

Artículo original

Evaluación de la actividad antimicrobiana de los dentífricos basados en propóleos en patógenos orales

Evaluation of the antimicrobial activity of propolis toothpastes on oral pathogens

Avaliação da atividade antimicrobiana de dentífricos com base em própolis em patógenos orais

Tatiana Cerveira-Valois-de-Sá¹✉, Valério Monteiro-Neto²✉, Cadidja Dayane Sousa do Carmo³✉, Cecília Cláudia Costa Ribeiro³✉, Cláudia Maria Coêlho Alves³✉

1. DDS. MSc, Programa de Posgrado en Ciencias de la Salud, Universidad Federal de Maranhão, São Luís - Maranhão, Brasil.

2. PhD Centro de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Federal de Maranhão. Programa de Posgrado en Biología Microbiana, Universidad de Ceuma. São Luís - Maranhão, Brasil.

3. DDS. PhD. Programa de Posgrado en Odontología, Universidad Federal de Maranhão. São Luís - Maranhão, Brasil.

Fecha correspondencia:

Recibido: enero de 2019.

Aceptado: abril de 2020.

Forma de citar:

Valois-de-Sá TC, Monteiro-Neto V, do Carmo CDS, Ribeiro CCC, Alves CMC. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los dentífricos basados en propóleos en patógenos orales. Rev. CES Odont 2020; 33(2): 12-22.

Open access

© Derecho de autor

Licencia creative commons

Ética de publicaciones

Revisión por pares

Gestión por Open Journal System

DOI: [http://dx.doi.org/10.21615/](http://dx.doi.org/10.21615/cesodon.33.2.2)

cesodon.33.2.2

ISSN 0120-971X

e-ISSN 2215-9185

Resumen

Introducción y objetivo: La incorporación de propóleos en los dentífricos tiene como objetivo ayudar de manera más efectiva al control y la prevención de patologías orales a través de la eliminación de los patógenos presentes en la biopelícula. Sin embargo, se sabe poco sobre la eficacia antimicrobiana de diferentes productos en el mercado de microorganismos para estas patologías. El objetivo de este estudio fue investigar la acción antimicrobiana de tres dentífricos que contienen propóleos sobre los patógenos orales. **Material y métodos:** Se utilizó el método de difusión en agar para analizar tres dentífricos basados en propóleos, que incluyen: Noplak Max®, Protta® y Forever Bright®. Se utilizó un dentífrico sin propóleos (Malvatríkids®) como control negativo. Los controles positivos fueron 0,2% de clorhexidina diluida adicionalmente al 30% para igualar la concentración de clorhexidina de uno de los dentífricos evaluados, y el extracto de propóleos (Apis Flora®) al 11%. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizaron las cepas de *Fusobacterium nucleatum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* y *Candida albicans*. **Resultados:** De los dentífricos probados, Protta® y Forever Bright® mostraron acción inhibitoria contra *S. mutans*, *E. faecalis* y microorganismos de *C. albicans*. El dentífrico Noplak® mostró baja actividad antimicrobiana, limitándose a *S. mutans* y *E. faecalis*. Cuando hubo un efecto antimicrobiano, los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento variaron de 9mm a 28,83mm. **Conclusión:** El uso de un dentífrico que contiene propóleos para su uso eventual como complemento terapéutico en odontología está justificado, considerando las actividades farmacológicas.

Palabras clave: enfermedades periodontales, caries dental, dentífrico, propóleos.

Abstract

Introduction and objective: The incorporation of propolis in dentifrices aims to more effectively assist the control and prevention of oral pathologies through the elimination of pathogens present in the biofilm. However, little is known about the antimicrobial efficacy of different products on the market for microorganisms for these conditions. The aim of this study was to investigate the antimicrobial action of three propolis-containing dentifrices on oral pathogens. **Material and methods:** The agar diffusion method was used to analyze three propolis-based dentifrices, including: Noplak Max[®], Protta[®] and Forever Bright[®]. A non-propolis dentifrice (Malvatrikids[®]) was employed as a negative control. Positive controls were 0.2% chlorhexidine, further diluted 30% to match the chlorhexidine concentration of one of the evaluated dentifrices and 11% propolis extract (Apis Flora[®]). For the determination of antimicrobial activity the strains of *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* and *Candida albicans* were used. **Results:** Of the tested dentifrices, Protta[®] and Forever Bright[®] showed inhibitory action against *S. mutans*, *E. faecalis* and *C. albicans* microorganisms. Noplak[®] dentifrice showed low antimicrobial activity, being limited to *S. mutans* and *E. faecalis*. When there was an antimicrobial effect, the diameter of the growth inhibition halos ranged from 9mm to 28.83mm. **Conclusion:** The use of a propolis-containing dentifrice for eventual use as a therapeutic adjunct in dentistry is fully justified, considering the pharmacological activities.

