



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA
MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA
EM SAÚDE HUMANA E ANIMAL**

ÉRICA CARDOSO SIQUEIRA

**USO DE PASTILHAS MASTIGÁVEIS COM PRODUTOS NATURAIS SOBRE A
MICROBIOTA ORAL DE PACIENTES ORTODÔNTICOS**

**FORTALEZA - CEARÁ
2020**

ÉRICA CARDOSO SIQUEIRA

AVALIAÇÃO DO USO DE PASTILHA MASTIGÁVEL CONTENDO PRODUTOS
NATURAIS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES SALIVARES DE MICRORGANISMOS
ORAIS EM PACIENTES ORTODÔNTICOS: UM ESTUDO CLÍNICO

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal do Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal. Área de concentração: Biotecnologia em Saúde Humana e Animal.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Martins Rodrigues Neto.

FORTALEZA - CEARÁ

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Siqueira, Érica Cardoso .

Uso de pastilhas mastigáveis com produtos naturais sobre a microbiota oral de pacientes ortodônticos [recurso eletrônico] / Érica Cardoso Siqueira. - 2020

Um arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 39 folhas.

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, Mestrado Profissional em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal, Fortaleza, 2020.

Área de concentração: Biotecnologia em Saúde Humana e Animal..

Orientação: Prof. Dr. Edilson Martins Rodrigues Neto..

1. Carie dentária. 2. Xilitol. 3. Pastilha mastigável. I. Título.

ÉRICA CARDOSO SIQUEIRA

AVALIAÇÃO DO USO DE PASTILHA MASTIGÁVEL CONTENDO PRODUTOS
NATURAIS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES SALIVARES DE MICRORGANISMOS
ORAIS EM PACIENTES ORTODÔNTICOS: UM ESTUDO CLÍNICO

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal do Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal. Área de concentração: Biotecnologia em Saúde Humana e Animal.

Aprovada em: 10 de dezembro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

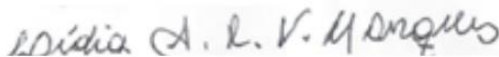


Dr. Edilson Martins
Farmacêutico
CRF 4663

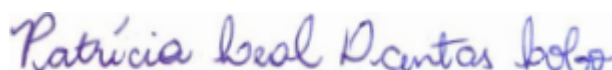
Prof. Dr. Edilson Martins Rodrigues Neto (Orientador)
Centro Universitário Unicatólica de Quixadá – UNICATOLICA



Prof. Dra. Cristiane Clemente de Mello Salgueiro
Universidade Estadual do Ceará - UECE



Prof. Dra. Lidia Audrey Rocha Valadas Marques
Universidad de Buenos Aires – UBA



Prof. Dra. Patrícia Leal Dantas Lôbo
Universidade Federal do Ceará- UFC

A Deus aos meus pais, meu esposo e ao meu orientador.

RESUMO

A cárie dentária é uma disbiose açúcar-dependente que pode ser entendida como o processo de desmineralização da matriz dentária no esmalte e/ ou dentina induzida por meio ácido, devido a isso a indústria farmacêutica vem investindo em estudos e produtos naturais a base de própolis vermelha brasileira e xilitol para amenizar ou impedir a formação de cárie. Atualmente se tem conhecimento de mais de 200 tipos de compostos identificados na própolis, a partir de amostras geográficas diferentes e da biodiversidade botânica. No caso, a própolis vermelha brasileira possui funções químicas como: vestiol, neovestiol que são isoflavonoides que demonstraram atividades antimicrobianas em relação as bactérias gram negativas e *Streptococcus mutans* que são bactérias responsáveis por causarem a cárie. Já o xilitol é um edulcorante de origem natural, originado nas fibras de vegetais, tais como o milho, a ameixa e a framboesa, podendo ser extraído também de algumas espécies de cogumelos, o xilitol possui o mesmo grau de sabor da sacarose, porém 40% menos calórico o xilitol é uma molécula de estrutura alifática, com um total de cinco grupamentos hidroxilas ligado ao carbono. Tal fato, faz o xilitol ser conhecido como poliidroxicool acíclico. No caso, o xilitol é um açúcar alcoólico que não sofre fermentação pelas bactérias orais e vêm sendo recomendado como substituto do açúcar, pois possuir propriedades que ajudam na prevenção de cárie dentária. Este estudo buscou realizar o desenvolvimento, avaliação de uma pastilha mastigável a base de própolis vermelha e xilitol na redução de microrganismos orais em amostras de saliva estimulada de voluntários adultos que fazem uso de aparelho ortodôntico. Trata-se um ensaio clínico, randomizado. Foram selecionados para participar do estudo 12 voluntários. Primeiramente se realizou o uso pastilha sem produtos naturais (placebo) e em seguida realizou-se o uso da pastilha com própolis vermelha brasileira e xilitol. Houve uma grande redução de bactérias gram negativas e *Streptococcus mutans*, não teve reações adversas e efeitos colaterais em relação ao uso da pastilha, durante todo o estudo a pastilha não teve mudanças físico-químicas. Conclui-se que a pastilha contendo própolis vermelha e xilitol se mostrou eficaz no controle das unidades formadoras de colônias de *Streptococcus mutans* e bactérias gram negativas na cavidade oral.

Palavras-chave: Carie dentária. Xilitol. Pastilha mastigável.

ABSTRACT

Dental caries is a sugar-dependent dysbiosis that can be understood as the process of demineralization of the dental matrix in the enamel and / or dentin induced by acid, due to this the pharmaceutical industry has been investing in studies and natural products based on propolis Brazilian red and xylitol to soften or prevent the formation of caries. Currently, more than 200 types of compounds identified in própolis are known, from different geographies and botanical biodiversity. In this case, Brazilian red própolis has chemical functions such as: vestiol, neovestiol which are isoflavonoids that have shown antimicrobial activities in relation to gram negative bacteria and *Streptococcus mutans* which are bacteria responsible for causing a carie. Xylitol, on the other hand, is a sweetener of natural origin, originated in vegetable fibers, such as corn, plum and raspberry, and can also be extracted from some species of mushrooms, xylitol has the same degree of flavor as sucrose, 40% less caloric, xylitol is a molecule with an aliphatic structure, with a total of five carbon-linked hydroxyl groups. This fact makes xylitol known as acyclic polyhydroxyalcohol. In this case, xylitol is an alcoholic sugar that does not undergo fermentation by oral bacteria and is recommended as a sugar substitute, as it has properties that help prevent tooth decay. This study sought to carry out the development, evaluation of a chewable tablet based on red propolis and xylitol to reduce oral microorganisms in the stimulated saliva of adult adults using an orthodontic appliance. This is a randomized clinical trial. Twelve volunteers were selected to participate in the study. First the tablet was used without natural products (placebo) and then the tablet was used with Brazilian red propolis and xylitol. There was a great reduction in gram negative bacteria and *Streptococcus mutans*, there were no adverse reactions and effects in relation to the use of the tablet, throughout the study the tablet did not have physical-chemical changes. It is concluded that a tablet containing red propolis and xylitol can be effective in the control of colony forming units of *Streptococcus mutans* and gram negative bacteria in the oral cavity.

Keywords: Dental caries. Xylitol. Chewable tablet.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Representação química do neovestitol (A) e vestitol (B)....	15
Tabela 1 –	Concentrações de em \log_{10} de UFC/mL de bactérias Gram-negativas antes e após o uso da pastilha mastigável a base própolis vermelha e xilitol e placebo....	25
Tabela 2 –	Concentrações de em \log_{10} de UFC/mL de Streptococcus mutans antes e após o uso da pastilha mastigável a base própolis vermelha e xilitol e placebo.....	25
Gráfico 1 –	Variação das concentrações de Microrganismos salivares antes e após o uso de pastilha mastigável contendo própolis vermelha e xilitol.....	24
Gráfico 2 –	variação das concentrações de microrganismos salivares antes e após o uso de pastilha mastigável placebo.....	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	Cárie dentária.....	12
2.2	Microrganismos Gram-negativos em doenças periodontais.....	13
2.3	Streptococcus mutans.....	14
2.4	Própolis vermelha.....	14
2.4.1	Definição e composição química.....	14
2.4.2	Ação antimicrobiana da Própolis	15
2.4.3	Própolis no tratamento de cárie.....	16
2.5	Xilitol.....	17
2.5.1	Definição e composição química.....	17
2.5.2	Mecanismo de ação do xilitol na prevenção de cárie.....	18
3	OBJETIVOS.....	20
3.1	Geral.....	20
3.2	Específicos.....	20
4	METODOLOGIA.....	21
4.1	Administração das pastilhas mastigáveis.....	21
4.1.1	Análise de reações adversas.....	21
4.2	Coleta da Saliva.....	22
4.3	Análise microbiológica.....	22
4.4	Metodologia para análise de dados.....	23
4.5	Interpretação dos resultados.....	23
5	RESULTADOS.....	24
5.1	Efeitos adversos.....	24
5.2	Análises microbiológicas.....	24
6	DISCUSSÃO.....	26
7	CONCLUSÃO.....	28
	REFERÊNCIAS.....	29
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E	
	ESCLARECIDO APÊNDICE	36

