

Artigo Original de Pesquisa

Original Research Article

Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae) e interações medicamentosas

Antimicrobial activity of ethanol extracts of *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae) and drug interactions

Igor Valdivia Ferreira¹
Maria Cristina Mendes-Costa¹

Autor para correspondência:

Maria Cristina Mendes-Costa
Rua Dr. Sammuel Gammon, 509
CEP 37200-000 – Lavras – MG – Brasil
E-mail: mcmcosta@gmail.com

¹ Curso de Odontologia, Centro Universitário de Lavras – Lavras – MG – Brasil.

Data de recebimento: 2 fev. 2018. Data de aceite: 30 maio 2018.

Palavras-chave:
plantas medicinais;
saúde bucal;
antibacterianos.

Resumo

Introdução: A planta *Banisteriopsis anisandra* A. Juss é uma espécie medicinal pouco conhecida e estudada, mas já demonstrou potencial para utilização na odontologia. **Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana de *B. anisandra* e o potencial para interações medicamentosas com fármacos relacionados à saúde bucal. **Material e métodos:** Foi obtido o extrato etanólico bruto das folhas de *B. anisandra*, e diluições em série foram testadas contra *Candida albicans* (ATCC 10231), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Como controle positivo foram utilizados os antibióticos ampicilina (10 µg/ml), amoxicilina (10 µg/ml) e penicilina (30 µg/ml), para as cepas bacterianas; e o antifúngico cetoconazol (2 mg/ml), para a levedura. Compararam-se a eficiência e a sensibilidade do método de difusão em meio sólido e do método de difusão em meio líquido, e foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM), assim como foram avaliadas as interações medicamentosas dos extratos com os antibióticos. **Resultados:** O método de microdiluição em

caldo mostrou-se mais sensível que o método de difusão em disco, sendo, portanto, mais confiável, além de usar menos quantidade de material. Houve interação medicamentosa positiva dos extratos com os antibióticos e com o cetoconazol nas concentrações de 1:2 para o extrato. A bactéria *S. aureus* e a levedura *C. albicans* mostraram-se sensíveis ao extrato da planta na diluição 1:1 nos testes de difusão em disco, e o antibiótico penicilina não se revelou eficaz em nenhuma das bactérias testadas. **Conclusão:** O extrato etanólico de *B. anisandra* tem potencial antimicrobiano e interação medicamentosa com fármacos relacionados à saúde bucal. Existem raros estudos sobre as propriedades farmacológicas de *B. anisandra*, e os resultados são os primeiros relatos sobre sua atividade antimicrobiana em associação com antibióticos e antifúngicos.

Keywords:

medicinal plants; oral health; anti-bacterial agents.

Abstract

Introduction: The plant *Banisteriopsis anisandra* is a medicinal species little known and studied, but it has already demonstrated the potential for use in dentistry. **Objective:** To evaluate the antimicrobial activity of *B. anisandra* and the potential for drug interactions with drugs related to oral health. **Material and methods:** We obtained the ethanolic extract of leaves of *B. anisandra*, and serial dilutions were tested against *Candida albicans* (ATCC 10231), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). As a positive control, some antibiotics were used: ampicillin (10 µg/ml), amoxylin (10 µg/ml) and penicillin (30 µg/ml), for the bacterial strains; and the antifungal ketoconazole (2 mg/ml), for the yeast. We compared the efficiency and sensitivity of the method of dissemination on solid medium and the method of diffusion in liquid medium, and it was given the minimal inhibitory concentration (MIC). Drug interactions of the extracts with antibiotics were evaluated. **Results:** The method of broth microdilution was more sensitive than the method of disk diffusion. Therefore, it was more reliable, in addition to using a smaller amount of material. There was positively drug interaction of the extracts with antibiotics and with ketoconazole in the concentrations of 1:2 to the extract. The bacterium *S. aureus* and the yeast *C. albicans* were sensitive to plant extract diluted 1:1 in tests of disk diffusion, and the antibiotic penicillin was not effective in any of the bacteria tested. **Conclusion:** The ethanolic extract of *B. anisandra* has antimicrobial drug potential and interaction with drugs related to oral health. There are very few studies on the pharmacological properties of *B. anisandra*, and these results are the first reports on its antimicrobial activity in association with antibiotics and antifungals.

