



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO**  
**TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS**

**FRANCINEUDO OLIVEIRA CHAGAS**

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E PREVENÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE DENTÁRIA**  
**COM O USO DO DENTIFRÍCIO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA: ESTUDO**  
**LABORATORIAL E ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

**FORTALEZA**

**2026**

**FRANCINEUDO OLIVEIRA CHAGAS**

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E PREVENÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE DENTÁRIA  
COM O USO DO DENTIFRÍCIO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA: ESTUDO  
LABORATORIAL E ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação em Medicamentos da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira (Universidade Federal do Ceará).

Co-Orientadora: Profa. Dra. Lidia Audrey Rocha Valadas Marques (Universidade de Buenos Aires).

**FORTALEZA**

**2026**

**FRANCINEUDO OLIVEIRA CHAGAS**

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E PREVENÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE DENTÁRIA  
COM O USO DO DENTIFRÍCIO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA: ESTUDO  
LABORATORIAL E ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Esta tese foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do GRAU DE DOUTOR em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Setorial da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta tese é permitida, desde que seja feita de acordo com as normas da ética científica.

Aprovada em \_\_/\_\_/2026

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Lidia Audrey Rocha Valadas Marques (Co-orientadora)  
Universidad de Buenos Aires

---

Profa. Dra. Ana Laura Sorazabal  
Universidad de Buenos Aires

---

Prof. Dr. João Hildo de Carvalho Furtado Junior  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Emmanuel Arraes de Alencar Júnior  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Mara Assef Leitão Lotif  
Universidade Federal do Ceará

## AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo por ter me dado a excelente oportunidade de poder realizar um sonho tão almejado e visado, à nossa mãe Maria Santíssima Nossa Senhora de Fátima por interceder e abrilhantar com seu manto sagrado meus passos em toda essa jornada e por ter me concedido força e saúde para suportar todos os obstáculos enfrentados.

A Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de me inserir como aprendiz no programa e poder receber aprendizados além do que os livros ensinam.

À minha família, de maneira geral, cujos conselhos e ensinamentos de vida foram fundamentais para a minha criação, ajudando-me a discernir o certo do errado. Da mesma forma, agradeço umas de minhas fontes inspiradora, a médica Nágela Pinto Machado que em todos esses anos de amizade pude aprender como ser paciente e versátil com as conquistas e derrotas, pela presença e apoio constantes. À todos meus parentes queridos que juntos me apoiaram nessa incrível jornada diante de todos os momentos difíceis que ultrapassei.

Ao meu esposo, Francisco Jocélio Moreira Paula, pelo constante apoio e incentivo. Por estar sempre ao meu lado, dando-me forças para continuar, e por compreender as abdições de momentos preciosos que fizemos juntos. Agradeço a Deus por ter enviado você à minha vida. À minha querida mãe de coração, Ana Cristina Pereira, por todo seu esforço e dedicação por acreditar e confiar na minha capacidade em toda minha vida acadêmica, a proporção que suas palavras acolhedoras e orações puderam interceder por essa conquista.

À minha orientadora, professora Mary Anne Medeiros Bandeira, por sua esplêndida contribuição neste processo de formação, e pela grande admiração que tenho por sua competência profissional e vasto conhecimento. Aos meus professores, de maneira geral, pelo impacto positivo na minha formação acadêmica e pessoal, por compartilharem seus conhecimentos que favoreceram para a construção dessa jornada.

À minha coorientadora, Lidia Audrey Rocha Valadas Marques, por ser minha base acadêmica por toda sua contribuição significativa na produção desta tese, sem medir esforços ou dedicação. Seus conselhos e sermões foram cruciais, assim como sua paciência em diversos momentos de pressão, garantindo que a tese fosse concluída com êxito.

Agradeço a todos os meus amigos sem exceção pelas palavras de incentivo e pela colaboração em diversos momentos de minha trajetória acadêmica. Agradeço também a Jéssica, secretária do PPgDITM, pela atenção e apoio durante todos esses anos.

## EPÍGRAFE

“Feliz é aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina!”

Cora Coralina

## RESUMO

**Avaliação antimicrobiana e prevenção de lesões de cárie dentária com o uso do dentifrício de própolis vermelha brasileira: estudo laboratorial e ensaio clínico randomizado.** Francineudo Oliveira Chagas. Orientador: Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira. Tese de Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos. Universidade Federal do Ceará, 2024.

O desenvolvimento de formulações odontológicas com própolis é uma realidade em avanço na indústria farmacêutica, especialmente para doenças relacionadas ao biofilme. Esse estudo avaliou *in vitro* e *in vivo* o uso do dentifrício fluoretado contendo 1% de própolis vermelha brasileira (PVB) no controle do índice de sangramento marginal e na prevenção de lesões de cárie em pacientes ortodônticos. Na etapa *in vitro* avaliou-se a atividade antimicrobiana do extrato de PVB e do dentifrício incorporado com o extrato frente ao *Streptococcus mutans* ATCC UA159. A etapa clínica consistiu em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado e longitudinal, envolvendo 60 pacientes ortodônticos, com idade entre 12 e 18 anos, acompanhados por um período de seis meses. Os participantes foram distribuídos em dois grupos: grupo teste (dentifrício com PVB + 1500 ppm de fluoreto) e grupo controle (dentifrício com 1500 ppm de fluoreto). As avaliações clínicas foram realizadas no baseline, aos 2, 4 e 6 meses, utilizando os critérios ICDAS II para detecção de lesões cariosas e o índice de sangramento gengival. As análises estatísticas foram realizadas por meio dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e ajuste de significância pelo método de Bonferroni, considerando nível de significância de 5%. Os resultados demonstraram que tanto o extrato de PVB quanto o dentifrício contendo PVB apresentaram atividade antimicrobiana significativa, com redução da viabilidade bacteriana até a concentração de 0,3906 µg/mL ( $p < 0,05$ ). O efeito bactericida mínimo (MBC) foi observado na concentração de 1,5625 µg/mL para ambos os grupos. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o extrato de PVB e o dentifrício formulado com o extrato ( $p > 0,05$ ), indicando que o processo de incorporação não comprometeu a atividade antimicrobiana. O dentifrício comercial Parodontax® apresentou atividade antimicrobiana em todas as diluições testadas, com MBC equivalente ao da PVB (1,5625 µg/mL), apresentando maior potência antimicrobiana global ( $p < 0,05$ ). Esses achados confirmam a capacidade da PVB de interferir diretamente na viabilidade de microrganismos cariogênicos. Na etapa clínica os resultados clínicos demonstraram que o grupo que utilizou o dentifrício contendo PVB manteve maior proporção de superfícies híginas (ICDAS II = 0) ao longo do acompanhamento, enquanto o grupo controle apresentou progressão significativa para lesões iniciais (ICDAS II = 1), com diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). Em relação à condição gengival, observou-se redução significativa do índice de sangramento gengival no grupo PVB aos 4 e 6 meses de acompanhamento ( $p \leq 0,05$ ), contrastando com o aumento progressivo observado no grupo controle. Os resultados *in vitro* e clínicos demonstram que o dentifrício fluoretado contendo PVB apresenta atividade antimicrobiana, associada a benefícios clínicos significativos na prevenção da cárie inicial e no controle da inflamação gengival em pacientes ortodônticos. A associação da PVB ao fluoreto mostrou-se eficaz, segura e biocompatível, sem prejuízo à ação anticárie tradicional, consolidando esse dentifrício como uma estratégia preventiva promissora para o manejo do biofilme dentário em populações de risco.

**Descritores:** Cárie dentária; Doença periodontal; Própolis Vermelha Brasileira; Dentifrícios.

## ABSTRACT

### **Antimicrobial evaluation and prevention of dental caries lesions with the use of Brazilian red propolis toothpaste: laboratory study and randomized clinical trial.**

Francineudo Oliveira Chagas. Supervisor: Prof. Dr. Mary Anne Medeiros Bandeira. Doctoral thesis in Development and Technological Innovation in Medicines. Federal University of Ceara, 2024.

The development of dental formulations with propolis is a growing reality in the pharmaceutical industry, especially for diseases related to biofilm. This study evaluated in vitro and in vivo the use of fluoridated toothpaste containing 1% Brazilian red propolis (BRP) in controlling marginal bleeding and preventing caries lesions in orthodontic patients. In the in vitro phase, the antimicrobial activity of the BRP extract and the toothpaste incorporating the extract was evaluated against *Streptococcus mutans* ATCC UA159. The clinical phase consisted of a randomized, double-blind, controlled, longitudinal clinical trial involving 60 orthodontic patients aged 12 to 18 years, followed for a period of six months. Participants were divided into two groups: a test group (toothpaste with BRP + 1500 ppm fluoride) and a control group (toothpaste with 1500 ppm fluoride). Clinical assessments were performed at baseline, and at 2, 4, and 6 months, using the ICDAS II criteria for detecting carious lesions and the gingival bleeding index. Statistical analyses were performed using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests, and significance adjustment was performed using the Bonferroni method, considering a significance level of 5%. The results demonstrated that both the PVB extract and the toothpaste containing PVB showed significant antimicrobial activity, with a reduction in bacterial viability up to a concentration of 0.3906  $\mu\text{g/mL}$  ( $p < 0.05$ ). The minimum bactericidal effect (MBC) was observed at a concentration of 1.5625  $\mu\text{g/mL}$  for both groups. No statistically significant differences were observed between the PVB extract and the toothpaste formulated with the extract ( $p > 0.05$ ), indicating that the incorporation process did not compromise the antimicrobial activity. The commercial toothpaste Parodontax® showed antimicrobial activity in all dilutions tested, with MBC equivalent to that of PVB (1.5625  $\mu\text{g/mL}$ ), showing greater overall antimicrobial potency ( $p < 0.05$ ). These findings confirm the ability of PVB to directly interfere with the viability of cariogenic microorganisms. In the clinical phase, the results demonstrated that the group using the toothpaste containing PVB maintained a higher proportion of healthy surfaces (ICDAS II = 0) throughout the follow-up, while the control group showed significant progression to initial lesions (ICDAS II = 1), with a statistically significant difference between the groups ( $p \leq 0.05$ ). Regarding gingival condition, a significant reduction in the gingival bleeding index was observed in the PVB group at 4 and 6 months of follow-up ( $p \leq 0.05$ ), contrasting with the progressive increase observed in the control group. The in vitro and clinical results demonstrate that the fluoridated toothpaste containing PVB has antimicrobial activity, associated with significant clinical benefits in the prevention of initial caries and in the control of gingival inflammation in orthodontic patients. The combination of PVB with fluoride proved to be effective, safe, and biocompatible, without compromising traditional anti-caries action, consolidating this toothpaste as a promising preventive strategy for managing dental biofilm in at-risk populations.

**Descriptors:** Dental caries; Periodontal disease; Brazilian Red Propolis; Toothpastes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Formação do biofilme dentário.....	10
Figura 2 - Propriedades da Própolis Vermelha Brasileira.....	12
Figura 3 - Própolis Vermelha Brasileira.....	13
Figura 4 - Etapas do processo cariogênico.....	14
Figura 5 - Fatores moduladores da doença periodontal.....	16
Figura 6 - Acúmulo de biofilme em aparelhos ortodônticos.....	17

### FIGURAS REFERENTES AO CAPÍTULO 1

Figure 1: CBM of the Brazilian red propolis extract on <i>S. mutans</i> ATCC UA 159. *P<0.05 compared to the control group (ANOVA and Dunnett tests). All the values are mean $\pm$ 0.05 (n =3).....	25
Figure 2: CBM of the Brazilian red propolis dentifrice on <i>S. mutans</i> ATCC UA 159. *P<0.05 compared to the control group (ANOVA and Dunnett tests). All the values are mean $\pm$ 0.05 (n =3).....	26
Figure 3: CBM of the Parodontax dentifrice on <i>S. mutans</i> ATCC UA 159. *P<0.05 compared to the control group (ANOVA and Dunnett tests). All the values are mean $\pm$ 0.05 (n =3).....	26

### TABELAS REFERENTES AO CAPÍTULO 2

Table 1 – Record of lesions using the ICDAS II method during the use of Brazilian Red Propolis (BRP) dentifrice and a control dentifrice.....	37
Table 2 – Record Gingival Bleeding Index during the use of Brazilian Red Propolis (BRP) dentifrice and a control dentifrice.....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AmF	Fluoreto de amina
BR	Brazil
BRP	Brazilian red propolis
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de Cálcio
CE	Ceará
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICDAS	International Caries Detection and Assessment System
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
MFP	monofluorofosfato de sódio
MS	mass spectrometry
ppm	Partes por milhão
pH	potencial Hidrogeniônico
PVB	Própolis vermelha brasileira

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Produtos naturais no controle de biofilmes dentário.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 1.2 Própolis em Odontologia.....</b>	<b>11</b>
<b>1.3 Cárie dentária.....</b>	<b>14</b>
<b>1.4 Doença Periodontal.....</b>	<b>15</b>
<b>1.5 Controle do biofilme em pacientes ortodônticos.....</b>	<b>17</b>
<b>1.6 Dentifrício de própolis vermelha brasileira.....</b>	<b>18</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>20</b>
<b>3 CAPÍTULO 1.....</b>	<b>21</b>
<b>4 CAPÍTULO 2.....</b>	<b>32</b>
<b>5 DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>43</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO I-TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO II-TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO III- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA .....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO IV- COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO- ARTIGO DO CAPÍTULO I.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO V- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO- ARTIGO DO CAPÍTULO II.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO VI- APROVAÇÃO DO REGISTRO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO VII - QUADRO RESUMO DE MARCADORES ENCONTRADOS.....</b>	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

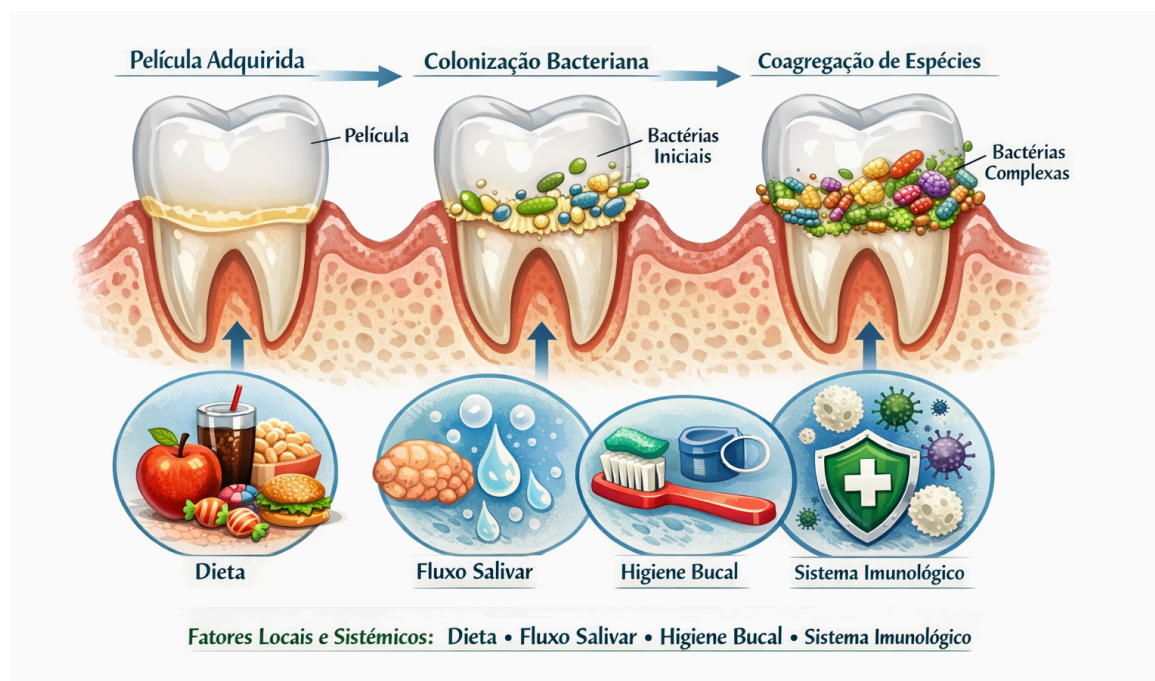
### 1.1 Produtos naturais no controle de biofilmes dentário

Os produtos naturais fazem parte do tratamento de doenças desde o início da humanidade, inclusive doenças bucais, onde diversos compostos bioativos, como os flavonoides, alcaloides, terpenos, fenóis e óleos essenciais possuem atividade farmacológica que interfere no biofilme bucal, inibindo a adesão bacteriana, reduzindo a produção de matriz extracelular, e desorganizando o biofilme (Arzani et al., 2025; Lotif et al., 2025).

Sabe-se que o biofilme dentário é uma estrutura complexa e altamente organizada, sendo formada pela adesão e proliferação de microrganismos na superfície dentária, em uma matriz extracelular rica em polímeros orgânicos e inorgânicos. Toda essa organização no biofilme dentário confere aos microrganismos maior resistência contra o hospedeiro e em relação aos agentes antimicrobianos, sendo o biofilme algo chave na etiologia das principais doenças bucais, como a cárie dentária e as doenças periodontais (Bharathi et al., 2025).

A formação do biofilme dentário ocorre em uma sequência dinâmica, como mostrado na Figura 1, iniciando-se com a deposição da película adquirida, após isso ocorre a colonização bacteriana e a co-agregação de espécies mais complexas. Diversos fatores locais e sistêmicos influenciam nesse processo, incluindo dieta, fluxo salivar, higiene bucal e a saúde imunológica (Bharathi et al., 2025; Silva et al., 2024; Lotif et al., 2025).

