

Atividade da Própolis Vermelha no controle de bactérias da cavidade oral

Activity of Red Propolis in the control of bacteria in the oral cavity

Actividad del propóleo rojo en el control de bacterias en la cavidad bucal

Recebido: 31/08/2021 | Revisado: 08/09/2021 | Aceito: 23/10/2021 | Publicado: 24/10/2021

Daniela Caroline Barbosa da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2288-8330>
Centro Universitário UniFacid, Brasil
E-mail: chicaovet@gmail.com

Helena Maria Reinaldo Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4892-9137>
Centro Universitário UniFacid, Brasil
E-mail: helenareinaldo@hotmail.com

Francisco Laurindo da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6837-4509>
Centro Universitário UniFacid, Brasil
E-mail: flspb@yahoo.com.br

Francisco das Chagas Araújo Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7244-9729>
Universidade Estadual do Piauí, Brasil
E-mail: franciscoaraujo@ccs.uespi.br

Wenderson Costa da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6031-9775>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: wendersoncosta09@hotmail.com

Liana Cynthia de Macedo Reis

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7304-7713>
Instituto Federal do Piauí, Brasil
E-mail: lianareis@ifpi.edu.br

Marcos André Arrais de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7652-0198>
Centro Universitário UniFacid, Brasil
E-mail: marcosarraiss007@gmail.com

Alice de Castro Cruz Pimentel

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4825-0362>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: kas201587@outlook.com

Daniel Rodrigues Furtado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8122-182X>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: danielrodrigues.d1234@gmail.com

Augusto Cesar Evelin Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7469-981X>
Centro Universitário UniFacid, Brasil
E-mail: augustocevelin@yahoo.com.br

Adrielle Martins Monteiro Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1661-9399>
Aespi Ensino Superior do Piauí, Brasil
E-mail: adriellemonteiro@hotmail.com

Renan Paraguassu de Sá Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8108-4669>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: renanparaguasu@hotmail.com

Amanda Laurindo Monteiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4832-4544>
Centro Universitário UniFacid, Brasil
E-mail: amandalaurindo_@hotmail.com

Resumo

Produtos de fonte de naturais estão sendo estudado para preservar a saúde humana, inclusive para prevenir doenças orais, pelo fato de medicamentos industrializados poderem acarretar resistência bacteriana e efeitos adversos. A própolis vermelha uma substância resinosa e complexa, de origem natural produzida pelas abelhas, têm propriedades terapêuticas, como atividade antimicrobiana e anti-inflamatória. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito antibacteriano da própolis vermelha no controle de bactérias da cavidade oral e os objetivos específicos foram

comparar o efeito da própolis com efeito da clorexidina e determinar em quais cepas bacterianas a própolis apresentava maior eficácia. Utilizou-se cepas de *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212) e *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923). A atividade antimicrobiana da própolis foi determinada pelo método de difusão em ágar com a técnica de poços. Os poços foram preenchidos com 40 µL das soluções de clorexidina 0,12% (controle positivo), própolis vermelha em concentrações de 12%, 6%, 3%, 1,2%, 0,12%, 0,012% e água destilada (controle negativo). Os testes aconteceram em triplicata e a análise estatística foi realizada através do teste T de Student. Os dados foram organizados em tabelas e gráficos para a demonstração dos resultados obtidos. Considerou-se como significantes valores de $p < 0,05$. Observou-se que a própolis de maneira geral apresentou efetividade semelhante ao da clorexidina em bactérias Gram-positivas. Pode-se concluir que a própolis vermelha em suas variadas concentrações, apresentaram efeitos antimicrobianos. Sua efetividade foi tão boa quanto o da clorexidina em bactérias Gram-positivas e em bactérias Gram-negativas não houve efeito inibitório.

Palavras-chave: Antibacterianos; Fitoterápicos; Própolis.

Abstract

Natural-source products are being studied to preserve human health, including to prevent oral diseases, because industrialized drugs can cause bacterial resistance and adverse effects. Red propolis, a resinous and complex substance, of natural origin produced by bees, has therapeutic properties such as antimicrobial and anti-inflammatory activity. The objective of this work was to verify the antibacterial effect of red propolis in the control of bacteria in the oral cavity and the specific objectives were to compare the effect of propolis with the effect of chlorhexidine and determine in which bacterial strains propolis was more effective. Strains of *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212) and *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923) were used. The antimicrobial activity of propolis was determined by the agar diffusion method with the well technique. The wells were filled with 40 µL of 0.12% chlorhexidine solutions (positive control), red propolis in concentrations of 12%, 6%, 3%, 1.2%, 0.12%, 0.012% and distilled water (negative control). Tests were performed in triplicate and statistical analysis was performed using Student's t test. Data were organized into tables and graphs to demonstrate the results obtained. Values of $p < 0,05$ were considered significant. It was observed that propolis in general showed similar effectiveness to chlorhexidine in Gram-positive bacteria. It can be concluded that red propolis in its varied concentrations had antimicrobial effects. Its effectiveness was as good as that of chlorhexidine in Gram-positive bacteria and in Gram-negative bacteria there was no inhibitory effect.

Keywords: Antibacterials; Herbal Medicines; Propolis.