Introdução

O uso de plantas com poder medicinal é um dos hábitos mais disseminados na humanidade. As pesquisas realizadas para a avaliação do uso de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes. Apenas em 2006, a política para o uso de plantas medicinais no serviço público (Política Nacional de Práticas Integrativas

e Complementares - PNPIC) foi estabelecida. Já na área de competência do cirurgião-dentista, somente em 2008 o Conselho Federal de Odontologia regulamentou o exercício de práticas integrativas e complementares à saúde bucal [7].

A importância das plantas medicinais deve-se não só pela contribuição como fonte natural de fármacos, mas também por proporcionar grandes chances de obter-se uma molécula protótipo, por

causa da diversidade de constituintes presentes nas plantas. Do ponto de vista da odontologia, aquelas ainda são pouco exploradas [4, 10, 18], porém as pesquisas têm aumentado nos últimos anos em função da busca por novos produtos com maior atividade farmacológica, menor toxicidade e maior biocompatibilidade, além de apresentarem custos mais acessíveis à população. A aceitação popular da fitoterapia leva a boas perspectivas no mercado de produtos odontológicos, e estes podem ser introduzidos desde que sejam amplamente amparados por estudos laboratoriais e clínicos específicos [10].

Incluídas nas plantas de uso na medicina popular, encontram-se as plantas conhecidas como cipó-prata, com várias espécies do gênero *Banisteriopsis*. Entre elas, o presente trabalho deu ênfase a *Banisteriopsis anisandra* A. Juss. O estudo fitoquímico dessa planta revelou alta diversidade química, sendo encontrados alcaloides, taninos pirogálicos e catéquicos, antraquinonas e flavonoides, além de atividade anticolinesterásica [11-13]. Foi avaliada a atuação antimicrobiana, especialmente contra o crescimento de *Staphylococcus aureus* e na inibição da levedura *Candida albicans*, evidenciando o seu potencial fitoterápico [12, 16].

Na odontologia, estudos prévios (não publicados) demonstraram que o uso de extratos de *B. anisandra* reduziu a perda óssea alveolar decorrente da doença periodontal, podendo influenciar a atividade de osteoclastos durante o processo de reabsorção óssea. Diante do exposto, objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana de *B. anisandra* e o potencial para interações medicamentosas com fármacos relacionados à saúde bucal.

Material e métodos

Os microrganismos envolvidos neste experimento foram provenientes da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP), da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). São eles: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073), *S. aureus* (ATCC 6538) e *C. albicans* (ATCC 10231). Todos os testes foram realizados em três repetições em ambiente asséptico na capela de fluxo laminar. Utilizaram-se o meio *brain heart infusion* (BHI) para as bactérias e o meio ágar de dextrose de batata (BDA) para a levedura.

O material vegetal - folhas da *B. anisandra* - foi coletado na Reserva Biológica do Centro Universitário de Lavras Boqueirão (Unilavras-Boqueirão), localizada no município de Ingaí, sul de

Minas Gerais. Amostras da espécie, já coletadas, estão atualmente depositadas e registradas no Herbário da Universidade Federal de Lavras sob o número 2.397. Anteriormente pertenciam ao Herbário Luna do Unilavras.

As amostras de folhas secas e pulverizadas foram submetidas à maceração exaustiva com etanol 96° GL, à temperatura ambiente, e, após filtração, concentradas em evaporador rotativo a 40°C. Após evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto das folhas de *B. anisandra*. A solução estoque da planta foi preparada de modo a conter 1 g de extrato para cada ml de dimetilsulfóxido (DMSO). A concentração inicial foi obtida a partir de 10 mg do extrato da planta dissolvido em 10 ml de DMSO. Prepararam-se outras três soluções, com concentrações de 1:3, 1:6 e 1:10 mg/ml.

