

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DAS FOLHAS DE *PERESKIA ACULEATA* MILLER EM CEPAS DE *CANDIDA ALBICANS*, *TROPICALIS* E ATCC 90028.

Francisco Glauber Peixoto Ferreira¹, Juliana Jales de Hollanda Celestino²

¹Graduando em enfermagem, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, E-mail: fgpf.glauber@hotmail.com

²Professora efetiva do curso de enfermagem, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, E-mail: juliana.celestino@unilab.edu.br

RESUMO

O gênero *Candida* possui em torno de 300 espécies, 17 das quais de interesse clínico. A candidíase caracteriza-se como uma síndrome clínica que tem como agente causador o fungo do gênero *Candida*, tendo 200 variedades de leveduras diferentes, nos mais diversos ambientes de nichos corporais. Nesse contexto, plantas medicinais vêm sendo testadas para o combate de diferentes patologias, como por exemplo, para a candidíase, podendo destacar então a espécie *Pereskia aculeata* Miller com diferentes efeitos terapêuticos. Avaliar se o extrato hidroalcolico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller promove efeito antifúngico no combate ao gênero *Candida*, no que se refere às espécies *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. albicans ATCC 90028*. Tratou-se de um estudo descritivo, transversal, com abordagem quantitativa. A planta *Pereskia aculeata* Miller foi coletada no sítio da Biodiversidade localizado no Maciço de Baturité, na cidade de Mulungu-CE. Os extratos das folhas de *P. aculeata* Miller foram preparados com álcool 70% e água destilada. As cepas foram semeadas em placas de micro cultivo de 96 poços fundo U, contendo ágar Sabouraud. Utilizou-se o teste de atividade antifúngica pelo método microdiluição em caldo sobre as leveduras *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida albicans ATCC90028* em cepas advindas de diferentes sítios corporais. Verificou-se no estudo que o extrato hidroalcolico de *P. aculeata* produziu atividade de inibição em todas as linhagens em questão, sendo equivalente nas concentrações de 25% na espécie *C. albicans* e 12,5% na *C. tropicalis* e *C. albicans ATCC 90028*. O estudo comprovou através da técnica de microdiluição em caldo que há inibição de crescimento em algumas espécies do gênero *Candida* utilizando o extrato de *P. aculeata*.

ABSTRACT

The genus *Candida* has around 300 species, 17 of which are of clinical interest. Candidiasis is characterized as a clinical syndrome that has as a causal agent the fungus of the genus *Candida*, having 200 different yeast varieties, in the most diverse environments of body niches. In this context, medicinal plants have been tested to combat different pathologies, for example, for candidiasis, and the *Pereskia aculeata* Miller with different therapeutic effects can be highlighted. To evaluate if the hydroalcoholic extract of the leaves of *Pereskia aculeata* Miller promotes an antifungal effect in the combat to the genus *Candida*, with respect to the species *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. albicans ATCC 90028*. This was a descriptive, transversal and with a quantitative approach. The *Pereskia aculeata* Miller plant was collected from the Biodiversity site located in the Baturité Massif, in the city of Mulungu-CE. The extracts of *P. aculeata* Miller leaves were prepared with 70% alcohol and distilled water. The strains were seeded in 96-well U-well microtiter plates containing Sabouraud agar. The antifungal activity test by the broth microdilution method on yeasts *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida albicans ATCC90028* was used in strains from different bodily locations. It was verified in the study that the hydroalcoholic extract of *P. aculeata* produced inhibition activity in all the lines in question,

being equivalent in the concentrations of 25% in the species *C. albicans* and 12.5% in *C. tropicalis* and *C. albicans* ATCC 90028. The study demonstrated through the microdilution technique in broth that there is inhibition of growth in some species of the genus *Candida* using the extract of *P. aculeata*. leata.

Palavras-Chave: *Pereskia aculeata* Miller, Atividade antifúngica, *Candida ssp.*

INTRODUÇÃO

O gênero *Candida* possui em torno de 300 espécies, 17 das quais de interesse clínico (KARKOWSKA KULETA et al. 2009; KURTZMAN et al. 2011). Este por sua vez, constituem em algumas espécies a microbiota natural do indivíduo saudável. Contudo, na presença de um desequilíbrio imunológico, esse fungo pode tornar-se patogênico.