Resumen

Natural-source products are being studied to preserve human health, including to prevent oral diseases, because industrialized drugs can cause bacterial resistance and adverse effects. Red propolis, a resinous and complex substance, of natural origin produced by bees, has therapeutic properties such as antimicrobial and anti-inflammatory activity. The objective of this work was to verify the antibacterial effect of red propolis in the control of bacteria in the oral cavity and the specific objectives were to compare the effect of propolis with the effect of chlorhexidine and determine in which bacterial strains propolis was more effective. Strains of *Escherichia coli* (ATCC-25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212) and *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923) were used. The antimicrobial activity of propolis was determined by the agar diffusion method with the well technique. The wells were filled with 40 µL of 0.12% chlorhexidine solutions (positive control), red propolis in concentrations of 12%, 6%, 3%, 1.2%, 0.12%, 0.012% and distilled water (negative control). Tests were performed in triplicate and statistical analysis was performed using Student's t test. Data were organized into tables and graphs to demonstrate the results obtained. Values of $p < 0,05$ were considered significant. It was observed that propolis in general showed similar effectiveness to chlorhexidine in Gram-positive bacteria. It can be concluded that red propolis in its varied concentrations had antimicrobial effects. Its effectiveness was as good as that of chlorhexidine in Gram-positive bacteria and in Gram-negative bacteria there was no inhibitory effect.

Palabras clave: Actividad antibacterial; Fitoterápico; Propóleos.

1. Introdução

O biofilme é muito heterogêneo em sua formação estrutural apresentando diferentes espécies bacterianas. Caso não seja removido pode causar duas das doenças, mais prevalentes na população brasileira: a cárie dental e a doença periodontal (Pedrazzi, Souza, Oliveira, Cimões, & Gusmão, 2009).

A cárie é uma doença multifatorial, que pode evoluir para uma série de problemas bucais complicados, incluindo endodontite e periodontite periapical, afetando negativamente a qualidade de vida das pessoas. Já a doença periodontal segundo Marin, Holderied, Salvati e Bottan (2012), é uma doença infecto-inflamatória que acomete os tecidos de suporte e de sustentação que se manifesta através de dois quadros clínicos: gengivite e periodontite.

Para evitar tais doenças, o controle do biofilme dentário pode ser feito de forma mecânica que inclui escovação e utilização de fio dental e a forma química, que não substitui a forma mecânica, mas auxiliam e complementam o controle do biofilme. O controle químico do biofilme dental vem sendo bastante estudado principalmente por duas razões: a primeira pela ação antimicrobiana de substâncias como a clorexidina que podem eliminar e combater os agentes etiológicos das doenças cárie e periodontal; a segunda, pelo efeito benéfico dos antissépticos bucais como coadjuvantes ou substitutivos ao controle mecânico do biofilme, para pessoas com dificuldade motora de realizar uma boa higiene (Stefanello, Souza, & De Castro, 2017).

Dentre os agentes químicos utilizados para o controle bacteriano do biofilme dentário, a clorexidina é considerada o padrão-ouro, sendo eficaz, porém possui efeitos adversos, quando utilizada por tempo prolongado, sendo necessário estudos para desenvolver produtos que apresentem ações semelhantes a clorexidina, mas sem efeitos secundários. Produtos fitoterápicos é uma das opções que vem se destacando há décadas por suas vantagens: poucos efeitos adversos em comparação a produtos sintéticos, baixo custo e fácil acessibilidade (Silva, Ferreira, Capela, & Botelho, 2017).

Entre os produtos fitoterápicos que mais se destacam é a própolis que é uma substância resinosa e complexa produzida pelas abelhas, e possui propriedades terapêuticas, como atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e cicatrizante (Siqueira et al., 2014).

Graças a essas propriedades, a falta de estudos e a aceitação popular por produtos fitoterápicos leva-se boas perspectivas na odontologia sobre o mesmo desde que estudos laboratoriais e clínicos específicos comprovem a eficácia do produto e que tenham o mínimo possível de efeitos adversos. Por esse motivo o objetivo geral do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana do extrato de própolis vermelhas. E especificamente avaliar atividade antibacteriana da própolis vermelha sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, e *Escherichia coli* além de, verificar em quais cepas apresentou melhor atividade e comparado seu efeito com a clorexidina.

2. Metodologia

2.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo experimental, de natureza aplicada, de caráter explicativo com abordagem quantitativa. Nos métodos quantitativos geram conjuntos de dados que podem ser analisados por meio de técnicas matemáticas, como percentual, estatísticas e probabilidades, métodos numéricos, métodos analíticos e a geração de equações e / ou fórmulas matemáticas aplicáveis a qualquer processo (Sousa et al., 2021a; Sousa et al., 2021b; De Oliveira et al., 2020).

A pesquisa foi realizada no laboratório de microbiologia de uma Instituição Privada de ensino do Piauí. Como participante do estudo foi utilizado a própolis vermelha.