Para a realização da atividade antibacteriana, recorreu-se ao método de difusão em disco, descrito originalmente por Bauer *et al.* [5]. Cepas-padrão dos microrganismos-teste foram incubadas em meio líquido BHI *overnight* a 37°C, e a padronização do inóculo foi assegurada por intermédio da comparação com a escala nefelométrica de 0,5 de McFarland, segundo Bier [6], o que equivale a um inóculo de $1,5 \times 10^8$ UFC. Determinou-se a densidade do inóculo por comparação em espectrofotometria (530 nm; transmitância de 88%) [1]. Alíquotas de 100 µL dessas suspensões foram transferidas para placas de Petri contendo 20 ml do meio de cultura. Adicionaram-se discos de papel-filtro de 6 mm de diâmetro contendo 20 µL das soluções do extrato solubilizadas em DMSO.

Como padrão positivo, foram utilizados os antibióticos adquiridos da Sigma-Aldrich Corporation®: ampicilina (10 µg/ml), amoxicilina (10 µg/ml) e penicilina (30 µg/ml). Como padrão negativo, usou-se o próprio solvente. O antifúngico foi o cetoconazol (2 mg/ml). As placas foram acondicionadas em estufa a 37°C por 24 horas. Para os antibióticos, a atividade antimicrobiana de cada produto foi considerada positiva quando a média dos halos de inibição se mostrou igual ou superior a 10 mm. Para os extratos da planta, classificou-se a atividade antimicrobiana como positiva quando a média dos halos de inibição foi igual ou superior a 2 mm. Esses valores foram adotados para efeito de comparação de acordo com trabalhos que estudaram a interferência de extratos vegetais sobre os efeitos de antibióticos em cepas bacterianas na utilização do método de difusão em disco [9, 15].

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi feita pela difusão em fase líquida

(microdiluição em caldo), conforme descrito por Andrews [3], mas com modificações. Empregaram-se microplacas TPP® estéreis de 96 poços em forma de U distribuídos em oito linhas e 12 colunas. Cada poço recebeu 20 μ L de inóculo, meio de cultura e soluções de antibióticos/extrato, determinando volume final de 100 μ L. Nos poços foram distribuídas as soluções diluídas do extrato, de modo a conter as concentrações finais de 1:1 a 1:8 mg/ml e antibióticos nas concentrações finais de 1:1 a 1:2.048 mg/ml. A solução estoque dos antibióticos serviu como controle positivo, e o BHI, o DMSO e o inóculo, como controle negativo. Após o preenchimento dos poços, as placas foram incubadas a 37°C, por 24 horas. Em seguida, foram adicionados 30 μ L de resazurina Sigma-Aldrich® preparada em solução aquosa (0,01%). Após 1 hora de incubação a 37°C, efetuou-se leitura visual. A cor rosa foi indicativa de transformação da resazurina em resorfurina e interpretada como presença de células viáveis [1, 17]. A CIM foi representada pela menor concentração de cada amostra capaz de inibir o crescimento dos microrganismos pesquisados.

Para a avaliação do potencial para interação medicamentosa, foi realizado o procedimento de

microdiluição em caldo contendo concentrações dos antibióticos associados com os extratos em concentrações padronizadas. Para verificar o potencial de associação positivo (efeito sinérgico) ou negativo (efeito antagônico), cada poço recebeu a solução antibiótica e do extrato em concentração subCIM. Após incubação, foi adicionada a resazurina, e os procedimentos de leitura foram os mesmos descritos anteriormente. O efeito sinérgico de cada associação avaliada foi considerado positivo quando a solução do antibiótico indicasse visivelmente a cor azul. O efeito antagônico foi avaliado como positivo quando a solução de antibiótico exibisse visivelmente a cor rosa (indicativo de células viáveis).

Resultados

Os resultados da atividade antibacteriana do extrato da planta, assim como do solvente utilizado, foram observados mediante a interpretação do halo de inibição de crescimento das diferentes bactérias e da levedura e comparados com antibióticos e antifúngico, respectivamente, pelo método de difusão em disco, conforme demonstrado nas tabelas I e II.