A candidíase se caracteriza como uma infecção oportunista causada por leveduras de *Candida*, *Candida albicans* e não-*albicans* como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* e *Candida dubliniensis* (QUINDÓS, 2002; SIDRIM; MOREIRA, 1999; WHITE et al., 2004 apud AVRELLA; GOULART, 2008), promove alterações localizadas na mucosa, capazes de se disseminar pelo organismo e levar ao óbito (NEGRI et al., 2012).

Nesse sentido, *C. albicans* é a espécie de maior patogenicidade, frequentemente relacionada à candidíase oral. Essa pode ser desencadeada pelo uso de antineoplásicos, corticoides e antibióticos de amplo espectro, assim como diminuição da imunidade, falta de higiene bucal e nutrição desequilibrada (LUIZ et al., 2008).

Outra espécie que merece destaque é a *C. tropicalis*, pelo seu amplo poder de infecção e acentuada resistência às medidas farmacológicas existentes. Essa espécie é capaz de prejudicar uma série de tecidos, principalmente os rins, em um quadro avançado da infecção (WHIBLEY et al., 2015).

Em relação à *Candida albicans* ATCC90028, trata-se de uma espécie padronizada em laboratório e que tem, como característica, a produção de biofilme e resistência a triazólicos, como o fluconazol, que na maioria dos estudos essa espécie é utilizada como controle, principalmente por ter relação com esse fator (TURRAN & DEMIRBILEK, 2018). Com isso, torna-se pertinente sua utilização em estudos com extratos naturais. Esses têm sido foco da ciência como alternativa farmacológica, visando prevenir ou minimizar os efeitos e resistências observadas entre os antifúngicos.

No que diz respeito às plantas medicinais, essas podem constituir uma alternativa eficaz para o tratamento de distintas infecções, o que já tem sido feito por uma parcela considerável da população (MARTINS, 2010). Essa prática envolve uma série de fatores, como a falta de acesso aos serviços de saúde, favorecendo a utilização de plantas medicinais como único recurso no tratamento de patologias (LEITE et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2010; ROQUE et al., 2010). Outro ponto a ser considerado é seu custo-benefício. Particularmente, o Brasil, por possuir um clima tropical e propiciar o cultivo de espécies específicas, apresenta uma maior tendência de consumo e frequência de produtos de origem vegetal (PISANO et al., 2014).

Dentre essas plantas, pode-se destacar a do gênero *Pereskia aculeata* Miller (figura 1), conhecida popularmente como ora-pró-nobis. É uma planta de estrutura trepadeira arbustiva da família *Cactaceae*, sendo muito utilizada para ornamentação, produto alimentício e, principalmente, com finalidade medicinal. Nesse contexto, Santos et al. (2010) conduziram um estudo com essa espécie para investigar uma ação no processo inflamatório e recuperação de tecido tegumentar, nos acidentes por queimadura.

Figura 1 – Espécie de planta *Pereskia aculeata* Miller ou ora-pro-nóbs cultivada no Sítio Vale da Biodiversidade em Mulungu - CE.



FONTE: Arquivo pessoal

Outros efeitos terapêuticos da *P. aculeata* compreendem: tratamento de doenças, incluindo diabetes e hipertensão arterial sistêmica (HAS); efeitos antitumoral, antirreumático, anti-ulceroso e anti-inflamatório; ação analgésica na cefaleia e dores gástricas; hemorroidas e dermatite atópica (GOH, 2010). Ainda, estudo de Almeida (2008) apresentou resultados promissores ao se observar a ação antimicrobiana de extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* em bactérias, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica subsp.*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*.

Entretanto, um dos fatores preocupantes quanto ao uso de plantas para fins medicinais estar relacionado à toxicidade e efeitos colaterais graves. Por isso, o Ministério da Saúde, no setor de Vigilância em Saúde, estabelece, com base na Portaria 06/1958, a utilização de espécies vegetais baseada em estudos científicos. Dessa forma, visa-se garantir a segurança e estabilidade, produzindo efeitos adversos de igual ou menor intensidade que seus componentes separados (OLIVEIRA et al., 2016).