2.2 Obtenção e manutenção das cepas bacterianas

A Sociedade Brasileira de Microbiologia recomenda o uso de cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC) para o controle de qualidade dos trabalhos com bactérias. Nesse estudo foram utilizadas cepas de *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922) e *E. faecalis* (ATCC 29212), que foram adquiridas comercialmente. As cepas estavam liofilizadas e antes dos testes foram hidratadas em soro fisiológico e mantidas em repouso por 1 h. Após esse tempo, foram semeadas em placas de Petri com *ágar Brain Heart Infusion* (BHI). As placas foram incubadas em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio)

por 48 h. As bactérias foram replicadas sucessivamente em meios de cultura (BHI) com objetivo de manter suas propriedades. Esse procedimento foi realizado até finalizar os testes de suscetibilidade (Sousa et al., 2020).

2.3 Preparo dos meios de cultura para os testes de suscetibilidade

As placas para os testes de suscetibilidade foram formadas de duas camadas, sendo a primeira composta por ágar-ágar e a segunda de ágar Muller-Hinton e inoculo bacteriano. Para a formação da primeira camada, composta de ágar-ágar foi utilizado 10,6 gramas do ágar diluídos em 300 ml de água destilada, conforme a recomendação do fabricante. A mistura foi agitada suavemente e levada ao bico de Bunsen até dissolução total no meio de cultura. Alíquotas de 15 ml do meio foram colocadas em 15 tubos de ensaio e esterilizadas na autoclave à temperatura de 120°C por 15 minutos. Após esterilização as alíquotas foram entornadas em placas de Petri, com tamanho de 90 x 15 mm descartáveis e esterilizadas (Pleion®), e postas em repouso até solidificação do meio de cultura.

A segunda camada era composta de ágar Muller-Hinton, para tanto, 3,6 g de soluto foram diluídas em 300 ml de água destilada. Alíquotas de 13 ml desse meio foram colocadas em 15 tubos de ensaio e esterilizadas na autoclave à temperatura de 120°C por 15 minutos.

2.4 Obtenção dos extratos

Foi obtido através de mercado de produtos naturais o extrato alcoólico de própolis vermelha. Por conter álcool em sua composição foi realizado um estudo piloto para averiguar a eficácia da sua atividade antibacteriana.

Após comprovado a eficácia do extrato alcoólico a substância passou por um processo de evaporação com a finalidade de analisar sua atividade sem interferência do álcool.

O processo de evaporação do álcool ocorreu colocando-se a solução de própolis em um béquer e levado a estufa em temperatura de 40°C por 24 horas para a obtenção do extrato bruto da própolis vermelha.

Após a obtenção do extrato bruto de própolis vermelha, em um eppendorf colocou-se 0,132 g do mesmo mais 1ml de Dimetilsufóxido (DMSO) e agitou-se para sua homogeneização. Desse modo obteve-se a própolis na concentração de aproximadamente 12% como encontrada no mercado, porém diluída em DMSO solução neutra, para que não houvesse interferência nos resultados.

2.5 Preparo do inoculo bacteriano

Por meio de uma alça de platina esterilizada foi realizada a inoculação dos microrganismos recentemente replicados, em 15 tubos de ensaio com 1 ml de soro fisiológico a 0,9% e após a inoculação verificou-se a turbidez com base na escala 0,5 de *McFarland*.

McFarland é uma escala nefelométrica de 11 tubos, numerada de 0,5 a 10, cujo padrão de turvação é o mais frequentemente utilizado nos laboratórios de microbiologia em diversos países, para determinar a intensidade de multiplicação bacteriana em meios de cultivo líquidos. A multiplicação bacteriana se opõe à passagem da luz, o que provoca a turvação e a opacificação do meio. Quanto maior o número de bactérias presentes na amostra, maior será o grau de turvação do meio de cultura. Recomendada pela *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018) nos Estados Unidos, a escala nefelométrica de *McFarland* foi adotada e também recomendada pela ANVISA no Brasil. Com essa regulamentação, é possível estabelecer um padrão que pode ser aferido em qualquer local do país, tornando a leitura de seus resultados correspondente (Scalia, Dolci, Ueda, & Sassagawa, 2015).

2.6 Preparo das placas para a realização dos testes de suscetibilidade

Para a realização dos testes de suscetibilidade, pipetou-se 1 ml da suspensão bacteriana e em seguida foi adicionado aos 13 ml de ágar Muller-Hinton, mantido à temperatura de 45°C no banho-maria.

A segunda camada (ágar Muller-Hinton e suspensão bacteriana) foi entornada sobre a primeira (ágar-ágar) e poços foram confeccionados na segunda camada, mediante a utilização de ponteiros plásticos esterilizados de 6,0 mm de diâmetros. Em cada poço foi pipetado 40 µL de cada substância.

2.7 Avaliação da atividade antibacteriana da Própolis vermelha pelo método de difusão em ágar

Todos os ensaios foram realizados em triplicata utilizando-se cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC) *E. coli* (25922) e *S. aureus* (25923) e *E. faecalis* (29212). A determinação da atividade antibacteriana foi realizada pela técnica da difusão em ágar em poços. Como controle positivo utilizou-se um antisséptico, a clorexidina na concentração de 0,12%.