Tabela I - Média em mm e desvio padrão do diâmetro dos halos de inibição do extrato desconsiderando a medida dos discos

	1:1	1:3	1:6	1:10	Dimetilsulfóxido (DMSO)
<i>Streptococcus mutans</i>	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,33 (\pm 0,58)	1 (\pm 0,0)	0,8 (\pm 0,2)	0	0
<i>Candida albicans</i>	2 (\pm 0,0)	1 (\pm 0,0)	0,33 (\pm 0,28)	0	0

No método de difusão em disco, apenas *S. aureus* e *C. albicans* se mostraram sensíveis aos extratos nas concentrações de 1:1, 1:3 e 1:6, e a penicilina não se revelou eficaz em relação a nenhuma das bactérias nesse teste, como apontam os dados da tabela II.

Tabela II - Média em mm e desvio padrão do diâmetro dos halos de inibição dos antibióticos e antifúngico desconsiderando a medida dos discos

	Amoxicilina	Ampicilina	Penicilina	Cetoconazol
<i>Streptococcus mutans</i>	34 (\pm 2,0)	35,33 (\pm 1,15)	0	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	31,66 (\pm 1,15)	29,66 (\pm 0,76)	0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	30,16 (\pm 1,25)	29,33 (\pm 1,15)	0	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	14 (\pm 0,0)

Para o método de microdiluição em caldo, as cepas mostraram-se sensíveis apenas nas concentrações de 1:1 mg/ml, conforme mostra a figura 1.

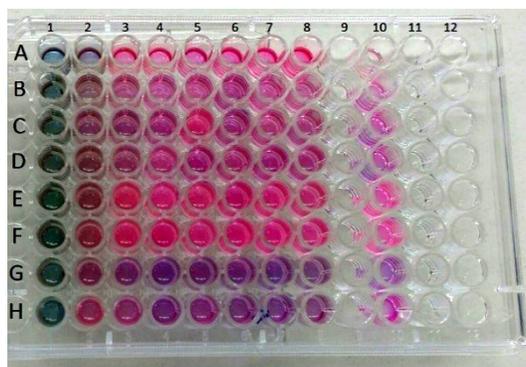


Figura 1 - Método de microdiluição em caldo para avaliação da atividade antimicrobiana (CIM) do extrato bruto da planta *Banisteriopsis anisandra* em relação às cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Linhas: (A e B) cepas de *S. salivarius*; (C e D) cepas de *S. aureus*; (E e F) cepas de *S. mutans*; (G e H) cepas de *C. albicans*. Nas colunas de 1 a 8 está disposto o extrato nas seguintes concentrações, sucessivamente: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7 e 1:8 mg/ml. A coluna 10 serviu como controle negativo

Com relação aos resultados da CIM dos antibióticos e do antifúngico, os valores variaram entre 1:256 e 1:1.024 para a amoxicilina; entre 1:128 e 1:256 para a ampicilina, dependendo da bactéria; e para o cetoconazol foi de 1:256.

A interação medicamentosa foi feita com as concentrações subCIM do extrato, dos antibióticos e do antifúngico, de acordo com a sensibilidade de cada cepa, utilizando, portanto, concentração de 1:2 mg/ml do extrato para todas as cepas. A tabela III traz os valores. Verifica-se que os valores da CIM diminuíram para os fármacos testados, e houve interação medicamentosa sinérgica para a penicilina.

Tabela III - Valores referentes à concentração inibitória mínima (CIM) das interações medicamentosas no tocante às bactérias e à levedura em estudo

	Amoxicilina	Ampicilina	Penicilina	Cetoconazol
<i>Streptococcus mutans</i>	1:512	1:256	1:1	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1:2.048	1:512	1:1	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1:2.048)	1:512	1:1	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	1:512