Diante do exposto, essa pesquisa objetivou avaliar se o extrato hidroalcoólico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller promove efeito antifúngico em espécies de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida albicans ATCC 90028*.

METODOLOGIA

Desenho do estudo

Tratou-se de um estudo descritivo, transversal com abordagem quantitativa. Nos estudos quantitativos, as informações coletadas resultam em dados de formato numérico, analisadas por procedimentos estatísticos (POLIT; BECK, 2011). Nos estudos descritivos, o objetivo é determinar a distribuição de doenças ou condições relacionadas

à saúde de uma população, de acordo com o tempo, lugar e característica dos indivíduos. Para isso, podem ser utilizados dados primários ou secundários (COSTA; POLAK, 2009). Quanto à pesquisa transversal, ela envolve a coleta de dados, em um determinado ponto e período de tempo, sendo adequada para descrever a relação entre fenômenos, em um ponto fixo (POLIT; BECK, 2011).

Obtenção e preparação da planta.

Amostra da planta *Pereskia aculeata* Miller foi coletada no Sítio Vale da Biodiversidade, localizado no Maciço de Baturité, na cidade de Mulungu - CE. A localização é representada pelas seguintes coordenadas: Longitude: 038°31'.3928", Latitude: 03°44'.9775" e Altura: 14.587.

As folhas de *Pereskia aculeata* Miller foram coletadas e armazenadas em recipiente com tampa fechada, a 34 °C. Não foi acrescentado nenhum tipo de conservante ou substância capaz de interferir no processamento de extração. As folhas de *P. aculeata* foram encaminhadas ao laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, no Campus das Auroras, e acondicionadas em uma sala fria, com temperatura média de -90°C.

Preparação do extrato hidroalcoólico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller.

O extrato das folhas de *P. aculeata* foi obtido, segundo metodologia modificada de Kim et al. (2013). Etanol 70% foi adicionado em um béquer, contendo folhas da planta maceradas, na proporção de 1:20 (m/v) e a mistura permaneceu, sob agitação (Solab, modelo SL-152/10), por 8 horas, a temperatura ambiente. Posteriormente, o filtrado obtido foi concentrado em rotoevaporador, para eliminação do etanol, e completado o volume com água destilada. Logo após, essa mistura foi filtrada, em papel de filtro Whatman nº 1, por 5 vezes.

Para a obtenção dos extratos aquosos, foram utilizados dois procedimentos. No primeiro, à mistura filtrada foi acrescida de água destilada, na proporção de 1:20 (m/v), após o que foi agitada por 1 hora, a uma temperatura entre 95 e 100 °C. Em seguida, a mistura obtida foi filtrada em papel de filtro. O extrato foi acondicionado em frascos vedados com papel filme e armazenados em freezer (-12 °C) até o momento de sua utilização.

Teste de Suscetibilidade Antifúngica por método de Microdiluição em Caldo.

Foi feito o Teste de Suscetibilidade Antifúngica, por método de Microdiluição em Caldo, de acordo com a Norma M27-A2, a qual descreve o método preconizado pelo Comitê Nacional para Padrões de Laboratório Clínico (CNPLC). Esse é uma instituição internacional que desenvolve normas e padrões para a realização de testes de patologia clínica e questões relacionadas à atenção em saúde (NCCLS, 2002; SIDRIM; ROCHA, 2012). Esta etapa foi concretizada no Laboratório de Microbiologia da UNILAB – Campus das Auroras.