Figura 1 - Formação do biofilme dentário.



Fonte: Autoria própria.

O controle do biofilme dentário baseia-se principalmente em métodos mecânicos, como a escovação e o uso do fio dental, e quando necessário pode se fazer uma associação com agentes químicos, como clorexidina e enxaguatórios fluoretados (Furtado Júnior et al., 2020).

Assim, é constante o interesse científico e da indústria farmacêutica com produtos naturais no desenvolvimento de formulações para o controle do biofilme dentário, sendo investigadas principalmente substâncias antimicrobianas e antiinflamatórias (Furtado Júnior et al., 2018).

Em Odontologia diversos estudos *in vitro* e *in vivo* vêm demonstrando a eficácia de extratos vegetais e óleos essenciais, podendo-se citar espécies populares como a *Camellia sinensis* (planta do chá verde e preto, entre outros), a *Azadirachta indica*, própolis, copaíba, eucalipto, alecrim-pimenta, óleos de *Melaleuca alternifolia*, entre outros (Lobo et al., 2014; Furtado Júnior et al., 2020; Valadas et al., 2020; Buakaew et al., 2021; BinShabaib et al., 2022; Valadas et al., 2023).

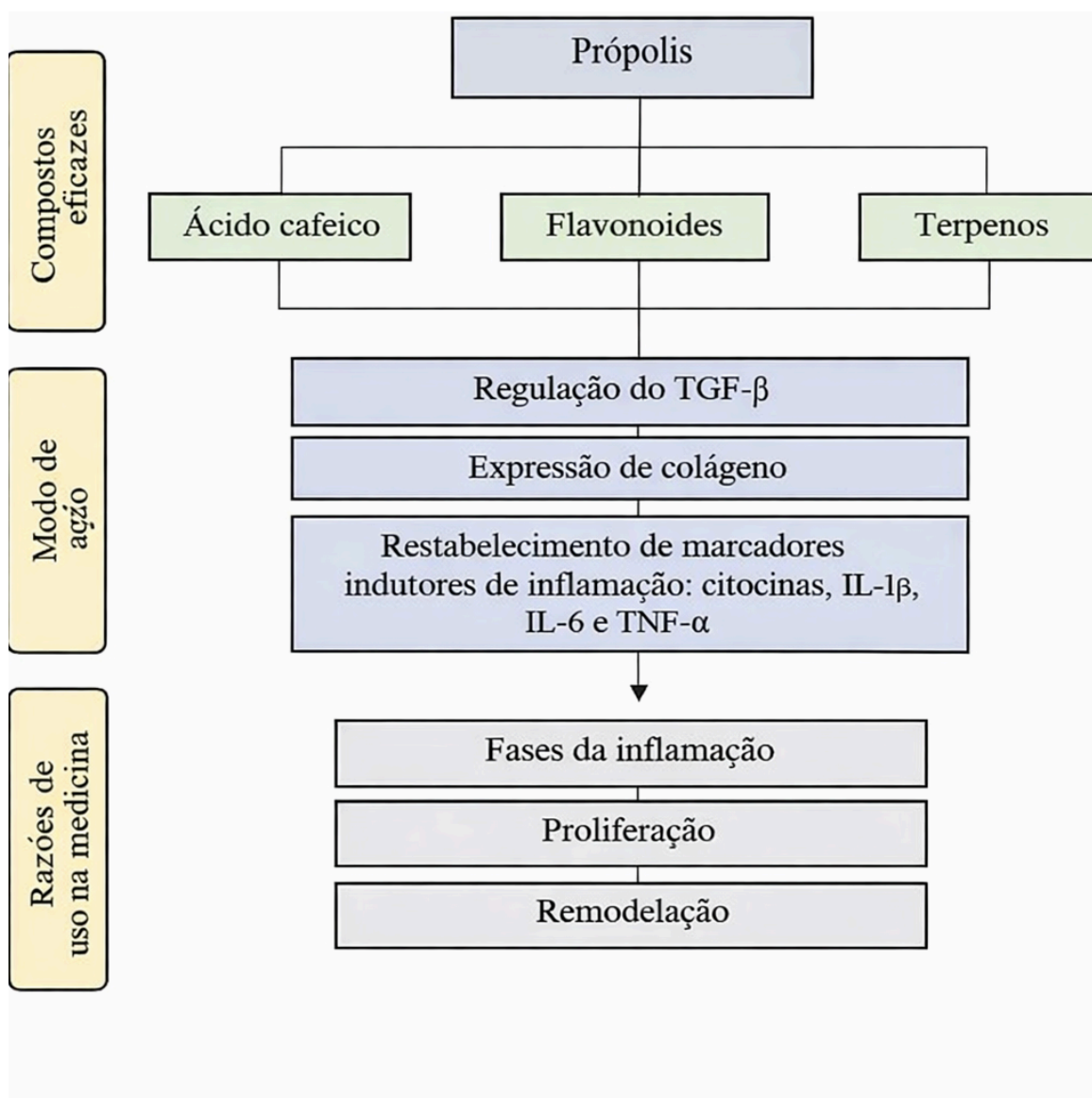
Assim pode-se verificar que apesar dos avanços, a utilização de produtos naturais no controle do biofilme dentário ainda tem muito o que ser investigada, visto que são diversas as espécies ainda não estudadas e sequer descobertas presente na biodiversidade do Brasil (Barnabé et al., 2014).

No desenvolvimento de formulações é essencial a padronização dos extratos, a estabilidade dos compostos ativos, a comprovação da eficácia clínica a longo prazo e segurança. Assim, é fato que o avanço de pesquisas sobre produtos naturais aplicados ao controle do biofilme dentário é uma área promissora da pesquisa odontológica, dessa forma, a integração desses agentes aos protocolos preventivos e terapêuticos pode contribuir para abordagens mais sustentáveis e biocompatíveis, ampliando estratégias disponíveis para a promoção da saúde bucal e a prevenção das doenças associadas ao biofilme bucal (Cardoso et al., 2021; Tzimas et al., 2024).

## **1.2 Própolis em Odontologia**

A própolis é definida como um complexo resinoso, sendo produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir de exsudatos vegetais, brotos e secreções de plantas. Assim como outros produtos naturais, sua composição química é complexa e variável, dependendo do georreferenciamento e inclui flavonoides, ácidos fenólicos, ésteres, terpenos e compostos aromáticos (Figura 2), que conferem ao produto suas atividades biológicas (Furtado Júnior et al., 2020).

Figura 2 - Propriedades da Própolis Vermelha Brasileira



Fonte: Etebarian et al. (2024)

Na Odontologia, a própolis vem despertando crescente atenção, principalmente pelas atividades antimicrobiana e anti-inflamatória, e também outras como antioxidante, cicatrizante e imunomoduladora. Devido a essas propriedades, a própolis é um produto relevante no desenvolvimento de formulações odontológicas para a prevenção e o tratamento de enfermidades associadas à presença de microrganismos, inflamação tecidual e desequilíbrios da microbiota oral (Lotif et al., 2025).

Em relação à cárie dentária, diversos estudos vêm demonstrando que a própolis tem ação antimicrobiana contra bactérias cariogênicas e periodontais. O mecanismo se dá pela capacidade dos compostos fenólicos de inibir o crescimento bacteriano, reduzir a adesão às

superfícies dentárias e interferir na formação do biofilme dentário (Furtado Júnior et al., 2020; Rodrigues Neto et al., 2021).

Quanto aos efeitos anti-inflamatórios, a própolis possui um forte efeito anti-inflamatório significativo, tendo a resposta inflamatória modulada por meio da inibição de mediadores como as prostaglandinas, citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio, por isso sua importante aplicação na doença periodontal (Furtado Júnior et al., 2020 Silva et al., 2024)

Nas doenças causadas por biofilme, a própolis tem sido estudada como uma terapêutica alternativa natural e biocompatível para controlar o biofilme dentário e cárie, sendo mais segura que agentes químicos tradicionais, por isso a importância de associá-la em formulações como enxaguatórios, géis e dentifrícios (Furtado Júnior et al., 2018).

Como qualquer outro produto natural, o georreferenciamento importa, onde a variabilidade na composição química da própolis, influenciada pela origem botânica, região geográfica e método de extração impacta na atividade biológica. Nesse sentido, após anos de investigação foi reconhecido o padrão de qualidade da própolis, sendo registrada a indicação geográfica como própolis vermelha brasileira (PVB) na região de Marechal Deodoro no estado de Alagoas (Furtado Júnior et al., 2020; Rodrigues Neto et al., 2021).

Figura 3 - Própolis Vermelha Brasileira



Fonte: Autoria própria.

Na literatura já existem formulações endodônticas, produtos pessoais, géis de aplicação profissional, entre outros. Assim a própolis, incluindo a PVB, vem se destacando

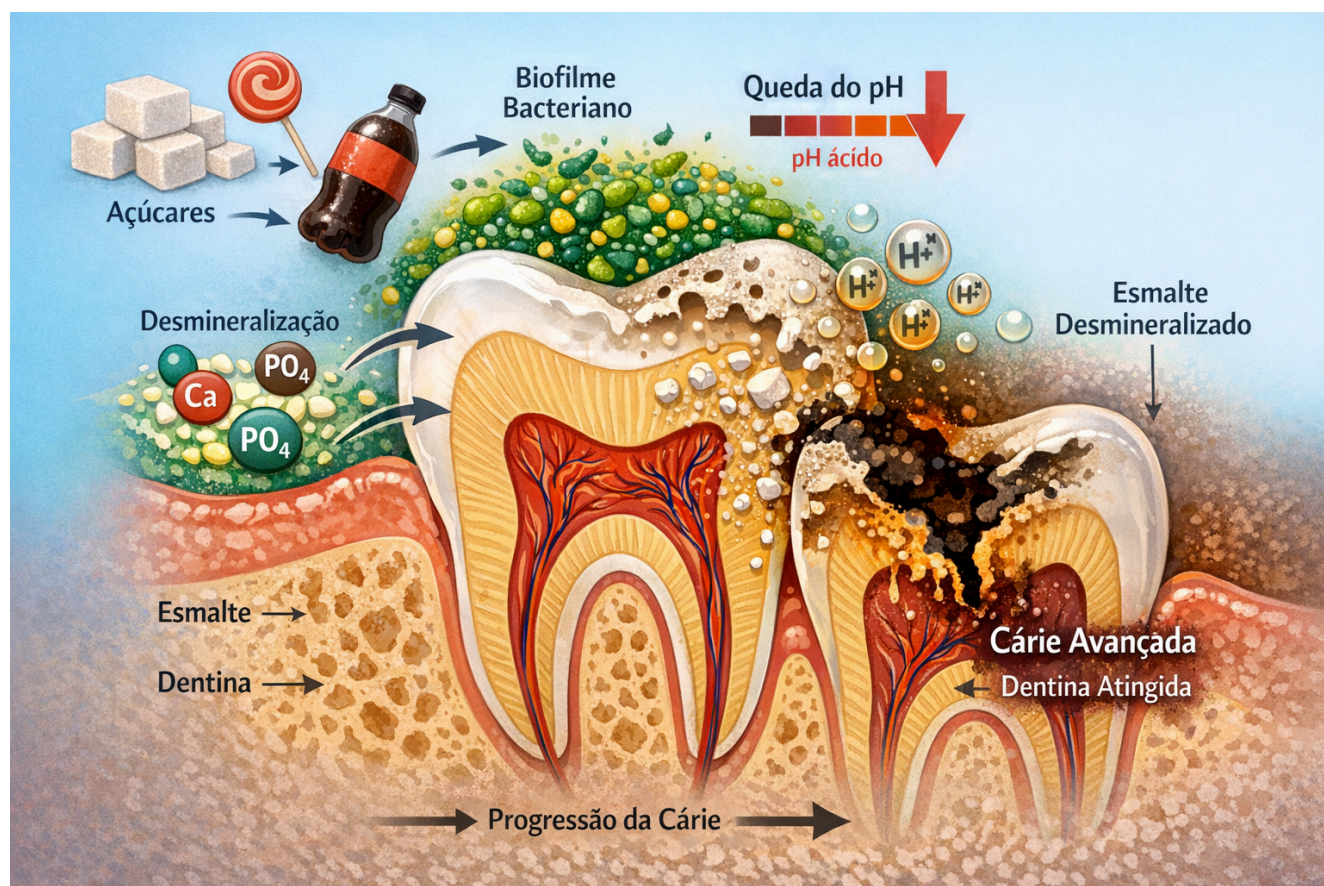
como agente natural promissor na Odontologia, com inúmeros benefícios terapêuticos e preventivos (Furtado Júnior et al., 2018).

### 1.3 Cárie dentária

A cárie dentária é uma doença açúcar-dependente modulada pelo biofilme, sendo uma das doenças crônicas mais prevalentes em todo o mundo, afetando indivíduos de todas as faixas etárias e condições socioeconômicas. Assim ocorre a interação entre microrganismos cariogênicos, dieta rica em carboidratos fermentáveis, susceptibilidade do hospedeiro e fatores relacionados ao tempo de exposição (Pitts et al., 2017; Machiulskiene et al., 2020).

O processo cariogênico começa com o desequilíbrio que ocorre no biofilme dentário, resultado da exposição aos açúcares da dieta e da produção de ácidos orgânicos. Assim, esses ácidos promovem a queda do pH no meio bucal, o que leva à desmineralização progressiva dos tecidos dentários, especialmente o esmalte, podendo evoluir para a dentina se não houver controle (Figura 4) (Takahashi; Nyvad, 2011).

Figura 4 - Etapas do processo cariogênico



Fonte: Autoria própria.

Nesse sentido, o biofilme dentário desempenha papel central na etiologia da cárie dentária, visto que sua complexa estrutura bastante organizada favorece a retenção de ácidos e dificulta a ação tamponante da saliva. Sabe-se que a composição e atividade metabólica do biofilme são moduladas pelos fatores alimentares, práticas de higiene bucal e fatores biológicos individuais (Cai; Kim, 2023).

Com ciclos alternados de desmineralização e remineralização, no início as lesões podem ser reversíveis, manifestando-se como manchas brancas ativas, enquanto em fases mais avançadas, exigindo intervenções mais invasivas. Além do impacto dentário, a cárie dentária pode comprometer significativamente a qualidade de vida dos indivíduos, causando dor, infecções, dificuldades mastigatórias, alterações estéticas e prejuízos psicossociais (Pakkhesal et al., 2021; Malcangi et al., 2023).

Nesse sentido, a compreensão contemporânea da cárie dentária enfatiza a importância de abordagens minimamente invasivas, sempre focada no controle dos fatores etiológicos e na manutenção do equilíbrio do biofilme dentário, e na Odontologia de mínima intervenção. Assim, estratégias preventivas e terapêuticas baseadas em evidências científicas têm sido priorizadas pelos clínicos, visando sempre à preservação da estrutura dentária e à promoção da saúde bucal (Leal et al., 2022).

Na Odontologia, estudar formulações bioativas é essencial e uma forte tendência, aumentando assim os métodos de controle e preservando a estrutura dentária (Valadas et al., 2021).

#### **1.4 Doença Periodontal**

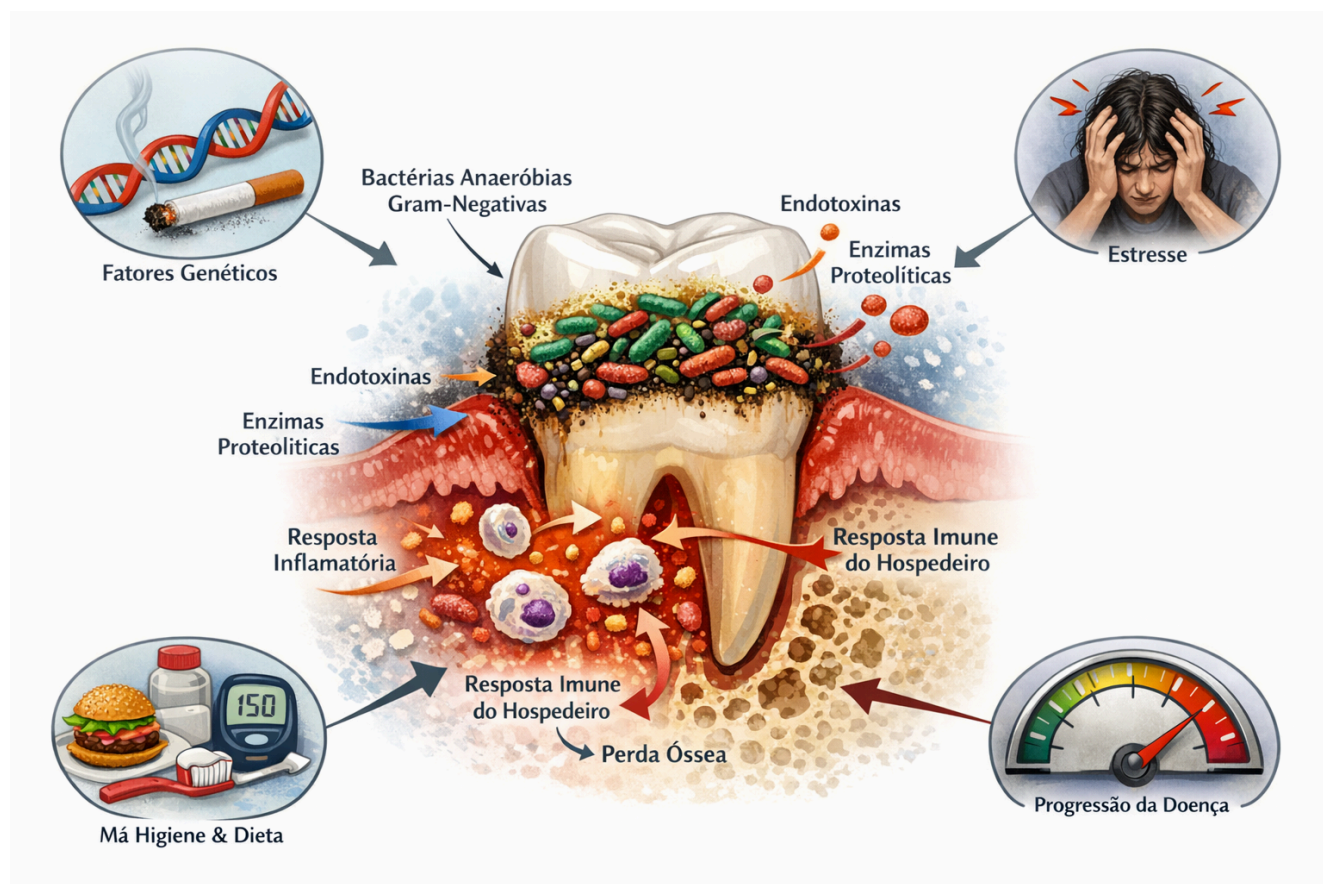
A doença periodontal abrange condições inflamatórias que afetam os tecidos de suporte e proteção dos dentes, que inclui a gengiva, ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar. Essas doenças têm origem predominantemente infecciosa e estão associadas à presença e ao acúmulo do biofilme dentário, sendo consideradas uma das principais causas de perda dentária (Könönen et al., 2019).