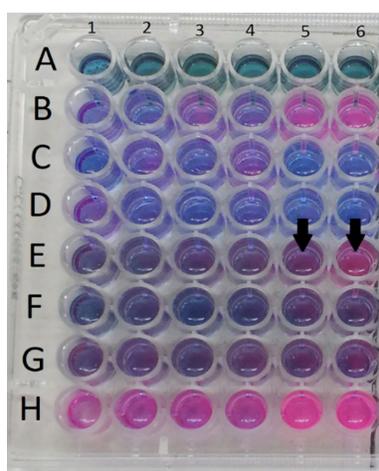


Figura 2 - Método de microdiluição em caldo para avaliação da interação medicamentosa entre o extrato da planta *Banisteriopsis anisandra* com penicilina, ampicilina, amoxicilina e cetoconazol em relação às cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Colunas: (1 e 2) cepas de *S. salivarius*; (3 e 4) cepas de *S. aureus*; (5 e 6) cepas de *S. mutans*; (7 e 8) cepas de *C. albicans*. Para as bactérias, linhas: (A) controle positivo para o extrato; (B) controle positivo para penicilina; (C) controle positivo para ampicilina; (D) controle positivo para amoxicilina; (E) interação medicamentosa penicilina-extrato; (F) interação medicamentosa ampicilina-extrato; (G) interação medicamentosa amoxicilina-extrato; (H) controle negativo. Para *C. albicans*, linhas: (A) controle positivo para o extrato; (C) controle positivo para o cetoconazol; (F) interação medicamentosa cetoconazol-extrato; (H) controle negativo

DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou que o extrato etanólico bruto de *B. anisandra* tem potencial antimicrobiano discreto nas concentrações utilizadas. O sinergismo encontrado na interação da penicilina com o extrato bruto dessa planta demonstra a importância do estudo de interações medicamentosas, visto que a população faz uso de chás e de antibióticos muitas vezes sem receita médica.

O extrato etanólico bruto apresentou-se menos sensível do que o extrato aquoso utilizado por Pádua *et al.* [16]. O extrato aquoso de *B. anisandra* na concentração de 21,5 mg/ml formou halos com 22 mm de diâmetro em contato com *S. aureus*. Essa diferença nos resultados pode estar relacionada não só ao tipo de extrato e à concentração utilizados, como também à cepa da bactéria. Resultado negativo para atividade antibacteriana de *B. anisandra* em contato com *S. aureus* também foi relatado por Freitas *et al.* [11] e Frias *et al.* [12].

A atividade inibitória de *B. anisandra* pode ser atribuída aos fitoconstituintes da espécie, que possuem ação antimicrobiana. Testes fitoquímicos demonstraram que *B. anisandra* é uma planta com alta diversidade química, sendo encontrados alcaloides, taninos pirogálicos e catéquicos, antraquinonas e flavonoides [12].

Para *C. albicans*, Freitas *et al.* [11] e Pádua *et al.* [16], em estudos com extratos aquosos de folhas de *B. anisandra*, relataram alta sensibilidade na CIM de 31,25 mg/ml. No presente trabalho, a CIM foi de 1 mg/ml, e o método de avaliação foi diferente. No trabalho de Pádua *et al.* [16], a CIM foi testada pelo método de difusão em disco. Já no presente estudo, utilizou-se o método de microdiluição em caldo. Observou-se que na diluição em caldo houve interferência do solvente DMSO. Como não foi possível fazer a dissolução do extrato de *B. anisandra* em água nem em outros solventes, o método de microdiluição em caldo, além de precisar de menos material para ser realizado, mostrou-se mais eficiente e confiável, porque, quando se fez o teste do DMSO em difusão em disco, ele não apresentou interferência. Sugere-se que em trabalhos futuros o extrato aquoso da *B. anisandra* seja testado com o método de microdiluição em caldo e que se testem maiores concentrações do extrato, já que a concentração de 1 mg/ml foi suficiente para se verificar sensibilidade.

Amparo *et al.* [2], em revisão sobre métodos de avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana

de plantas medicinais, afirmaram que, por conta das variações, dos microrganismos e das cepas utilizados, bem como concentração do inóculo, meio de cultura e características dos extratos, não existe padronização de um método para avaliação. Entre os trabalhos avaliados no período de 2007 a 2016, o de diluição em caldo foi usado em 76,7% deles. Empregou-se a microdiluição em 57,9% dos casos, sendo considerado o método mais sensível, entre outras vantagens que ele proporciona. O presente estudo corrobora tais dados.