As cepas utilizadas nesse estudo foram de origem do Laboratório de Microbiologia da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB. Para a preparação do inóculo, foram seguidas as etapas abaixo, de acordo com as instruções preconizadas pelo CNPLC (2002). Inicialmente, realizou-se a subcultura (repique) dos microrganismos, em tubos estéreis, contendo ágar Sabouraud dextrose. A temperatura de

incubação foi em torno de 35°C. Após 24 horas, três colônias de espécies de *Candida* foram escolhidas para a preparação do inóculo. As colônias foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril 0,145 mol/L (8,5g/L NaCl; salina a 0,9%). A suspensão resultante foi colocada em agitador vórtex, durante 15 segundos, e a densidade celular ajustada, por meio de espectrofotômetro. Para tanto, acrescentou-se solução salina suficiente para obter a transmitância equivalente a uma solução-padrão da escala de McFarland 0,5, em comprimento de onda de 530 nm. Esse procedimento forneceu uma suspensão-padrão de levedura contendo 1×10^6 a 5×10^6 células por mL. A suspensão de trabalho foi produzida a partir de uma diluição 1:20, da suspensão-padrão, com meio líquido RPMI 1640, resultando em concentração de $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células por mL.

Quanto às concentrações do extrato, essas foram determinadas conforme o método modificado de Park et al. (1995). O extrato foi esterilizado, utilizando-se filtro de micromembrana milipore de 22 μm , no interior da capela de fluxo laminar. A diluição ocorreu no decorrer dos doze poços da placa, da seguinte forma: 100 μl , 50 μl , 25 μl , 12,5 μl , 6,25 μl , 3,12 μl , 1,56 μl , 0,78 μl , 0,39 μl , 0,19 μl , 0,09 μl , 0,04 μl correspondendo as seguintes porcentagens: 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, 0,09%, 0,04%, 0,02%, 0,01%.

O extrato hidroalcolólico das folhas de *P. aculeata* foi diluído em método seriado de RPMI, meio utilizado para favorecer o crescimento do fungo *Candida* e por facilitar a diluição de determinadas drogas utilizadas em testes antifúngicos. Esse permitiu que a primeira fileira vertical de poços da placa de micro cultivo fundo U contivesse 100% do extrato (100 μL do extrato). Na 2 fileira, essa concentração foi reduzida para a metade (50 μL) e assim sucessivamente, no decorrer dos 12 poços da placa de microdiluição. Assim, cada poço obteve um volume final de 100 μL .

Assim, a primeira placa obtida apresentou a seguinte organização: concentrações do extrato em diluição seriada nos poços das fileiras verticais A, B e C e cepa 1 (*Candida albicans*); concentrações do extrato em diluição seriada nos poços D, E e F e cepa 2 (*Candida tropicalis*); poço G como controle positivo da cepa 1 e poço H como controle positivo da cepa 2). Utilizou-se uma segunda placa esquematizada da seguinte forma: concentrações do extrato em diluição seriada nos poços A B e C e cepa 3 (*Candida albicans* ATCC 90028); poço D como controle positivo da cepa 3; poço E como controle negativo da placa.

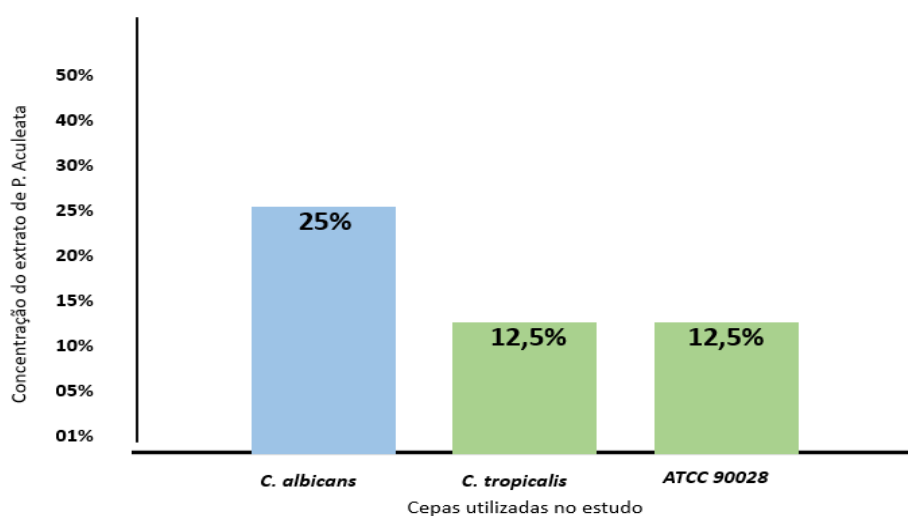
Os poços controle positivo continham 100 μL de meio estéril, isento do extrato, e 100 μL das suspensões 2X concentradas dos inóculos. Os poços controle negativo continham 200 μL de meio estéril. Especificamente, o controle negativo foi usado para efetuar o controle da esterilidade.