Na maioria das vezes, o desenvolvimento da doença periodontal inicia-se como gengivite e por conta de fatores retentivos de placa, a mesma é caracterizada por inflamação restrita aos tecidos gengivais, manifestando clinicamente sangramento, edema e alteração de cor. A mesma quando não tratada, pode evoluir para periodontite, causando a destruição progressiva dos tecidos de suporte dentário (Gasner, Schure, 2025).

O acúmulo de biofilme dentário desempenha um papel central na etiopatogênese da doença periodontal, abrigando uma microbiota complexa composta por bactérias

predominantemente do tipo anaeróbias gram-negativas. São esses microrganismos que vão liberar fatores de virulência, como endotoxinas e enzimas proteolíticas, capazes de desencadear e perpetuar a resposta inflamatória do hospedeiro. No entanto, a progressão da doença periodontal não depende apenas da presença bacteriana, mas também da resposta imunoinflamatória do hospedeiro. Os fatores genéticos, sistêmicos e comportamentais (Figura 5), como tabagismo, diabetes mellitus, estresse e higiene bucal inadequada, influenciam diretamente a severidade e a velocidade de progressão da doença (Xu et al., 2020; Basic, Dahlen, 2023).

Figura 5 - Fatores moduladores da doença periodontal



Fonte: Autoria própria.

Além das consequências locais, as evidências científicas têm demonstrado a associação entre a doença periodontal e condições sistêmicas, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, complicações gestacionais e doenças respiratórias (Aleksijević et al., 2022).

Indivíduos com fatores retentivos de placa estão em um maior risco, onde o manejo da doença periodontal baseia-se no controle mecânico e químico do biofilme dentário, aliado

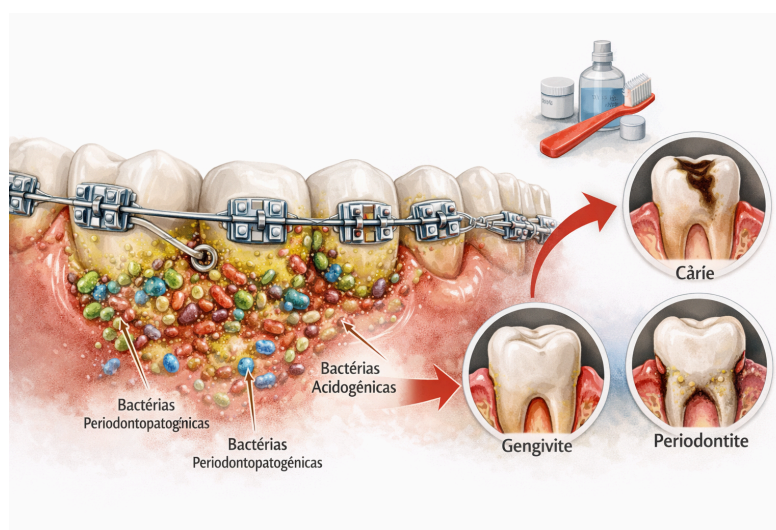
à educação em saúde e à modificação de fatores de risco. As abordagens terapêuticas contemporâneas priorizam intervenções individualizadas, minimamente invasivas e sustentadas por evidências científicas, com foco na manutenção da saúde periodontal a longo prazo (Furtado Júnior et al., 2020; Silva et al., 2024).

### 1.5 Controle do biofilme em pacientes ortodônticos

Como citado, os fatores retentivos de placa trazem um maior risco para pacientes, assim destaca-se o tratamento ortodôntico, sendo o mesmo um importante recurso no tratamento das más oclusões e para a melhoria da função mastigatória e estética orofacial. A presença de aparelhos ortodônticos fixos cria condições favoráveis ao acúmulo de biofilme dentário, aumentando o risco de alterações na saúde bucal durante o tratamento (Ren et al., 2014).

Os bráquetes, bandas, fios e ligaduras constituem superfícies retentivas (Figura 6) que dificultam a higienização mecânica e favorecem a adesão e a proliferação de microrganismos (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022; Silva et al., 2024).

Figura 6 - Acúmulo de biofilme em aparelhos ortodônticos



Fonte: Autoria própria.

Essa condição pode levar ao desequilíbrio da microbiota oral, que leva ao aumento de bactérias acidogênicas e periodontopatogênicas, contribuindo assim para o desenvolvimento de cárie dentária, gengivite e, em casos mais avançados, de periodontite (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022; Silva et al., 2024).

Nesse sentido, o biofilme dentário em pacientes ortodônticos apresenta características específicas, como uma maior espessura e complexidade estrutural, o que potencializa sua resistência às forças mecânicas de remoção e aos agentes antimicrobianos, visto que a higienização está dificultada. Além disso, a alteração do fluxo salivar e das áreas de autolimpeza favorece a manutenção de um ambiente propício à atividade metabólica bacteriana (Silva et al., 2024).

Clinicamente, as consequências da falha no controle do biofilme em pacientes ortodônticos são o acúmulo de placa e início de lesões de mancha branca ao redor dos bráquetes, consideradas sinais iniciais de desmineralização do esmalte. Essas lesões representam uma das consequências mais comuns e esteticamente indesejáveis do tratamento ortodôntico, podendo persistir após a remoção do aparelho (Al-Blaihed et al., 2024).

O controle eficaz do biofilme dentário em pacientes ortodônticos baseia-se principalmente no controle e constância de práticas rigorosas de higiene bucal, incluindo técnicas específicas de escovação, uso de escovas interdentais, fio dental com passadores e dispositivos auxiliares. Sabe-se que muitas vezes os métodos mecânicos não são suficientes, sendo aconselhável a prescrição de agentes químicos, como enxaguatórios bucais e vernizes, sendo excelentes coadjuvantes no controle do biofilme. Esses agentes auxiliam na redução da microbiota patogênica, no controle da inflamação gengival e na prevenção da desmineralização do esmalte (Pithon et al., 2015).

Nos últimos anos, o interesse por abordagens alternativas e biocompatíveis, como o uso de produtos naturais com propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, tem aumentado, onde essas substâncias podem representar opções complementares e eficazes no controle do biofilme. Assim, o controle do biofilme dentário em pacientes ortodônticos constitui um desafio clínico relevante, exigindo estratégias integradas que associam educação, monitoramento contínuo e intervenções preventivas baseadas em evidências científicas (Lotif et al., 2022; Hashim et al., 2025).

## **1.6 Dentifício de própolis vermelha brasileira**

Como citado, diversos são os investimentos em formulações derivadas da própolis, destacando-se a PVB, onde muitas pesquisas existem para trazer evidências sobre os benefícios biológicos e efeitos adversos. Assim, produtos de PVB vêm sendo investigados para a prevenção e o controle de doenças bucais quando incorporada em formulações odontológicas (Furtado Junior et al., 2018).

A composição química da própolis confere à mesma diversas atividades biológicas, modulando respostas inflamatórias e influenciando no equilíbrio bucal. Quanto ao dentifrício de PVB o mesmo já tem evidências clínicas e laboratoriais, apontando redução de índices de placa bacteriana e índice de sangramento marginal após 4 semanas de uso, sugerindo que essa substância natural pode ser uma alternativa inovadora ou coadjuvante nos produtos de higiene bucal (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022).

Além disso, em uso no mesmo período, a PVB mostrou redução de microrganismos cariogênicos e periodontopatógenos. Após o uso de 4 semanas demonstrou redução significativa nas contagens de *Lactobacillus spp.* E *Streptococcus mutans* em comparação com dentifrícios convencionais, apontando a capacidade antimicrobiana desse produto contra bactérias associadas à formação de biofilme e possivelmente quanto à progressão da cárie (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022).

Sabe-se que tão importante quanto a eficácia é a segurança. Tratando-se do dentifrício PVB foi apontada a segurança, sem registro de efeitos adversos e sem alterações nos parâmetros bioquímicos nas proteínas salivares (Silva et al., 2019; Silva et al., 2024).

Além disso, a atividade remineralizadora é essencial, por isso investigou-se na saliva a cinética do fluoreto associado ao dentifrício. Um estudo clínico demonstrou que a adição da própolis não interferiu na biodisponibilidade do fluoreto na saliva após a escovação, demonstrando que a associação da própolis com agentes anticárie tradicionais não compromete sua eficácia protetora. Essa constatação é de extrema importância, assegurando a ação antimicrobiana, antiinflamatória e remineralizadora (Girão Júnior et al., 2022).

Por fim, o desenvolvimento de dentifrício com PVB representa uma linha promissora de pesquisa odontológica, apontando eficácia, segurança e biodisponibilidade do fluoreto na saliva. Além disso, demonstrando estabilidade do fluoreto no período de um ano após fabricação da formulação (Lotif et al., 2025).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Esse estudo buscou avaliar a atividade antimicrobiana in vitro e a prevalência de lesões cáries, índice de placa e índice de sangramento marginal em pacientes ortodônticos que utilizaram um dentifrício formulado com 1% de extrato de própolis vermelha brasileira.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a MIC do dentifrício de própolis vermelha brasileira comparado ao dentifrício comum e ao Parodontax;
- Avaliar as lesões cáries pelo método ICDAS;
- Avaliar o índice de biofilme bacteriano;
- Avaliar o índice de sangramento marginal.

**3 CAPÍTULO 1****TITLE PAGE****Artigo publicado no periódico Journal of Young Pharmacist**

Francineudo Oliveira Chagas<sup>1</sup>

João Hildo de Carvalho Furtado Júnior<sup>1</sup>

Hilana Valéria Dodou<sup>1</sup>

Marta Maria de França Fonteles<sup>1</sup>

Renato Daniel de Freitas<sup>1</sup>

Edilson Martins Rodrigues Neto<sup>1</sup>

Emmanuel Arraes de Alencar Júnior<sup>2</sup>

Juliana Araujo Sarmiento<sup>2</sup>

Sarah Gabrielle Sousa de Oliveira Rodrigues<sup>2</sup>

Patricia Leal Dantas Lobo<sup>1</sup>

Ana Cristina de Mello Fiallos<sup>1</sup>

Mary Anne Medeiros Bandeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pharmacy, Dentistry and Nursing College, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil.

<sup>2</sup> São Leopoldo Mandic College, Campinas, São Paulo, Brazil.

Corresponding author at: Francineudo Oliveira Chagas

Address: 1210 Pastor Samuel Munguba, Marcelo Torcuato de Alvear Street, ZipCode 60430372, Fortaleza, Brazil.

Tel:+55 85 3366-8015.

E-mail address: chagasneudo@gmail.com

## IN VITRO EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BRAZILIAN RED PROPOLIS CONTAINING-DENTIFRICE

### ABSTRACT

**Background:**This study evaluated the antimicrobial activity of brazilian red propolis (BRP) dentifrice and compare in vitro. **Materials and methods:** Strains of *S. mutans* ATCC UA159 were used in the present study. This study compared the antibacterial effects of BRP extract, BRP containing-dentifrice and one antimicrobial commercial dentifrice (Parodontax) against *S. mutans*. For the evaluation of the antimicrobial activity the microdilution method was used in culture broth. The strain was activated by incubation at 37°C overnight in Brain Heart Infusion (BHI) culture medium, in an anaerobic jar. To the wells of the microplates were added 100µL of BHI broth, 20µL of the substances tested (experimental groups), at concentrations ranging from 100 µL/mL to 0.0488 µL/mL, and 80 µL/mL of the standardized microbial suspension. The microplates were incubated for 24 hr in a bacteriological oven at 37°C. Visual inspection of the colour changes and reading in BioTek microplate reader at 570nm was performed to determine the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Mean values and standard deviations were calculated. ANOVA followed by Dunnett's test was performed; p-value of less than 0.05 was considered significant. **Results:** BRP extract and BRP containing-dentifrice showed antimicrobial activity against *S. mutans* up to the concentration of 0.3906 µg/mL. The BRP extract and dentifrice showed bactericidal effect at a concentration of 1.5625, but was able to reduce microbial viability at a concentration of up to 0.3906. Parodontax dentifrice showed antimicrobial activity at all dilutions (p< 0.05), presenting a bactericidal effect in the same concentration of the extract (1.5625). It was concluded that all the groups observed had antimicrobial activity against *S. mutans*. There was no difference between the propolis extract and the common dentifrice. **Conclusion:** BRP in pure form and processed in a toothpaste shows some antimicrobial activity against *S. mutans* but less than a commercial toothpaste containing herbal extracts and sodium bicarbonate.

**Keywords:** Propolis, *Streptococcus mutans*, Dentifrice, Biofilm, Dental decay.

### INTRODUCTION

Bioactive molecules of natural products have pharmacological activity and have been widely studied and used by the pharmaceutical industry as an alternative to traditional medicines.<sup>1,2</sup> The biofilm developed on the dental surface is composed of several species of

micro-organisms, initially colonized by gram-positive and aerobic bacteria, but later, there is a sequential colonization of gram-negative and anaerobic micro-organisms. Thus, a constant and effective disorganization of this biofilm is necessary to prevent these oral pathologies.<sup>3,4</sup>

Propolis is a complex mixture formed by a non-toxic resinous material that is collected by *Apis mellifera* bees from different parts of the plant such as shoots, branches, flowers, pollen and tree exudates, associated with the salivary secretions and enzymes of these bees, which are rich in biological properties. This complex mixture is used by bees to provide closure of the beehive and its asepsis through its antimicrobial action. Due to these biological properties, propolis has been used for centuries in alternative medicine, including for oral diseases as a therapeutic alternative.<sup>5,6</sup>

The chemical composition of propolis will depend on the local biodiversity where the hive is located. They are usually composed of 50% resin and vegetable balsam, 30% wax, 10% essential oil and other aromatic compounds, 5% pollen and 5% other substances.<sup>7</sup>

The biological activities of propolis have been widely explored in various fields of medicine as an important resource for the prevention and treatment of oral and systemic diseases.<sup>6-8</sup>

In Brazil there are 13 types of propolis cataloged, where the one found in Alagoas in the Brazilian Northeast, the name Brazilian red propolis (BRP) is due to the red coloring coming from the pigments of the plants.<sup>8</sup> It is known that this type is relatively new and has aroused attention because of its chemical composition and promising pharmacological properties, especially antimicrobial and anti-inflammatory. In the state of Alagoas, whose botanical origin is *Dalbergia ecastophyllum*. This type is unique to this region, having a high concentration of isoflavonoids in its composition, which made the National Institute of Industrial Property (INPI) grant the title of Geographical Indication to that locality, ensuring the international certificate of only producer of this type of propolis in the world, with assured quality throughout the year.<sup>9-1</sup>

This product has a high medicinal, historical and economic value, and in recent years PVB has had a great commercial expansion, where the interest in the pharmaceutical industry and its production has increased considerably worldwide, especially in Brazil, Japan, China, Russia, Germany and France. In dentistry researches point promising results in various specialties such as Endodontics, Cariology, Surgery, Preventive Dentistry and Periodontics.<sup>13</sup>

In this context, investments in patents are increasingly widespread in capitalism, because the entire operation of the system is related to innovation and scientific and

technological advancement. For this, advance is essential to the existence of intellectual property rights through patent protection.<sup>14</sup> No reports of the use of incorporated dentifrice with BRP were found in the literature, thus the application for a patent of invention was deposited under protocol BR1020170110974. The objective of the present study was to evaluate in vitro the antimicrobial activity of a dentifrice of BRP against *Streptococcus mutans* (*S. mutans*).