Keywords: periodontal diseases, dental caries, dentifrice, propolis.

Resumo

Introdução e objetivo: A incorporação de própolis em dentifrícios visa ajudar a controlar e prevenir patologias bucais de maneira mais eficaz, através da eliminação de patógenos presentes no biofilme. No entanto, pouco se sabe sobre a eficácia antimicrobiana de diferentes produtos no mercado de microrganismos para essas patologias. O objetivo deste estudo foi investigar a ação antimicrobiana de três dentifrícios contendo própolis em patógenos orais. **Material e métodos:** O método de difusão em ágar foi utilizado para analisar três dentifrícios à base de própolis, incluindo: Noplak Max[®], Protta[®] e Forever Bright[®]. Um creme dental não própolis (Malvatrikids[®]) foi usado como controle negativo. Os controles positivos foram 0,2% de clorexidina diluída para 30% para corresponder à concentração de clorexidina de um dos dentifrícios avaliados e 11% de extrato de própolis (Apis Flora[®]). Para a determinação da atividade antimicrobiana, foram utilizadas as linhagens *Fusobacterium nucleatum* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans*. **Resultados:** Dos dentifrícios testados, Protta[®] e Forever Bright[®] apresentaram ação inibitória contra *S. mutans*, *E. faecalis* e microrganismos de *C. albicans*. O creme dental Noplak[®] apresentou baixa atividade antimicrobiana, limitada a *S. mutans* e *E. faecalis*. Quando houve efeito antimicrobiano, os diâmetros dos halos de inibição de crescimento variaram de 9 a 28,83 mm. **Conclusão:** O uso de um dentifrício contendo própolis para eventual uso como complemento terapêutico em odontologia é totalmente justificado, considerando as atividades farmacológicas.

Palavras-chave: doenças periodontais, cárie dentária, creme dental, própolis.

Introducción

El uso de productos naturales es una práctica antigua y muy común en la historia de la humanidad. Existen varios factores que ayudan a difundir esta práctica, entre ellos, el uso como alternativa para el tratamiento de algunas enfermedades, en lo que respecta al control o la reducción de los síntomas e incluso el reemplazo de drogas sintéticas que, a su vez, pueden tener efectos secundarios indeseables. En este contexto, se estima que el 40% de los medicamentos disponibles se produjeron a partir de fuentes naturales: 25% de plantas, 13% de microorganismos y 3% de animales, todos los cuales han sido desarrollados y aprobados para su uso en las últimas décadas (1). Además, aproximadamente el 25% de los medicamentos aprobados por el Food and Drug Administration (FDA) y/o la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) se derivan directa o indirectamente de las plantas (2,3).

La demanda de productos naturales para una vida saludable ha aumentado el uso de estos compuestos en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Su comercialización ha contribuido a un aumento en su consumo y, en odontología, también han sido objeto de marketing debido a la gran variedad de estos productos disponibles en todo el mundo. Por lo tanto, a menudo se induce a los consumidores a comprar estos productos sin siquiera demostrar su efectividad, ya que la presencia de compuestos naturales en su formulación, por sí sola, no garantiza su actividad biológica (4).

Desde un punto de vista ecológico, la cavidad oral es similar a varias secciones que forman el tracto intestinal, ya que también alberga una microbiota residente con una composición definida y característica. Las principales enfermedades que pueden afectar el ecosistema oral (caries y enfermedades periodontales) son afecciones multifactoriales mediadas por la acumulación de microorganismos en forma de biopelícula en la superficie de los dientes (5). Por lo tanto, la eliminación mecánica de las biopelículas por parte del paciente a través del cepillado dental con dentífrico juega un papel fundamental en el mantenimiento de la salud bucal (6).