APÊNDICE B – FICHA DE ANAMNESE DADOS PESSOAIS E EXAME DENTÁRIO FICHA ANAMNESE.....	38
APÊNDICE C – ALGORITMO DE NARANJO.....	39

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é considerada a patologia mais prevalente na humanidade, afetando 80%-90% da população mundial. Além disso em crianças tem demonstrado uma maior prevalência do que a asma. Por décadas o *Streptococcus mutans* foi considerado o principal agente causador da doença. No entanto outras bactérias, como as Gram negativas, foram isoladas e estão relacionadas ao processo de cárie dentária e periodontite (SIMÓN-SORO; MIRA, 2015; BADET; THEBAUD, 2013).

A doença cárie é uma disbiose, açúcar dependente que causa defeitos às estruturas do dente. As práticas para a gestão de lesões de cárie mudaram nos últimos anos de forma rápida, evoluindo do tratamento tradicional restaurador. Essa prática refere-se às técnicas não invasivas ou quase que invasivas e preventivas (BORKENT, 2018).

Estas espécies de bactérias estão presentes no biofilme, e produzem ácidos como subprodutos metabólicos da fermentação de carboidratos, os quais alteram o pH local abaixo do valor crítico, resultando em desmineralização do tecido dentário. Alguns comportamentos e determinantes sociais estão associados à maior incidência de cárie dentária, como nutrição rica em carboidratos, higiene bucal precária ou inexistente e baixo nível socioeconômico (FURTADO JUNIOR *et al.*, 2020).

Sabe-se que o uso de aparelhos fixos facilita áreas de estagnação da placa dentária, aumentando a suscetibilidade de desmineralização em torno dos brackets e gengivite (PETERSEN, 2010).

Já, os cocos Gram-negativos do gênero *Branhamella* também são potencialmente patogênicos à mucosa oral. Eles são encontrados isolados ou diplococos. O principal representante é a *Branhamella catarrhalis*, que foi conhecida como *Neisseria catarrhalis*, habitante principalmente da língua e mucosa bucal (WALSH; OLIVEIRA-NETO; MOORE, 2017).

Os tratamentos para lesões de cárie são, em sua grande parte, compostos por estratégias que contemplam desde a restauração das lesões com resinas sintéticas até o uso de lasers e de nanopartículas, que buscam recuperar o tecido lesado (CAGETTI, 2015). O uso de produtos naturais, se mostra uma opção que pode facilitar o acesso a um mecanismo de prevenção da cárie e da doença

periodontal. Do mesmo modo, a inserção destes produtos em forma farmacêutica como a pastilha, que é auto administrável, amplia seu uso, uma vez que este tipo de forma farmacêutica é amplamente utilizado pela população para tratar condições como halitose, assim como de forma recreativa (BHAT *et al.*, 2015).

Neste sentido a própolis vermelha, pode modular positivamente o processo de des-remineralização, podendo ser uma importante ferramenta no combate à cárie. Dentre suas vantagens estão inclusas a sua eficácia farmacológica, sua fácil obtenção e seus benefícios ao meio ambiente. Assim, a sua aplicação na prevenção das cáries pode ser eficaz, uma vez que possui ação frente as bactérias Gram-negativas e *Streptococcus mutans* (SILVA *et al.*, 2019).

Em um estudo anterior foram analisados dentifrícios com extrato de própolis provenientes do Alagoas, em que foi avaliada as percepções dos pacientes submetidos a tratamentos ortodônticos para avaliar as sensações e possíveis efeitos adversos após o uso de dentifrício com própolis vermelha brasileira. Após usados por quatro semanas foi observado que não causou efeitos adversos e teve ótima aceitação pelos usuários. Neste estudo, a facilidade de uso praticamente alcançou a pontuação máxima. Parâmetros como sabor, odor e limpeza, também obtiveram altas pontuações (FURTADO JUNIOR *et al.*, 2020).

Já a ação anticariogênica do xilitol é determinada pela sua não fermentabilidade por parte de microrganismo acidogênicos como os do gênero *Streptococcus*. O Xilitol reduz, também, a quantidade de polissacarídeos insolúveis e aumenta os polissacarídeos solúveis. Isto resulta em uma placa bacteriana menos aderente e de remoção facilitada, por meio da escovação, facilitando a desestabilização do biofilme (CAGETTI *et al.*, 2013; VALE *et al.*, 2014; FRAGA *et al.*, 2020).

No Brasil a produção e comercialização da própolis é regida pela portaria Nº 6, de 25 de julho de 1985 do Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA), o que comprova segurança pelo amplo uso popular tradicional (BRASIL, 1985). Já para que os medicamentos à base de própolis sejam registrados deve-se seguir a “Nota técnica para o registro de produtos contendo própolis” da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 2005 (BRASIL, 2005).

Este estudo objetivou avaliar a atividade antimicrobiana de uma pastilha mastigável de própolis e xilitol em concentrações salivares de microrganismos orais gram negativos e *Streptococcus mutans*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cárie dentária

A cárie é uma disbiose açúcar-dependente que na ausência de tratamento, progride até destruir totalmente a estrutura dentária. No caso a cárie é definida como processo de desmineralização da matriz dentária no esmalte e/ou dentina induzida por meio ácido. É notório que a sua prevalência tem como determinantes fatores biológicos, alimentares, comportamentais, sociais e econômicos, assim como dificuldade de acesso a produtos de higiene bucal e a serviços de saúde odontológicos. No caso, é necessário tratar a cárie com, adição de flúor na água, dieta com baixo teor em açúcar, carboidratos e boas práticas de higiene bucal e tratamentos odontológicos (SANTANA *et al.*, 2018; MEDINA; ASMAT-ABANTO; RUIZ-BARRUETO, 2019).

O Ministério da Saúde fez levantamentos epidemiológicos nacionais em saúde bucal, nos anos de 1986, 1996, 2003 e 2010. Em crianças com idade de 12 anos. Em 2003, a cárie dentária atingia 69% da população. Já no ano de 2010 essa porcentagem diminuiu para 56%. Essas informações mostram que houve uma melhora nas condições bucais dos adolescentes desta faixa etária, o que minimizou as dificuldades de acesso ao serviço de saúde bucal e garantia de tratamento odontológico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Neste sentido, mesmo com o surgimento de projetos e programas realizados na área de promoção da saúde bucal, como a Política Nacional de Saúde Bucal, as manifestações bucais ainda são frequentes no Brasil, devido a isso tem se buscado novas alternativas para minimizar o surgimento das cáries e uma delas é o uso de pastilhas mastigáveis a base produtos naturais como, a própolis que em sua composição química possui ação frente as bactérias Gram positivas que são os *Streptococcus mutans* e Gram negativas e já o xilitol torna a pastilha mais agradável ao paladar e também tem ação frente as bactérias Gram positivas e Gram negativas. (CAYETANO *et al.*, 2019).

2.2 Microrganismos Gram-negativos em doenças periodontais

Além dos microrganismos envolvidos diretamente no processo de cariogênese, outros agentes microbianos podem contribuir para a evolução da doença e até mesmo para o surgimento de doenças periodontais. É perceptível que a grande proliferação de microrganismos Gram-negativos na cavidade oral pode ser uma fonte de diversas doenças (FURTADO JUNIOR *et al.*, 2018).

Assim, podem-se citar os membros do grupo *Actinobacillus* que são cocobacilos ou bacilos Gram-negativos, encontrados isolados, em duplas ou em cadeias imóveis e anaeróbias facultativas. Diversas bactérias desse grupo têm potencial patogênico. O *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, habitante do suco gengival humano, da mucosa oral e da orofaringe, está diretamente envolvido na periodontite agressiva e na endocardite bacteriana subaguda (BORKENT, 2018).

As bactérias do gênero *Actinomyces* também são membros da microbiota bucal, caracterizando-se como bacilos Gram-positivos, geralmente encontrados em formato de V, sendo anaeróbios facultativos. Tais germes estão correlacionados com a cárie dentária radicular e com a gengivite bacteriana (BORKENT *et al.*, 2020).