No que tange à interação medicamentosa, resultado interessante foi o sinergismo apresentado com a penicilina e o extrato de *B. anisandra* na concentração de 1:1 com todas as bactérias testadas, além do sinergismo em relação à CIM. Esses resultados demonstram potencialidade para interação medicamentosa pelo fato de se precisar de concentração menor do fármaco (concentração subCIM), diminuindo sua toxicidade e custo, podendo esse fármaco ser usado no tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos resistentes. A atividade antibacteriana de *B. anisandra* pode abrir perspectivas, no sentido de desenvolver um fitoterápico eficaz e de baixo custo para o tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos resistentes. Sugere-se que os extratos de *B. anisandra* sejam estudados como possível solução irrigadora em tratamentos endodônticos, visto que eles atuam na inibição de *C. albicans* e *S. aureus*, que normalmente estão presentes nas necroses e pulpites irreversíveis. São necessários, ainda, estudos sobre a toxicidade dessa planta *in vivo*, para garantir a segurança de sua utilização.

CONCLUSÃO

A bactéria *S. aureus* (ATCC 6538) e a levedura *C. albicans* (ATCC 10231) são susceptíveis ao extrato etanólico bruto de *B. anisandra* na concentração de 1 mg/1 ml.

O método de diluição em caldo mostrou-se mais sensível e confiável do que o método de difusão em disco para a avaliação da CIM.

O extrato etanólico bruto de *B. anisandra* apresenta potencialidade para interação medicamentosa com os antibióticos penicilina, amoxicilina e ampicilina, assim como para o antifúngico cetoconazol.

Referências

1. Alves EJ, Vinholis AHC, Casemiro LA, Furtado NAJC, Silva MLA, Cunha WR et al. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Quím Nova*. 2008;31(5):1224-9.
2. Amparo TR, Braga VCC, Seibert JB, Souza GHB, Teixeira LFM. Métodos para avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. *Infarma*. 2018;30(1):50-9.
3. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48(Supl. S1):5-16.
4. Assis C. Plantas medicinais na odontologia. *Rev Bras Odontol*. 2009;66(1):72-5.
5. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turk M. Antibiotic susceptibility testing by the standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45:493.
6. Bier O. Bacteriologia e imunologia: em suas aplicações à medicina e à higiene. 20. ed. São Paulo: Melhoramentos; 1981. 1062 p.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.º 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Nacional de Saúde (SUS). *Diário Oficial da União*. 4 maio 2006.
8. Canton M, Onofre SB. Interferência de extratos da *Baccharis dracunculifolia* D.C., Asteraceae, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. *Rev Bras Farmacogn*. 2010;20(3):348-54.
9. Conselho Federal de Odontologia. Resolução n.º 82/2008, de 25 de setembro de 2008. Reconhece e regulamenta o uso pelo cirurgião-dentista de práticas integrativas e complementares à saúde bucal. *Diário Oficial da União*. 1.º out. 2008.
10. Francisco KSF. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Rev Saúde*. 2010;4(1):18-24.
11. Freitas LBO, Boaventura MAD, Santos WL, Stehmann JR, Junior DD, Lopes MTP et al. Allelopathic, cytotoxic and antifungic activities of new dihydrophenanthrenes and other constituents of leaves and roots extracts of *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae). *Phytochem Lett*. 2015;12:9-16.
12. Frias UA, Mendes-Costa MC, Takahashi JA. Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades antibacteriana e anticolinesterásica de extratos de *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae). *Rev Cubana Plant Med*. 2011;16(1):60-71.
13. Frias UA, Mendes-Costa MC, Takahashi JA, Oki Y. *Banisteriopsis* species: a source of bioactive of potential medical application. *Int J Biotech Well Indus*. 2012;1:163-71.
14. Monteiro MHDA, Fraga SAPM. Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos de origem vegetal para saúde bucal. *Rev Fitos*. 2015;9(4):253-303.
15. Oliveira RAG, Lima EO, Vieira WL, Freire KRL, Trajano VN, Lima IO et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. *Rev Bras Farmacogn*. 2006;16(1):77-82.
16. Pádua MS, Mendes-Costa MC, Magalhães JC, Ferreira JMS, Castro AHF. Assessment of antimicrobial activity *in vitro* of ethanolic extracts of *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae). *Rev Bras Pl Med*. 2013;15(3):431-7.
17. Palomino MA, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in mycobacterium tuberculosis. *J Antimicrob Agents Chemother*. 2002;2720-2.
18. Soyama P. Plantas medicinais são pouco exploradas pelos dentistas. *Ciênc Cult*. 2007;59(1):12-3.