En los últimos años, los extractos de plantas se han incorporado a la fórmula de dentífricos, desempeñando un papel cosmético. Sin embargo, el objetivo principal es mejorar la acción antimicrobiana y actuar como agentes terapéuticos. Por lo tanto, la acción terapéutica esperada no solo está relacionada con la presencia de fluoruro en su composición, que tiene como objetivo prevenir o revertir las lesiones incipientes de caries, sino especialmente con la presencia de otras sustancias incorporadas en sus fórmulas (7).

Entre las alternativas estudiadas, el propóleo, una resina producida por las abejas, ha mostrado importantes propiedades biológicas, como propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, inmunomoduladoras y curativas que, combinadas con su efecto antimicrobiano comprobado, han llevado a la industria farmacéutica a explotar comercialmente esta sustancia al asociarla con dentífricos (8,9).

El extracto puro de propóleo ha demostrado propiedades antimicrobianas en los patógenos orales (10,11), y los estudios clínicos han demostrado la eficacia de la solución antiséptica en los niveles salivales de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) en niños con caries activa (12), así como en el tratamiento de gingivitis y periodontitis crónica (13). Además, los estudios *in vivo* con dentífricos que contienen extractos de propóleo de diferentes fuentes han demostrado efectos beneficiosos relacionados con la salud oral (14-16), incluidas las reducciones en los niveles de *S. mutans* (17).

Esta efectividad de incorporar extractos de propóleos en soluciones antisépticas y dentífricos sugiere un posible impacto positivo en pacientes con trastornos orales como caries dental, enfermedad periodontal, infecciones endodónticas y candidiasis, que involucran patógenos distintos. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo investigar la acción antimicrobiana *in vitro* de los dentífricos basados en propóleos sobre microorganismos que juegan un papel importante en la etiología de ciertas patologías orales, como *S. mutans*, *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) y *Candida albicans* (*C. albicans*).

Materiales y métodos

Preparación de los dentífricos

Se evaluó la actividad antimicrobiana de tres dentífricos de propóleos – Noplak Max®, Protta® y Forever Bright®. Como control negativo, se utilizó un dentífrico cuya fórmula no contenía agentes antimicrobianos: Malvatríkids®. Los controles positivos fueron clorhexidina al 0.2% (Industria Farmacéutica Rioquímica Ltda.), diluida adicionalmente al 30% para igualar la concentración de clorhexidina de uno de los dentífricos evaluados, y extracto de propóleos (Apis Flora® al 11%). Para las pruebas, los dentífricos se diluyeron al 30% en agua destilada estéril y la suspensión resultante de cada muestra se esterilizó por filtración (18).

Microorganismos y condiciones de cultivo

La actividad antimicrobiana se determinó usando cepas de *F. nucleatum* (ATCC 10953) y *A. actinomycetemcomitans* (AUS 431) del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad de São Paulo (São Paulo, Brasil), y *E. faecalis* (ATCC 29212), *S. mutans* (ATCC 25175), *L. acidophilus* (ATCC 4356) y *C. albicans* (ATCC 90028), del Instituto Nacional para el Control de Calidad de la Salud de la Fundación del Instituto Oswaldo Cruz (Río de Janeiro, Brasil).

Se cultivaron bacterias anaerobias estrictas (*F. nucleatum* y *A. actinomycetemcomitans*) en caldo de tioglicolato (Fluid Thioglycolate medium - Difco-BD, Detroit, MI, EE. UU.) enriquecido con hemina y vitamina K, y se incubaron en anaerobiosis a 37°C durante 48 h. Se usó agar BHI (Brain Heart Infusion Agar, Acumedia, Lansing, MI, EEUU) para el cultivo de *E. faecalis* y *S. mutans*, y agar de DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS agar, Difco-BD) incubado en microaerofilia con 5% de CO₂ para el cultivo de *L. acidophilus*. *C. Albicans* se cultivó en agar Sabouraud en aerobiosis a 37°C.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó con base en el método de difusión de agar descrito anteriormente, con algunas modificaciones (19). Para la prueba, se prepararon placas de Petri con medio de cultivo específico para los microorganismos probados (Tabla 1). Tras la solidificación de los medios, se realizaron perforaciones de aproximadamente 6mm en la superficie del agar y se inocularon suspensiones microbianas estándar (Tubo de McFarland, escala n. ° 0,5).