Ainda, os cocos Gram-negativos do gênero *Branhamella* também são potencialmente patogênicos à mucosa oral. Eles são encontrados isolados ou em diplococos, podendo algumas espécies apresentar cápsulas. O principal representante é a *Branhamella catarrhalis*, que outrora foi conhecida como *Neisseria catarrhalis*, habitante principalmente da língua e mucosa bucal (SALATINO, A; SALATINO, M. L. F., 2018).

Os microrganismos do gênero *Fusobacterium* podem causar lesões infectadas e purulentas, além de facilitar a colonização por bactérias causadoras da cárie. Eles são caracterizados como Gram-negativos imóveis, em formato de bastonetes. São encontrados principalmente nos sulcos gengivais, no trato genital, intestinal e respiratório (HAN; WANG, 2013).

O *Mycoplasma salivarum* é outro agente microbiológico presente nos sulcos gengivais humanos, podendo ter participação em certos tipos de doenças periodontais e cárie. Essa bactéria é classificada como Gram-negativa, anaeróbia facultativa e pleomórfica (SUGIYAMA *et al.*, 2016).

2.3 *Streptococcus mutans*

Trata-se de uma espécie de bactéria Gram-positiva, do grupo A de Lancefield, anaeróbicos facultativos, acidogênicos e acidúricos, com morfologia de coco, pertencentes ao gênero *Streptococcus*. Este gênero representa a maioria das bactérias que colonizam a cavidade oral, tratando-se de um microrganismo causador da cárie dentária (WONG *et al.*, 2017).

Os *Streptococcus mutans* são capazes de formar polissacarídeos extracelulares resultantes do aproveitamento de energia da hidrólise, principalmente a sacarose em dietas cariogênicas que facilitam a adesão bacteriana às estruturas dentárias e a outros microrganismos (CHAVES *et al.*, 2017).

A colonização primária de *Streptococcus mutans* ocorre após a erupção dentária e está associada ao desenvolvimento de cáries. Assim, as bactérias *Streptococcus mutans* colonizam a superfície dentária, acumulam-se no biofilme e produzem ácidos que promovem a desmineralização do esmalte dentário (BIK *et al.*, 2010).

Esta bactéria foi intensamente estudada nas últimas décadas, sendo detectada principalmente na cavidade oral. Atualmente, são conhecidos oito sorotipos correspondentes ao grupo mutans. Normalmente os indivíduos que tem um maior desequilíbrio microbiológico na superfície dentária são portadores de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* (MAKI *et al.*, 2014).

2.4 Própolis vermelha

2.4.1 Definição e composição química

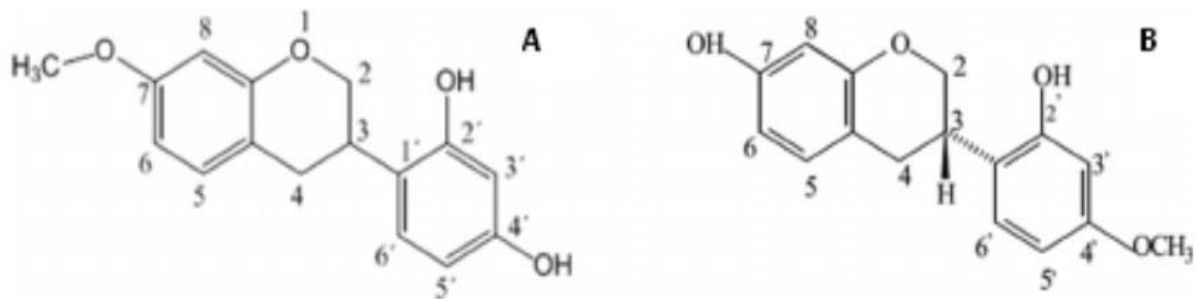
A própolis é uma resina utilizada por abelhas para o selamento de suas colméias. Ela é composta por ácidos fenólicos, lignanas, álcoois terpênicos e derivados cumarínicos. Atualmente, são conhecidos pela ciência mais de duzentos tipos de própolis (AGUIAR *et al.*, 2018).

Em sua composição, 55% é formada por resinas vegetais, 30% de cera de abelhas, 10% de óleos essenciais e 5% de pólen de flores. A própolis pode variar de acordo com a espécie de abelha que a produziu, bem como a origem botânica da dos compostos. Assim, a própolis verde é associada ao vegetal *Baccharis*

dracunculifolia e a própolis vermelha geralmente é associada às espécies de cajueiro. Tais substâncias possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (FROZZA *et al.*, 2013).

Na própolis vermelha, pode-se citar como constituintes químicos o vestiol e neovestiol, como mostra a figura 1, que são isoflavonoides que demonstraram atividades antimicrobianas em relação ao *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii* e atividade anti-inflamatória (BUENO-SILVA *et al.*, 2013)

Figura 1 - Representação química do neovestitol (A) e vestitol (B)



Fonte: BUENO-SILVA *et al.*, (2013).

2.4.2 Ação antimicrobiana da Própolis

A ação bioquímica da própolis depende de fatores ambientais, como o clima, a flora da região, a espécie de abelha produtora e até mesmo a época do ano. Dessa forma, a literatura já demonstrou uma série de efeitos farmacológicos, tais como antimicrobiano, anti-inflamatório, antifúngica, anestésica, bactericida, cicatrizante, dentre outras (CAMPOS *et al.*, 2015).

Neste sentido, as propriedades antimicrobianas da própolis dependem da flavonona pinocembrina, da galanina, do éster feniletíl e do ácido caféico, agindo provavelmente sobre a enzima RNA-polimerase bacteriana. Os flavonoides ácido benzoico, ácido caféico e ácido cinâmico atuarão causando danos à parede celular das bactérias. Esse sinergismo é eficaz principalmente sobre bactérias Gram-positivas, uma vez que possuem uma estrutura celular mais simples, bem como um baixo teor de lipídeos de membrana (AMARANTE *et al.*, 2019).

A própolis se distingue pelo amplo espectro Gram-positivo e Gram-negativo contra microrganismos do biofilme oral, como *Streptococcus mutans*,

Lactobacillus, *Aggregatibacter actino-mycetemcomitans*, *Actinomyces naesslundii*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* (PETERSEN, 2010; LOBO *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2016).

Em um ensaio clínico foi comparado a utilização de própolis a 2% num colutório não alcoólico, com a clorexidina 0,12% colutório e uma placebo. Neste estudo os pacientes foram observados por 45 dias, utilizando o colutório específico por 28 dias. Então observou-se a carga microbiana de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus salivarius* nos dias 14 e 28, já o colutório de própolis se mostrou mais efetivo na redução dos microrganismos que a clorexidina e o placebo (ANAUATE-NETTO *et al.*, 2013).

Já um estudo realizado para verificação de efeito antimicrobiano contra *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguinis*, utilizaram-se 3 extratos de própolis brasileira; a vermelha, a marrom e a verde, de forma isolada ou em associação de extratos. Observou-se que todas apresentavam atividade frente aos microrganismos testados, mas que a vermelha foi mais potente de forma isolada e também quando associada com verde (DA SILVA *et al.*, 2013).

2.4.3 Própolis no tratamento de cárie

As medidas terapêuticas capazes de combater a placa bacteriana, tanto preventivamente, como curativamente têm impacto positivo sobre a prevenção de várias patologias, em destaque está a patologia bucal mais conhecida como cárie. No entanto, nas últimas décadas é notório um crescente interesse global no aproveitamento da biodiversidade, principalmente nas espécies vegetais, que vem sendo utilizadas em várias áreas da saúde. Portanto, a busca pela descoberta de agentes antimicrobianos, oriundos de substâncias naturais pode levar ao desenvolvimento de novos fármacos (PETERSEN, 2010).

A própolis, por ser um antibiótico natural, pode ser uma importante ferramenta no combate a cárie. Dentre suas vantagens estão inclusas a sua eficácia farmacológica, sua fácil obtenção e seus benefícios ao meio ambiente. Assim, a sua aplicação na prevenção e tratamento de cáries pode ser eficaz, uma vez que possui ação frente a cepas de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* (BATISTA; ROSCOE, 2020).

Atualmente, a própolis está sendo uma importante fonte de matéria prima para a indústria de medicamentos e de cosméticos, pois estudos revelam um grande potencial em suas propriedades farmacológicas. Assim, o emprego do extrato de própolis em formulações de ação local na cavidade oral é algo promissor (MELO *et al.*, 2017).

