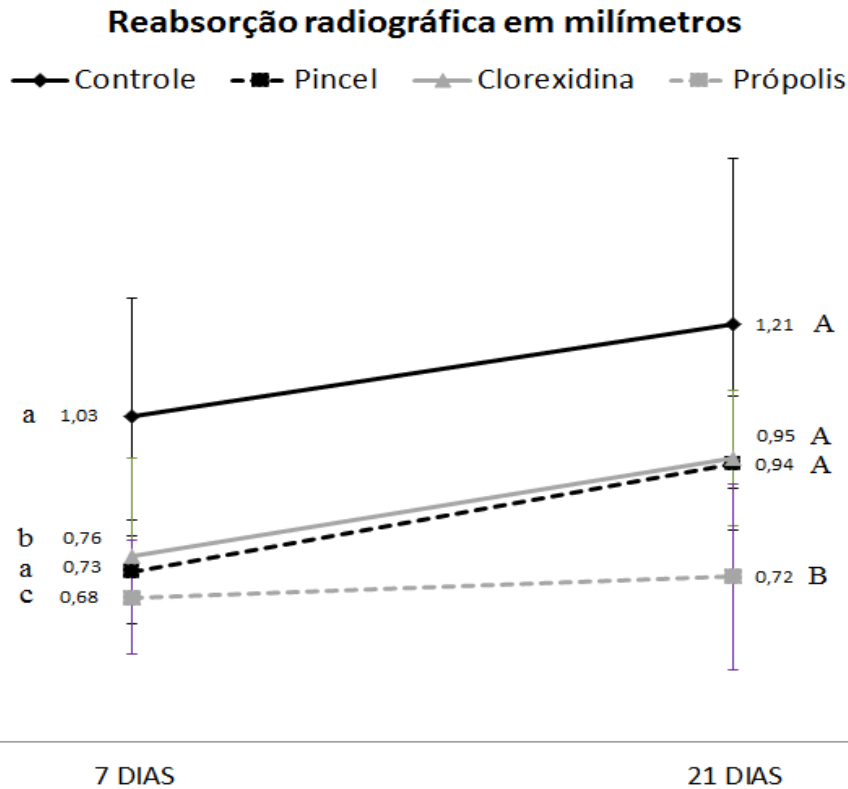


FIGURA 1. Médias e desvios padrão da perda óssea radiográfica (mm) para os grupos experimentais e controle aos 7 e 21 dias de indução da doença periodontal. Letras minúsculas diferentes mostram diferença estatística para 7 dias. Letras maiúsculas diferentes mostram diferença estatística para 21 dias.

DISCUSSÃO

No presente estudo avaliou-se radiograficamente o efeito do extrato alcoólico de própolis 11% na progressão da doença periodontal induzida em ratos. O modelo experimental utilizado de indução da DP é caracterizado pelo progressivo acúmulo de placa e aumento do infiltrado de células inflamatórias que levam a degradação do tecido periodontal (Nassar et al., 2004; Holzhausen et al., 2002; Sallay et al., 1982).

Observou-se perda óssea significativa nos grupos com ligadura quando comparados aos grupos de controle negativo atestando a eficiência da ligadura em acumular biofilme e induzir a perda óssea alveolar de ratos resultando na DP.

O período de indução da doença foi baseado em estudos prévios que tem demonstrado destruição óssea avançada após 30 dias de ligadura em ratos (Johnson et al., 1978; Nociti Júnior et al., 2011). Desse modo, para representar diferentes estágios de evolução da severidade da DP, foram selecionados períodos de 7 e 21 dias de evolução da doença.

A própolis é uma substância natural de grande interesse para Odontologia (De Souza Ferreira et al., 2014), e tem se mostrado como

eficaz coadjuvante no tratamento das doenças periodontais. Pesquisas microbiológicas atestam a efetividade da própolis contra os agentes periodontopatogênicos (Ditterich et al., 2007; Garcia et al., 2004; Öban et al., 2007; Pileggi et al., 2009; Sperança et al., 2007;) e sua atividade antimicrobiana depende de seus componentes químicos como aminoácidos, minerais, etanol, vitamina A, B e E, ácidos aromáticos, ésteres (Sonmez et al., 2005) e flavonóides como galangina, quercetina, kaempferol, acacetina, pinocembrin e pinostrobin (Agarwal et al., 2012; Cheng et al., 1996), dos meios de preparo de suas soluções e do gênero da abelha coletora (Swerts et al., 2002).