Tabla 1. Condiciones de cultivo (incubación) de microorganismos para pruebas de actividad antimicrobiana

Microorganismo	Medio de cultivo *	Condiciones de cultivo
<i>F. nucleatum</i>	BHI	Anaerobiosis ± 5% de CO ₂ , 48 h
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	BHI	Anaerobiosis ± 5% de CO ₂ , 48 h
<i>E. faecalis</i>	BHI	± 5% de CO ₂ , 24 h
<i>S. mutans</i>	BHI	± 5% de CO ₂ , 48 h
<i>L. acidophilus</i>	MRS	Microaerofilia ± 5% de CO ₂ , 48 h
<i>C. albicans</i>	SAB	Aerobiosis, 24 h

*BHI: Brain Heart Infusion agar añadido de hemina y vitamina K; MRS: agar de Man-Rogosa-Sharpe (Difco-BD); SAB: agar Sabouraud (Himedia, Mumbai - India).

Se dispensaron alícuotas de 25 µl de la solución original, así como cada dilución de los dentífricos probados en las perforaciones realizadas en los medios de cultivo. Las placas se incubaron luego en las condiciones descritas en la Tabla 1 y las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano (halo) se midieron y expresaron en milímetros. Además, se realizaron diluciones sucesivas con agua destilada estéril en una proporción de 1:2 a una dilución de 1:32 para evaluar la dilución inhibitoria máxima (DIM) [20], aplicando 25 µL de cada dilución a las cavidades. La DIM se definió como la dilución más alta capaz de inhibir el crecimiento bacteriano in vitro. Las pruebas de actividad antimicrobiana para cada microorganismo se realizaron por triplicado.

Resultados

Los resultados relativos a las pruebas de actividad antimicrobiana de dentífricos en patógenos orales se describen en las Tablas 2 y 3.

Los resultados de la actividad antimicrobiana mostraron diferentes niveles de susceptibilidad en relación con los tres dentífricos probados (Tabla 2). Forever Bright® y Protta® mostraron el mayor espectro de acción antimicrobiana, inhibiendo cuatro de los seis microorganismos analizados. *E. faecalis* y *S. mutans* fueron inhibidos por todos los dentífricos, mientras que las bacterias anaerobias no fueron inhibidas por ninguno de los productos evaluados. En general, cuando hubo un efecto antimicrobiano, los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento oscilaron entre 9mm y 28,83mm.

La determinación de la DIM confirmó la variabilidad en la susceptibilidad de los microorganismos (Tabla 2). La clorhexidina produjo halos de inhibición para los seis microorganismos, lo que confirma su amplio espectro de actividad antimicrobiana.

Tabla 2. Halo de inhibición del crecimiento bacteriano (mm) formado por los dentífricos evaluados, sin dilución (media ± desviación estándar)

Microorganismo	Noplak Max®	Protta®	Forever Bright®	Clorhexidina	Propóleos
<i>F. nucleatum</i>	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	13,0 ± 1,0	0 ± 0
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	13,3 ± 2,5	0 ± 0
<i>E. faecalis</i>	9,3 ± 0,6	10,7 ± 0,6	14,3 ± 0,6	16,7 ± 0,6	13,8 ± 0,3
<i>S. mutans</i>	9,0 ± 1,0	28,3 ± 0,6	24,8 ± 4,0	19,3 ± 2,1	14,0 ± 1,0
<i>L. acidophilus</i>	0 ± 0	11,5 ± 1,3	12,3 ± 1,5	12,3 ± 2,5	11,0 ± 1,0
<i>C. albicans</i>	0 ± 0	10,7 ± 0,6	10,2 ± 0,6	11,7 ± 0,8	11,7 ± 1,1

Tabla 3. Dilución inhibitoria máxima (DIM) para dentífricos probados y sustancias de control

Microorganismo	Noplak Max[®]	Protta[®]	Forever Bright[®]	Clorhexidina	Propóleos
<i>F. nucleatum</i>	-	-	-	1:2	-
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	-	-	-	1:4	-
<i>E. faecalis</i>	1:1	1:2	1:4	1:4	1:1
<i>S. mutans</i>	1:1	1:8	1:8	1:2	1:1
<i>L. acidophilus</i> *	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	1:1	1:1	1:4	1:1

* No se ha evaluado

Discusión

El presente estudio evaluó la acción antimicrobiana *in vitro* de los dentífricos de propóleos sobre los microorganismos patógenos *S. mutans*, *L. acidophilus*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *E. faecalis* y *C. albicans*.