2.5 Xilitol

2.5.1 Definição e composição química

O xilitol é um edulcorante de origem natural originado nas fibras de vegetais, tais como o milho, a ameixa e a framboesa, podendo ser extraído também de algumas espécies de cogumelos. É obtido artificialmente por meio da hidrogenação catalítica da xilose (ANTONIO; PIERRO; MAIA, 2011).

Esse carboidrato possui o mesmo grau de sabor da sacarose, porém 40% menos calórico. Trata-se, portanto, de uma molécula de estrutura alifática, com um total de cinco grupamentos hidroxilas ligado ao carbono. Tal fato, faz o xilitol ser conhecido como poliidroxicool acíclico (TAKAHASHI; WASHIO, 2011).

Devido às características benéficas do xilitol serem comprovadas em estudos, a indústria vem incentivando a utilização desta substância em produtos farmacêuticos como, por exemplo, produtos de limpeza da cavidade oral como as pastilhas e enxaguatórios bucais, onde o objetivo é prevenir cáries (CARDOSO *et al.*, 2016).

No estudo Björklund, Ouwehand e Forssten (2019) o efeito do xilitol na inibição do crescimento do *Streptococcus mutans* na saliva humana e artificial foi evidente mesmo com a adição de glicose. O xilitol e L-carboidratos induziram a uma menor adesão e formação de biofilme das espécies *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* (BRAMBILLA *et al.*, 2016; MEDINA; ASMAT-ABANTO; RUIZ-BARRUETO, 2019).

O xilitol é absorvido de forma lenta no intestino delgado e seu metabolismo ocorre principalmente nos tecidos hepáticos. Já as porções não adequadamente absorvidas após o consumo de grandes quantidades do açúcar podem alcançar o intestino grosso e produzir efeitos colaterais como diarreia osmótica, flatulência e dor abdominal. Adultos podem ingerir uma quantidade diária

de 60-70 g de xilitol, já as crianças podem ingerir 50 g de xilitol diariamente (ALAMOUDI *et al.*, 2014).

Portanto o xilitol é um açúcar alcoólico que não sofre fermentação pelas bactérias orais e vêm sendo recomendado como substituto do açúcar, pois possui propriedades que ajudam na prevenção de cárie dentária (FONTANA; GONZÁLEZ-CABEZAS, 2012).

2.5.2 Mecanismo de ação do xilitol na prevenção de cárie

A ação anticariogênica do xilitol é determinada pela sua não fermentabilidade por parte das bactérias do gênero *Streptococcus*. Desse modo, a proliferação dessa bactéria é limitada. O Xilitol reduz, também, a quantidade de polissacarídeos insolúveis e aumenta os polissacarídeos solúveis. Isto resulta em uma placa bacteriana menos aderente e de remoção facilitada, por meio da escovação (CAMPUS *et al.*, 2013; FRAGA *et al.*, 2020).

O xilitol age, ainda, aumentando a quantidade de salivação, promovendo de forma adjuvante, a remineralização do tecido dentário, revertendo as cáries em fase inicial e diminuindo a queda do pH da superfície dos dentes (CARDOSO, 2016).

O desenvolvimento e metabolismo de *Streptococcus mutans* podem ser bloqueados através da ação direta do xilitol sobre o processo de glicólise dessas bactérias. No caso, o xilitol pode ser absorvido por estes microrganismos através da utilização do sistema frutose-fosfotransferase (LIN *et al.*, 2016).

No interior celular, a molécula de açúcar é fosforilada, acarretando na formação de xilitol – 5 – fosfato, que não pode ser metabolizado. Devido ao acúmulo de xilitol – 5 – fosfato no interior da bactéria, ocorre a inibição da produção de enzimas glicólicas (ALAMOUDI *et al.*, 2014).

Após a administração de xilitol a *Streptococcus mutans* é observada a inibição da maioria dos intermediários da via glicolítica dentre os quais: glicose-6-fosfato, gliceraldeído – 3 – fosfato, frutose – 1,6 – bifosfato, 3- fosfoglicerato, 2- fosfoglicerato e fosfoenolpiruvato, essenciais para a ativação enzimática (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

A inibição de intermediários da cadeia metabólica prejudica o metabolismo do açúcar, e, conseqüentemente, a produção de energia. Então, o xilitol-5-fosfato é desfosforilado e eliminado da célula. Logo, esse processo é

responsável pela criação de um “ciclo fútil”, ou seja, a energia necessária para a manutenção e desenvolvimento bacteriano é consumida e não reposta (MARGHALANI *et al.*, 2017).

Em um estudo foi relatado que as concentrações salivares de 0,1% de xilitol, ou até mesmo menores, podem ser capazes de inibir o crescimento de *Streptococcus mutans in vivo*, comparando com outros estudos que afirmam ser necessária uma concentração salivar de pelo menos 1% de xilitol para a prevenção de cárie dentária (SÖDERLING *et al.*, 2008).

Já Milgrom *et al.* (2006) observaram uma relação entre o nível de xilitol administrado em gomas de mascar e alterações na contagem de *Streptococcus mutans* presentes na saliva e no biofilme dentário, foi observado que a administração de 6,88 g/dia ou 10,32 g/dia surtiram efeitos similares sobre a contagem das bactérias *Streptococcus mutans*. Portanto, a utilização do xilitol em diferentes formulações, principalmente em pastilhas e gomas de mascar, intensifica a capacidade tampão da saliva pelo aumento do fluxo salivar, diminuindo assim o acúmulo de biofilme, mantendo os níveis do pH e conseqüentemente, neutralizando os efeitos deletérios dos ácidos produzidos pela presença de carboidratos fermentáveis na alimentação (MARGHALANI *et al.*, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar uma pastilha mastigável a base de própolis vermelha e xilitol na redução de microrganismos orais em amostras de saliva estimulada de voluntários adultos que fazem uso de aparelho ortodôntico.

3.2 Específicos

- a) Determinar as variações na quantidade de *Streptococcus mutans* através da quantificação das Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/ml) antes e após o uso da pastilha;
- b) Avaliar as variações na quantidade de microrganismos gram negativos através da quantificação das Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/ml) antes e após o uso da pastilha;
- c) Avaliar a segurança da pastilha mastigável contendo *Xilitol* e *Própolis vermelha* por meio de avaliação de relato de reação adversa com aplicação do algoritmo de Naranjo.

4 METODOLOGIA

4.1 Administração das pastilhas mastigáveis

Um total de 12 voluntários adultos de ambos os sexos livres de cáries, usuários de aparelhos ortodônticos fixos que são acompanhados no centro de odontologia da Universidade Católica de Quixadá, com índice de placa visível, onde o índice de placa foi avaliado por anamnese. Assim, foram randomicamente distribuídos para serem administradas as pastilhas placebo e as pastilhas que continham os produtos naturais.

O processo de produção da pastilha mastigável foi feito, no laboratório da Farmácia Escola da Universidade Católica de Quixadá. Na sequência foram adicionados os princípios ativos xilitol e própolis vermelha brasileira. Onde o extrato de Própolis Vermelha Brasileira foi proveniente do estado de Alagoas, Brasil.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Católica de Quixadá (parecer nº 3.935.708). Conforme resolução nº. 466/12 de pesquisa envolvendo seres humanos e com a declaração de Helsinque sob os princípios éticos para pesquisas médicas envolvendo seres humanos.

Então foi apresentado aos voluntários o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, onde os mesmos foram instruídos sobre a cooperação e utilização da pastilha mastigável neste estudo. Participantes com histórico de alergias com asma, urticaria, rinite, sinusite ou lesão intraoral de tecidos moles foram excluídos do estudo. Nenhum dos participantes foi submetido a tratamento antimicrobiano até 3 meses antes do início do estudo, nem durante o curso deste ensaio clínico.

Cada participante mascou a pastilha mastigável uma única vez, em um período de 3 a 5 minutos (deglutição). Logo após, foram coletadas as amostras, onde um grupo recebeu aleatoriamente o placebo (pastilha mastigável sem constituintes) e a outro grupo recebeu a pastilha teste (pastilha mastigável contendo própolis vermelha e xilitol).

4.1.1 Análise de reações adversas

Após a administração da formulação da pastilha mastigável contendo os princípios ativos própolis vermelha e xilitol, foi realizada uma análise das reações

adversas ao uso. Para isso, os voluntários foram questionados sobre o aparecimento de sintomas tais como prurido, irritação, vermelhidão, sensação de queimação na cavidade oral, náuseas, cólicas intestinais e desconforto laríngeo. Usou-se o algoritmo de Naranjo como instrumento de avaliação.