Estudos radiográficos dos efeitos da própolis sobre a perda óssea alveolar são escassos, tendo-se encontrado avaliações morfométricas a partir de lâminas histológicas (Toker et al., 2008). Nesta análise foi realizada a comparação dos grupos a partir da medida por triplicata da distância entre a junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar mesial dos primeiros molares inferiores direito (De Almeida et al., 2007).

Os grupos que utilizaram a própolis tiveram a perda óssea radiográfica reduzida significativamente quando comparados aos demais, tanto no período de

7 quanto de 21 dias ($p < 0,01$). Esse efeito é discutido em função da redução no número de osteoclastos e aumento da atividade de osteoblastos devido a presença em grande quantidade do composto flavonóide pinocembrin (Do Amaral et al., 2006).

Os flavonóides agem na membrana microbiana ou superfície da parede celular bacteriana, causando danos funcionais e estruturais (Garcya-Lafuente et al, 2009; Middleton et al, 2000; Öban et al., 2007). O efeito sinérgico dos diferentes compostos da própolis parece ser o mais importante processo para explicar a sua atividade antibacteriana considerando que um único componente não apresenta maior efeito que outro (Santos et al., 2002).

A Propomax® testada neste estudo utiliza própolis verde derivado da *Baccharis dracunculifolia* (Park et al., 2002), uma planta nativa do sudeste e sul do Brasil, também conhecida como própolis verde e contém como principais componentes bioativos a artepilina C e ácidos cumarínicos que são respectivamente relacionados às suas propriedades antibacteriana e antiinflamatória (Moura et al., 2009). O efeito antiinflamatório é obtido com modulação das citocinas e enzimas, supressão da produção de prostaglandinas, leucotrienos, histamina e TGF- β 1 (Moura et al.; 2009; Galvão et al., 2007). Apresentando 11% de concentração de extrato seco da própolis, sua atividade antimicrobiana possui uma acentuada atividade contra bactérias Gram-positivas e contra *Candida albicans*, independente do extrato ser alcoólico ou não (Rezende et al., 2006).

A escolha de um extrato na concentração de 11% é justificada uma vez que diferentes concentrações de própolis (11, 20 e 30%) demonstraram ter a mesma eficácia antibacteriana contra microorganismos presentes na saliva de humanos quando comparada a antissépticos industrializados com outros componentes ativos, o que justificaria seu uso na menor concentração pela ação farmacológica semelhante, e diminuição dos riscos de resistência bacteriana (Simões et al., 2008).

Em uma avaliação do efeito da irrigação subgingival de extrato de própolis utilizando parâmetros clínicos e microbiológicos, foram encontrados resultados favoráveis na utilização do produto como coadjuvante do tratamento da periodontite, tendo um declínio na contagem de bactérias anaeróbicas viáveis (Gebara et al., 2003). Após 24 semanas de tratamento, verificaram também uma diminuição de profundidade de bolsas periodontais no grupo que utilizou a irrigação subgingival com extrato de própolis.

A eficácia do gel de própolis em pacientes com periodontite crônica, utilizando-o em bolsas periodontais dos pacientes uma vez por semana,

por cinco semanas alcançou resultados positivos, mostrando que o uso do extrato de própolis a 10% diminuiu em 95% a gengivite e supuração dos sítios onde o gel foi aplicado (Do Amaral et al., 2006).

Neste estudo, quando comparadas as médias de perda óssea nos grupos experimentais para o período de 7 dias, os grupos Píncel e Própolis mostraram melhor controle da progressão da doença periodontal (respectivamente $p < 0,05$ e $p < 0,01$). Foi observado que o grupo Píncel apresentou menor perda óssea que o grupo Clorexidina provavelmente pelo menor desvio padrão observado.. Já na comparação intra-grupo, não houve progressão significativa da perda óssea radiográfica nos grupos Controle e Clorexidina de 7 a 21 dias, não se observando radiograficamente a eficácia da clorexidina 0,12% em inibir a progressão da DP (Cosyn et al., 2013; Zanatta & Rösing, 2007).