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Bacterial Strains and Culture Medium**

Strains of *S. mutans* ATCC UA159 were used in the present study. The strain was activated by incubation at 37°C overnight in Brain Heart Infusion (BHI) culture medium and in anaerobic jar, using the candle method, for a period of 24 hr.

### **Brazilian Red Propolis Extract and Dentifrice Preparation**

The extract of red propolis was collected from the State of Alagoas (Latitude South 9 ° 44.555 ' , Latitude West 35 ° 52.080' and altitude of 18.1 m above sea level). It was used 150 g of the extract of red propolis and dissolved in 1L of alcohol of cereals of greater graduation. The extract of BRP at 1% concentration (antimicrobial concentration previously studied) was incorporated into the fluoridated dentifrice (1500ppm). After, chemical identification of the constituents and the dentifrice was performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

### **Microbiological Analysis**

An experimental study was carried out in which the potential antimicrobial activity of BRP dentifrice on the standard strain *S. mutans* ATCC UA159 was investigated. All the tests were performed in triplicate and at two different times. The following groups were tested: G1- BRP extract; G2- BRP dentifrice; G3- Parodontax® dentifrice. For the evaluation of the antimicrobial activity, the micro dilution method was used in culture broth, according to Standard M07-A10 of the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2015).

After this time, the cultures had their cell density adjusted in sterile 0.85% saline so as to achieve a turbidity equivalent to the 0.5 tube of the Mc Farland scale (approximately  $1.5 \times 10^8$

CFU / mL). The suspension obtained was diluted 100-fold in sterile BHI medium. This suspension was used in the assay (Figure 1). To the wells of the microplates were added 100µL of BHI broth, 20µL of the tested substances (experimental groups), at concentrations

ranging from 100  $\mu\text{L} / \text{mL}$  to 0.0488  $\mu\text{L} / \text{mL}$ , and 80  $\mu\text{L} / \text{mL}$  of the standardized microbial suspension. The microplates were incubated for 24 hr in a bacteriological oven at 37°C.

After this period, visual inspection of microbial growth was performed. Due to the intense turbidity of the substances tested, 10  $\mu\text{L}$  of resazurin solution (0.01%) was added to all wells, and the microplates were incubated at 37°C for 2 hr. Visual inspection of the color change and reading in BioTek microplate reader at 570nm was performed to determine the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) (Figure 1).

Turbidity control (medium + substance of the experimental groups), growth control (medium + microbial suspension) and control of sterility of the culture medium (medium only) were performed.

## RESULTS

Figure 1 shows the CBM of the group treated with BRP extract. The extract showed significant antimicrobial activity against *S. mutans* up to the concentration of 0.3906  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Serial dilutions were performed in order to show the lowest concentration. Figure 2 shows the CBM of the group treated with BRP dentifrice. The BRP dentifrice again showed significant antimicrobial activity against *S. mutans* up to the concentration of 0.3906  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Serial dilutions were performed in order to show the lowest concentration.

Figure 1: CBM of the Brazilian red propolis extract on *S. mutans* ATCC UA 159. \* $P < 0.05$  compared to the control group (ANOVA and Dunnett tests). All the values are mean  $\pm 0.05$  (n =3).

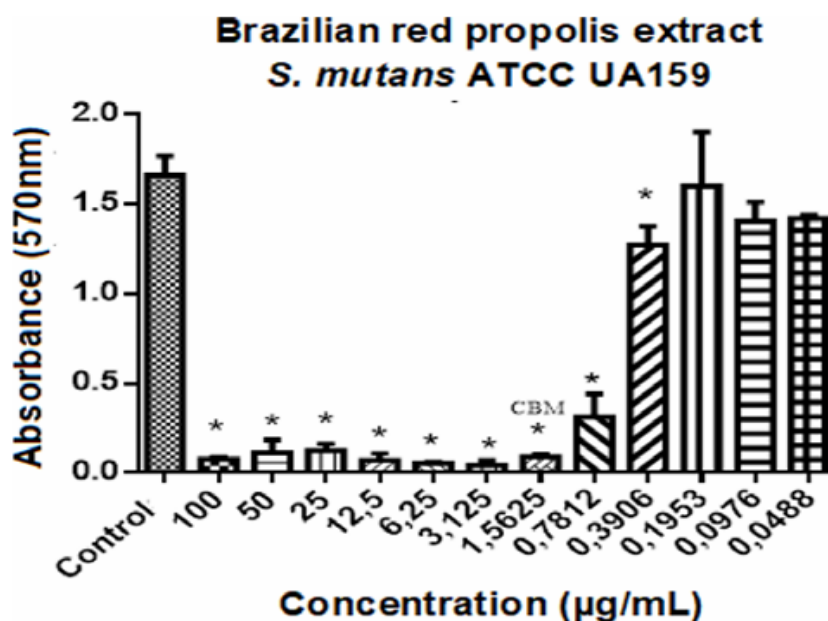


Figure 2: CBM of the Brazilian red propolis dentifrice on *S. mutans* ATCC UA 159. \* $P < 0.05$  compared to the control group (ANOVA and Dunnett tests). All the values are mean  $\pm$  0.05 (n =3).

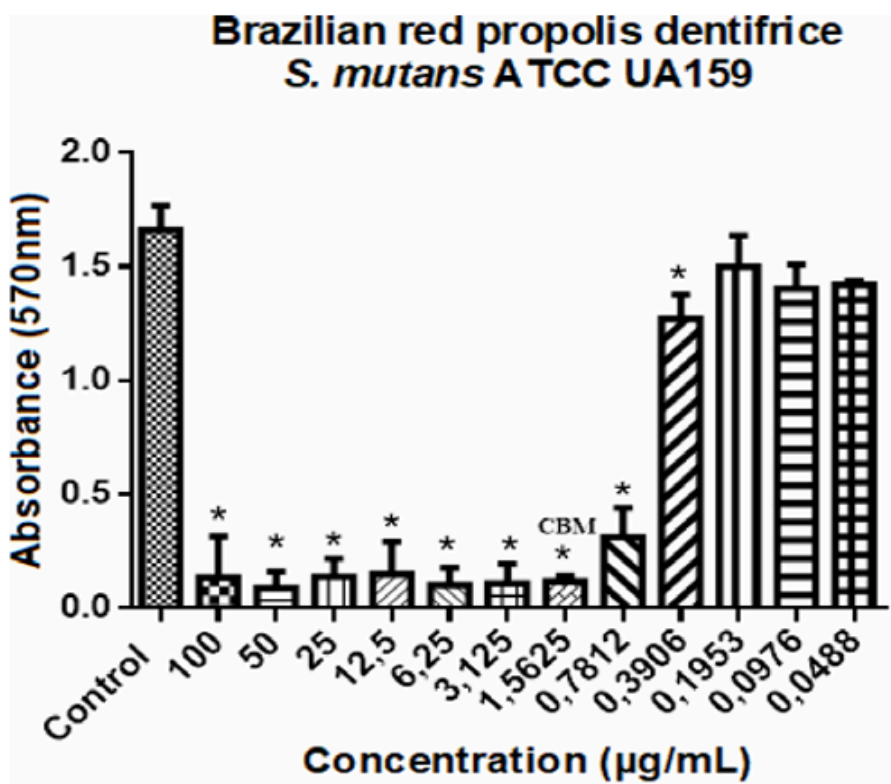


Figure 3: CBM of the Parodontax dentifrice on *S. mutans* ATCC UA 159. \* $P < 0.05$  compared to the control group (ANOVA and Dunnett tests). All the values are mean  $\pm$  0.05 (n =3).

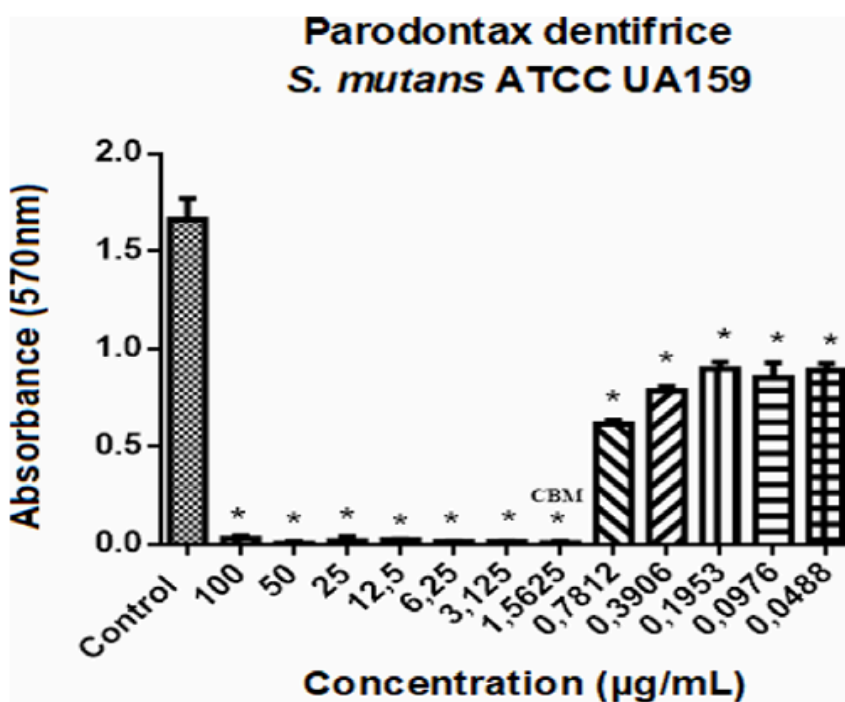


Figure 3 shows the CBM of the group treated with Parodontax dentifrice. Parodontax dentifrice also showed significant antimicrobial activity against *S. mutans* at all concentrations.

## DISCUSSION

Resistance to anti-infective chemotherapeutics and the search for substances with biological properties with lower adverse effects has increased interest in natural products. More than one hundred million molecules are cataloged around the world and many are still unexplored.<sup>2,11,15</sup>

The high demand for propolis and the investment in biotechnology of bee products contributed to the launch of several products on the market. Thus, challenges regarding resistance to synthetic antimicrobials increased the search for natural products, as for the derivatives of bees, honey and propolis stand out.<sup>16-18</sup>

Propolis is notable for the great gram-positive and gram-negative antimicrobial spectrum against colonizers of the dental biofilm, such as *S. mutans*, *Lactobacillus*, *P. gingivalis*, *Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*. This product has potent antimicrobial activity even at the concentration of 0.1%, possessing antimicrobial and anti-inflammatory activity proven in vitro and in vivo. This is due to high concentration of flavonoids and phenolic compounds.<sup>13-17</sup>

*Streptococcus* is one of the main micro-organisms that colonize the oral cavity, being pioneering species in the various mouth niches.<sup>19</sup> Cayo et al. evaluated the in vitro antimicrobial effect of various concentrations of the Peruvian propolis against *S. mutans* (ATCC 25175). At the same 10% concentration of propolis was sufficient for inhibition of halos.<sup>20</sup>

Fernandes Jr et al. analyzed the minimum inhibitory concentration of the propolis alcoholic extract found in Botucatu-SP, Mossoró-RN and Urubici-SC on species isolated from human clinical infections (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*). In the analysis, there was a higher sensitivity for gram-positive bacteria when compared to gram-negative bacteria.<sup>21</sup>

Grenho et al. believe that the various infections associated with biomaterials require new strategies to overcome this problem. The authors studied the association of nanohydroxyapatite with green propolis (25%) and red (25%) in the prevention of bacterial growth against *S. aureus* as well as cytotoxicity. The results showed that propolis had antimicrobial activity and was not cytotoxic to cell fibroblasts.<sup>22</sup>

Koru et al. evaluated the minimum inhibitory concentration (MIC) and MBC of propolis samples (10%) in four different regions of Turkey and Brazil against nine species of anaerobic bacteria using the dilution method of agar. The analysis showed that the different extracts had better activity in gram-positive than gram-negative bacteria and flavonoids were the most found components.<sup>23</sup>

Simões et al. evaluated in vitro and ex vivo the action of different concentrations of propolis extracts and compared with oral antiseptics using the saliva of individuals. The extracts at concentrations of 11%, 20% and 30% of propolis marketed in Bahia were compared to Periogard, Listerine, Malvatricin and Parodontax. In this study, solutions prepared with propolis had the same antimicrobial action independent of concentration and presented the same pharmacological action of commercial antiseptics.<sup>24</sup>

According to Silva et al. the lack of standardization of methodologies in products incorporated with propolis limits its use of industry, especially food and pharmaceutical. The authors evaluated in vitro several biological activities of extracts of propolis 2%, red, green and brown from different Brazilian regions. The extracts were prominent in the antimicrobial activity mainly against *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*, especially the red propolis extract, type 13, for antimicrobial, antiparasitic and antioxidant activities.<sup>25</sup>

It was concluded that all the groups observed had antimicrobial activity against *S. mutans*. There was no difference between the propolis extract and the dentifrice incorporated with the extract. However, there was difference in the common dentifrice group.

## **CONCLUSION**

It was concluded that all the groups observed had antimicrobial activity propolis extract, the dentifrice incorporated with the extract and the common dentifrice. The Parodontax dentifrice obtained the best results. against *S. mutans*. There was no difference between the propolis extract, the dentifrice incorporated with the extract and the common dentifrice. The Parodontax dentifrice had MBC equivalent to those of the test substance.

## **REFERENCES**

1. George DRM, Kasliwal DAV. Effectiveness of propolis, probiotics and chlorhexidine on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*: An in-vitro study. IOSR JDMS. 2017;16(3):15-8. doi: 10.9790/0853-1603071518.
2. Valadas LAR, Gurgel MF, Mororó JM, Fonseca SGDC, Fonteles CSR, De Carvalho CBM et al. Dose-response evaluation of a copaiba-containing varnish against *Streptococcus mutans* in vivo. Saudi Pharm J. 2019;27(3):363-7. doi: 10.1016/j.jsps.2018.12.004, PMID 30976179.

3. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: Ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol*. 2017;44:S12-22. doi: 10.1111/jcpe.12679.
4. De Souza TMPA, Freires IA, Lima DMB, Jovito VC, Almeida LFD, Castro RC. Aderência in vitro de *Streptococcus mutans* à superfície de Braquetes Ortodônticos metálicos e de policarbonato. *Rev Bras Cienc Saúde*. 2013;17(1):91-6. doi: 10.4034/RBCS.2013.17.01.12.
5. Lustosa SR, Galindo AB, Nunes LCC, Randau KP, Rolim Neto PJN. Própolis: Atualizações sobre a química e a farmacologia. *Rev bras farmacogn*. 2008;18(3):447-54. doi: 10.1590/S0102-695X2008000300020.
6. Salatino A. Brazilian red propolis: Legitimate name of the plant resin source. *Med crave*. 2018;5:435-41.
7. De Araújo YLFM, De Mendonça LS, Orellano SC, De Araújo ED. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. *Sci Plena*. 2011;7:1-4.
8. Nogueira MA, Diaz MG, Tagami PM, Lorcheide J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. *Rev Cienc Farm Básica Apl*. 2009;28:93-7.
9. Bueno-Silva B, Alencar SM, Koo H, Ikegaki M, Silva GV, Napimoga MH, et al. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from Brazilian red propolis. *J Agric Food Chem*. 2013;61(19):4546-50. doi: 10.1021/jf305468f, PMID 23607483.
10. Silva BB, Rosalen PL, Cury JA, Ikegaki M, Souza VC, Esteves A, et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2008;5(3):313-6. doi: 10.1093/ecam/nem059, PMID 18830449.
11. Freires IA, De Alencar SM, Rosalen PL. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. *Eur J Med Chem*. 2016;110:267-79. doi: 10.1016/j.ejmech.2016.01.033, PMID 26840367.
12. Franchin M, Colón DF, Da Cunha MG, Castanheira FVS, Saraiva ALL, Bueno-Silva B, et al. Neovestitol, an isoflavonoid isolated from Brazilian red propolis, reduces acute and chronic inflammation: Involvement of nitric oxide and IL-6. *Sci Rep*. 2016;6:36401. doi: 10.1038/srep36401, PMID 27819273.
13. Porto ICCM, Chaves Cardoso de Almeida D, Vasconcelos Calheiros de Oliveira Costa G, Sampaio Donato TS, Moreira Nunes L, Gomes do Nascimento T, et al. Mechanical and aesthetics compatibility of Brazilian red propolis micellar nanocomposite as a cavity cleaning

agent. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):219. doi: 10.1186/s12906-018-2281-y, PMID 30021632.

14. Furtado JHC, Rocha Valadas LA, Mendonça KS, De Oliveira Filho RD, Gadelha LMU, De Mello Fiallos N, et al. Propolis and its Dental Applications: A technological prospection. *Recent Pat Biotechnol*. 2018;12(4):288-96. doi: 10.2174/2211550107666180815114855, PMID 30156167.

15. Lobo PL, Fonteles CS, Marques LA, Jamacaru FV, Fonseca SG, De Carvalho CB, et al. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. Essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: A randomized, double-blind, controlled study. *Phytomedicine*. 2014;21(8-9):1043-7. doi: 10.1016/j.phymed.2014.04.021, PMID 24863037.

16. Chinsembu KC. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. *Acta Trop*. 2016;154:6-18. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.10.019, PMID 26522671.

17. Freires IA, Rosalen PL. How Natural Product Research has Contributed to Oral Care Product Development? A Critical View. *Pharm Res*. 2016;33(6):1311-7. doi: 10.1007/s11095-016-1905-5, PMID 26975359.