4.2 Coleta da Saliva

Duas amostras de saliva foram coletadas por etapas. Na primeira etapa o paciente mascou um pedaço de Parafilm® (3cmx3cm), para estimular a salivação e liberação das bactérias do biofilme dentário. Após o período de 60 (sessenta) segundos, a saliva foi retirada com auxílio de uma pipeta de Pasteur (3mL) da boca do voluntário e colocada em frasco estéril (Eppendorf®) marcado por um número de identificação para posterior análise.

Já a segunda etapa da coleta foi realizada após a utilização/ deglutição da pastilha mastigável, onde todos os participantes foram orientados sobre instruções de escovação, não beber, comer ou realizar métodos químicos ou mecânicos de controle do biofilme por, pelo menos, uma hora antes das coletas. Para minimizar a influência dos ritmos circadianos no fluxo salivar todas as amostras foram coletadas entre 9:00 e 11:00 horas.

4.3 Análise microbiológica

Para isolamento e contagem UFC/mL de *Streptococcus mutans* e bactérias Gram negativas foram realizadas diluições de 1:10 em solução salina 0,9% estéril, homogeneizada em agitador de tubo por 30 segundos. Um volume de 0.1mL de cada amostra foi transferido para um tubo de ensaio estéril, contendo 0,9mL de solução salina.

O volume correspondente a 10 µL de cada amostra de saliva (diluição) foi semeado de forma quantitativa no Ágar MAS (*Mitis Salivarius Agar*) suplementado com bacitracina (50µg/mL) e telurito de potássio 1%. A mesma diluição das amostras foi feita para o Ágar *MacConkey*.

Para análise microbiológica a saliva foi transportada para o laboratório de microbiologia em frascos estéreis, contendo gelo (2-8° C) que permite a análise em até duas horas, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas (*Mitis Salivarius*

Agar), em frascos sobre condições microaerofílicas, e 24 horas (*Ágar MacConkey*). Após incubação foi realizada a contagem estimada das colônias de *Streptococcus* do grupo *mutans* e bactérias Gram Negativas, multiplicando-se o número de colônias em uma área padronizada de 1cm² pelo respectivo fator de diluição, sendo expresso o valor em UFC/mL de saliva.

4.4 Metodologia para análise de dados

O teste Mann-Whitney test (paramétrico) foi utilizado para comparar as médias das duas amostras. Também foi utilizado o Wilcoxon test, uma vez que as amostras são pequenas. Mas, se por acaso a normalidade não fosse confirmada se usaria, mesmo assim, teste não paramétrico, que seria o teste de Wilcoxon pareado. Em todos os testes foi adotado um nível de significância de 95%.

4.5 Interpretação dos resultados

Após a coleta de dados através dos formulários, os mesmos foram inseridos, analisados e organizados através de tabelas e gráficos, no banco de dados do Microsoft® Excel 2016 e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) versão 24.0, para Windows.

5 RESULTADOS

5.1 Efeitos adversos

Durante e após a administração das pastilhas mastigáveis contendo própolis vermelha e xilitol nenhum dos voluntários apresentou sinais ou sintomas de reações adversas, sendo classificado, assim como *score* 0 no algoritmo de Naranjo.

5.2 Análises microbiológicas

Na Tabela 1 são expressas as concentrações de microrganismos gram-negativos salivares, em \log_{10} de UFC/mL, do grupo placebo e do grupo que recebeu a pastilha mastigável antes e após o tratamento. Verifica-se que as reduções intra e intergrupos foram estatisticamente significantes.

Tabela1 - Concentrações de em \log_{10} de UFC/mL de bactérias Gram-negativas antes e após o uso da pastilha mastigável a base própolis vermelha e xilitol e placebo

	Antes	Depois	p-value ¹	Varição	p-value ²
Própolis	1,72(0,62)	0,33(0,52)	0,036	-1,39 (0,64)	0,004698
Placebo	1,44(0,67)	1,53 (0,24)	0,181	0,09 (0,11)	

Fonte: Elaborada pela autora, (2020).

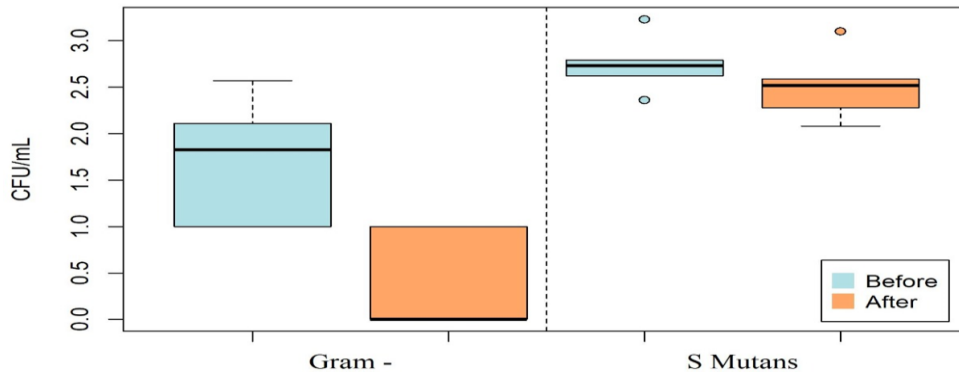
Na Tabela 2 são expressas as concentrações de *Streptococcus mutans* salivares, em \log_{10} de UFC/mL, do grupo placebo e do grupo que recebeu a pastilha mastigável antes e após o tratamento. Verifica-se que as reduções intra e intergrupos foram estatisticamente significantes

Tabela 2 - Concentrações de em \log_{10} de UFC/mL de *Streptococcus mutans* antes e após o uso da pastilha mastigável a base própolis vermelha e xilitol e placebo

	Antes	Depois	p-value ¹	Varição	p-value ²
Própolis	2,74 (0,28)	2,52 (0,35)	0,031	-0,22 (0,74)	0,002165
Placebo	2,20 (0,83)	2,29 (0,71)	0,419	0,08 (0,19)	

Fonte: Elaborada pela autora, (2020).

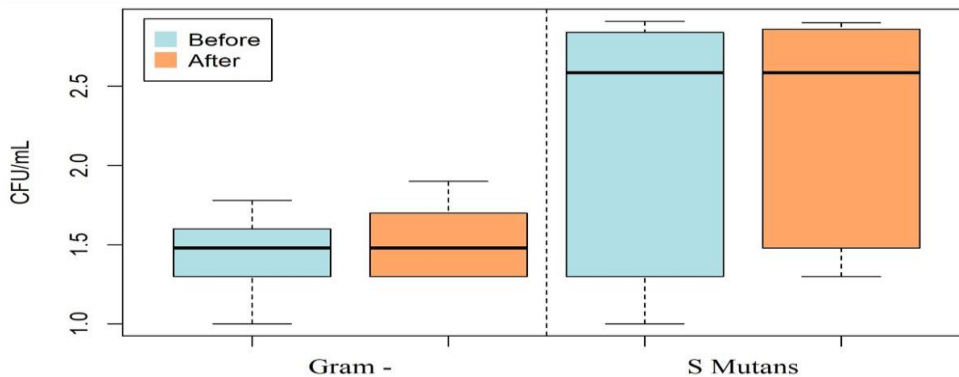
Gráfico 1 - Variação das concentrações de Microrganismos salivares antes e após o uso de pastilha mastigável contendo própolis vermelha e xilitol



Fonte: Elaborada pela autora, 2020.

No Gráfico 1 se comparam as medias de variação de concentração salivar de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) \log_{10} de *Streptococcus mutans* e *Gram-negativas* antes e após o uso da pastilha mastigável a base de própolis vermelha e xilitol. Verifica-se que houve redução significativa das concentrações salivares dos microrganismos testados.

Gráfico 2 - variação das concentrações de microrganismos salivares antes e após o uso de pastilha mastigável placebo



Fonte: Elaborada pela autora, (2020).

No Gráfico 2 se comparam as medias de variação de concentração salivar de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) \log_{10} de *Streptococcus mutans* e *Gram (-)* antes e após o uso da pastilha mastigável placebo. Verifica-se que houve aumento das concentrações salivares dos microrganismos testados

6 DISCUSSÃO

O perfil de segurança da pastilha a base de própolis e xilitol adicionados foi satisfatório, pois não houve relato de reações adversas sendo todos os participantes *score 0* no algoritmo de Naranjo.

Sabe-se que os aparelhos ortodônticos facilitam o acúmulo de bactérias, o que pode causar desequilíbrio da microbiota e, portanto, substâncias antibacterianas podem ser utilizadas desestabilização do biofilme em indivíduos que têm dificuldade no controle da placa dentária. Vários estudos demonstram o efeito antimicrobiano da própolis alcançando resultados significativos em pacientes com gengivite (JEPSEN *et al.*, 2017; CHINSEMBU, 2016; FURTADO JUNIOR *et al.*, 2020).