Dessa forma, a fileira horizontal 1 conteve a maior concentração do extrato hidroalcolólico e a 12 a menor concentração, conforme esquematizado na Figura 2. Cada poço da placa de microdiluição foi inoculado, no dia do teste, com 100 μL da correspondente suspensão 2X concentrada do inóculo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

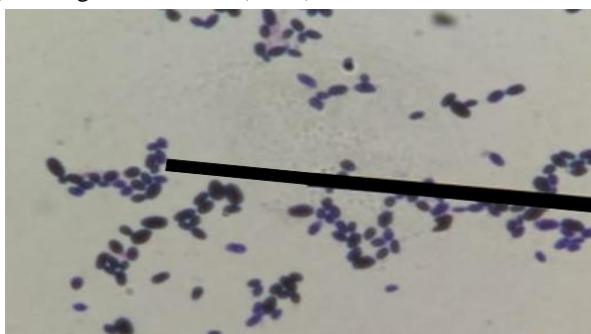
Após realizado o ensaio de atividade antifúngica, por técnica de microdiluição em caldo, mostrou-se que todas as cepas apresentaram suscetibilidade a determinadas concentrações do extrato hidroalcolico de *Pereskia aculeata* Miller (Gráfico 1). Embora a presente pesquisa tenha utilizado outras cepas de *Candida*, diferentemente do aqui observado, Vargas (2017) não mostrou, em seu estudo, uma ação antifúngica do extrato hidroalcolico de *P. aculeata* Miller em relação à *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida tropicalis* ATCC 13803.

Gráfico 1 – Atividade antifúngica de extrato hidroalcolico de *P. aculeata* frente a cepas de *Candida albicans*, *tropicalis* e *Candida albicans* ATCC 90028 nas espécies.



Quando avaliada a CIM do extrato em relação as diferentes cepas de *Candida*, a observou-se inibição do poço 3, contendo espécie de *C. albicans*, o que permitiu sugerir uma CIM igual a 25% do extrato de *P. aculeata*, Sugerindo dessa forma que há um composto relacionado ao efeito de inibição. Contudo, após realizado o teste de Concentração Fungicida Mínima (CFM), houve crescimento dessas cepas no tubo correspondente ao referente poço, sugerindo que essa concentração não era capaz de impedir o crescimento visível do subjuntivo. Para os poços 1 e 2, não foi detectada presença do fungo. Para descartar a possibilidade de contaminação, realizou-se coloração de Gram, tendo como resultado a comprovação da presença de *Candida albicans*, por meio da análise morfológica microscópica, como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3 – Cepas de *Candida*, em análise morfológica por microscopia, no poço 3 da espécie de *C. albicans* em teste de Concentração Fungicida Mínima (CFM) aumento de 400X.



FONTE: Arquivo pessoal.

Contrariamente aos dados aqui obtidos, Santos et al. (2011) não obteve resultados promissores ao utilizar o extrato bruto das folhas de *P. aculeata* em *Candida albicans* ATCC 18804 e 448858. No estudo de Pinto et al. (2012), os autores comprovaram atividade citotóxica de *P. aculeata* contra determinados tipos de células cancerígenas, o que pode implicar em seu uso em situações específicas

Com relação à espécie de *C. tropicalis*, não houve crescimento até o poço 3, sugerindo uma CIM igual a 25%. Avaliando que esse percentual de diluição foi capaz de inibir tal atividade, comprovando também que nos poços anteriores da placa dessa espécie não houve presença do fungo pelo teste de Concentração Fungicida Mínima (CFM). Em pesquisa conduzida por Turra et al. (2007), *Candida albicans* não apresentou nenhuma sensibilidade frente à espécie de *Pereskia grandifolia*.