Se halló que los dentífricos Protta[®] y Forever Bright[®] tenían una mayor actividad antimicrobiana, inhibiendo cuatro de los seis microorganismos probados, mientras que Noplak[®] solo inhibía dos patógenos orales. Ninguno de los productos probados inhibió las especies periodontopatógenas *A. actinomycetemcomitans* y *F. nucleatum*. Este hecho también se observó con el extracto de propóleos utilizado como control positivo. Por otro lado, la clorhexidina mostró actividad antimicrobiana contra todos los patógenos probados.

Un estudio *in vitro* comparó la acción de los extractos de propóleos al 11%, 20% y 30% con los enjuagues bucales Periogard[®], Listerine[®], Malvatricin[®] y Parodontax[®] sobre microorganismos encontrados en la saliva humana. Tras la recolección de saliva, la adición de glucosa al 25% y la incubación, descubrió que los extractos de propóleos, incluso a diferentes concentraciones, tenían la misma eficacia de acción antimicrobiana en comparación con los productos industrializados (21). Estos resultados son similares a los dentífricos probados con las mismas sustancias que se encuentran en los enjuagues bucales.

En el caso de actividad contra bacterias cariogénicas, un doble ensayo que asocia el extracto etanólico de propóleos con fluoruro de sodio (NaF), De Carli et al. (22) demostraron la acción sobre la biopelícula dental y el riesgo de desarrollar lesiones de caries dental. Dos grupos recibieron la aplicación tópica de las siguientes sustancias: Grupo 1 (Gel A - Propóleos 5% + NaF 0,05%) y Grupo 2 (Gel B - Propóleos 5%). Los parámetros evaluados en el estudio fueron el recuento salival de *S. mutans*, la acumulación de biopelículas (IHOS - índice de higiene oral simplificado) y la cantidad activa de lesiones cariosas no cavitadas. Hubo una reducción en los niveles salivales de *S. mutans* y IHOS en ambos grupos, sin diferencias significativas entre ellos. También encontraron que la inactivación de las lesiones cariosas activas no cavitadas se produjo solo en individuos del grupo 1, probablemente debido a la capacidad de remineralización del esmalte ejercida por el fluoruro de sodio. El gel compuesto solo por propóleos mostró propiedades antibacterianas, pero sin acción remineralizante. Estos resultados son compatibles con los encontrados en este estudio.

Con respecto a las infecciones endodónticas, *E. faecalis* se ha considerado un patógeno muy importante y también puede estar presente como miembro de la microbiota normal (23). Por lo tanto, un dentífrico con actividad antimicrobiana en este patógeno podría tener un beneficio profiláctico, ya que podría reducir la carga microbiana en la microbiota oral y el riesgo de infección. Otra posibilidad de uso terapéutico del propóleos en infecciones endodónticas sería en la forma de medicamentos intracanales que contienen la resina. En este contexto, un estudio in vitro concluyó que el propóleos puede considerarse como una alternativa para el tratamiento de infecciones endodónticas persistentes (24).

Curiosamente, el uso de propóleos puro puede tener un mayor efecto inhibitorio sobre *E. faecalis* que en combinación con melaleuca. Por otro lado, se informó un efecto contrario en *S. mutans*, porque la asociación con *Melaleuca* demostró una actividad antimicrobiana superior. Los autores concluyeron que los dentífricos con compuestos naturales tienen potencial terapéutico, pero necesitan más investigación para su correcta aplicación terapéutica clínica (7).