A pastilha de própolis vermelha e xilitol foi capaz de eliminar mais que 60% dos microrganismos Gram negativos e mais de 40% das bactérias *Streptococcus mutans*, tal fato pode ser compreendido devido aos componentes químicos presentes na própolis, como por exemplo os anéis fenólicos de neovestiol, que se ligam as paredes das bactérias e as destroem.

Torna-se evidente que existe uma sensibilidade entre as bactérias gram positivas e gram negativas frente a própolis vermelha e ao xilitol o que pode ser devido a relação da composição da parede celular com a composição química da própolis vermelha e do xilitol.

Um estudo cruzado mostrou maior eficiência na redução de placa usando um dentífrico incorporado com própolis do que usando os dentífricos comerciais testados no estudo. Confirmando a eficácia deste composto natural por sua atividade antimicrobiana (FURTADO JUNIOR *et al.*, 2020).

As bactérias Gram negativas possuem um teor lipídico maior do que as Gram positivas o que permite uma maior facilidade da entrada dos componentes químicos que estão presentes na própolis vermelha e no xilitol. Essa liberação dos componentes químicos é feita no interior das bactérias para assim obter o efeito de eliminar as bactérias Gram negativas. Devido a essa alta lipossolubilidade das bactérias Gram negativas foi notado no presente estudo uma maior eliminação das bactérias Gram negativas do que as bactérias Gram positivas após o uso da pastilha mastigável.

No presente estudo as bactérias Gram positivas também foram reduzidas,

é provável que essas bactérias foram eliminadas em menor porcentagem devido sua parede celular ser quimicamente mais complexa e a entrada dos componentes químicos da própolis vermelha e do xilitol levarem mais tempo para se solubilizar.

Também foi observado durante todos os meses do estudo que as pastilhas não tiveram mudanças de cor e nem de sabor, isso deve-se ao fato que o xilitol e a própolis exercem papel de conservantes naturais.

A própolis já vem sendo estudada em formulações, pois em uma pesquisa foi demonstrada a eficácia de preparações contendo até 3% de extrato de própolis. Em tais experiências, o dentifrício incorporado com própolis gerou um resultado eficiente na redução de bactérias *Streptococcus mutans* o que provou ser capaz de melhorar o estado de prevenção da cárie (MARGHALANI *et al.*, 2017).

As pastilhas mastigáveis a base de xilitol e outras substâncias, como a própolis são uma forma atrativa de tornar realidade a estratégia de prevenção. A maioria dos consumidores compra e mastiga pastilhas pela apreciação do sabor e textura, além de ser acessível e por saberem que adiciona benefícios específicos para a saúde oral (DINIZ *et al.*, 2014).

Dessa forma foi verificado que a associação da própolis e xilitol numa pastilha mastigável foi benéfica apresentando efeito positivos frente as bactérias *Streptococcus mutans* e bactérias Gram negativas.

7 CONCLUSÃO

Por meio deste estudo foi possível verificar que a pastilha mastigável a base de própolis vermelha brasileira e xilitol gerou uma expressiva redução na carga microbiológica de *Streptococcus mutans* e microrganismos Gram negativos. Logo, durante todo o estudo a pastilha mastigável a base de própolis vermelha brasileira e xilitol não apresentou mudanças de cor, odor e sabor. No entanto para melhorar a ação clínica da pastilha de própolis vermelha e xilitol recomenda-se mastigar bem a pastilha e não as ingerir com líquidos. Em relação aos resultados da pastilha de própolis vermelha brasileira e xilitol foi notório que tal pastilha é uma alternativa farmacoeconomicamente viável para ser usada com um paliativo para bloquear a proliferação de cáries. Logo, recomenda-se a realização de novos estudos a fim de observar a performance da pastilha de própolis vermelha brasileira e xilitol sobre a microbiota gástrica. Por fim, recomenda-se a realização de novos estudos com essas e outras formas farmacêuticas de uso odontológico associado a própolis brasileira vermelha e o xilitol para prevenção de cáries dentárias.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, G. R. *et al.* Estudo químico e avaliação biológica da própolis vermelha de Alagoas. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 1-11, jan./fev. 2018. Disponível em: <http://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/1856>. Acesso em: 10 out. 2020.
- ALAMOUDI, M. N. *et al.* Early prevention of childhood caries with maternal xylitol consumption. **Saudi Medical Journal**, Riyadh, Saudi Arabia, v. 35, n. 6, p. 592-97. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24888659/>. Acesso em: 05 out. 2020.
- AMARANTE, J. F. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of two extract of propolis against isolates of Staphylococcus spp. and multi resistant bacteria. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 9, p. 734-743, sept. 2019. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2019000900734&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 out. 2020.
- ANAUATE-NETTO, C. *et al.* Effects of typified propolis on mutans streptococci and lactobacilli: a randomized clinical trial. **Brazilian Dental Science**, [s.l.], v. 16, n. 2, p. 31-36, jun. 2013. Disponível em: <https://ojs.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/879/802>. Acesso em: 05 out. 2020.
- ANTONIO, A. G.; PIERRO, V.S.S.; MAIA, L.C. Caries preventive effects of xylitol-based candies and lozenges: a systematic review. **Journal Of Public Health Dentistry**, [s.l.], v. 71, n. 2, p. 117-124, fev. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21774134/>. Acesso em: 05 out. 2020.
- BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Portaria nº 6, de 25 de julho de 1985**. Normas Higienico-Sanitárias e Tecnológicas para Mel, Cera de Abelhas e Derivados. Brasília: Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. 25 jul. 1985. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/portaria-6-de-1985-mel.pdf>. Acesso em 08 out. 2020.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RE nº 1, de 29 de julho de 2005**. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01_05_re_comentada.pdf. Acesso em: 05 out. 2020.
- BADET, C.; THEBAUD, N. B. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: a review of literature. **The Open Microbiology Journal**, [s.l.], v. 2, n. 1, p. 38-48, maio 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/23669796_Ecology_of_Lactobacilli_in_the_Oral_Cavity_A_Review_of_Literature. Acesso em: 10 out. 2020.

BATISTA, E.S.; ROSCOE, M.G. Influência da adição de extrato de própolis em adesivo ortodôntico no controle da desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos. **Revista Saúde - UNG - Ser**, Guarulhos, v. 13, n. 2, p. 46, 2020. Disponível em: <http://revistas.ung.br/index.php/saude/article/view/4037/2994>. Acesso em: 05 out. 2020.

BHAT, N. *et al.* The antiplaque efficacy of propolis-based herbal toothpaste: A crossover clinical study. **Journal Of Natural Science, Biology And Medicine**, [s.l.], v. 6, n. 2, p. 364-368, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/281173691_The_antiplaque_efficacy_of_propolis-based_herbal_toothpaste_A_crossover_clinical_study. Acesso em: 05 out. 2020.

BIK, E. M. *et al.* Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. **The Isme Journal**, [s.l.], v. 4, n. 8, p. 962-974, mar. 2010. Disponível em: [https://www.nature.com/articles/ismej201030#:~:text=A%20total%20of%2015%20bacterial,and%20Atopobium%20\(Actinobacteria\)%3B%20and](https://www.nature.com/articles/ismej201030#:~:text=A%20total%20of%2015%20bacterial,and%20Atopobium%20(Actinobacteria)%3B%20and). Acesso em: 10 out. 2020.

BORKENT, D. **Epidemiological, pathological and microbiological study of equine dental caries**. 2018. 97f. Tese (Doutorado em Epidemiologia) - University of Edinburgh. 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/328333633_Epidemiological_pathological_and_microbiological_study_of_equine_dental_caries. Acesso em: 10 out. 2020.

BORKENT, D. *et al.* A microbiome analysis of equine peripheral dental caries using next generation sequencing. **Equine veterinary journal**, [s.l.] v. 52, n. 1, p. 67-75, maio 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31006119/>. Acesso em: 05 out. 2020.

BRAMBILLA, E. *et al.* Levorotatory carbohydrates and xylitol subdue *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. **Journal Of Basic Microbiology**, [s.l.], v. 56, n. 5, p. 480-492, out. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26456320/>. Acesso em: 10 out. 2020.

BUENO-SILVA, B. *et al.* Effect of Neovestitol-vestitol containing Brazilian red propolis on biofilm accumulation in vitro and dental caries development in vivo. **Biofouling**, [s.l.], v. 29, n. 10, p. 1233-1242, out. 2013.

CAGETTI, M. G. *et al.* The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. **Nutrients**, [s.l.], v. 5, n. 7, p. 2530-2550, jul. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3738986/>. Acesso em: 10 out. 2020.

CAGETTI, M. G. Effect of a toothpaste containing triclosan, cetylpyridinium chloride, and essential oils on gingival status in schoolchildren: a randomized clinical pilot study. **Quintessence International**, [s.l.], v. 46, n. 5, p. 437-445, fev. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25646169/>. Acesso em: 10 out. 2020.

CAMACHO, A. A.; MORALES, T.; MONSERRAT, D. **Prevalencia de caries en niños de tres a seis años de edad, en el Centro de Salud de San Cristóbal de Las Casas zona norte en el periodo enero-abril 2016**. 2017. 115f. Tese (Doutorado en Cirujano Dentista) – Facultad en Ciencias Odontológicas y Salud Pública, México, 2017.

CAMPOS, J. F. *et al.* Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 2015, p. 1-11, 2015. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2015/296186/>. Acesso em: 10 out. 2020.

CAMPUS, G. *et al.* Six months of high-dose xylitol in high-risk caries subjects – a 2-year randomised, clinical trial. **Clinical Oral Investigations**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. 785-791, jul. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3607712/>. Acesso em: 10 out. 2020.

CARDOSO, J. G. *et al.* Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. **Archives Of Oral Biology**, [s.l.], v. 65, p. 77-81, maio 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26871983/>. Acesso em: 05 out. 2020.

CAYETANO, M. H. *et al.* Política Nacional de Saúde Bucal Brasileira (Brasil Sorridente): um resgate da história, aprendizados e futuro. **Universitas Odontologica**, v. 38, n. 80, 2019. Disponível em: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/article/view/25629>. Acesso em: 08 out. 2020.

CHAVES, S. C. L. *et al.* Política de Saúde Bucal no Brasil 2003-2014: cenário, propostas, ações e resultados. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 6, p. 1791-1803, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232017002601791&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 10 out. 2020.

CHINSEMBU, K. C. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 154, p. 6-18, fev. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26522671/>. Acesso em: 10 out. 2020.

DA SILVA, J. L. D. C. *et al.* Synergic effect of associated green, red and brown Brazilian propolis extract onto *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s.l.], v. 7, n. 29, p. 2006-2010, aug. 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/255720472_Synergic_effect_of_associated_green_red_and_brown_Brazilian_propolis_extract_onto_Streptococcus_mutans_and_Streptococcus_sanguinis. Acesso em: 08 out. 2020.

DINIZ, P. A. *et al.* Percepção dos pacientes em uso de enxaguatórios bucais: óleos essenciais e cloreto de cetilperidíneo. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, n. 68, v. 3, p. 245-9, 2014. Disponível em: http://revodontobvsalud.org/scielo.php?pid=S0004-52762014000300013&script=sci_arttext. Acesso em: 10 out. 2020.

FONTANA, M.; GONZÁLEZ-CABEZAS, C. Are We Ready for Definitive Clinical Guidelines on Xylitol/Polyol Use? **Advances In Dental Research**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 123-128, 16 ago. 2012. SAGE Publications. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22899694/>. Acesso em: 10 out. 2020.

FRAGA, E. G. S. *et al.* Xylitol, a Promising Allied for Oral Health. **Journal Of Young Pharmacists**, [s.l.], v. 12, n. 3, p. 197-200, 22 set. 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/345415941_Xylitol_a_Promising_Allied_for_Oral_Health. Acesso em: 10 out. 2020.

FROZZA, C. O. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. **Food And Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 52, p. 137-142, fev. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23174518/>. Acesso em: 08 out. 2020.

FURTADO JUNIOR, J. H. C. *et al.* Propolis and Its Dental Applications: A Technological Prospection. **Recent Patents On Biotechnology**, [s.l.], v. 12, n. 4, p. 288-296, dez. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30156167/>. Acesso em: 08 out. 2020.

FURTADO JÚNIOR, J. H. 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**, [s.l.], p. 1-7, 22 jan. 2020. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2020/8532701/>. Acesso em: 10 out. 2020.

HAN, Y. W.; WANG, X. Mobile Microbiome. **Journal Of Dental Research**, [s.l.], v. 92, n. 6, p. 485-491, abr. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23625375/>. Acesso em: 10 out. 2020.

JEPSEN, S. *et al.* Prevention and control of dental caries and periodontal diseases at individual and population level: consensus report of group 3 of joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. **Journal Of Clinical Periodontology**, [s.l.], v. 44, p. 85-93, mar. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28266120/>. Acesso em: 10 out. 2020.

LIN, H. *et al.* Effect of maternal use of chewing gums containing xylitol on transmission of mutans streptococci in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. **International Journal Of Paediatric Dentistry**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 35-44, fev. 2015.

LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. **Microbiological Reviews**, [s.l.], v. 50, n. 4, p. 353–380, 1986. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373078/>. Acesso em: 08 out. 2020.

MAKI, Y. *et al.* Monitoring caries risks before the window of infection and later caries increment: a caries prediction study on rapid detection of *Streptococcus mutans* using monoclonal antibodies. **The Bulletin Of Tokyo Dental College**, [s.l.], v. 55, n. 1, p. 19-23, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24717926/>. Acesso em: 08 out. 2020.

MARGHALANI, A. A. *et al.* Effectiveness of Xylitol in Reducing Dental Caries in Children. **Pediatric Dentistry Journal**, [s.l.], 2017, v. 39, n. 2, p.103-10, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28390459/#:~:text=Results%3A%20Analysis%20of%20five%20randomized,of%20evidence%20and%20considerable%20heterogeneity.> Acesso em: 08 out. 2020.

MEDINA, R. P.; ASMAT-ABANTO, A. S.; RUIZ-BARRUETO, M. A. Efecto de una Pasta Dental Comercial Conteniendo Xilitol Sobre el Recuento de *Streptococcus Mutans* en Saliva de Gestantes: Ensayo Clínico Controlado Aleatorizado. **International journal of odontostomatology**, v. 13, n. 3, p. 316-320, 2019. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2019000300316. Acesso em: 08 out. 2020.

MELO, M. *et al.* Caries diagnosis using light fluorescence devices in comparison with traditional visual and tactile evaluation: a prospective study in 152 patients. **Odontology**, [s.l.], v. 105, n. 3, p. 283-290, 21 set. 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/309046131_Caries_diagnosis_using_light_fluorescence_devices_in_comparison_with_traditional_visual_and_tactile_evaluation_a_prospective_study_in_152_patients. Acesso em: 08 out. 2020.

MENDES, G.A.M. *et al.* Desenvolvendo habilidades no diagnóstico e manejo de lesões de cárie oculta em prática laboratorial no curso de odontologia. *In*: Congresso Internacional de Pesquisa, Ensino e Extensão, 2, 2018, [s.l.]. **Anais [...]**. [s.l.]: UniEvangélica, 2018. p. 1844-1845.

MILGROM, P. *et al.* Mutans Streptococci Dose Response to Xylitol Chewing Gum. **Journal Of Dental Research**, [s.l.], v. 85, n. 2, p. 177-181, fev. 2006. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2225984/>. Acesso em: 08 out. 2020.

NASCIMENTO, T. G. *et al.* Polymeric nanoparticles of brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and leishmanicidal activity. **Nanoscale Research Letters**, [s.l.], v. 11, n. 1, p. 1-16, jun. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27316742/>. Acesso em: 08 out. 2020.

OLIVEIRA, J. M. S. *et al.* Uso de própolis no desenvolvimento de resinas dentárias: um estudo prospectivo. **Cadernos de Prospecção**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 285-299, jun. 2017. Disponível em: <https://portalseer.ufba.br/index.php/nit/article/view/20531/20531>. Acesso: 08 out. 2020.

LOBO, P. L. D. *et al.* The efficacy 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**, [s.l.], v. 21, n. 8, p. 1043-1047, jul. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24863037/>. Acesso em: 08 out. 2020.

PETERSEN, P. E. Challenges to improvement of oral health in the AL21st century – the approach of the WHO Global Oral Health Programme. **International Dental Journal**, [s.l.], v. 54, n. 6, p. 329-343, dez. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15631094/>. Acesso em: 08 out. 2020.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Brazilian Red Propolis: Legitimate Name of the Plant Resin Source. **MOJ Food Processing Technology**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 21-2, 2018. Disponível em: <https://medcraveonline.com/MOJFPT/brazilian-red-propolis-legitimate-name-of-the-plant-resin-source.html#:~:text=The%20plant%20source%20of%20Brazilian,the%20legitimate%20name%20Dalbergia%20ecastaphyllum>. Acesso em: 08 out. 2020.

SANTANA, I. V. G. *et al.* P o52 - Evolução científica sobre cárie dentária: revisão de literatura. **Archives Of Health Investigation**, [s.l.], v. 6, 2018. Disponível em: <https://www.archhealthinvestigation.com.br/ArchHI/article/view/2867>. Acesso em: 08 out. 2020.

SHAHEEN, S. *et al.* Sabiha. Antimicrobial Efficacy of Ten Commercially Available Herbal Dentifrices against Specific Oral Microflora – In Vitro Study. **Journal Of Clinical And Diagnostic Research**, [s.l.], v. 9, n. 4, p. 42-46, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4437158/>. Acesso em: 08 out. 2020.

SILVA, M. A. *et al.* Perception and Adverse Effects of Patients after using Propolis-Containing Dentifrice. **Journal of Young Pharmacists**, [s.l.], v. 11, n. 4, p. 421-423, oct./dec. 2019. Disponível em: <http://www.jyoungpharm.org/article/1335>. Acesso em: 08 out. 2020.

SIMÓN-SORO, A.; MIRA, A. Solving the etiology of dental caries. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 23, n. 2, p. 76-82, fev. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25435135/>. Acesso em: 08 out. 2020.

SÖDERLING, E.M. *et al.* Growth inhibition of *Streptococcus mutans* with low xylitol concentrations. **Current Microbiology**, [s.l.], v. 56, n. 4, p. 382-385, jan. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18176823/#:~:text=We%20studied%20xylitol%2Dinduced%20growth,three%20clinical%20isolates%20of%20S.&text=Our%20results%20suggest%20that%20low,xylitol%20concentrations%20may%20be%20inhibitory>. Acesso em: 05 out. 2020.

SUGIYAMA, M. *et al.* Activation of inflammasomes in dendritic cells and macrophages by *Mycoplasma salivarium*. **Molecular Oral Microbiology**, [s.l.], v. 31, n. 3, p. 259-269, 4 set. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26177301/>. Acesso em: 05 out. 2020.

TAKAHASHI, N.; WASHIO, J. Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm in vivo. **Journal Of Dental Research**, [s.l.], v. 90, n. 12, p. 1463-1468, set. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21940519/>. Acesso em: 05 out. 2020.

VALE, G. C. *et al.* Recolonization of mutans streptococci after application of chlorhexidine gel. **Brazilian Dental Journal**, [s.l.], v. 25, n. 6, p. 485-488, dez. 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402014000600485. Acesso em: 08 out. 2020.

WALSH, T.; OLIVEIRA-NETO, J. M.; MOORE, D. Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [s.l.], p. 1-63, abr. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25867816/>. Acesso em: 05 out. 2020.

WONG, P. D. *et al.* Total breast-feeding duration and dental caries in healthy urban children. **Academic Pediatrics**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. 310-315, abr. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28385327/#:~:text=Conclusions%3A%20Among%20healthy%20urban%20children,beyond%202%20years%20of%20age>. Acesso em: 05 out. 2020.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado Senhor (a),

O Farmacêutica Érica Cardoso Siqueira (CRF/CE 6208), orientado pelo Prof. Dr. Edilson Martins Rodrigues Neto, está realizando um estudo sobre a **AVALIAÇÃO DO USO DE PASTILHA MASTIGÁVEL CONTENDO PRODUTOS NATURAIS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES SALIVARES DE MICROORGANISMOS ORAIS EM PACIENTES ORTODÔNTICOS: UM ESTUDO CLÍNICO**, onde os mesmos gostariam de convidar você para participar dessa pesquisa.

Este estudo tem como objetivo, avaliar uma pastilha mastigável a base de própolis vermelha e xilitol na redução de microrganismos cariogênicos em amostras de saliva extraídas da cavidade oral de voluntários adultos que fazem uso de aparelho ortodôntico. Os voluntários serão divididos aleatoriamente em grupos. Em todos os voluntários serão realizadas a utilização das pastilhas contendo os ativos.

Seu benefício em participar do estudo será receber um cuidado especial com a saúde bucal, os resultados desse estudo vão contribuir para o aprendizado dos fatores responsáveis pela doença cárie e para o estudo dos medicamentos que sejam capazes de “paralisar/estabilizar” o desenvolvimento da cárie.

Não há efeitos colaterais aos materiais pelos pacientes envolvidos nesta pesquisa, porém, qualquer problema, com os voluntários deverão entrar em contato com a responsável pela pesquisa, na Rua Juvêncio Alves, 660, Centro, Quixadá – CE ou pelo telefone (85) 999614168. O responsável pela pesquisa também está à disposição para o esclarecimento de eventuais dúvidas que surgirem no decorrer da pesquisa. Você pode ainda entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): R. Juvêncio Alves, 660 - Centro, Quixadá – CE, (88) 3412-6700.

As informações fornecidas serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Os sujeitos da pesquisa não serão identificados em nenhum momento, mesmo quando os resultados desta pesquisa forem divulgados em qualquer forma. O responsável poderá desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade, sem perder nenhum benefício e continuarão recebendo atendimento preventivo e encaminhamento para

tratamento na Clínica de Odontologia da UNICATÓLICA.

O responsável autoriza a reutilização de dados coletados pela pesquisadora em outras pesquisas:

() NÃO AUTORIZO a utilização de dados em outra pesquisa.

() SIM AUTORIZO a utilização de dados em outra pesquisa.

E para utilizar os dados em outra pesquisa o sujeito da pesquisa quer ser consultado:

() NÃO quero ser consultado da utilização dos meus em outra pesquisa, desde que a nova pesquisa seja aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa.

() SIM quero ser consultado da utilização dos meus em outra pesquisa.

Não haverá despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamento proposto neste estudo, o participante tem o direito a tratamento odontológico na instituição, bem como as indenizações legalmente estabelecidas.

Declaração do Voluntário

Eu, _____ RG _____

Voluntário _____ fui

informado do estudo e de forma livre e voluntária (o), permito minha participação no estudo. Li e compreendi este termo de consentimento livre e esclarecido, bem como tive oportunidade de realizar questionamentos e esclarecer dúvidas. Declaro que concordo minha participação da pesquisa por livre e espontânea vontade, sem qualquer despesa de minha parte, mas sem qualquer tipo de reembolso por esta participação. Também autorizo a publicação dos dados obtidos por meio deste estudo, bem como declaro ter recebido uma cópia datada e assinada desse termo de consentimento.

APÊNDICE B – FICHA DE ANAMNESE DADOS PESSOAIS E EXAME DENTÁRIO
FICHA ANAMNESE

Nome _____

Idade: _____ Sexo: _____ Etnia: _____ Nascimento.: _____

Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____ UF: _____

Endereço _____

Bairro: _____ CEP: _____ Fone: _____

Nome do Pai: _____ RG: _____

Nome da Mãe: _____ RG: _____

Anamnese

Há algum problema com a saúde? () Sim () Não

Qual? _____

Medicamentos em uso: _____

Tem alguma alergia? () Sim () Não

Qual? _____

Já foi ao dentista: () Sim () Não

Quando? _____

Hábitos de Higiene

Escova os dentes? () Sim () Não

Quantas vezes? _____

Usa fio dental? () Sim () Não

Declaro que as respostas acima são verdadeiras.

Quixadá, _____ de _____ de 20__.

Assinatura do responsável

Assinatura do responsável pelo estudo

APÊNDICES C – ALGORITMO DE NARANJO

Algoritmo de Naranjo

Questões	Sim	Não	Desconhecido
1. Existem notificações conclusivas sobre esta reação?	1	0	0
2. A reação apareceu após a administração do fármaco suspeito?	0	-1	0
3. A reação desapareceu quando o fármaco suspeito foi suspenso?	0	0	0
4. A reação reapareceu quando o fármaco foi readministrado?	0	-1	0
5. Existem causas alternativas (outro fármaco)?	-1	0	0
6. A reação aparece com a introdução do placebo?	-1	1	0
7. A concentração plasmática do fármaco está em nível tóxico?	0	0	0
8. A reação aumentou com dose maior ou reduziu com dose menor?	0	0	0
9. O paciente tem história de reação semelhante com o mesmo fármaco ou similar?	1	0	0
10. A reação foi confirmada por qualquer evidência objetiva?	1	0	0
Somatória			Causa
9 ou +			Definida
5 a 8			Provável
1 a 4			Possível
0			Duvidosa