18. Do Nascimento TG, Da Silva PF, Azevedo LF, Da Rocha LG, De Moraes Porto IC, Lima E Moura TF, et al. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and leishmanicidal Activity. *Nanoscale Res Lett*. 2016;11(1):301. doi: 10.1186/s11671-016-1517-3, PMID 27316742.

19. Manji F, Dahlen G, Fejerskov O. Caries and periodontitis: Contesting the conventional wisdom on their aetiology. *Caries Res*. 2018;52(6):548-64. doi: 10.1159/000488948, PMID 29694978.

20. Cayo C, Quijandría L, Ramos J. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del propóleo sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). *Cien y Des*. 2016;19(2):19-24. doi: 10.21503/cyd.v19i2.1298.

21. Fernandes Júnior Jr A, Lopes MMR, Colombari V, Monteiro ACM, Vieira EP. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. *Cienc Rural*. 2006;36(1):294-7. doi: 10.1590/S0103-84782006000100047.

22. Grenho L, Barros J, Ferreira C, Santos VR, Monteiro FJ, Ferraz MP, et al. In vitro antimicrobial activity and biocompatibility of propolis containing nanohydroxyapatite. *Biomed Mater*. 2015;10(2):025004. doi: 10.1088/1748-6041/10/2/025004, PMID 25784672.

23. Koru O, Toksoy F, Acikel CH, Tunca YM, Baysallar M, Uskudar Guclu AU, et al. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe*. 2007;13(3-4):140-5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2007.02.001, PMID 17475517.
24. Simões CC, Araújo DBd, Araújo RPCd. 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*. 2008;18(1):84-9. doi: 10.1590/S0102-695X2008000100016.
25. Silva RPD, Machado BAS, Barreto GA, Costa SS, Andrade LN, Amaral RG, et al. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *PLOS ONE*. 2017;12(3):e0172585. doi: 10.1371/journal.pone.0172585, PMID 28358806.

**CAPÍTULO 2****TITLE PAGE**

This chapter refers to the article submitted on the Angle Orthodontics

**Evaluation of the incidence of carious lesions and gingival status in orthodontic patients after using a 6-month period using a propolis toothpaste: A double-blind and randomized clinical trial**

Francineudo Oliveira Chagas<sup>1</sup>

Lidia Audrey Rocha Valadas<sup>2,1</sup>

Mary Anne Medeiros Bandeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pharmacy, Dentistry and Nursing College, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil.

<sup>2</sup> Department of Preventive and Community Dentistry, University of Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

\*Corresponding author at: Francineudo Oliveira Chagas

Address: 1210 Pastor Samuel Mulunga Street, ZipCode 60430372, Fortaleza, Brazil.

Tel:+55 85 33668000.

E-mail address: chagasneudo@gmail.com

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the clinical effect of a fluoridated toothpaste containing 1% Brazilian red propolis (BRP) on dental biofilm control, the incidence of carious lesions, and the gingival bleeding index in orthodontic patients. This was a randomized, controlled, longitudinal clinical trial conducted with 60 orthodontic patients aged 12 to 18 years, divided into two groups: group 1 (G1) used toothpaste associated with BRP (MFP + BRP), and group 2 (G2) used a control toothpaste containing only monofluorophosphate (MFP). Evaluations were performed at baseline, and at 2, 4, and 6 months, using the ICDAS II criteria for carious lesions, in addition to gingival bleeding indices. The results showed that the test group maintained a higher proportion of healthy surfaces (ICDAS II 0) throughout the follow-up, while the control group showed greater progression to initial lesions (ICDAS II 1). Furthermore, the toothpaste containing PVB significantly reduced the gingival bleeding index at 4 and 6 months, contrasting with the increase observed in the control group. It is concluded that the use of fluoridated toothpaste with Brazilian red propolis showed clinical superiority in controlling initial caries and gingival inflammation in orthodontic patients, establishing itself as a biocompatible, effective, and safe preventive strategy for managing dental biofilm in this population.

## **INTRODUCTION**

Natural products have been part of disease treatment since the beginning of humanity. Thus, there is constant scientific and pharmaceutical industry interest in natural products for the development of formulations to control dental biofilm, with antimicrobial and anti-inflammatory substances being investigated mainly (Furtado Júnior et al., 2018; Arzani et al., 2025; Lotif et al., 2025).

The control of dental biofilm is mainly based on mechanical methods, such as brushing and flossing, and when necessary, it can be combined with chemical agents, such as chlorhexidine and fluoridated mouthwashes (Furtado Júnior et al., 2020).

In Dentistry, studying bioactive formulations is essential and a strong trend, thus increasing control methods and preserving tooth structure (Valadas et al., 2021). Among the natural products studied in Dentistry, propolis can be mentioned, mainly in research on caries and periodontal disease, being a relevant product in the development of dental formulations for the prevention and treatment of diseases associated with the presence of microorganisms, tissue inflammation and imbalances of the oral microbiota (Furtado Júnior et al., 2020; Rodrigues Neto et al., 2021; Lotif et al., 2025).

Like any other natural product, georeferencing is important, as the variability in the chemical composition of propolis, influenced by botanical origin, geographic region, and extraction method, impacts biological activity. In this sense, after years of investigation, the quality standard of propolis in the state of Alagoas in Brazil was recognized, with the geographical indication registered as Brazilian red propolis (PVB) in the Marechal Deodoro region of the state of Alagoas (Propolis 2013; Furtado Júnior et al., 2020; Rodrigues Neto et al., 2021).

In patients with plaque-retentive factors, such as braces, there may be an imbalance in the oral microbiota, leading to an increase in acidogenic and periodontopathogenic bacteria, thus contributing to the development of dental caries, gingivitis, and, in more advanced cases, periodontitis (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022; Silva et al., 2024).

In this sense, dental biofilm in orthodontic patients presents specific characteristics, such as greater thickness and structural complexity, which enhances its resistance to mechanical removal forces and antimicrobial agents, since hygiene is difficult. In addition, the alteration of salivary flow and self-cleaning areas favors the maintenance of an environment conducive to bacterial metabolic activity (Silva et al., 2024).

In recent years, interest in alternative and biocompatible approaches, such as the use of natural products with antimicrobial and anti-inflammatory properties, has increased. Thus, controlling dental biofilm in orthodontic patients constitutes a relevant clinical challenge, requiring integrated strategies that combine education, continuous monitoring, and preventive interventions based on scientific evidence (Lotif et al., 2022; Hashim et al., 2025).

Therefore, this study sought to verify the incidence of carious lesions and plaque index and marginal bleeding index in orthodontic patients who used a toothpaste formulated with 1% Brazilian red propolis extract (INPI BR1020170110974).

## **METHODOLOGY**

### **Identification of the extract and preparation of toothpastes.**

For this study, Brazilian red propolis extract (PVB), georeferenced from Alagoas (Altitude 35.5m; South Latitude 9° 42'25.8"; West Latitude 35° 54'39.1"), was used. The chemical identification of its constituents was performed using high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry (HPLC–MS, Shimadzu, model QP 5050, Japan). The toothpaste was formulated with a 1% concentration of red propolis, a concentration previously studied and with good clinical results, associated with 1500 ppm of

F-. The toothpaste was prepared in the Pharmaceutical Technology laboratory of the Pharmacy course at the Federal University of Ceará, standardizing its color, taste, and odor.

### **Ethical aspects, location and population**

This study is a randomized, controlled, longitudinal clinical trial. It was submitted to the Ethics Committee in accordance with CNS/MS Resolution 466/12, and the clinical trial was approved in the Brazilian Registry of Clinical Trials (REBEC) under number RBR-4zjkzv7.

In this phase, users of the Surgery and Periodontics clinic of the Department of Dental Clinic of the Dentistry course at the Federal University of Ceará (Brazil), where users of fixed orthodontic appliances, were invited to participate in the research and informed about it to sign the free and informed assent form (TALE), and the guardians, the free and informed consent form (TCLE). Individuals without caries lesions (ICDAS II 0), aged between 12 and 18 years, who use orthodontic appliances, right-handed, with at least twenty teeth and without the presence of caries lesions were selected. The exclusion criteria were pregnant patients, patients with systemic diseases, patients who had received professional application of fluoridated products, or patients who had used antimicrobials in the last 3 months.

### **Clinical stage**

A total of 60 participants, a previously calculated number, were randomized into the following two groups: Group I (n=30) – Red propolis toothpaste associated with 1500 ppm F-; Group II (n=30) – Toothpaste with 1500 ppm F-. Before the start of treatment, dental biofilm was professionally removed with scaling cures, a Robinson-type brush, and pumice stone. The toothpaste was used three times a day for twelve months. Evaluation will be performed every 2 months, totaling four evaluations (baseline, 2 months, 4 months, 6 months). During the evaluation, lesions were assessed according to the ICDAS II index, and the plaque index was recorded. All patients periodically received toothpaste and toothbrushes of the same brand during treatment, as well as brushing instructions.

### **Statistical methodology**

For data analysis, as well as for the creation of statistical analysis graphs, SigmaPlot 11.0 software will be used. The Kruskal-Wallis test will be applied to compare data between groups; for pairwise comparisons, the Mann-Whitney test will be used.

The Bonferroni test will be applied to adjust the significance level. Differences will only be considered statistically significant when the significance level is " $p \leq 0.05$ ".

## RESULTS

A total of 60 patients participated, 56.7% of whom were female and 43.3% male. The mean age was  $15.3 \pm 1.06$  years for the BRP group and  $14.93 \pm 1.48$  years for the control group.

Table 1 presents the record of lesions evaluated by the ICDAS II method over time, comparing the group that used fluoridated toothpaste associated with Brazilian red propolis (MFP + BRP) and the control group with toothpaste containing only monofluorophosphate (MFP).

It was observed that at baseline (time 0), both groups had all surfaces classified as ICDAS II 0. After 2, 4, and 6 months, the MFP + BRP group maintained a higher proportion of healthy surfaces (ICDAS II 0), with values progressively higher than those of ICDAS II 1, when compared to the control group.

On the other hand, the MFP group showed higher percentages of surfaces classified as ICDAS II 1 in all periods evaluated. These results suggest that the use of toothpaste containing Brazilian red propolis may be associated with better control of the initial development of caries lesions over time, as evidenced by the distribution of surfaces according to the ICDAS II criterion.

Table 1 – Record of lesions using the ICDAS II method during the use of Brazilian Red Propolis (BRP) dentifrice and a control dentifrice.

Evaluation (months)	Group 1		Group 2	
	MFP + BRP		MFP	
	ICDAS II 0	ICDAS II 1	ICDAS II 0	ICDAS II 1
	N surfaces (%)	N surfaces (%)	N surfaces (%)	N surfaces (%)
0	0	0	0	0
2	94.29± 3.51	5.71± 2.32	89.28±5.77	10.72 ±0.01
4	93.58± 5.72*	6.42± 1.32	82.14±8.92	17.86 ±1,42
6	92.86± 4.33**	7.14± 2.13	81.57±6.12	18.43 ± 2.34

Legend: Comparison of other times compared to baseline intragroup using the Friedman Test. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$

Table 2 presents the evolution of the Gingival Bleeding Index over time in the groups that used toothpaste containing monofluorophosphate associated with Brazilian red propolis (MFP + BRP) and in the control group with monofluorophosphate (MFP).

At baseline (0 months), both groups showed similar values for the index. Throughout the follow-up, the MFP + BRP group demonstrated statistical superiority in the gingival bleeding index at 4 and 6 months compared to the initial time, indicating a progressive improvement in gingival condition.

In contrast, the control group showed a significant increase in the index at 6 months compared to baseline. These findings suggest that the use of toothpaste containing Brazilian red propolis was associated with a positive effect on the control of gingival bleeding over time, when compared to the control toothpaste.

Table 2 – Record Gingival Bleeding Index during the use of Brazilian Red Propolis (BRP) dentifrice and a control dentifrice.

Evaluation (months)	Group 1	Group 2
	MFP + BRP	MFP
	N surfaces (%)	N surfaces (%)
0	10.91 ± 2.32	11.39 ± 2.75
2	8.13 ± 1.77	11.17 ± 2.41**
4	7.51 ± 2.12*	10.46 ± 1.39*
6	7.32 ± 1.33*	13.77 ± 2.78***

Legend: Comparison of other times compared to time zero intragroup using the Friedman Test. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

## DISCUSSION

This study longitudinally investigated the clinical effect of a fluoridated toothpaste containing 1% Brazilian red propolis extract (PVB) on the control of dental biofilm and the incidence of carious lesions in orthodontic patients. The findings indicate that the use of the formulation maintained the caries index and improved the marginal bleeding index during the follow-up period. This is justified by the fact that Brazilian propolis has a unique chemical composition and diverse biological properties due to its richness in flavonoids, hence the interest in pharmaceutical applications (Franchin et al., 2024).

This effect occurs because Brazilian propolis has a unique chemical composition and diverse biological properties, due to its richness in flavonoids, hence the interest in pharmaceutical applications (Franchin et al., 2024). Propolis has been considered a cariostatic agent, capable of preventing the accumulation of bacterial plaque and inhibiting inflammation. The anti-inflammatory effect can be attributed to the phenethyl ester of caffeic acid, and when incorporated into toothpastes, the interruption of the acute inflammatory phase, through the effective mobilization of the immune system, is essential to avoid chronic inflammation (Kurek-Gorecka et al., 2023).

The present extract proved to be rich in flavonoids and anthocyanins. It is known that georeferencing and botanical origin play an important role in the chemical composition and physical characteristics of propolis, where PVB is rich in phenolic compounds and flavonoids (Etebaian et al., 2024; Alsarayrah et al., 2025).

Dental biofilm, if not regularly removed through proper oral hygiene, can lead to dental caries and gingivitis (Sycińska-Dziarnowska et al., 2025). It is indisputable that patients undergoing fixed orthodontic treatment constitute a high-risk group for the accumulation of dental biofilm, due to the retentive factors represented by brackets, wires, and accessories that hinder hygiene and favor the retention of acidogenic and periodontopathogenic microorganisms. This scenario contributes to increased gingival inflammation and the development of caries lesions, mainly initial enamel lesions, ICDAS 1, around the brackets. Thus, strategies complementary to mechanical control are often necessary to minimize this risk caused by orthodontic treatment.

Current clinical evidence supports the potential of mouthwashes and toothpastes containing propolis in controlling bacterial plaque and promoting gingival health, making them an interesting preventive strategy, given the adverse effects that can result from the continuous use of chlorhexidine (Sycińska-Dziarnowska et al., 2025).

The results observed in this study indicated a superiority of the use of PVB toothpaste in both the incidence of lesions and the recorded bleeding index, reinforcing previous evidence demonstrating the antimicrobial and anti-inflammatory activity of PVB. Thus, laboratory and clinical studies have already demonstrated that phenolic compounds present in propolis, such as flavonoids, isoflavones, and phenolic acids, have an inhibitory action on cariogenic microorganisms and modulate the inflammatory response of periodontal tissues. This explains the reduction in recorded plaque index and marginal bleeding.

These findings are consistent with other clinical trials such as Takeuchi-Hatanaka et al. (2025), which evaluated the efficacy and safety of a 2.5% propolis-containing toothpaste

compared to a placebo. The test group showed a significant reduction in periodontal pocket depth, but bleeding on probing was similar in both groups, and no adverse effects were observed. Furthermore, Pinguero et al. (2025), when adding propolis to an orthodontic adhesive system, observed no modification in the physicochemical properties of the orthodontic adhesive, demonstrating interest in the development of formulations with this extract. Jungbauer et al. (2025) compared toothpastes with Manuka honey containing propolis (Manuka prop) and another with Manuka honey containing fluoride (F), comparing them to a toothpaste without any active ingredient and a commercial toothpaste. In this study, all formulations showed promising antimicrobial concentrations. Furthermore, the toothpaste formulations affected the viability of gingival fibroblasts in a concentration-dependent manner, with no differences observed between the formulations, thus potentially representing a natural alternative to commercially available products.

When used during the same period, with the same toothpaste, PVB showed a reduction in cariogenic and periodontopathogenic microorganisms. After 4 weeks of use, it demonstrated a significant reduction in *Lactobacillus* spp. and *Streptococcus mutans* counts compared to conventional toothpastes, indicating the antimicrobial capacity of this product against bacteria associated with biofilm formation and possibly against caries progression (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022). It is known that safety is as important as efficacy. In the case of PVB toothpaste, safety was noted, with no record of adverse effects and no alterations in biochemical parameters in salivary proteins (Silva et al., 2019; Silva et al., 2024).

Furthermore, remineralizing activity is essential, therefore the stability was evaluated and the kinetics of fluoride associated with toothpaste in saliva were investigated. The formulation of the present toothpaste showed solubility, that is, anti-caries action, for up to one year (Patent - Lotif et al., 2025). A clinical study demonstrated that the addition of propolis did not interfere with the bioavailability of fluoride in saliva after brushing, demonstrating that the association of propolis with traditional anti-caries agents does not compromise its protective efficacy. This finding is extremely important, ensuring antimicrobial, anti-inflammatory and remineralizing action (Girão Júnior et al., 2022).

Regarding the incidence of carious lesions, the maintenance of ICDAS scores of 0 and 1 throughout the follow-up suggests that PVB toothpaste may contribute to the control of the cariogenic process in patients with plaque-retentive factors, such as orthodontic patients. This effect is particularly relevant considering the long orthodontic treatment time and the difficulty of adhering to more rigorous oral hygiene protocols in these patients.