Nos poços formados na segunda camada foram adicionados 40 µL da própolis vermelha. As placas foram incubadas a temperatura de 36°C em estufa BOD por 48h. Após período de incubação foi realizada a leitura dos resultados, que consistiu em medir o diâmetro dos halos de inibição formados, com auxílio de uma régua milimetrada.

Segundo as normas da *CLSI* (2018) os halos de inibição podem variar de acordo com a metodologia utilizada assim como as concentrações, porém faz uma correlação entre o tipo de bactéria em estudo e os antimicrobianos sintéticos, para que possa ser feita uma mensuração dos valores encontrados e determinar se houve ou não inibição de crescimento. Foi considerado, como resultado final da própolis, a média das três medidas e, como suscetível a formação de halo com diâmetro igual ou superior a 8 mm.

2.8 Determinação da atividade antimicrobiana da própolis vermelha em diluições seriadas

A determinação da atividade antimicrobiana de extratos em diluição seriada foi realizada conforme recomendada pela *CLSI* (2018) com as mesmas bactérias utilizadas nos testes de difusão em ágar. A própolis foi diluída em DMSO nas concentrações de 1/2, 1/4, 1/10, 1/100 e 1/1000. Em cada orifício da placa teste foram micropipetados 40 µL de própolis em diluição seriada. As placas foram incubadas a 36 ° C por 48 h sem agitação. Após período de incubação foi realizada a leitura dos resultados, que consistiu em medir o diâmetro dos halos de inibição formados. Os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos conforme especificados anteriormente.

2.9 Análise de Dados

Os dados foram analisados usando *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, Chicago, IL, EUA.), versão 20.0. Realizou-se análise descritiva dos dados, apresentando-os com média, desvio padrão. Para verificar o padrão de normalidade das variáveis realizou-se o teste *Shapiro-wilk*. Verificou-se que as variáveis não seguiam o padrão de normalidade com valor de *p* do teste menor que 0,05. Assim, os testes selecionados foram *T Student*, *Kruskall-Wallis* e *Wilcoxon*. Considerou-se como significante valores de $p < 0,05$.

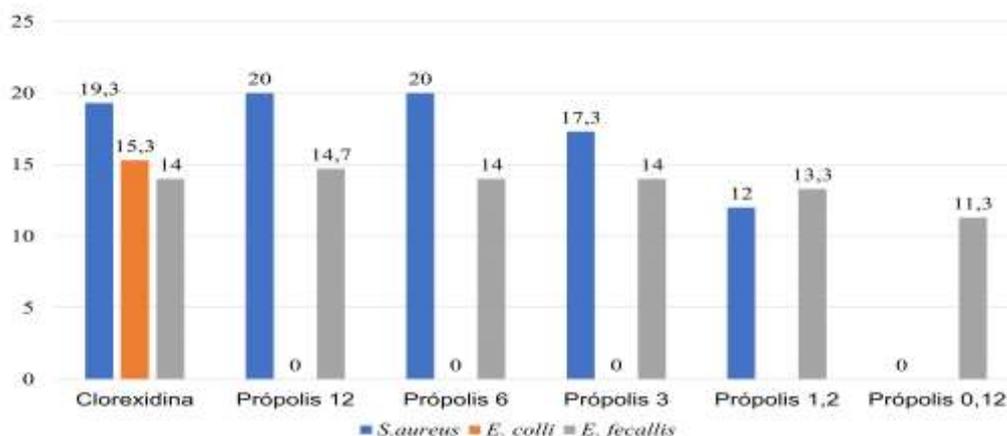
O estudo não foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) porque não realizou procedimentos em seres humanos ou animais. As bactérias que foram utilizadas nesse procedimento são cepas industrializadas.

3. Resultados e Discussão

Nesta pesquisa observou-se a atividade antibacteriana da própolis vermelha nas concentrações 12%, 6%, 3%, 1,2%, 0,12%, e visto que a própolis nas concentrações acima de 3% tem ação semelhante a clorexidina 0,12%. O Gráfico 1 apresenta o valor médio de inibição do halo para clorexidina e diferentes concentrações de própolis. De acordo com os resultados, as

amostras de própolis vermelha apresentaram atividade antimicrobiana entre as cepas de bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. A clorexidina a 0,12% considerada o padrão ouro apresentou atividade antimicrobiana para todas as bactérias estudadas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*). A água destilada, por não possuir este efeito, foi usada como controle negativo.

Gráfico 1. Média de inibição do halo bacteriano para diferentes tipos de soluções. Teresina, PI, Brasil, 2018.



Fonte: Autores (2018).

Conforme os valores obtidos, a clorexidina teve efeito inibitório em todos os microrganismos testados, sendo sobre *Staphylococcus aureus* o maior efeito, e o menor sobre *E. faecalis*. A própolis em todas as concentrações apresentou atividade contra *E. faecalis*. O maior efeito inibitório da própolis foi contra *S. aureus* e o menor na *E. coli*.

Os dados encontrados nesse estudo estão de acordo com a literatura (Silva et al., 2019; Akca et al., 2016). Os artigos mostraram maior atividade antimicrobiana da própolis contra bactérias gram-positivas e reduzida contra bactérias gram-negativas, isso significa que as médias dos halos formados foram insignificantes (Silva et al., 2019; Akca et al., 2016). Este resultado pode ser explicado pelas diferenças estruturais nas paredes celulares dessas bactérias. As bactérias gram-negativas apresentam uma parede quimicamente mais complexa, proporcionando maior resistência (Araújo et al., 2010).