O uso do digluconato de clorexidina a 0,12% na forma líquida, e não viscosa como a própolis, poderia interferir na adesão do composto à superfície dental e assim alterar seus efeitos quando comparado à própolis. Adicionalmente, a clorexidina não atua na modulação da reposta do hospedeiro podendo assim ter menor eficiência que a própolis (Dimov et al., 1992).

Entretanto, o grupo píncel, que simula o efeito mecânico da escovação, não foi capaz de evitar a progressão da perda óssea alveolar aos 21 dias ($p < 0,05$), o que justifica a necessidade de um agente específico auxiliar no controle e formação da placa bacteriana ou progressão da DP.

CONCLUSÃO

Desta forma, através de análise radiográfica, o grupo de animais tratados com a própolis teve resultados mais favoráveis radiograficamente, caracterizado pela redução da progressão da DP induzida por ligadura em ratos aos 7 e 21 dias, demonstrando a importância a utilização desse produto como substância auxiliar no tratamento da DP, justificando-se o emprego de pesquisas que viabilizem a praticabilidade clínica deste composto em reduzir ou inibir a progressão da DP.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, G. et al. Evaluation of chemical composition and efficacy of Chinese propolis extract on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. **Contemporary Clinical Dentistry**, v. 3, n. 3, p. 256-261, 2012.
- ALVES, D. et al. Cloreto de cetipiridínio- revisão de literatura. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Maxilofacial**, v. 53, p. 181-9, 2012.
- BOTERO, J.E. et al. Periodontal disease in children and