Finally, the development of toothpaste with PVB represents a promising line of dental research, pointing to the efficacy, safety, and bioavailability of fluoride in saliva. In addition, it demonstrates fluoride stability for a period of one year after formulation manufacture (Lotif et al., 2025).

## CONCLUSION

This study indicated that after six months of use, the Brazilian red propolis toothpaste showed clinical superiority in terms of the incidence of caries lesions and the marginal bleeding index.

## REFERENCES

1. Furtado JHC Jr, Rocha Valadas LA, Mendonça KS, de Oliveira Filho RD, Gadelha LMU, de Mello Fiallos N, Neto EMR, de Mello Fiallos AC, de França Fonteles MM. Propolis and its Dental Applications: A Technological Prospection. *Recent Pat Biotechnol.* 2018;12(4):288-96.
2. Arzani V, Soleimani M, Fritsch T, Jacob UM, Calabrese V, Arzani A. Plant polyphenols, terpenes, and terpenoids in oral health. *Open Med (Wars).* 2025 Apr 15;20(1):20251183.
3. Lotif MAL, Valadas LAR, Bottenberg P, Squassi A, Dantas TCFB, Passos VF, Rodrigues Neto EM, Bandeira MAM, Fonteles MMF. Fluoride Content, Availability, and Stability in a Propolis-Based Dentifrice. *Int J Dent.* 2025 Apr 10;2025:3414733.
4. Furtado Júnior JHC, Valadas LAR, Fonseca SGDC, Lobo PLD, Calixto LHM, Lima AGF, de Aguiar MHR, Arruda IS, Lotif MAL, Rodrigues Neto EM, Fonteles MMF. Clinical and Microbiological Evaluation of Brazilian Red Propolis Containing-Dentifrice in Orthodontic Patients: A Randomized Clinical Trial. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020 Jan 21;2020:8532701.
5. Valadas LAR, Lobo PLD, Fonseca SGDC, Fachine FV, Rodrigues Neto EM, Fonteles MMF, de Aguiar Trévia LR, Vasconcelos HLP, Lima SMDS, Lotif MAL, Fernandes AMB, Bandeira MAM. Clinical and Antimicrobial Evaluation of *Copaifera langsdorffii* Desf. Dental Varnish in Children: A Clinical Study. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021 Mar 25;2021:6647849.
6. Silva BB, Rosalen PL, Cury JA, Ikegaki M, Souza VC, Esteves A, et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2008;5(3):313-6. doi: 10.1093/ecam/nem059, PMID 18830449.
7. Lotif MAL, Valadas LAR, Fachine FV, Fonseca SGC, Bandeira MAM, Dantas TCFB, Rodrigues Neto EM, Squassi A, Fonteles MMF. A double-blind randomized clinical trial of Brazilian red propolis dentifrice efficacy in orthodontic patients. *J Oral Sci.* 2022 Jan 19;64(1):28-32.
8. Silva MA, Valadas LAR, Lopes de Oliveira GA, Rodrigues Neto EM, de Alencar Júnior EA, Dantas Lobo PL, Dantas TCFB, Bandeira MAM, de França Fonteles MM, Baptista GR. Biomarkers of Orthodontic Patients After Use of 1% Brazilian Red Propolis Toothpaste: A Randomized Clinical Study. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2024 Jun 27;14(3):218-224.

9. Lotif MAL, Valadas LAR, Fachine FV, Fonseca SGC, Bandeira MAM, Dantas TCFB, Rodrigues Neto EM, Squassi A, Fonteles MMF. A double-blind randomized clinical trial of Brazilian red propolis dentifrice efficacy in orthodontic patients. *J Oral Sci.* 2022 Jan 19;64(1):28-32.
10. Hashim NT, Babiker R, Chaitanya NCSK, Mohammed R, Priya SP, Padmanabhan V, Ahmed A, Dasnadi SP, Islam MS, Gismalla BG, Rahman MM. New Insights in Natural Bioactive Compounds for Periodontal Disease: Advanced Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. *Molecules.* 2025 Feb 10;30(4):807.
11. Franchin M, Colón DF, Da Cunha MG, Castanheira FVS, Saraiva ALL, Bueno-Silva B, et al. Neovestitol, an isoflavonoid isolated from Brazilian red propolis, reduces acute and chronic inflammation: Involvement of nitric oxide and IL-6. *Sci Rep.* 2016;6:36401.
12. Kurek-Górecka A, Klósek M, Pietsz G, Czuba ZP, Kolayli S, Can Z, Balwierz R, Olczyk P. The Phenolic Profile and Anti-Inflammatory Effect of Ethanolic Extract of Polish Propolis on Activated Human Gingival Fibroblasts-1 Cell Line. *Molecules.* 2023 Nov 8;28(22):7477.
13. Etebarian A, Alhouei B, Mohammadi-Nasrabadi F, Esfarjani F. Propolis as a functional food and promising agent for oral health and microbiota balance: A review study. *Food Sci Nutr.* 2024 May 29;12(8):5329-5340.
14. Alsarayrah NA, Mohamed R, Omar EA. Stingless bee propolis: a comprehensive review of chemical constituents and health efficacy. *Nat Prod Bioprospect.* 2025 Sep 4;15(1):61.
15. Sycińska-Dziarnowska M, Szyszka-Sommerfeld L, Bugajska M, Ziabka M, Szućko-Kociuba I, Spagnuolo G, Woźniak K, Park HS. Propolis as a Natural Remedy in Reducing Dental Plaque and Gingival Inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Funct Biomater.* 2025 Sep 8;16(9):336.
16. Takeuchi-Hatanaka K, Ito M, Hayashi Y, Maruyama H, Kono H, Shinoda-Ito Y, Omori K, Takashiba S. Clinical and microbiological effects of a propolis toothpaste in patients with periodontitis under supportive periodontal therapy: a randomized double-blind clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2025 Jul 9;29(8):379.
17. Pingueiro JMS, Feres MFN, Vaz-Monteiro CCM, Vieira-Silva HK, Vargas GQ, Malavazi LM, Rosalen PL, Shibli JA, Roscoe MG, Bueno-Silva B. Brazilian red propolis as a potential antimicrobial additive in orthodontic primers. *Braz Dent J.* 2025 Apr 7;36:e246036.
18. Jungbauer G, Lechner R, Stähli A, Sculean A, Eick S. In-Vitro Effect of Manuka Honey/Propolis Toothpastes on Bacteria and Biofilm Associated with Caries and Gingivitis. *Oral Health Prev Dent.* 2025 Mar 27;23:203-210.
19. Silva MDA, Valadas LAR, Girão Júnior FJG, De Oliveira GAL, Fiallos ACM, Rodrigues Neto EM, Baptista GR. Perception and adverse effects of patients after using propolis-containing dentifrice. *Journal of Young Pharmacists.* 2019;11(4):421-5.
20. Girão Júnior FJ, Valadas LAR, Bottenberg P, Lotif MAL, Rodrigues Neto EM, Fonseca SGDC, Bandeira MAM, Squassi A, Dantas TCFB, de Sena NJC, Fonteles MMF. Salivary Fluoride Bioavailability after Brushing with Brazilian Red Propolis Dentifrice: A Clinical Study. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022 Jan 31;2022:6148137.

#### 4 DISCUSSÃO GERAL

O presente estudo avaliou *in vitro* e *in vivo* em pacientes ortodônticos dados do dentifrício de própolis vermelha brasileira (PVB), reforçando as evidências e suportando o uso em diferentes aplicações.

A importância de pesquisas assim quando se trabalha com produtos naturais se dá porque a resistência aos antimicrobianos e a busca por substâncias com propriedades biológicas e menores efeitos adversos têm aumentado o interesse em produtos naturais. Mais de cem milhões de moléculas estão catalogadas em todo o mundo, e muitas ainda permanecem inexploradas (Chinsembu, 2016; Freires et al., 2016; Valadas e al., 2019).

Apesar de recente é vasta a literatura sobre a própolis em Odontologia onde a mesma vem sendo considerada um agente cariostático, capaz de prevenir o acúmulo de placa bacteriana e inibir a inflamação. O efeito anti-inflamatório pode ser atribuído ao éster fenético do ácido cafeico e quando incorporada a dentifrícios a interrupção da fase inflamatória aguda, por meio da mobilização eficaz do sistema imunológico, é essencial para evitar a inflamação crônica (Kurek-Gorecka et al., 2023).

O presente extrato se mostrou rico em flavonóides e antocianinas. Sabe-se que o georreferenciamento e a origem botânica desempenham um papel importante na composição química e características físicas da própolis, onde a brasileira é rica em compostos fenólicos e flavonoides (Etebaian et al., 2024; Alsarayrah et al., 2025).

A alta demanda por própolis e o investimento em biotecnologia de produtos apícolas contribuíram para o lançamento de diversos produtos no mercado. Assim, os desafios relacionados à resistência a antimicrobianos sintéticos intensificaram a busca por produtos naturais, sendo os derivados de abelhas, mel e própolis, os mais procurados (Chinsembu, 2016; Freires, Rosalen, 2016; Nascimento et al., 2016).

Diversas são as evidências que a própolis destaca-se pelo seu amplo espectro antimicrobiano contra bactérias gram-positivas e gram-negativas colonizadoras do biofilme dental, como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas gingivalis*, *Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. Este produto apresenta potente atividade antimicrobiana mesmo na concentração de 0,1%, possuindo atividade antimicrobiana e anti-inflamatória comprovada *in vitro* e *in vivo*. Isso se deve à alta concentração de flavonoides e compostos fenólicos (Cayo et al., 2016; Chinsembu, 2016; Freires, Rosalen, 2016; Furtado Júnior et al., 2018; Porto et al., 2018).

Outras tecnologias inovadoras vêm investindo em nanopartículas com própolis também. Grenho et al. (2015) reportam que as diversas infecções associadas a biomateriais exigem novas estratégias para superar esse problema. Os autores estudaram a associação de nanohidroxiapatita com própolis verde (25%) e vermelha (25%) na prevenção do crescimento bacteriano contra *S. aureus*, bem como a citotoxicidade. Os resultados mostraram que a própolis apresentou atividade antimicrobiana e não foi citotóxica para fibroblastos.

Koru et al. (2007) avaliaram a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) de amostras de própolis (10%) em quatro diferentes regiões da Turquia e do Brasil contra nove espécies de bactérias anaeróbias, utilizando o método de diluição em ágar. A análise mostrou que os diferentes extratos apresentaram melhor atividade em bactérias gram-positivas do que em gram-negativas, sendo os flavonoides os componentes mais encontrados.

Simões et al. (2008) avaliaram *in vitro* e *ex vivo* a ação de diferentes concentrações de extratos de própolis e compararam com antissépticos orais utilizando a saliva de indivíduos. Extratos de própolis comercializados na Bahia, em concentrações de 11%, 20% e 30%, foram comparados aos antissépticos Periogard, Listerine, Malvatricin e Parodontax. Neste estudo, as soluções preparadas com própolis apresentaram ação antimicrobiana semelhante, independentemente da concentração, e ação farmacológica similar à dos antissépticos comerciais.

Segundo Silva et al. (2017), a falta de padronização das metodologias em produtos com própolis limita seu uso na indústria, principalmente na alimentícia e farmacêutica. Os autores avaliaram *in vitro* diversas atividades biológicas de extratos de própolis a 2%, vermelha, verde e marrom, provenientes de diferentes regiões brasileiras. Os extratos apresentaram atividade antimicrobiana proeminente, principalmente contra *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, com destaque para o extrato de própolis vermelha, tipo 13, que apresentou atividades antimicrobiana, antiparasitária e antioxidante (Silva et al., 2017).

O presente dentifrício demonstrou propriedades *in vitro* semelhantes às do dentifrício Parodontax (Chagas et al., 2022). Além disso, descobriu-se que o mesmo reduz as citocinas inflamatórias da gengivite (Silva et al., 2024) e tem boa aceitação em pacientes ortodônticos (Silva et al., 2019). Entretanto, dada a possibilidade de um dia se tornar comercial, estudos relacionados à estabilidade são essenciais.

Assim suportado por diferentes fontes da literatura, os dados *in vitro* apontaram que todos os grupos observados apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. mutans*. Não

houve diferença entre o extrato de própolis e o creme dental com o extrato. No entanto, houve diferença no grupo que utilizou apenas creme dental comum.

Nos achados clínicos da presente pesquisa, apontou-se que o uso da formulação manteve o índice de cárie e melhorou o índice de sangramento marginal, durante o período de acompanhamento. A própolis brasileira tem composição química única e diversas propriedades biológicas, devido à riqueza em flavonoides, por isso o interesse em aplicações farmacêuticas (Franchin et al., 2024). Esse efeito pode ser justificado pois a própolis brasileira tem composição química única e diversas propriedades biológicas, devido à riqueza em flavonoides, por isso o interesse em aplicações farmacêuticas (Franchin et al., 2024).

Para a prevenção e controle da cárie dentária, os dentifrícios fluoretados são as formulações com mais evidências (Walsh et al., 2019). Assim, no desenvolvimento de um novo dentifrício, isso se torna essencial para mostrar sua eficácia e comparar com o que se tem no mercado. Exemplo disso é o estudo de Naumova et al. (2019), que avaliaram dentifrícios com vidros bioativos, que, por se degradarem em soluções aquosas, podem liberar íons flúor na saliva, e assim compararam ao fluoreto de sódio (NaF) e fluoreto de amina (AmF). Após 120 minutos de coleta de saliva, evidenciou-se que o dentifrício experimental mostrou concentração menor de fluoreto quando comparado ao NaF ou AmF.

O biofilme dentário se não removido regularmente por meio de uma higiene bucal adequada, pode levar à cárie dentária e gengivite (Sycińska-Dziarnowska et al., 2025). É indiscutível que pacientes em tratamento ortodôntico fixo constituem um grupo de alto risco para o acúmulo de biofilme dentário, por conta dos fatores retentivos que representam os braquetes, fios e acessórios que dificultam a higienização e favorecem a retenção de microrganismos acidogênicos e periodontopatogênicos. Esse cenário contribui para o aumento da inflamação gengival e para o desenvolvimento de lesões de cárie, principalmente lesões iniciais do esmalte, ICDAS 1, ao redor dos bráquetes. Assim, estratégias complementares ao controle mecânico são frequentemente necessárias para minimizar esse risco causado pelo tratamento ortodôntico.

As evidências clínicas atuais apoiam o potencial de enxaguantes bucais e cremes dentais contendo própolis no controle da placa bacteriana e na saúde gengival, sendo uma estratégia preventivas interessante, visto os efeitos adversos que podem vir do uso contínuo da clorexidina (Sycińska-Dziarnowska et al., 2025).

Os resultados observados neste estudo apontaram uma superioridade do uso do dentifrício de PVB tanto na incidência de lesões como no registro do índice de sangramento

reforçando evidências prévias que demonstram a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória da PVB. Assim, estudos laboratoriais e clínicos já demonstraram que compostos fenólicos presentes na própolis, como flavonoides, isoflavonas e ácidos fenólicos, apresentam ação inibitória sobre microrganismos cariogênicos, e modulam a resposta inflamatória dos tecidos periodontais. Isso explica a redução nos registros do índice de placa e de sangramento marginal.

Takeuchi-Hatanaka et al. (2025) em um ensaio clínico para avaliar a segurança e a eficácia de um creme dental contendo própolis a 2,5% em comparação com um placebo em pacientes submetidos à terapia periodontal de suporte (TPS) verificou-se que o grupo própolis apresentou uma redução significativa na profundidade da bolsa periodontal, mas o sangramento à sondagem foi similar em ambos os grupos, além de não apresentar efeitos adversos. Pingueiro et al. (2025) ao adicionar própolis a um sistema adesivo ortodôntico, observou-se que não houve modificação nas propriedades físico-químicas do adesivo ortodôntico, mostrando o interesse no desenvolvimento de formulações com esse extrato.

Em uso no mesmo período, com o mesmo dentífrício, a PVB mostrou redução de microrganismos cariogênicos e periodontopatógenos. Após o uso de 4 semanas demonstrou redução significativa nas contagens de *Lactobacillus spp.* E *Streptococcus mutans* em comparação com dentífrícios convencionais, apontando a capacidade antimicrobiana desse produto contra bactérias associadas à formação de biofilme e possivelmente quanto à progressão da cárie (Furtado Júnior et al., 2020; Lotif et al., 2022). Sabe-se que tão importante quanto a eficácia é a segurança. Tratando-se do dentífrício PVB foi apontada a segurança, sem registro de efeitos adversos e sem alterações nos parâmetros bioquímicos nas proteínas salivares (Silva et al., 2019; Silva et al., 2024).

Jungbauer et al (2025) investigaram os efeitos antibacterianos e anti-biofilme de duas formulações de dois dentífrícios, um com mel de Manuka contendo própolis (Manuka prop) e outro com mel de Manuka contendo fluoreto, F), comparando com o dentífrício sem nenhum ativo e com um comercial. Nesse estudo todos apresentaram concentração antimicrobiana promissora, além disso, as formulações de pasta de dente afetaram a viabilidade de fibroblastos gengivais de maneira dependente da concentração, sem diferenças observadas entre as formulações, podendo assim representar uma alternativa natural aos produtos comerciais disponíveis

Além disso, a atividade remineralizadora é essencial, por isso avaliou-se a estabilidade e investigou-se na saliva a cinética do fluoreto associado ao dentífrício. A formulação do presente dentífrício apontou solubilidade, ou seja, ação anticárie, por até um

ano Patente INPI BR1020170110974 (Lotif et al., 2025). Um estudo clínico demonstrou que a adição da própolis não interferiu na biodisponibilidade do fluoreto na saliva após a escovação, demonstrando que a associação da própolis com agentes anti-cárie tradicionais não compromete sua eficácia protetora. Essa constatação é de extrema importância, assegurando a ação antimicrobiana, antiinflamatória e remineralizadora (Girão Júnior et al., 2022).