A efetividade da inibição do halo bacteriano do *S. aureus* está evidenciada na tabela, no qual foi comparado as soluções de clorexidina com própolis em diferentes concentrações. As amostras de própolis vermelha demonstraram potentes propriedades inibitórias nas concentrações de 12%, 6%, 3% e 1,2% possuindo o mesmo efeito antibacteriano que a clorexidina (valor de $p > 0,05$). As substâncias de própolis com concentrações de 0,12% e 0,012% e água destilada não apresentaram atividade.

Tabela 1. Associação entre clorexidina e diferentes concentrações de própolis para verificação da ação de inibição do halo bacteriano para *S. aureus*. Teresina, PI, Brasil, 2018.

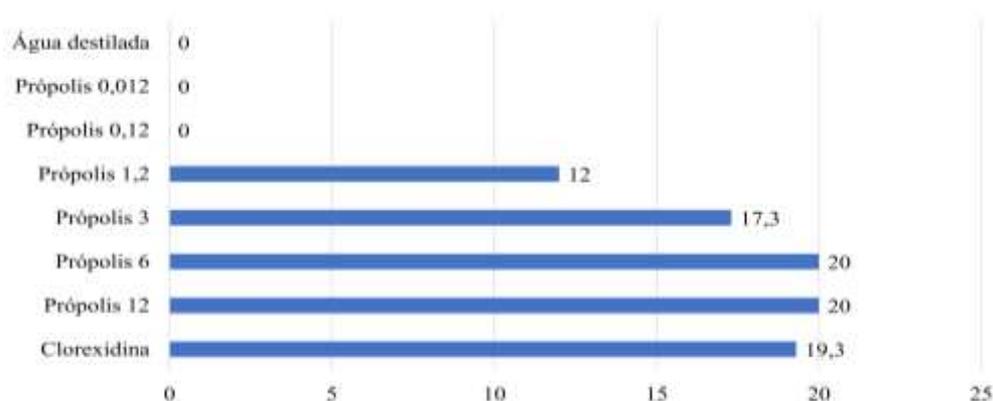
Variáveis	N	Média	Desvio padrão	Valor de p	
Par 1	Clorexidina	3	19,3	1,2	0,667
	Própolis 12%	3	20,0	0,0	
Par 2	Clorexidina	3	19,3	1,2	-
	Própolis 6%	3	20,0	2,0	
Par 3	Clorexidina	3	19,3	1,2	-
	Própolis 3%	3	17,3	1,2	
Par 4	Clorexidina	3	19,3	1,2	0,423
	Própolis 1.2%	3	12,0	0,0	
Par 5	Clorexidina	3	19,3	1,2	-
	Própolis 0.12%	3	0,0	0,0	
Par 6	Clorexidina	3	19,3	1,2	-
	Própolis 0.012%	3	0,0	0,0	
Par 7	Clorexidina	3	19,3	1,2	-
	Água destilada	3	0,0	0,0	

Fonte: Autores (2018).

Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com a literatura (Rufatto et al., 2018; Akca et al., 2018). Os autores mostraram que o extrato de própolis vermelha foi mais ativo contra *S. aureus*. Apesar do mecanismo de atividade da própolis em microrganismos ainda não serem bem compreendidos, alguns autores sugerem que seja pelos componentes químicos presentes, como os flavonoides. Eles provavelmente atuam na membrana citoplasmática microbiana ou no local da parede celular, causando danos funcional e estrutural (Rufatto et al., 2018).

De conformidade com o Gráfico 2, mostra a média de halo de inibição de cada diluição de própolis (12%, 6%, 3%, 1.2%, 0,12%) realizada contra *S. aureus*. Nas concentrações 1,2%, 0,12% e 0,012% não apresentou efeito antibacteriano, somente nas demais concentrações analisadas.

Gráfico 2. Média de inibição de halo bacteriano para *S. aureus* para diferentes soluções antibacterianas. Teresina, PI, Brasil, 2018.



Fonte: Autores (2018).

A Tabela 2 mostra a atividade antimicrobiana da própolis para a bactéria *Enterococcus faecalis* comparada a clorexidina. As concentrações 12%, 6%, 3%, de própolis demonstraram o mesmo efeito antibacteriano que a clorexidina (valor de $p > 0,05$) e as demais diluições não exibiram efeito antibacteriano (valor de $p < 0,05$). A própolis na concentração de 12% apresentou maior halo comparada as outras diluições e a clorexidina (gráfico 3). No entanto nas concentrações 6% e 3%