- adolescents of Latin America. **Periodontology** 2000, v. 67, n.1, p. 34-57, 2015.
- BREX, M. Strategies and agents in supragingival chemical plaque control. **Periodontology** 2000, v. 15, n. 1, p. 100-108, 1997.
- CALDERINI, A. et al. Adjunctive effect of chlorhexidine antiseptics in mechanical periodontal treatment: first results of a preliminary case serie. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 11, n. 3, p. 180-5, 2013.
- CHENG, P.C. et al. Honey bee propolis: Prospects in medicine. **Bee World**, v. 77, n. 1, p. 8-15, 1996.
- COSYN, J. et al. Clinical effects of an essential oil solution used as a coolant during ultrasonic root debridement. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 11, n. 1, p. 62-68, 2013.
- COUTINHO, A. Honeybee propolis extract in periodontal treatment: a clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. **Indian Journal of Dental Research**, v. 23, n. 2, p. 294, 2012.
- DAVIES, R.M. et al. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 31, n. 12, p. 1029-33, 2004.
- DE ALMEIDA, J.M. et al. Avaliação radiográfica do comportamento do tecido ósseo alveolar após processo de indução de doença periodontal em ratos. **Revista Periodontia**, v. 17, n. 4, p. 85-91, 2007.
- DE SOUZA FERREIRA, S.B. et al. Microparticules containing propolis and metronidazole: in vitro characterization, release study and antimicrobial activity against periodontal pathogens. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 19, n. 2, p. 173-180, 2014.
- DIMOV, V. et al. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. **Vaccine**, v. 10, n. 1, p. 817-823, 1992.
- DITTERICH, R.G. et al. "In vitro" antimicrobial activity of natural substances in toothpastes. **Odontologia Clínico-Científica**, v. 6, n. 4, p. 303-307, 2007.
- DOAMARAL, R. et al. Periodontitis treatment with brazilian green propolis gel. **Pharmacology Online**, v. 3, p. 336-341, 2006.
- ELEY, B.M. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque - a review. **Brazilian Dental Journal**, v. 186, p. 286-296, 1999.
- GAFFEN, S.L. et al. Recent advances in host defense mechanisms/therapies against oral infectious diseases and consequences for systemic disease. **Advances in Dental Research**, v.26, n. 1, p. 30-7, 2014.
- GALVÃO, J. et al. Biological therapy using propolis as nutritional supplement in cancer treatment. **International Journal of Cancer Research**, v. 3, n. 1, p. 43-53, 2007.
- GARCIA, R.C. et al. Efeito do extrato alcoólico sobre a *Pasteurella multocida* "in vitro" e em coelhos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, p. 69-77, 2004.
- GARCIA-LAFUENTE, A. et al. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. **Inflammation Research**, v. 58, p. 537-552, 2009.
- GEBARA, E.C. et al. Propolis extract as an adjuvant to periodontal treatment. **Oral Health & Preventive Dentistry**, v. 1, p. 29-35, 2003.
- HAFFAJEE, A.D. et al. Controlling the plaque biofilm. **International Dental Journal**, v. 53, n. 3, p. 191-199, 2003a.
- HAFFAJEE, A.D. et al. Systematic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. **Annals of Periodontology**, v. 8, n. 1, p. 115-181, 2003b.
- HAFFAJEE, A.D. et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 24, n. 5, p. 324-334, 1997.
- HOLZHAUSEN, M. et al. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature induced periodontitis in rats. **Journal of Periodontology**, v. 73, n. 9, p. 1030-1036, 2002.
- JOHNSON, D.A. et al. Role of bacterial products in periodontitis: Immune response in gnotobiotic rats monoinfected with *Eikenella corrodens*. **Infection and Immunity**, v. 19, n. 1, p. 246-253, 1978.
- LUSTOSA, S.R. et al. Própolis: Atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, 2008.
- MIDDLETON, E. et al. The effect of plants flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, p. 673-751, 2000.
- MOURA, S.A.L. et al. Brazilian green propolis inhibits inflammatory angiogenesis in a murine sponge model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 1, p.1-7, 2009.
- NASSAR, C.A. et al. Effect of cyclosporin A on alveolar bone homeostasis in a rat periodontitis model. **Journal of Periodontal Research**, v. 39, n. 3, p. 143-148, 2004.
- NOCITI JUNIOR, F.H. et al. Histometric evaluation of the effect of nicotine administration on periodontal breakdown: an in vivo study. **Journal of Periodontology**, v. 36, n. 6, p. 361-366, 2011.
- ÖBAN, F. et al. Effect mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblast. **European Journal of Dentistry**, v. 1, n. 4, p. 195-201, 2007.
- PAGE, R.C. et al. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontology** 2000, v. 14, p. 9-11, 1997.
- PARASKEVAS, S. Randomized controlled clinical trials on agents used for chemical plaque control. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 3, n. 4, p. 162-78, 2005.
- PARK, Y.K. et al. Botanical origin and chemical composition of brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.
- PILEGGI, R. et al. Propolis inhibits osteoclast maturation. **Dental Traumatology**, v. 25, n. 6, p. 584-588, 2009.
- RENVERT, S. et al. On the inability of root debridement and periodontal surgery to eliminate *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from periodontal pockets. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 17, n. 6, p. 351-355, 1990.
- REZENDE, G.P.S. et al. Antimicrobial activity of two brazilian commercial propolis extracts. **Brazilian Journal of Oral Science**, v. 5, n. 16, p. 967-970, 2006.
- SALLAY, K. et al. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **Journal of Periodontology**, v. 17, n. 3, p. 263-274, 1982.

- SANTOS, F.A. et al. Antibacterial activity of brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, n. 1, p. 1-7, 2002.
- SIMÕES, C.C. et al. Estudo *in vitro* e *ex vivo* de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microorganismos presentes na saliva de humanos. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 84-89, 2008.
- SONMEZ, S. et al. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, n. 3, p. 371-376, 2005.
- SPERANÇA, P.A. et al. Evaluation of antimicrobial activity of solutions propolis upon microorganisms of the periodontal pockets – study in vitro. **Revista Periodontia**, v. 17, n. 4, p. 54-59, 2007.
- STEPANOVIC, S. et al. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. **Microbiological Research**, v. 158, n. 4, p. 353-357, 2003.
- SWERTS, M.S.O. et al. Atividade antimicrobiana da própolis sobre bactérias bucais. **Jornal Brasileiro de Endo/Perio**, v. 3, n. 10, p. 256-261, 2002.
- TOKER, H. et al. A morphometric and histologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 6, p. 1089-1094, 2008.
- ZANATTA, F.B.; RÖSING C.K. Clorexidina: mecanismos de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. **Scientific-A**, v. 1, n. 2, p. 35-43, 2007.