Además de actuar sobre las bacterias planctónicas, el propóleos también actúa sobre los microorganismos en las biopelículas. Una comparación entre diferentes dentífricos ha demostrado que todos tienen efectos inhibidores del crecimiento en este modelo de biopelícula supragingival, lo que representa una reducción lineal de aproximadamente 80-88%, mientras que el enjuague bucal de propóleos no tuvo efecto (25). Por otro lado, varios estudios clínicos y microbiológicos han evidenciado que controlar el crecimiento de *S. mutans* puede causar una reducción significativa en la formación de biopelículas en la superficie dental (7,17,26,27). Desde esta perspectiva, los resultados del presente estudio mostraron evidencia de la capacidad de control del crecimiento de *S. mutans* mediante el uso de dentífricos Noplak®, Protta® y Forever Bright®. Especialmente de los dos últimos, ya que han demostrado ser más efectivos, ya que tenían una DIM de 1:8 en ambos dentífricos.

Los microorganismos periodontopatógenos evaluados (*F. nucleatum* y *A. actinomycetemcomitans*) no fueron inhibidos por los dentífricos probados, y no hubo efecto inhibitorio del extracto de propóleos utilizado como control positivo. Estos hallazgos apuntan a la ausencia de actividad antimicrobiana de esta sustancia contra las dos bacterias gramnegativas probadas en el presente trabajo. Estas bacterias se clasifican como gramnegativas (28,29) y estudios previos han informado una menor sensibilidad de este grupo de bacterias al propóleos (30,31). De hecho, la actividad antibacteriana del propóleos se ha descrito como más alta que las bacterias grampositivas debido a la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides, ácidos y ésteres aromáticos en la resina. Estos compuestos tienen efectos en las paredes celulares de estos microorganismos a través de un mecanismo aún desconocido (30). En este contexto, vale la pena señalar que las bacterias Gramnegativas tienen una membrana externa hidrófoba que cubre la pared celular, la cual está ausente de las bacterias grampositivas, lo que podría reducir o bloquear el acceso de compuestos fenólicos a la pared bacteriana (32). Sin embargo, se deben realizar más estudios para confirmar esta hipótesis.

En un estudio reciente que tuvo como objetivo comparar la eficacia antimicrobiana del extracto etanólico de propóleos (EEP) para el gluconato de clorhexidina (CHX) en *S. mutans* planctónicos, *S. sobrinus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius* subsp. *salivarius*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *A. israelii* y *C. albicans*, se observó que CHX exhibía concentraciones bactericidas más bajas

que EEP contra las biopelículas de *A. actinomycetemcomitans*, *S. aureus* y *E. faecalis*. Se encontró que las concentraciones bactericidas y fungicidas de ambos agentes eran iguales con respecto a las biopelículas de *Streptococci*, *P. gingivalis*, *A. israelii* y *C. albicans*. Los resultados de este estudio revelaron que los propóleos eran más efectivos para inhibir las bacterias grampositivas que las bacterias gramnegativas en su estado planctónico, y se sugirió que el EEP podría ser tan efectivo como el CHX en microorganismos orales en su estado de biopelícula (33).

Un estudio realizado en 2017 probó un dentífrico basado en *Melaleuca alternifolia* y EEP polaco y encontró diferencias estadísticas significativas en el valor del Índice de Higiene Oral en el grupo que usa el dentífrico activo. En este estudio, los autores concluyeron que el uso de un dentífrico que contiene extracto de propóleos y aceite de *Melaleuca* ayuda a mantener el equilibrio de la microbiota oral y elimina los microorganismos que causan la enfermedad de las encías y la caries dental (15).

El origen geográfico del propóleos es importante para su aplicación terapéutica efectiva (8,34,35). Además, la proporción de sustancias presentes en el propóleos varía según su ubicación y momento de recolección (36). Esto podría explicar la no formación de halo de inhibición en la prueba Noplak® en algunas situaciones. Otro factor que podría justificar la no actividad de este dentífrico es la concentración de propóleos presente, ya que tiene su conocido efecto antimicrobiano. Se hicieron varios contactos con el fabricante para obtener información sobre el origen y la concentración de propóleos empleados en Noplak®, sin obtener una aclaración. Además, el efecto antagonista entre las sustancias presentes en la fórmula podría ser otro factor que estaría interfiriendo con la actividad antimicrobiana.