Em relação à incidência de lesões cariosas, a manutenção de escores de ICDAS 0 e 1 ao longo do acompanhamento sugere que o dentifrício de PVB pode contribuir para o controle do processo cariogênico em pacientes com fatores retentivos de placa, como pacientes ortodônticos. Esse efeito é particularmente relevante considerando o longo tempo de tratamento ortodôntico e a dificuldade de adesão a protocolos mais rigorosos de higiene bucal nesses pacientes.

Por fim, o desenvolvimento de dentifrício com PVB representa uma linha promissora de pesquisa odontológica, apontando eficácia, segurança e biodisponibilidade do fluoreto na saliva. Além disso, demonstrando estabilidade do fluoreto no período de um ano após fabricação da formulação (Lotif et al., 2025).

Dentifrícios associados a produtos naturais vêm sendo lançados no mercado constantemente. No caso da presente formulação, pode-se citar eficácia em índice de placa, índice de sangramento marginal, atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (Furtado Júnior et al., 2020; Girão-Júnior et al., 2022; Silva et al., 2024), assim como de segurança (Silva et al., 2018), atividade nas proteínas salivares (Silva et al., 2024) e disponibilidade de fluoreto em pacientes sadios em curto espaço de tempo.

Por fim, o desenvolvimento de dentifrício com PVB representa uma linha promissora de pesquisa odontológica, apontando eficácia, segurança e biodisponibilidade do fluoreto na saliva. Além disso, demonstrando estabilidade do fluoreto no período de um ano após fabricação da formulação (Lotif et al., 2025).

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Produtos naturais são essenciais no desenvolvimento de novas formulações, nesse sentido concluiu-se que quanto aos dados in vitro todos os grupos observados apresentaram atividade antimicrobiana, tanto o extrato bruto de própolis vermelha brasileira, o dentifrício de própolis vermelha brasileira e o dentifrício Parodontax. O Parodontax obteve os melhores resultados contra *S. mutans*, mas não houve diferença entre os demais grupos. O creme dental Parodontax apresentou CBM equivalente à da substância testada.

Aumentando as evidências de uso clínico e longitudinalmente, o presente estudo apontou que após seis meses de uso, o dentifrício de própolis vermelha brasileira apontou superioridade clínica quanto a incidência de lesões cariosas e quanto ao índice de sangramento marginal, reforçando seu aspecto promissor no desenvolvimento do produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-BLAIHED, Deem et al. White spot lesions in fixed orthodontics: a literature review on etiology, prevention, and treatment. **Cureus**, v. 16, n. 7, 2024.
- ALEKSIJEVIĆ, Lorena Horvat et al. Porphyromonas gingivalis virulence factors and clinical significance in periodontal disease and coronary artery diseases. **Pathogens**, v. 11, n. 10, p. 1173, 2022.
- ALSARAYRAH, Nosiba A.; MOHAMED, Rafeezul; OMAR, Eshaifol A. Stingless bee propolis: a comprehensive review of chemical constituents and health efficacy. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 15, n. 1, p. 61, 2025.
- ARAÚJO, Y. L. F.M. et al. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, v. 7, n. 4, p. 1-4, 2011.
- ARZANI, Vahid et al. Plant polyphenols, terpenes, and terpenoids in oral health. **Open Medicine (Warsaw)**, v. 20, n. 1, p. 20251183, 2025.
- BARNABÉ, Mariana et al. The influence of Brazilian plant extracts on Streptococcus mutans biofilm. **Journal of Applied Oral Science**, v. 22, n. 5, p. 366–372, 2014.
- BASIC, Anita et al. Microbial metabolites in the pathogenesis of periodontal diseases: a narrative review. **Frontiers in Oral Health**, v. 4, p. 1210200, 2023.
- BHARATHI, Sivaranjani et al. Comprehensive strategies for overcoming dental biofilms: microbial dynamics and innovative methods. **Microbial Pathogenesis**, v. 205, p. 107690, 2025.
- BINSHABAIB, Mohammed S. et al. Comparison of the anti-bacterial efficacy of Saussurea costus and Melaleuca alternifolia against Porphyromonas gingivalis, Streptococcus mutans, and Enterococcus faecalis: an in-vitro study. **Frontiers in Oral Health**, v. 3, p. 950840, 2022.
- BUAKAEW, Wichuda et al. Evaluation of mouthwash containing Citrus hystrix DC., Moringa oleifera Lam. and Azadirachta indica A. Juss. leaf extracts on dental plaque and gingivitis. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1153, 2021.
- BUENO-SILVA, Bruna et al. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from Brazilian red propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 19, p. 4546–4550, 2013.
- CAI, Jian-Nan; KIM, Dongho. Biofilm ecology associated with dental caries: understanding of microbial interactions in oral communities leads to development of therapeutic strategies targeting cariogenic biofilms. **Advances in Applied Microbiology**, v. 122, p. 27–75, 2023.
- CARDOSO, Vanessa F. S. et al. Efficacy of medicinal plant extracts as dental and periodontal antibiofilm agents: a systematic review of randomized clinical trials. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 281, p. 114541, 2021
- CAYO, Carlos et al. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del propóleo sobre cultivos de Streptococcus mutans (ATCC 25175). **Ciencia y Desarrollo**, v. 19, n. 2, p. 19–24, 2016.

CHINSEMBU, Kennedy C. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. **Acta Tropica**, v. 154, p. 6–18, 2016.

ETEBARIAN, Amir et al. Propolis as a functional food and promising agent for oral health and microbiota balance: a review study. **Food Science & Nutrition**, v. 12, n. 8, p. 5329–5340, 2024.

FERNANDES JÚNIOR, Antônio et al. Atividade antimicrobiana de própolis de Apis mellifera obtidas em três regiões do Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 294–297, 2006.

FRANCHIN, Marina et al. Food-grade delivery systems of Brazilian propolis from Apis mellifera: from chemical composition to bioactivities in vivo. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137175, 2024.

FREIRES, Isabela A. et al. A pharmacological perspective on the use of Brazilian red propolis and its isolated compounds against human diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 110, p. 267–279, 2016.

FREIRES, Isabela A.; ROSALEN, Pedro L. How natural product research has contributed to oral care product development? A critical view. **Pharmaceutical Research**, v. 33, n. 6, p. 1311–1317, 2016.

FURTADO, José Henrique C. et al. Propolis and its dental applications: a technological prospection. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 12, n. 4, p. 288–296, 2018.

FURTADO JÚNIOR, José Henrique C. et al. Clinical and microbiological evaluation of Brazilian red propolis containing-dentifrice in orthodontic patients: a randomized clinical trial. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, p. 8532701, 2020.

GASNER, Nathan S.; SCHURE, Richard S. **Periodontal disease**. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025.

GEORGE, D. R. M. et al. Effectiveness of propolis, probiotics and chlorhexidine on Streptococcus mutans and Candida albicans: an in-vitro study. **Journal of Dental and Medical Sciences**, v. 16, n. 3, p. 15–18, 2017.

GIRÃO JÚNIOR, Francisco J. et al. Salivary fluoride bioavailability after brushing with Brazilian red propolis dentifrice: a clinical study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, p. 6148137, 2022.

GRENHO, Luís et al. In vitro antimicrobial activity and biocompatibility of propolis containing nanohydroxyapatite. **Biomedical Materials**, v. 10, n. 2, p. 025004, 2015.

HASHIM, Nada T. et al. New insights in natural bioactive compounds for periodontal disease: advanced molecular mechanisms and therapeutic potential. **Molecules**, v. 30, n. 4, p. 807, 2025.

JUNGBAUER, Gerhard et al. In-vitro effect of Manuka honey/propolis toothpastes on bacteria and biofilm associated with caries and gingivitis. **Oral Health & Preventive Dentistry**, v. 23, p. 203–210, 2025.

KÖNÖNEN, Eija; GURSOY, Mervi; GURSOY, Ulvi K. Periodontitis: a multifaceted disease of

tooth-supporting tissues. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 8, p. 1135, 2019.

KORU, Ozan et al. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. **Anaerobe**, v. 13, n. 3–4, p. 140–145, 2007.

KUREK-GÓRECKA, Anna et al. The phenolic profile and anti-inflammatory effect of ethanolic extract of Polish propolis on activated human gingival fibroblasts-1 cell line. **Molecules**, v. 28, n. 22, p. 7477, 2023.

LEAL, Soraya C. et al. Minimum intervention oral care: defining the future of caries management. **Brazilian Oral Research**, v. 36, p. e135, 2022.

LOBO, Paulo L. et al. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: a randomized, double-blind, controlled study. **Phytomedicine**, v. 21, n. 8–9, p. 1043–1047, 2014.

LOTIF, Maria A. L. et al. Fluoride content, availability, and stability in a propolis-based dentifrice. **International Journal of Dentistry**, v. 2025, p. 3414733, 2025.

LOTIF, Maria A. L. et al. A double-blind randomized clinical trial of Brazilian red propolis dentifrice efficacy in orthodontic patients. **Journal of Oral Science**, v. 64, n. 1, p. 28–32, 2022.

LUSTOSA, Sandra R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447–454, 2008.

MACHIULSKIENE, Vilija et al. Terminology of dental caries and dental caries management: consensus report of a workshop organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. **Caries Research**, v. 54, n. 1, p. 7–14, 2020.

MALCANGI, Giuseppe et al. Analysis of dental enamel remineralization: a systematic review of technique comparisons. **Bioengineering**, v. 10, n. 4, p. 472, 2023.

MANJI, Frank; DAHLEN, Gunnar; FEJERSKOV, Ole. Caries and periodontitis: contesting the conventional wisdom on their aetiology. **Caries Research**, v. 52, n. 6, p. 548–564, 2018.

MARSH, Philip D.; ZAURA, Egija. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 44, p. S12–S22, 2017.

NASCIMENTO, Thayse G. et al. Polymeric nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, n. 1, p. 301, 2016.

NAUMOVA, Elena A. et al. Randomized investigation of the bioavailability of fluoride in saliva after administration of sodium fluoride, amine fluoride and fluoride containing bioactive glass dentifrices. **BMC Oral Health**, v. 19, n. 1, p. 119, 2019.

NOGUEIRA, Maria A. et al. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, p. 93–97, 2009.

PAKKHESAL, Maryam et al. Impact of dental caries on oral health related quality of life among preschool children: perceptions of parents. **BMC Oral Health**, v. 21, n. 1, p. 68, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01396-4>.

PINGUEIRO, João M. S. et al. Brazilian red propolis as a potential antimicrobial additive in orthodontic primers. **Brazilian Dental Journal**, v. 36, p. e246036, 2025.

PITHON, Matheus M. et al. Assessment of the effectiveness of mouthwashes in reducing cariogenic biofilm in orthodontic patients: a systematic review. **Journal of Dentistry**, v. 43, n. 3, p. 297–308, 2015.

PITTS, Nigel B. et al. Dental caries. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 17030, 2017.

PORTO, Isabel C. C. M. et al. Mechanical and aesthetics compatibility of Brazilian red propolis micellar nanocomposite as a cavity cleaning agent. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, p. 219, 2018.

REN, Yan et al. Orthodontic treatment with fixed appliances and biofilm formation: a potential public health threat? **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 7, p. 1711–1718, 2014.

RODRIGUES NETO, Emanuel M. et al. Antimicrobial efficacy of propolis-containing varnish in children: a randomized and double-blind clinical trial. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 5547081, 2021.

SALATINO, Antonio. Brazilian red propolis: legitimate name of the plant resin source. **MedCrave Online Journal**, v. 5, p. 435–441, 2018.

SILVA, Bruna B. et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 3, p. 313–316, 2008.

SILVA, Mariana A. et al. Biomarkers of orthodontic patients after use of 1% Brazilian red propolis toothpaste: a randomized clinical study. **Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry**, v. 14, n. 3, p. 218–224, 2024.

SILVA, Maria D. A. et al. Perception and adverse effects of patients after using propolis-containing dentifrice. **Journal of Young Pharmacists**, v. 11, n. 4, p. 421–425, 2019.

SILVA, Rodrigo P. D. et al. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. **Plos One**, v. 12, n. 3, p. e0172585, 2017.

SIMÕES, Célia C. et al. Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 84–89, 2008.

SOUZA, Tânia M. P. A. et al. Aderência in vitro de *Streptococcus mutans* à superfície de braquetes ortodônticos metálicos e de policarbonato. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 17, n. 1, p. 91–96, 2013.

SYCIŃSKA-DZIARNOWSKA, Magdalena et al. Propolis as a natural remedy in reducing dental plaque and gingival inflammation: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 16, n. 9, p. 336, 2025.

TAKAHASHI, Nobuhiro; NYVAD, Bente. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. **Journal of Dental Research**, v. 90, n. 3, p. 294–303, 2011.

TAKEUCHI-HATANAKA, Kazue et al. Clinical and microbiological effects of a propolis toothpaste in patients with periodontitis under supportive periodontal therapy: a randomized double-blind clinical trial. **Clinical Oral Investigations**, v. 29, n. 8, p. 379, 2025.

TZIMAS, Konstantinos et al. Plant-derived compounds: a promising tool for dental caries prevention. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 46, n. 6, p. 5257–5290, 2024.

VALADAS, Lídia A. R. et al. Fluoride concentration in teas derived from *Camellia sinensis* produced in Argentina. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 194, n. 10, p. 682, 2023.

VALADAS, Lídia A. R. et al. Dose-response evaluation of a copaiba-containing varnish against *Streptococcus mutans* in vivo. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 3, p. 363–367, 2019.

VALADAS, Lídia A. R. et al. Clinical and antimicrobial evaluation of *Copaifera langsdorffii* Desf. dental varnish in children: a clinical study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 6647849, 2021.

XU, Wei et al. Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, v. 120, p. 45–84, 2020.

## ANEXOS

### ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O(A) adolescente sob sua responsabilidade está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa intitulada **“CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO NA CAVIDADE ORAL E PREVENÇÃO DE CÁRIE DENTÁRIA COM O USO DO DENTIFRÍCIO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO”**, pelos pesquisadores Arthur Almeida Azevedo, Francineudo Oliveira Chagas e Marta Maria de França Fonteles. A pesquisa será realizada na Clínica de Periodontia e Cirurgia da Universidade Federal do Ceará. Sua participação é importante, porém, ele(a) não deve participar se ele não quiser ou sem sua permissão. Leia com atenção as informações abaixo e pergunte o que quiser, para que todas as etapas desta pesquisa sejam bem explicadas.

O objetivo da pesquisa é avaliar a ação de um novo dentifricio (pasta de dente), para auxiliar no controle de lesões cariosas iniciais.

Durante o estudo você deverá fornecer informação sobre o estado geral de saúde do seu filho ou filha, bem como possíveis reações alérgicas que ele(a) já possa ter tido.

A participação do seu filho(a) neste estudo consistirá de: Exame dentário e gengival (exame da gengiva); utilização de uma pasta de dente feita de um produto natural (Própolis) em um primeiro momento por apenas uma vez onde antes e logo a seguir serão coletadas amostras da sua saliva por 7 vezes. Em um segundo momento a pasta de dente deve ser utilizada por 3 vezes ao dia durante 12 meses e coleta de saliva a cada consulta (de dois em dois meses). Depois de decorrido o tempo o mesmo será retirado da boca e colocado em um pequeno frasco; A coleta de saliva e o exame bucal NÃO causarão DOR ao seu filho ou filha. Seu filho ou filha não receberá injeção de anestésico local. Após a aplicação do tratamento a saliva recolhida (conforme descrito acima) e analisada para descobrir se o creme dentário está contribuindo no controle da cárie, podendo trazer como benefício um tratamento para cárie no futuro.

Os riscos da pesquisa são mínimos, como não gostar do sabor ou odor da pasta, por exemplo. O benefício é prevenir a cárie e a doença periodontal (inglamação das gengivas) pois é um produto que diminui bactérias e inflamação. Você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação do seu filho ou filha neste estudo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo. A Faculdade de Odontologia não o identificará por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos (os

dados serão publicados somente em revista científica e/ou congressos científicos não identificando o nome de seu filho ou filha).

O surgimento de resfriados ou viroses no dia da pesquisa, com conseqüente uso de medicações por período de tempo limitado, exclui seu filho ou filha do estudo. A participação nessa pesquisa é voluntária e o participante não irá receber nenhum pagamento por isso.

Caso venham a surgir dúvidas ou perguntas, sinta-se livre para contactar a pesquisadora Arthur Almeida Azevedo (responsável pelo projeto) no telefone(85)987851331, ou no endereço Capitão Francisco Pedro, 1210 – Rodolfo Teófilo – CEP 60430-370, Fortaleza-Ce.