Na espécie de *Candida albicans* ATCC 90028, ocorreu inibição de crescimento nos poços 1, 2 e 3, sugerindo uma CIM de 12,5% do extrato. A comprovação ocorreu pela ausência de cepa no teste de CFM. Para Kanopka et al. (2010), espécie de *C. albicans* ATCC 90028 possui, como mecanismo de resistência, a presença de biofilme, possibilitando a perda de efeito de antifúngicos, principalmente o Fluconazol. Assim, pode-se supor que esse mecanismo não interferiu na ação antifúngica da *P. aculeata*. Diante de todo exposto, o estudo sugere que há algum composto no extrato que promove essa inibição de atividade, cabendo mais estudos no intuito de isolá-lo. Dessa forma, com base nesses achados, faz-se necessária a realização de outros estudos com *P. aculeata*, já que essa espécie apresentou resultados promissores quando se avalia a sensibilidade e inibição de crescimento de fungos.

CONCLUSÃO

O estudo comprovou, por meio da técnica de microdiluição em caldo, que há inibição de crescimento do gênero *Candida*, especificamente espécie *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. albicans* ATCC 90028, pelo extrato hidroalcolólico de *Pereskia aculeata* Miller. Dessa forma, pode-se entender que há uma possibilidade terapêutica desse produto natural, cabendo a realização de mais estudos envolvendo a temática, com o intuito de elucidar questões relacionadas à composição e mecanismo de ação e minimizar riscos ao uso futuro na prática clínica.

REFERÊNCIAS

Abdul-wahab SN, Sim KS, Abd Wahba N. Phytochemical and cytotoxic investigations of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) leaves. *Journal of Biological Sciences* 2009; 9:488–493.

Albuquerque UP. Implications of ethnobotanical studies on bioprospecting strategies of new drugs in semi-arid regions. *The Open Complementary Medicine Journal*, 2010;2: 21-23.

Almeida PL, Naghetini CC, Nunam EA, Junqueira RG, Glória MBA. Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. *Ciência e Agrotecnologia* 2008;32:(3),875-881,

Avrella D, Goulart LS. Isolamento de *Candida* spp. da mucosa oral de pacientes submetidos ao tratamento quimioterápico. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 2008; 40: 205-207.

Costa ALS, Polak C. Construção e validação de instrumento para avaliação de estresse em estudantes de enfermagem (AEEE). Rev. Esc. Enferm. USP, São Paulo, 2009;43: 1017-26.

Goh K. Malaysa Herbaceus Plantis Millenium Edition. Advanço Press, Malaysia. 2010.

Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kosik M, Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryp-tococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. Acta Biochimica Polonica 2009;56:211-224,

Kurtzman CP, Fell J, Boekhout T. The Yeasts, a taxonomic study. 5th ed. Elsevier, Amsterdam, 2011;2080.

Kim DM, Suh MK, Ha GY. Onychomycosis in children: an experience of 59 cases. Annals of dermatology, 2013;25,(3):327-334.

Konopka K, Dorocka-bobkowska B, Gebremedhin S, Duzgunes N. Susceptibility of *Candida* biofilms to histatin 5 and fluconazole. Antonie Van Leeuwenhoek 2010;97(4):413-7.

Leite JPV, Fernandes JM, Favaro LV, Gontijo DC, Marotta CPB, Siqueira LC, Maia RT, Garcia FCP. Plantas medicinais no entorno do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. MG. BIOTA, 2008;(1):16-34.

Luiz AC, Eduardo FP, Bezinelli LM, Correia L. Alterações bucais e cuidados orais no paciente transplantado de medula óssea. REV. Bras. de hematol. E hemoter, 2008;(30): 480-487.

NCCLS. *Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição*. Norma M27-A2 do NCCLS (ISBN 1-56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

Negri M, Silva S, Henriques M, Oliveira R. Insights into *Candida tropicalis* nosocomial infections and virulence factors. European Journal Clinical Microbiology Infectious Diseases, 2012;31(7):1399-1412.

Oliveira DR, