

Adição de própolis ao hidróxido de cálcio e sua influência na ação antibacteriana

Addition of propolis to calcium hydroxide and its influence on antibacterial action

Alfonso SANCHEZ-AYALA

Camila Maggi Maia SILVEIRA

Aluno do Curso de Mestrado em Odontologia – Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG - Ponta Grossa - PR- Brasil

Elizabete Brasil dos SANTOS

Professor Associado do Departamento de Odontologia - Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG - Ponta Grossa - PR- Brasil

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de duas diferentes concentrações de própolis em extrato etanólico sobre a ação antibacteriana do hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Foram preparadas suspensões contendo 10^8 células/mL das bactérias Gram positivas *Enterococcus faecalis*; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus saprophyticus* e Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Alíquotas de 0,1 mL das suspensões foram semeadas em duplicata, em agar Muller Hinton. Discos de papel de filtro foram embebidos em extratos etanólicos de própolis a 20 e 40%; em $\text{Ca}(\text{OH})_2$ preparado com os referidos extratos de própolis e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ preparado em solução fisiológica, sendo em seguida posicionados sobre o ágar. As placas foram incubadas a $37^\circ\text{C}/24\text{h}$ e após este período, os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos. Através do teste de ANOVA *one way* verificou-se que $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em solução fisiológica mostrou maior halo de inibição do crescimento bacteriano ($p < 0.001$) em comparação com o hidróxido de cálcio preparado com própolis. A presença de própolis diminuiu a ação antibacteriana do $\text{Ca}(\text{OH})_2$ puro em pó tanto frente a bactérias Gram positiva quanto Gram negativa ($p < 0.001$). Os resultados sugerem e estudos posteriores devem verificar se a característica resinosa da própolis pode ter dificultado a difusão e conseqüente ação antibacteriana do $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

UNITERMOS

Hidróxido de cálcio; própolis; ação antibacteriana.

INTRODUÇÃO

Desde que a cárie dental se converteu na primeira preocupação da odontologia, tem se procurado um medicamento que em contacto direto com a polpa exposta tenha como resultado a formação de uma ponte de dentina reparadora, com o objetivo de se obter cicatrização pulpar (NEVES²³, 1996). Denomina-se capeamento pulpar a cobertura da polpa exposta com o objetivo de manter sua vitalidade (LAWRENCE e STOCKTON²⁰, 1999). O procedimento que tem demonstrado maior sucesso com o capeamento pulpar é a técnica utilizando hidróxido de cálcio (BAUME e HOLZ⁶, 1981).

A própolis é uma substância que tradicionalmente tem demonstrado propriedades antiinflamatórias, antibacterianas, antiprotzoária, antiviral, antioxidante e antifúngicas. É composta por material resinoso e balsâmico coletado pelas abelhas dos ramos, flores, pólen, brotos, secreções salivares das abelhas e exsudados de árvores de diferentes origens (PEREIRA et al²⁵, 2002). A composição da própolis é de 50 a 55% de resinas, 30% de cera de mel, 8 a 10% de óleos essenciais e 5% de pólenes (MATSUNO²², 1997). Entre seus componentes, são os chamados flavonóides que regulam a resposta imune, reduzem os radicais livres e inibem o crescimento microbiano (BURDOCK⁹, 1998).

A composição da própolis varia de acordo com o local de coleta e da espécie vegetal utilizada pelas abelhas na sua confecção (ALMEIDA et al.², 1997). Alguns componentes estão presentes em todas as amostras, enquanto outros ocorrem somente em própolis colhidas de espécies particulares de plantas. As diferentes variedades de própolis podem apresentar em sua composição vitaminas A, B1, B2, B6, C, E e PP, assim como minerais como manganês, chumbo, cálcio, silício, alumínio, níquel, zinco e cromo (PEREIRA et al.²⁵, 2002). Dentre os mais de 200 componentes já identificados na própolis podemos citar os ácidos graxos e fenólicos, ésteres, ésteres fenólicos, flavonóides (flavonas, flavanonas, flavonóis, di-hidroflavonóis, etc.), terpenos, β -esteróides, aldeídos e álcoois aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno (GREENAWAY et al.¹⁴, 1991; AGA et al.¹, 1994; BANKOVA et al.⁵, 1995; MARCUCCI et al.²¹, 1996).

A ação antimicrobiana da própolis, em extrato alcoólico a 50% foi verificada por Vargas et al.³², 2004, frente a espécies Gram positivas como *Staphylococcus* sp e *Streptococcus* Sp, e Gram negativas como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os autores observaram que o extrato de própolis demonstrou atividade antibacteriana por inibir o crescimento de 67,7% das bactérias testadas; 92,6% dos isolados Gram positivos e 42,5% dos Gram negativos foram sensíveis ao extrato.

Fernandes Jr et al.¹², 2006, compararam a ação antimicrobiana da própolis obtida de três diferentes regiões do Brasil e encontraram que a própolis obtida em Botucatu (SP), foi mais eficaz frente aos microrganismos Gram positivos *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp e *Candida albicans* enquanto que para a bactéria Gram negativas *E.coli*, a própolis mais eficaz era proveniente de Urubici (SC) e frente a *P. aeruginosa*, maior ação antimicrobiana foi observada em amostras obtidas de Mossoró (RN).

Na odontologia a própolis tem sido utilizada no controle da microbiota bucal, em amostras manipuladas ou adicionadas a substâncias de higiene bucal, como dentifrícios (ROSEL²⁶, 2004). Para o capeamento pulpar em polpas expostas, a ação antibacteriana e reparadora da própolis foram verificadas em estudos experimentais em ratos. Verificou-se que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com a própolis e o hidróxido de cálcio quando aplicados separadamente (BRETZ et al.⁸, 1998). Arruda et al.⁴ (2004) analisaram a superfície do canal radicular em relação a coloração e a limpeza (smear layer), após

irrigação com extrato de própolis a 0,25%. Os autores concluíram que não houve diferença de coloração entre o controle e a raiz preparada para as soluções controle e extrato de própolis a 0,25%.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* o efeito da própolis a 20 e 40% sobre a ação antibacteriana do hidróxido de cálcio.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram preparadas suspensões, em solução fisiológica esterilizada, contendo 10^8 células /mL das bactérias Gram positiva *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* e Gram negativa, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* provenientes da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa. As suspensões foram preparadas a partir de culturas de 24 h dos microrganismos e padronizadas em espectrofotômetro, em absorvância ($\lambda=580\text{nm}$).

Alíquotas de 0.1 mL foram semeadas, em duplicata, em ágar Muller Hinton (OXOID) e as placas colocadas em estufa a 37°C por 10 minutos para secagem. Discos de papel de filtro foram embebidos em extratos etanólicos de própolis a 20 e 40%; em Ca(OH)_2 puro em pó dissolvido nos referidos extratos etanólicos de própolis. Como controles foram usados Ca(OH)_2 puro em pó dissolvido em solução fisiológica esterilizada e apenas solução fisiológica. Os papéis de filtro foram depositados sobre o agar e as placas foram incubadas a 37°C/24-48h. Após incubação determinou-se o diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano quando presentes. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através da Análise de Variância *one way* e teste de comparações múltiplas de Tukey.

RESULTADOS

Através do teste ANOVA *one way* verificou-se que o maior halo de inibição do crescimento bacteriano ocorreu quando Ca(OH)_2 foi dissolvido em solução fisiológica, tanto frente a bactérias Gram positivas quanto as Gram negativas ($p<0.001$). Quando a própolis a 20 e 40% foi adicionada ao Ca(OH)_2 observou-se uma redução no potencial antimicrobiano ($p<0.001$), demonstrado pela redução no diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano (Gráficos 1 a 5).

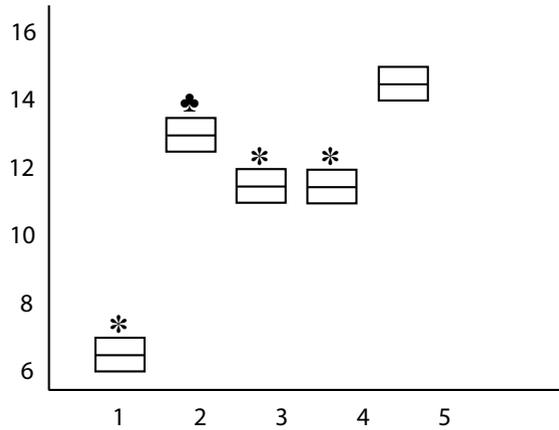


Gráfico 1 - Box-plot de média e quartis dos halos de inibição de *Enterococcus faecalis* para os diferentes tipos de medicamentos. ¹própolis 20%; ²própolis 40%; ³própolis 20%+Ca(OH)₂; ⁴própolis 40%+ Ca(OH)₂; ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p=0.02 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p<0.001 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂.

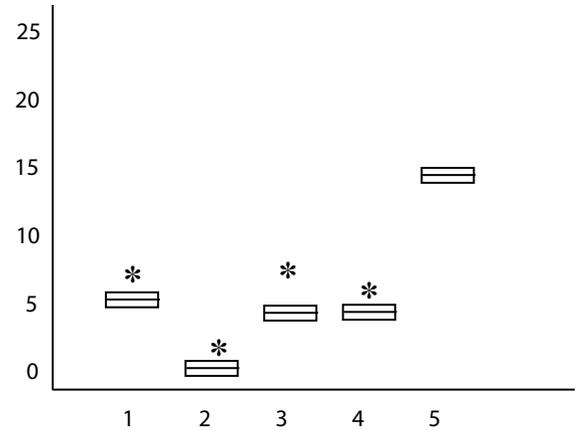


Gráfico 2 - Box-plot de média e quartis dos halos de inibição de *Staphylococcus aureus* para os diferentes tipos de medicamentos. ¹própolis 20%; ²própolis 40%; ³própolis 20%+Ca(OH)₂; ⁴própolis 40%+ Ca(OH)₂; ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p<0.001 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂.

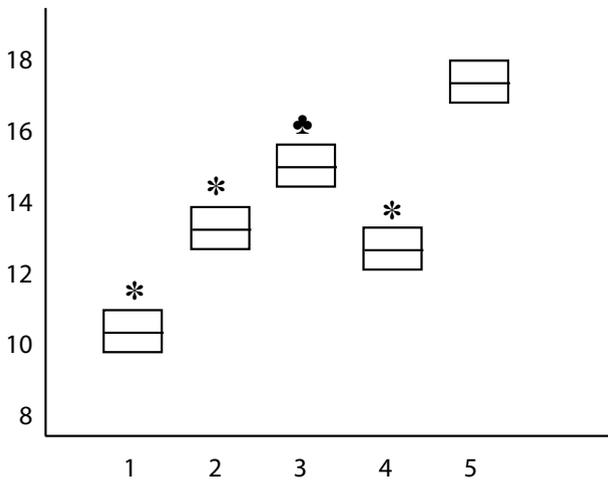


Gráfico 3 - Box-plot de média e quartis dos halos de inibição de *Staphylococcus saprophyticus* para os diferentes tipos de medicamentos. ¹própolis 20%; ²própolis 40%; ³própolis 20%+Ca(OH)₂; ⁴própolis 40%+ Ca(OH)₂; ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p=0.008 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p<0.001 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂.

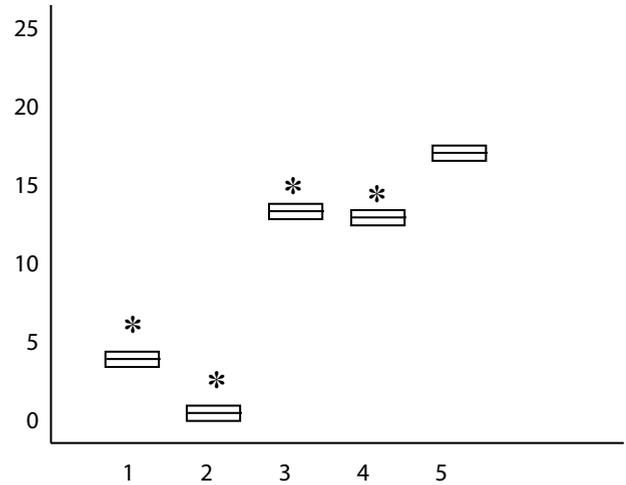


Gráfico 4 - Box-plot de média e quartis dos halos de inibição de *Pseudomonas aeruginosa* para os diferentes tipos de medicamentos. ¹própolis 20%; ²própolis 40%; ³própolis 20%+Ca(OH)₂; ⁴própolis 40%+ Ca(OH)₂; ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p<0.001 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂.

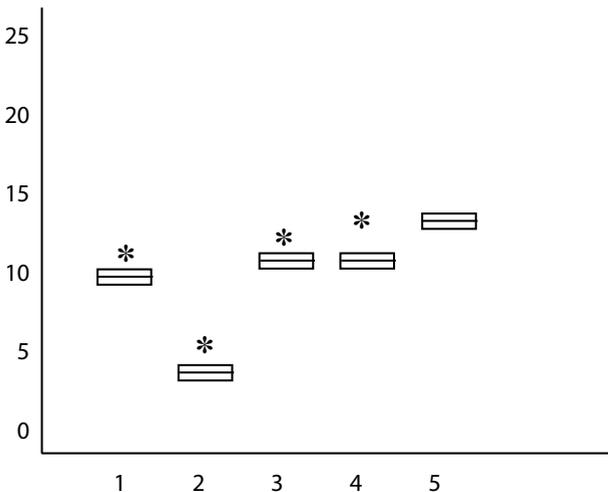


Gráfico 5 - Box-plot de média e quartis dos halos de inibição de *Escherichia coli* para os diferentes tipos de medicamentos. ¹própolis 20%; ²própolis 40%; ³própolis 20%+Ca(OH)₂; ⁴própolis 40%+ Ca(OH)₂; ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂; *p<0.001 vs ⁵sol. fisiol +Ca(OH)₂.

DISCUSSÃO

Neste estudo pesquisou-se o comportamento antimicrobiano do hidróxido de cálcio quando a este era adicionado extrato etanólico de própolis a 20 e 40%. Como um grande número de estudos encontrados na literatura tem demonstrado a ação antimicrobiana da própolis frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas, pensou-se inicialmente que a adição de própolis poderia potencializar a ação do hidróxido de cálcio e dessa forma melhorar o tratamento pulpar.

O hidróxido de cálcio é amplamente utilizado para tratamentos de capeamento pulpar, apexificação e medicação intracanal (PACIOS et al.²⁴, 2004). As propriedades do hidróxido de cálcio derivam de sua dissociação em íons de cálcio e hidroxila que atuam sobre a inativação de enzimas bacterianas e a ativação enzimática tecidual, gerando o efeito mineralizador (BERGER⁷, 2003).

No presente trabalho, a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio, preparado com extrato etanólico de própolis a 20% e 40%, foi verificada frente a bactérias Gram positiva e Gram negativa, freqüentemente isoladas de canal radicular, como *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, observando-se que a adição da própolis, independente da concentração, diminuiu a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio ($p < 0.001$).

A própolis é uma substância resinosa, utilizada pelas abelhas para vedação, e proteção da colméia contra microrganismos (AGA¹, 1994). A concentração de cerca de 50 a 55% de resina na composição de amostras de própolis pode ter sido responsável pela inibição da ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio observada neste estudo, uma vez que no tipo de experimento realizado é indispensável que a capacidade de difusão do produto testado não se altere durante o período de avaliação. Entretanto, por serem, as amostras de própolis usadas neste estudo, diluídas em etanol, com a volatilização deste, a capacidade de difusão do Ca(OH)_2 ficaria inibida e conseqüentemente também sua ação antimicrobiana.

Embora vários estudos referentes à ação antimicrobiana da própolis e outros produtos naturais sejam encontrados com facilidade na literatura (AGA¹, 1994; ALMEIDA et al.², 1997; ARRUDA et al.⁴, 2005; GREENAWAY et al.¹⁴, 1991), estudos na área odontológica semelhantes ao nosso, onde extratos etanólicos de própolis são adicionados a materiais odontológicos e o resultado dessa associação sobre ação antimicrobiana

seja analisado, não foram encontrados. Ferreira e Rego¹³, (2006) adicionaram extrato etanólico de própolis a dois tipos de cimento de ionômero de vidro para estudar a perda de massa após escovação simulada, liberação de flúor e resistência à compressão e observaram que os cimentos adicionados de própolis a 30% mostraram menor resistência à compressão.

O hidróxido de cálcio, associado a outros agentes e medicamentos, também foi estudado. Turell et al.²⁹ (1958) e Varella et al.³¹ (1966) utilizaram corticosteróide em associação com o tratamento com hidróxido de cálcio, e obtiveram bons resultados, com formação de barreira dentinária. Kakehashi et al.¹⁸ (1969), também utilizaram corticosteróide em associação ao tratamento com hidróxido de cálcio, e não encontraram ação significativa do medicamento, porém observaram que ocorreu a formação de ponte dentinária.

Holland e Souza¹⁵, (1977), Dias et al.¹⁰, (1988) e Kirk et al.¹⁹ (1989), atribuem uma porcentagem de sucesso maior quando a forma pura ou pastosa do hidróxido de cálcio é utilizada. De uma maneira geral, estes autores também observaram que o hidróxido de cálcio puro ou na forma pastosa estimula a formação da barreira dentinária à distância do local da exposição, ao contrário dos compostos rígidos, onde a barreira dentinária ocorre na interface material-polpa.

Fairbourn et al.¹¹ (1980), registraram uma redução de 94% do total de bactérias e uma eliminação completa de *Lactobacillus casei* de dentina cariada forrada com hidróxido de cálcio por 5 meses. Por outro lado, Sabir et al.²⁷ (2005), encontraram que a resposta inflamatória pulpar sem formação de ponte dentinária aconteceu uma semana após o capeamento pulpar com compostos não flavonóides derivados de extrato etanólico de própolis e hidróxido de cálcio em molares de ratos. Quando o capeamento foi realizado com compostos flavonóides não foi evidente histologicamente nenhum processo inflamatório. A resposta inflamatória foi baixa e moderada na segunda e quarta semana. Mostrando na quarta semana, formação de ponte dentinária no grupo de capeamento com compostos flavonóides.

Tziafas e Beltes³⁰ (1988) descrevem que a formação de dentina precisa da interação de moléculas da matriz extracelular e de fatores de crescimento como o TGF- β 1, que é importante para a diferenciação de células odontoblásticas. A própolis pode estimular a produção de TGF- β 1 (ANSORGE et al.³, 2003) e a síntese de colágeno pelas células pulpares. Porém Sabir et al.²⁷ (2005), relatam que essa estimulação não necessariamente pode ocorrer por esta via. O controle

da inflamação pulpar pode ser feito com o uso de própolis etanólica.

Sabir et al.²⁷ (2005), descrevem que as propriedades antiinflamatórias dos compostos flavonóides derivados da própolis deve-se à supressão da resposta celular imune, óxido nítrico dos macrófagos, produção de citocinas e ativação de neutrófilos. Além disso inibem o crescimento bacteriano assim como a resposta do hospedeiro aos antígenos bacterianos.

Silva et al.²⁸ (2004), determinaram que a própolis foi a solução menos irritante ao ser comparada com outros medicamentos endodônticos como Otosporin® ou solução salina.

Na Odontologia, o uso da própolis tem se tornado bastante difundido com estudos apresentando resul-

tados favoráveis ao seu uso, seja com o uso de soluções manipuladas, seja com a adição da própolis em produtos como cremes dentais e colutórios (ROSEL et al.²⁶, 2006). Um maior número de estudos deve ser realizado para se determinar quando e como o uso da própolis pode ser eficaz no controle da microbiota bucal e prevenção de doenças.

CONCLUSÃO

A adição da própolis não potencializou e sim diminuiu a ação antibacteriana do Ca(OH)_2 puro em pó testado em soluções contra bactérias Gram positivas e Gram negativas.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of two different concentrations of ethanolic extract of propolis on the antibacterial action of calcium hydroxide (Ca(OH)_2). Suspensions containing 10^8 cells/mL of Gram positive bacteria *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* and Gram negative *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, were prepared and aliquots of 0.1 mL were plated, in duplicate, on agar Muller Hinton. Disks of a filter paper were soaked in ethanolic extracts of propolis 20 and 40%; in Ca(OH)_2 prepared with these propolis extracts and Ca(OH)_2 prepared in saline solution, and placed on the agar. The plates were incubated at $37^\circ\text{C}/24\text{h}$ and the zones of bacterial growth inhibition were measured after this period. Statistical analysis using ANOVA test, showed that Ca(OH)_2 in saline solution presented larger zone of bacterial growth inhibition ($p < 0.001$) when comparing with Ca(OH)_2 prepared with both extracts of propolis. The presence of propolis impaired antibacterial action of Ca(OH)_2 pure powder on Gram positive and Gram negative bacteria ($p < 0.001$). The results suggest and subsequent studies must verify if the resinous characteristic of propolis may have hampered the spread and consequently the antibacterial effect of Ca(OH)_2 .

UNITERMS

Calcium hydroxide; própolis; antibacterial action.

REFERÊNCIAS

1. Aga H. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. *Biosci Biotechnol Biochem*.Tokio 1994,58(5):945-6.
2. Almeida RB, Camaroto JL, Navarro DF, Park Y K, Ikegaki M, Kozłowski Jr VA. Determinação de flavonóides totais em amostras de própolis. *Publicatio UEPG-Ciências Biológicas e da Saúde* 1997;3(1):33-41.
3. Ansorge A, Reinhold D, Lendeckel U. Própolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF- β 1 production of human immune cells. *Z. Naturforsch*. 2003;58:580-9.
4. Arruda AO, Souza L.G, Biz MT, Ramos IFAS, Figueiredo, JAP, Mazzuco C, et al. Análise - microscópica e MEV - da superfície do canal radicular após utilização do extrato de própolis a 0.25 percento, como irrigante. *J BEndodontia*. 2005;5(19):280-7.
5. Bankova V. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Z Naturforsch C Tübingen*. 2005,50(3-4):167-72.
6. Baume U, Holz J. Long term clinical assessment of direct pulp capping. *Int Dent J*. 1981;31:251-60.
7. Berger CR. *Endodontia clínica*. São Paulo: Pancast Editora; 2003.
8. Bretz WA, Chiego DJ Jr, Marcucci MC, Cunha I, Custodio A, Schneider LG. Preliminary report on the effects of própolis on wound healing in the dental pulp. *Z. Naturforsch*. 1998;53(11-12):1045-8.
9. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chem Toxicol*. 1998;36(4):347-63.
10. Dias DB, Bausells HIL, Lia RCC, Esberard RM. Efeitos de materiais à base de hidróxido de cálcio, em polpas de dentes de cães, expostas experimentalmente. *Rev Odontol UNESP*. 1988; 17(1):27-42.
11. Fairbourn DR, Charbeneau GT, Loesche WJ. Effect of improved Dycal and IRM on bacteria in deep carious lesions. *J Am Dent Assoc*. 1980;100(4):547-52.
12. Fernandes Jr A, Lopes MMR, Colombari I, Lombardi-Monteiros ACMM, Vieira EP. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. *Ciênc Rural*. 2006,36(1):294-7.

13. Ferreira HC, Rego MA. Avaliação *in vitro* de propriedades físico-químicas de cimentos de ionômero de vidro convencionais após adição de própolis e antibióticos. Ciênc odontol Bras. 2006;9(1):38-46.
14. Greenaway W. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. Z Naturforsch C, Tübingen. 1991;46(1-2):111-21.
15. Holland R, Souza V. Considerações clínicas e biológicas sobre o tratamento endodôntico. Rev Assoc Paul Cir Dent. 1977;31(3):152-64.
16. Holland R, Souza V, Nery MJ. Emprego da associação corticosteroíde-antibiótico durante o tratamento endodôntico. Rev Paul Endod. 1980;2:4-7
17. Ionita R, Sacalus A, Jivanescu M, Constantinescu I, Stanciu V, Bodnar C, et al. Experimentation of apiarian preparations for the direct and the indirect capping of the dental pulp. Stomatologie. 1990;37(1):19-30
18. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald R. The exposed germ-free pulp: Effects of topical corticosteroid medication and restoration. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1961;27:60-7.
19. Kirk EE, Lim KC, Khan MOG. A comparison of dentinogenesis on pulp capping with calcium hydroxide in paste and cement form. Oral Surg Oral Méd Oral Pathol. 1989;68(2):210-9.
20. Lawrence W, Stockton DMD. Vital Pulp Capping: A worthwhile procedure. J Can Dent Assoc. 1999;65:328-31.
21. Marcucci MC, De Camargo FA, Lopes CMA. Identification of aminoacids in Brazilian propolis. Z Naturforsch C. Tübingen. 1996;51(1-2): 11-4.
22. Matsuno T. O efeito terapêutico da própolis. Trad Y Odo. São Paulo: Nair Tazue Itice 1997;p.133.
23. Neves JAS. Função do hidróxido de cálcio na recuperação da polpa dental no capeamento pulpar direto. Rev. Odontol. Univ. Santo Amaro. 1996;1(2):21-8.
24. Pacios MG, La Casa ML, Bulacio MA, López ME. Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes. J Oral Sci. 2004;46(2):107-11.
25. Pereira AS, Seixas FRMS, Neto Aquino FR. Própolis 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. Quim Nova. 2002;25(2):321-6.
26. Rosel FL, Valsecki Jr A., Silva SRC, Oliveira Jr LG. Atividade antimicrobiana de substâncias naturais em dentifrícios . Saúde em Revista 2004;6(14):39-44.
27. Sabir A, Tabbu CR, Agustino P, Sosroseno W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with própolis. J Oral Sci. 2005;47(3):135-8.
28. Silva SP, Almeida JM, Sousa SM. Natural medicaments in endodontics – a comparative study of the anti-inflammatory action. Pesqui Odontol Bras. 2004;18(2):174-9.
29. Turell JC, Areco N, Morales EC. Initial reactions of the pulp to cortisone acetato. Dent Abstr. 1958;1:31.
30. Tziafas D, Beltes P. Pulp capping with calcium hydroxide: diagnostic value of radiographic finding. Endod Dent Traumatol. 1988;4(6):260-4.
31. Varella JA, Paiva JG, Villa M. O uso de corticosteroídes no tratamento conservador da polpa. Rev Fac Odontol São Paulo. 1966;4:153-64.
32. Vargas AC, Loguercio AP, Mazzini A, Costa AMM, Sá e Silva M, Viana LR. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis. Cienc. Rural. 2004;34(1):04.

Recebido em 18/01/08

Aprovado em 19/05/08

Correspondência:
Elizabeth Brasil dos Santos
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Departamento de Odontologia – Campus Uvaranas
Av.General Carlos Cavalcanti, 4748
Uvaranas
CEP- 84030-900