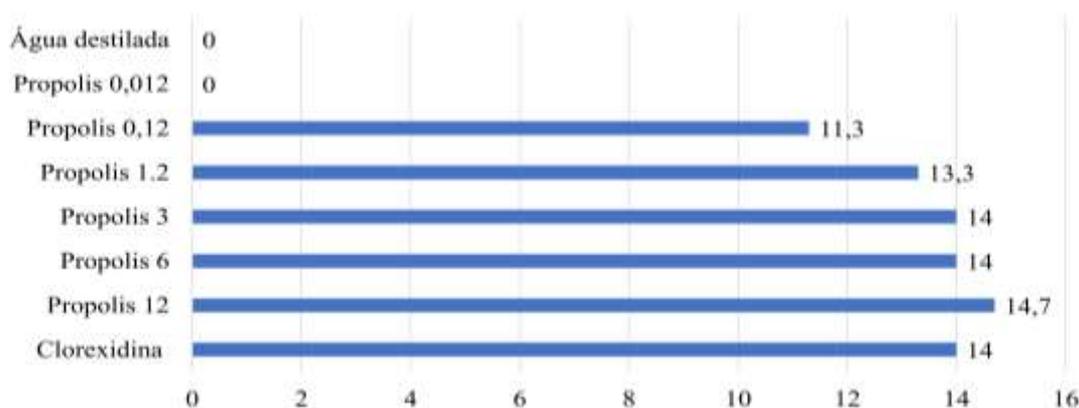
apresentaram a mesma média de halo que a clorexidina. As diluições de própolis de 1,2% e 0,12% apresentaram halos menores que a clorexidina e nas demais não provocaram efeito inibitório contra *E. faecalis*.

Tabela 2. Associação entre clorexidina e diferentes concentrações de própolis para verificação da ação de inibição do halo bacteriano para *Enterococcus faecalis*. Teresina, PI, Brasil, 2018.

Variável	N	Média	Desvio padrão	Valor de p	
Par 1	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,423
	Própolis 12%	3	14,7	2,3	
Par 2	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,423
	Própolis 6%	3	14,0	0,0	
Par 3	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,225
	Própolis 3%	3	14,0	0,0	
Par 4	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,008
	Própolis 1.2%	3	13,3	1,2	
Par 5	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,001
	Própolis 0.12%	3	11,3	1,2	
Par 6	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,001
	Própolis 0.012%	3	0,0	0,0	
Par 7	Clorexidina	3	14,0	0,0	0,001
	Água destilada	3	0,0	0,0	

Fonte: Autores (2018).

Gráfico 3. Média de inibição de halo bacteriano para *Enterococcus faecalis* para diferentes soluções antibacterianas. Teresina, PI, Brasil, 2018.

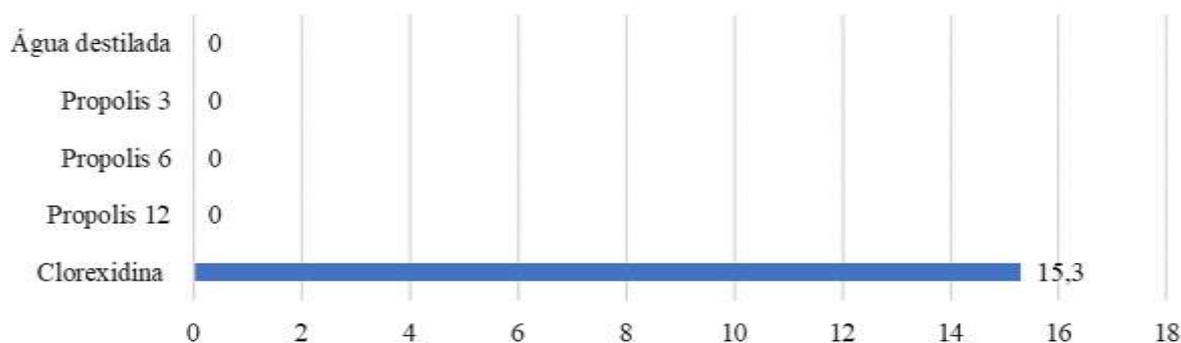


Fonte: Autores (2018).

Siqueira et al. (2014), verificaram que a própolis a 7,5% apresentou efetividade contra a *E. faecalis*, tendo ação comparada à do hipoclorito de sódio, utilizado como controle positivo em seu estudo. Assim, os autores afirmaram que a própolis também pode ser utilizada como medicamento intracanal, já que ela possui atividade contra essa bactéria comum no insucesso de tratamento endodôntico.

Com relação a *E. coli*, pôde-se constatar (Gráfico 4) que a própolis não apresentou halo inibitório, já a clorexidina, teve efeito positivo (15,3 mm). Isso é explicado pelo fato de a parede celular das bactérias gram-negativa ser mais resistente comparada as bactéria gram-positiva (Araújo et al., 2010).

Gráfico 4. Média de inibição de halo bacteriano para *E. coli* para diferentes soluções antibacterianas. Teresina, PI, Brasil, 2018.



Fonte: Autores (2018).

Os dados da Tabela 3 mostram a própolis comparada a clorexidina contra a *E. coli*, onde pôde-se verificar que as concentrações das amostras utilizadas na pesquisa não apresentaram efeito antibacteriano (valor de $p < 0,05$).