**Nome:** Arthur Almeida Azevedo

**Instituição:** Universidade Federal do Ceará

**Endereço:** Rua Pastor Samuel Munguba, 1210- Rodolfo Teófilo- CEP 60430-370, Fortaleza-Ce

**Telefones para contato:** (85)987851331

**ATENÇÃO:** Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8346/44. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

O abaixo assinado \_\_\_\_\_, \_\_\_anos, RG: \_\_\_\_\_, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---

Nome do participante da pesquisa

Data

Assinatura

---

Nome do pesquisador principal

Data

Assinatura

---

Nome do Responsável legal/testemunha (Se o voluntário não souber ler)	Data	Assinatura
Nome do profissional que aplicou o TCLE	Data	Assinatura

## ANEXO II-TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como participante da pesquisa: **“CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO NA CAVIDADE ORAL E PREVENÇÃO DE CÁRIE DENTÁRIA COM O USO DO DENTIFRÍCIO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO”** pelos pesquisadores Arthur Almeida Azevedo, Francineudo Oliveira Chagas e Marta Maria de França Fonteles.

Nesse estudo pretendemos avaliar a ação de um novo dentifício (pasta de dente), para auxiliar na prevenção das lesões de cárie e na gengivite (inflamação na gengiva).

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é pelo fato de que tanto a cárie quanto a inflamação na gengiva estão associadas a bactérias, e assim, substâncias antibacterianas poderiam ser utilizadas para combatê-las; bem como, pela existência de pessoas que possuem dificuldades na escovação dos dentes, como pacientes em tratamento ortodôntico e assim as substâncias antibacterianas, com reduzido custo e reduzidos efeitos adversos, poderiam agir como coadjuvantes no controle mecânico do biofilme dentário.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos: Exame dentário e gengival (exame da gengiva); utilização de uma pasta de dente feita de um produto natural (Própolis) em um primeiro momento por apenas uma vez onde antes e logo a seguir serão coletadas amostras da sua saliva por 7 vezes. Em um segundo momento a pasta de dente deve ser utilizada por 3 vezes ao dia durante 12 meses e coleta de saliva a cada consulta (de dois em dois meses). A coleta de saliva e o exame bucal NÃO te causarão DOR. Você não receberá injeção de anestésico local. Após a aplicação do tratamento a saliva recolhida (conforme descrito acima) e analisada para descobrir se a pasta de dente utilizada foi capaz de diminuir a cárie e gengivite, podendo trazer como benefício um tratamento para cárie e gengivite no futuro. Os riscos da pesquisa são mínimos, como não gostar do sabor ou odores da pasta, por exemplo. O benefício é prevenir a cárie e doença periodontal (inflamação das gengivas), pois é um produto que diminui bactérias e a inflamação.

Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a

recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação. Este estudo apresenta risco mínimo como não gostar do sabor da pasta, por exemplo, isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos e, após esse tempo, serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Eu, \_\_\_\_\_, portador(a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_ fui informado(a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar, se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via deste Termo de Assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Fortaleza, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Nome do participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador principal

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Endereço d(os, as) responsável (is) pela pesquisa:

**Nome:** Arthur Almeida Azevedo

**Instituição:** Universidade Federal do Ceará

**Endereço:** Rua Pastor Samuel Munguba, 1210- Rodolfo Teófilo- CEP 60430-370, Fortaleza-Ce

**Telefones para contato:** (85)987851331

**ATENÇÃO:** Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

## ANEXO III- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO NA CAVIDADE ORAL E PREVENÇÃO DE CÁRIE DENTÁRIA COM O USO DO DENTIFRÍCIO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO

**Pesquisador:** Arthur Almeida Azevedo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 51062221.9.0000.5054

**Instituição Proponente:** Departamento de Farmácia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.021.363

#### Apresentação do Projeto:

Introdução: Os produtos fluoretados são utilizados amplamente para o controle da cárie dentária principalmente por meio de dentifrícios fluoretados.

Essas formulações vem sendo a cada dia mais associadas a moléculas antimicrobianas, como as de produtos naturais. A própolis vermelha brasileira (PVB), em diferentes tipos de formulações e formas de aplicações tem sido pesquisada como meio preventivo de doenças bucais. Os

dentifrícios representam uma boa estratégia de prevenção, sendo utilizados pela população em praticamente toda sua totalidade. Objetivo: Verificar

a concentração de fluoreto na cavidade oral após escovação com dentifrício de própolis vermelha brasileira, assim como avaliar o efeito preventivo

de lesões cariosas longitudinalmente. Material e Métodos: Trata-se de um estudo clínico com usuários de tratamento ortodôntico, com duas etapas,

a primeira de caráter transversal, controlado e cruzado. A segunda longitudinal, controlado e randomizado. Na primeira etapa, um total de 30

participantes com aparelhos ortodônticos, após um período de wash-out de três dias utilizando dentifrício não-fluoretado, serão divididos em duas

etapas definida a ordem por programa de computador: em uma semana receberão dentifrício PVB

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 5.021.363

para escovação única e em outra dentífrico fluoretado comum sem adição de própolis. Saliva e biofilme serão coletados para a avaliação da concentração de fluoreto após escovação. A saliva será coletada nos tempos 0 – baseline, 15 minutos, 30 minutos, 1,2, 4 e 6 horas, e o biofilme será coletado nos tempos 0-baseline, 7 dias, 14 dias e 21 dias para análise Na segunda etapa, um total de 30 participantes com aparelhos ortodônticos, serão randomizados em dois grupos, o primeiro utilizará dentífrico PVB, o segundo dentífrico fluoretado sem adição de própolis. Cada paciente receberá o dentífrico correspondente ao seu grupo para ser utilizado 3 vezes ao dia durante doze meses. A cada dois meses, saliva e biofilme serão coletados, desde o baseline até o 12o mês, assim como avaliação clínica será realizada para verificação de biofilme visível, sangramento marginal e lesões de cárie. Resultados esperados: Espera-se que a utilização de dentífrico de própolis vermelha associado ao controle do biofilme demonstre uma eficácia clínica superior ao dentífrico sem adição do extrato.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Verificar a concentração de fluoreto na cavidade oral após a escovação com dentífrico de PVB e avaliar a eficácia in vivo do dentífrico de PVB na prevenção de lesões cáries após 12 meses de uso.

**Objetivo Secundário:**

Verificar a concentração de fluoreto na saliva após escovação com dentífrico PVB, comparando a um controle; Verificar a concentração de fluoreto no biofilme dentário após escovação com dentífrico PVB, comparando a um controle; Prevenir as lesões ativas de cárie; Avaliar o índice de placa visível; Avaliar a presença de nitrito, nitrato, amônio, lactato na saliva; Avaliar a presença de nitrito, nitrato, amônio, lactato no biofilme; Medir o pH das amostras nos diferentes tempos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos são mínimos como o participante achar o gosto do dentífrico desagradável, ou algum incomodo na coleta de saliva e do biofilme.

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 5.021.363

**Benefícios:**

Os participantes receberão acompanhamento por um período de um ano, recebendo escovas e dentífricos nesse período. Em caso de necessidade os mesmos serão encaminhados para atendimento específico

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa relevante para a área de cariologia e principalmente quanto à segurança da utilização do flúor

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Termos entregues adequadamente.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

sem pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1788515.pdf	15/08/2021 23:40:34		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDentifricioNAA.docx	15/08/2021 23:40:00	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
Declaração de concordância	Concordanciapesqscanner.pdf	15/08/2021 23:38:16	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.docx	15/07/2021 12:48:23	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	15/07/2021 12:48:07	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	ApreciacaoScanner.pdf	15/07/2021 12:45:47	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutorizacaodoslocaisScannerSaid.pdf	15/07/2021 12:44:26	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
Declaração de	AutorizacaodoslocaisScannerJH.pdf	15/07/2021	Arthur Almeida	Aceito

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 5.021.363

Instituição e Infraestrutura	AutorizacaodoslocaisScannerJH.pdf	12:44:06	Azevedo	Aceito
Cronograma	Cronogramascanner.pdf	15/07/2021 12:41:37	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
Orçamento	Orcamentoscanner.pdf	15/07/2021 12:41:15	Arthur Almeida Azevedo	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderostoassinada12.pdf	15/07/2021 12:40:08	Arthur Almeida Azevedo	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

FORTALEZA, 06 de Outubro de 2021

Assinado por:

**FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-275

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comepe@ufc.br

## ANEXO IV- COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO- ARTIGO DO CAPÍTULO I

J Young Pharm, 2022; 14(3) : 333-336

A multifaceted peer reviewed journal in the field of Pharmacy  
www.jyoungpharm.org | www.phcog.net

Original Article

## In vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of Brazilian Red Propolis Containing-dentifrice

Francineudo Oliveira Chagas<sup>1</sup>, João Hildo de Carvalho Furtado Júnior<sup>1</sup>, Hilana Valéria Dodou<sup>1</sup>, Marta Maria de França Fonteles<sup>1</sup>, Renato Daniel de Freitas<sup>2</sup>, Edilson Martins Rodrigues Neto<sup>1</sup>, Emmanuel Arraes de Alencar Júnior<sup>1</sup>, Juliana Araujo Sarmiento<sup>3</sup>, Sarah Gabrielle Sousa de Oliveira Rodrigues<sup>4</sup>, Patricia Leal Dantas Lobo<sup>1</sup>, Ana Cristina de Mello Fiallos<sup>1</sup>, Mary Anne Medeiros Bandeira<sup>1</sup><sup>1</sup>Pharmacy, Dentistry and Nursing School, Federal University of Ceará, Fortaleza, BRAZIL.<sup>2</sup>Dental School, Federal University of Ceará, Sobral, BRAZIL.<sup>3</sup>Dental School, Sao Leopoldo Mandic, Campinas, BRAZIL.<sup>4</sup>Medical School, Assis Chateaubriand Maternity School- MEAC, Fortaleza, Ceará, BRAZIL.

### ABSTRACT

**Background:** This study evaluated the antimicrobial activity of Brazilian red propolis (BRP) dentifrice and compare *in vitro*. **Materials and methods:** Strains of *S. mutans* ATCC UA159 were used in the present study. This study compared the antibacterial effects of BRP extract, BRP containing-dentifrice and one antimicrobial commercial dentifrice (Parodontax) against *S. mutans*. For the evaluation of the antimicrobial activity the microdilution method was used in culture broth. The strain was activated by incubation at 37°C overnight in Brain Heart Infusion (BHI) culture medium, in an anaerobic jar. To the wells of the microplates were added 100µL of BHI broth, 20µL of the substances tested (experimental groups), at concentrations ranging from 100 µL/mL to 0.0488 µL/mL, and 80 µL/mL of the standardized microbial suspension. The microplates were incubated for 24 hr in a bacteriological oven at 37°C. Visual inspection of the colour changes and reading in BioTek microplate reader at 570nm was performed to determine the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Mean values and standard deviations were calculated. ANOVA followed by Dunnett's test was performed; *p*-value of less than 0.05 was considered significant.

**Results:** BRP extract and BRP containing-dentifrice showed antimicrobial activity against *S. mutans* up to the concentration of 0.3906 µg/mL. The

BRP extract and dentifrice showed bactericidal effect at a concentration of 1.5625, but was able to reduce microbial viability at a concentration of up to 0.3906. Parodontax dentifrice showed antimicrobial activity at all dilutions (*p* < 0.05), presenting a bactericidal effect in the same concentration of the extract (1.5625). It was concluded that all the groups observed had antimicrobial activity against *S. mutans*. There was no difference between the propolis extract and the common dentifrice. **Conclusion:** BRP in pure form and processed in a toothpaste shows some antimicrobial activity against *S. mutans* but less than a commercial toothpaste containing herbal extracts and sodium bicarbonate.

**Keywords:** Propolis, *Streptococcus mutans*, Dentifrice, Biofilm, Dental decay.

### Correspondence

**Prof. Dr. João Hildo de Carvalho Furtado Júnior,**

Federal University of Ceará, 1210 Pastor Samuel Munguba, Fortaleza, BRAZIL.

Email id: jhildocarvalho@gmail.com

DOI: 10.5530/jyp.2022.14.65

## ANEXO V - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO- ARTIGO DO CAPÍTULO II

**THE ANGLE ORTHODONTIST**  
ONLINE MANUSCRIPT SUBMISSION AND PEER REVIEW

IMPORTANT: To ensure proper functionality of this site, both JavaScript and Cookies MUST be enabled.

[Home](#)

<b>Manuscript #</b>	093525-612
<b>Current Revision #</b>	0
<b>Submission Date</b>	2025-12-06 12:04:11
<b>Current Stage</b>	Under Review
<b>Title</b>	Evaluation of the incidence of carious lesions and gingival status in orthodontic patients after using a 6-month period using a propolis toothpaste: A double-blind and randomized clinical trial
<b>Running Title</b>	Salivary fluoride and propolis dentifrice
<b>Manuscript Type</b>	Original Article
<b>Special Section</b>	N/A
<b>Corresponding Author</b>	Francineudo Oliveira Chagas (Universidade Federal do Ceará)
<b>Contributing Authors</b>	Francineudo Oliveira Chagas, Lidia Audrey Rocha Valadas, Said Gonçalves da Cruz Fonseca, Mary Anne Medeiros Bandeira.
<b>Financial Disclosure</b>	I have no relevant financial interests in this manuscript.
<b>Abstract</b>	The aim of this study was to evaluate the clinical efficacy of a fluoridated toothpaste containing 1% Brazilian red propolis (BRP) on dental biofilm control, the incidence of carious lesions, and the gingival bleeding index in orthodontic patients. This was a randomized, controlled, longitudinal clinical trial conducted with 60 orthodontic patients aged 12 to 18 years, divided into two groups: group 1 (G1) used toothpaste associated with BRP (MFP + BRP), and group 2 (G2) used a control toothpaste containing only monofluorophosphate (MFP). Evaluations were performed at baseline, and at 2, 4, and 6 months, using the ICDAS II criteria for carious lesions, in addition to gingival bleeding indices. The results showed that the test group maintained a higher proportion of healthy surfaces (ICDAS II 0) throughout the follow-up, while the control group

## ANEXO VI - APROVAÇÃO DO REGISTRO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS

Public trial

### RBR-4zjkzv7 Salivary fluoride following toothbrushing in the oral cavity and prevention of dental caries with the use of brazilian r...

Date of registration: 06/26/2024 (mm/dd/yyyy)

Last approval date : 06/26/2024 (mm/dd/yyyy)

#### Study type:

Interventional

#### Scientific title:

**en**

Fluoride concentration in the oral cavity and prevention of dental caries using Brazilian red propolis dentifrice: randomized clinical study

**pt-br**

Concentração de fluoreto na cavidade oral e prevenção de cárie dentária com o uso do dentifricio de própolis vermelha brasileira: estudo clínico randomizado

**es**

Fluoride concentration in the oral cavity and prevention of dental caries using Brazilian red propolis dentifrice: randomized clinical study

## ANEXO VII - QUADRO RESUMO DE MARCADORES ENCONTRADOS

Em funil de separação, foram adicionados 50 mL da amostra (própolis + álcool de cereais) e 50 mL de diclorometano. Como não houve separação de fases significativa, foram adicionados 30 mL de água destilada. Após isso, realizou-se a partição em agitação lenta do funil, tendo o cuidado de liberar o ar aos poucos. Assim, deixou-se o funil em repouso para o líquido decantar e separar as fases. Formaram-se três fases: a superior (fase aquosa); a intermediária (emulsão); a inferior (fase orgânica). O interesse é na fase inferior, pois espera-se que o diclorometano tenha retirado os flavonoides. Logo, coletou-se essa fase orgânica.

Posteriormente, o béquer com a fase orgânica foi colocado na chapa quente para secar. Após isso, raspou-se o conteúdo para um béquer, onde foi diluído com álcool etílico para fazer o teste para flavonoides. Todavia, o teste de flavonoides realizado não possibilitou a visualização; logo, será necessário realizar uma coluna cromatográfica.

Foi realizada uma purificação da amostra utilizando três eluentes (diclorometano; acetato de etila; álcool metílico), em ordem crescente de polaridade. A solução de própolis com álcool de cereais foi misturada num gral com sílica, em quantidade suficiente para homogeneizar, resultando em um aspecto arenoso. Enquanto isso, a coluna foi empacotada com a sílica previamente diluída em diclorometano. Para isso, inicialmente foi colocado o algodão umedecido com diclorometano no fundo da coluna. Posteriormente, ambientou-se a coluna e adicionou-se a sílica para que decantasse na coluna. Foi adicionado o diclorometano e, depois, a amostra. Com a torneira aberta, foi adicionado mais diclorometano para iniciar a eluição.

Utilizando-se dos extratos obtidos pela cromatografia em coluna, foram realizados os ensaios fitoquímicos de taninos, antocianinas e flavonoides nas amostras com os eluentes acetato de etila (2º na ordem de extração) e álcool metílico (1º e 3º na ordem de extração).

Foi realizada a reação de Liebermann-Burchard. Segue o passo a passo: foram transferidos 3 mL do extrato corado (diclorometano) para um tubo de ensaio. Foi adicionado 1 mL de anidrido acético e, após isso, 1 mL de ácido sulfúrico, lentamente pela parede do tubo. A reação deu positiva para taninos, saponinas, antocianinas e flavonoides.



<b>Testes</b>	<b>Fase aquosa oriunda da partição da Própolis com Acetato de etila (AcEtila)</b>
<b>Taninos</b>	+
<b>Saponinas</b>	-
<b>Antocianinas</b>	+
<b>Flavonoides</b>	+