Es importante recordar que los microorganismos se probaron por separado, es decir, fuera de las condiciones orales en las que existe la presencia de saliva, pH variable y flora bacteriana variable, en términos cualitativos y cuantitativos, de individuo a individuo. Tales situaciones son totalmente diferentes de las que se encuentran en las pruebas *in vitro*, lo que enfatiza la necesidad de realizar más estudios para demostrar la efectividad de estos dentífricos. Por lo tanto, se necesita más investigación *in vivo* para confirmar la efectividad del uso de los dentífricos a base de propóleos como alternativas auxiliares a los tratamientos de enfermedades orales.

Los propóleos, debido a su composición química diversificada, tiene actividades biológicas variadas, que incluyen acción antiinflamatoria, cicatrizante, antibacteriana, fungicida, antiviral, inmunoestimuladora, analgésica, anestésica, antitumoral y antioxidante (37).

Conclusiones

Por lo tanto, el uso de un dentífrico que contiene propóleos para su uso eventual como complemento terapéutico en odontología es justificable considerando tales actividades farmacológicas. En los productos probados, la actividad antimicrobiana más completa se evidenció en dentífricos Protta® y Forever Bright® contra los microorganismos *S. mutans*, *E. faecalis* y *C. albicans*, lo que confirma el posible uso en patologías relacionadas con estos agentes.

Financiación

Este trabajo fue parcialmente apoyado por subvenciones de la Fundación para la Investigación y el Desarrollo Científico y Tecnológico de Maranhão - FAPEMA, número de proceso BEPP-01294/15.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J Nat Prod* 2012; 75(3):311-335.
2. Patridge E, Gareiss P, Kinch MS, Hoyer D. An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. *Drug Discov Today* 2016; 21(2):204-207.
3. Thomford N, Senthebane D, Rowe A, Munro D, Seele P, Maroyi A, et al. Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. *Int J Mol Sci* 2018; 19(6):1578.
4. Chinsebu KC. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. *Acta Trop* 2016; 154:6-18.
5. Hujoel PP, Lingström P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: A narrative review. *J Clin Periodontol* 2017; 44:S79-S84.
6. Larsen T, Fiehn NE. Dental biofilm infections—an update. *APMIS* 2017; 125(4):376-384.
7. de Camargo SP, Esmerino LA, Chibinski AC, Bortoluzzi MC, dos Santos EB, Kozłowski VA. In vitro antimicrobial evaluation of toothpastes with natural compounds. *Eur J Dent* 2015; 9(4):580.
8. Sonmez S, Kirilmaz L, Yucesoy M, Yucel B, Yilmaz B. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *J Ethnopharmacol* 2005; 102(3):371-376.
9. Liberio SA, Pereira AL, Dutra RP, Reis AS, Araujo MJ, Mattar NS, et al. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Meliponafasciculata* Smith. *BMC Complement Altern Med* 2011; 11(1):108.
10. Sforcin JM, Bankova V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 2011; 133(2):253-260.
11. Roh J, Kim K-R. Antimicrobial activity of korean propolis extracts on oral pathogenic microorganisms. *J Dent Hyg Sci* 2018; 18(1):18-23.
12. Duailibe SA, Goncalves AG, Ahid FJ. Effect of a propolis extract on streptococcus mutans counts in vivo. *J Appl Oral Sci* 2007; 15(5):420-423.
13. do Amaral RC, Gomes RT, Rocha WMS, Lemos S, Abreu R, Santos VR. Periodontitis treatment with brazilian green propolis gel. *Pharmacologyonline* 2006; 3:336-341.
14. Skaba D, Morawiec T, Tanasiewicz M, Mertas A, Bobela E, Szliszka E, et al. Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013.