Em um estudo realizado por Silva et al. (2019) apresentaram como resultados a eficácia antibacteriana do extrato alcoólico na bactéria *E. coli*. Comparando os resultados desses autores com o presente estudo verificou-se uma contradição nos resultados, isto pode ser explicado mediante o tipo de meio que a própolis vermelha foi diluída. Como foi visto, nesta pesquisa utilizou-se o DMSO, considerado um veículo neutro. Já no estudo de Silva et al. (2019) foi utilizado álcool como solvente, substância com ação antimicrobiana. Supõe-se que a ação inibitória do extrato sobre a *E. coli* seja decorrente do álcool.

Deve-se ressaltar que os achados na literatura e do presente estudo, corroboraram com o entendimento de que a atividade antibacteriana depende não apenas da origem da própolis, mas também do extrato e solvente utilizados no preparo.

Tabela 3. Associação entre clorexidina e diferentes concentrações de própolis para verificação da ação de inibição do halo bacteriano para *E. coli*. Teresina, PI, Brasil, 2018.

Variável	<i>n</i>	Média	Desvio padrão	Valor de <i>p</i>	
Par 1	Clorexidina	3	15,3	1,2	0,002
	Própolis 12%	3	0,0	0,0	
Par 2	Clorexidina	3	15,3	1,2	0,002
	Própolis 6%	3	0,0	0,0	
Par 3	Clorexidina	3	15,3	1,2	0,002
	Própolis 3%	3	0,0	0,0	
Par 4	Clorexidina	0	-	-	-
	Própolis 1,2%	0	-	-	-
Par 5	Clorexidina	0	-	-	-
	Própolis 0,12%	0	-	-	-
Par 6	Clorexidina	0	-	-	-
	Própolis 0,012%	0	-	-	-
Par 7	Clorexidina	3	15,3	1,2	0,002
	Água destilada	3	0,0	0,0	

Fonte: Autores (2018).

Conforme dados da literatura as amostras de própolis mostraram maior atividade contra as cepas de bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *E. faecalis*) do que em cepas bacterianas Gram-negativas (*E. coli*). Como já explicado por Araújo et al. (2010) isso pode ser compreendido pelas diferenças estruturais nas paredes celulares desses microrganismos e pela quantidade de flavonoides do extrato (Rufatto et al., 2018).

O presente estudo demonstrou que a própolis a 12% e a 6% em bactérias gram-positiva foi tão eficiente quanto à clorexidina. Deste modo ficou evidente que a mesma pode ser substituída em casos seletivos à clorexidina tendo como vantagem tratar-se de produto natural, o que reduz a possibilidade de causar reações adversas, em comparação aos produtos industrializados (Swerts et al., 2002).

Avaliando estatisticamente a Tabela 4 observou-se que, a clorexidina apresentou efeito superior na bactéria *S. aureus* quando comparado as outras bactérias avaliadas ($p = 0,01$). A própolis nas concentrações 12%, 6% e 3% teve ação antibacteriana maior em *S. aureus* em relação a *E. coli* e *E. faecalis*, o que nos leva a conclusão que os efeitos da própolis e clorexidina são semelhantes. Todavia a própolis a 1,2% apresentou efetividade igual nas bactérias *E. faecalis* e *S. aureus* ($p = 0,116$). Na concentração da própolis a 0,12% a efetividade foi considerada maior nas cepas de *E. faecalis*.

Tabela 4. Associação do tipo de solução com o efeito de halo de inibição em diferentes bactérias. Teresina, PI, Brasil, 2018.

	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. fecalis</i>	Valor de p
	Média (desvio padrão)	Média (desvio padrão)	Média (desvio padrão)	
Clorexidina	19,3 (1,2)	15,3 (1,2)	14,0 (0,0)	0,001
Água destilada	0,0 (0,0)	0,0 (0,0)	0 (0,0)	-
Própolis 12%	20,0 (0,0)	0,0 (0,0)	14,7 (2,3)	<0,001
Própolis 6%	20,0 (2,0)	0,0 (0,0)	14,0 (0,0)	<0,001
Própolis 3%	17,3 (1,2)	0,0 (0,0)	14,0 (0,0)	<0,001
Própolis 1,2%	12,0 (0,0)	-	13,3 (1,2)	0,116
Própolis 0,12%	0,0 (0,0)	-	11,3 (1,2)	<0,001
Própolis 0,012%	0,0 (0,0)	-	0,0 (0,0)	-

Fonte: Autores (2018).

Na bactéria *E. coli* não foi possível realizar testes estatísticos uma vez que a solução de própolis não inibiu a bactéria nas concentrações analisadas.

No presente trabalho, quando comparada a clorexidina, a própolis vermelha teve ação antimicrobiana semelhante em concentrações de até 3% em bactérias gram-positiva. Então como opção para o controle de bactérias da cavidade oral ela poderia substituir a clorexidina, uma vez que esse antisséptico não pode ser utilizado a longo prazo pois ocasiona manchamento dentário, e alteração no paladar (Agarwal, Nagesh, & Murlikrishnan, 2010). Além disso, a clorexidina é um antisséptico químico, o que segundo alguns autores, predispõe o surgimento de resistências bacterianas.

Sugerem-se mais pesquisas com a própolis em seres vivos, para melhor usufruir dos benefícios dessa substância. É imprescindível saber se o efeito antibiótico perde-se com o uso continuado, e se seus bons efeitos são dose-dependentes.

4. Conclusão

Diante dos dados obtidos pôde-se concluir que: A própolis vermelha apresentou atividade antibacteriana efetiva entre as bactérias Gram-positivas *E. faecalis* e *S. aureus*; A substancia própolis vermelha não apresentou nenhuma atividade antibacteriana com a bactéria Gram-negativa *E. coli*; A própolis vermelha em diferentes concentrações se mostrou tão eficaz quanto a clorexidina em bactérias Gram-positivas e a melhor atividade antibacteriana da própolis vermelha foi em *S. aureus*.

Referências

- Agarwal, P., Nagesh, L., & Murlikrishnan. (2010). Evaluation of the antimicrobial activity of various concentrations of Tulsi (*Ocimum sanctum*) extract against *Streptococcus mutans*: an in vitro study. *Indian Journal Of Dental Research*, 21(3), 357-9.
- Akca, A. E., Akca, G., Topçu, F. T., Macit, E., Pıkdöken, L., & Özgen, I. Ş. (2016). The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: an in vitro study. *Biomed Research International*, 2016, 1-8.
- Araújo, E. A., Andrade, N. J., Carvalho, A. F., Ramos, A. M., Silva, C. A. S., & Silva, L. H. M. (2010). Aspectos coloidais da adesão de micro-organismos. *Química Nova*, 33(9), 1940-1948.

Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standard for antimicrobial susceptibility testing* (28a ed). Annapolis Junction: CLSI.

De Oliveira, M. V. B., Oliveira, F. B. M., Silva, W. C., Mallet, J. R. S., Ferreira, N. S., Alves, F. R., & Sousa, F. C. A. (2020). Fatores associados à perda do medo de infecção por HIV/AIDS em homens que fazem sexo com homens por meio de aplicativos de relacionamento. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, 92(30), 1-12.

Marin, C., Holderied, F. S., Salvati, G., & Bottan, E. R. (2012). Nível de informação sobre doenças periodontais dos pacientes em tratamento em uma clínica universitária de periodontia. *Salusvita*, 31(1), 19-28.

Pedrazzi, V., Souza, S. L. S., Oliveira, R. R., Cimdões, R., & Gusmão, E. S. (2009). Métodos mecânicos para o controle do biofilme dentário supragengival. *Periodontia*, Rio de Janeiro, 19(3), 26-33.

Rufatto, L. C. Luchtenberg, P., Garcia, C., Thomassigny, C., Bouttier, S., Henriques, J. A. P., & Moura, S. (2018). Brazilian red propolis: chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. *Microbiological Research*, 214, 74-82.

Scalia, R. A., Dolci, J. E. L., Ueda, S. M. Y., & Sassagawa, S. M. (2015). In vitro antimicrobial activity of *Luffa operculata*. *Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology*, 81(4), 422-430.

Silva, A., Ferreira, F. C. A., Capela, L. M. M., & Botelho, M. P. J. (2017). Avaliação in vitro da Atividade Antimicrobiana de Extrato Alcoólico de Própolis Comparado à Solução de Clorexidina 0, 12%. *Journal of Health Sciences*, 19(2), 95-97.

Silva, F. R. G., Matias, T. M. S., Souza, L. I. O., Matos-Rocha, T. J., Fonseca, S. A., Mousinho, K. C., & Santos, A. F. (2019). Phytochemical screening and in vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and antitumor activities of the red propolis Alagoas. *Brazilian Journal Of Biology*, 79(3), 452-459.

Siqueira, A. L., Dantas, C. G., Gomes, M. Z., Padilha, F. F., Albuquerque Junior, R. L. C., & Cardoso, J. C. (2014). Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. *Revista de Odontologia da Unesp*, 43(6), 359-366.

Sousa, F. C. A., Costa, C. E. O., Rodrigues, A. C. E. Siqueira, H. D. S., Siqueira, F. F. S., Silva, W. C., & Reis, L. C. M. (2021b). Análise epidemiológica dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) no estado do Piauí entre os anos de 2015 a 2019. *Research, Society And Development*, 10(7), e42610716756.

Sousa, F. C. A., Mineiro, A. C. B., Araújo, R. F. M., Oliveira, E. H., Silva, W. C., & Coelho, L. S. (2020). Detecção de bactérias em diversos locais em um centro universitário de ciências da saúde. *Research, Society And Development*, 9(2), e120921966.

Sousa, F. C. A., Santos, I. G., Sousa, M. W., Silva, E. G., Santos, B. N. G., Medeiros, M. G. F., & Siqueira, F. F. S. (2021a). Atividade antioxidante in vitro de *Lippia origanoides* H.B.K. *Research, Society And Development*, 10(8), e2810816716.

Stefanello, R., De Souza, F. H. C., & De Castro, G. S. (2017). Efeitos do extrato de própolis e do óleo de melaleuca na formação do biofilme e na desmineralização dental: estudo in situ. *Revista da Faculdade de Odontologia-UPF*, 22(1), 31-37.

Swerts, M. S. O., Freitas, E., Silva, D. S., Maldonato, D. V., Totti, D. A., & Costa, J. M. (2002). Antimicrobial activity of propolis on oral bacteria. *JBE*, 3(10), 256-61.