15. Piekarcz T, Mertas A, Wiatrak K, Rój R, Kownacki P, Śmieszek-Wilczewska J, et al. The influence of toothpaste containing australian *Melaleuca alternifolia* oil and ethanolic extract of polish propolis on oral hygiene and microbiome in patients requiring conservative procedures. *Molecules* 2017; 22(11):1957.
16. Wiatrak K, Morawiec T, Rój R, Mertas A, Machorowska-Pieniżek A, Kownacki P, et al. Oral health of patients treated with acrylic partial dentures using a toothpaste containing bee product. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017.
17. Mohsin S, Manohar B, Rajesh S, Asif Y. The effects of a dentifrice containing propolis on mutans streptococci: A clinico-microbiological study. *Ethiop J Health Sci* 2015; 25(1):9-16.
18. Duke SA, Forward GC. The conditions occurring in vivo when brushing with toothpastes. *Br Dent J* 1982; 152(2):52-54.
19. Valgas C, Souza SM, Smânia EFA, Smânia Jr A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Braz J Microbiol* 2007; 38(2):369-380.
20. Azevedo RVP, Komesu MC, Candido RC, Salvetti C, Rezende FHC. Candida sp in the oral cavity with and without lesions: maximal inhibitory dilution of Propolis and Periogard. *Rev. Microbiol* 1999; 30(4): 335-341.
21. 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; 18:84-89.
22. De-Carli AD, Zárate-Pereira P, De-Carli G, Zafalon EJ, de Rezende ZCB, Yassumoto LM. Ação da própolis de apis mellifera associada ao fluoreto de sódio sobre o biofilme dental: Ensaio clínico duplo cego randomizado. *Rev Odontol Bras Central* 2011; 19(51).
23. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of enterococcus faecalis: Relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(5):308-320.
24. Pimenta HC, Violante IM, Muis CR, Borges AH, Aranha AM. In vitro effectiveness of brazilian brown propolis against *Enterococcus faecalis*. *Braz Oral Res* 2015; 29(1):1-6.
25. Vanni R, Waldner-Tomic NM, Belibasakis GN, Attin T, Schmidlin PR, Thurnheer T. Antibacterial efficacy of a propolis toothpaste and mouthrinse against a supragingival multispecies biofilm. *Oral Health Prev Dent* 2015; 13(6):531-535.
26. Bhat N, Bapat S, Asawa K, Tak M, Chaturvedi P, Gupta VV, et al. The antiplaque efficacy of propolis-based herbal toothpaste: A crossover clinical study. *J Nat Sc Biol Med* 2015;6:364-368.
27. Valones MAA, Higino JS, Souza PRE, Crovella S, Caldas Júnior AdF, Carvalho AdAT. Dentifrice containing extract of rosmarinus officinalis linn.: An antimicrobial evaluation. *Braz Dent J* 2016; 27(5):497-501.

28. Bolstad A, Jensen HB, Bakken V. Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. Clin Microbiol Rev 1996; 9(1):55-71.
29. Nørskov-Lauritsen N. Classification, identification, and clinical significance of *Haemophilus* and *Aggregatibacter* species with host specificity for humans. Clin Microbiol Rev 2014;27(2):214-240.
30. Marcucci MC, Ferreres F, Garcia-Viguera C, Bankova VS, De Castro SL, Dantas AP, et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. J Ethnopharmacol 2001; 74(2):105-112.
31. Tiveron AP, Rosalen PL, Franchin M, Lacerda RC, Bueno-Silva B, Benso B, et al. Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of South Brazilian organic propolis. PLoS One 2016; 11(11):e0165588.
32. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. Cold Spring Harb Perspect Biol 2010; 2(5):a000414.
33. Akca AE, Akca G, Topçu FT, Macit E, Pıkdöken L, Özgen IŞ. The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: An In Vitro Study. Biomed Res Int. 2016; 2016:3627463.
34. Afrouzan H, Tahghighi A, Zakeri S, Es-haghi A. Chemical composition and antimicrobial activities of Iranian propolis. Iran Biomed J 2018; 22(1):50-65.
35. Koo H, Vacca Smith AM, Bowen WH, Rosalen PL, Cury JA, Park YK. Effects of *Apis mellifera* propolis on the activities of streptococcal glucosyltransferases in solution and adsorbed onto saliva-coated hydroxyapatite. Caries Res 2000; 34(5):418-426.
36. Stepanović S, Antić N, Dakić I, Švabić-Vlahović M. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. Microbiol Res 2003; 158(4):353-357.
37. Pinto LdMA, do Prado NRT, de Carvalho LB. 2011. Propriedades, usos e aplicações da própolis. Rev Eletrônica Farm 2011; 8(3):76-100.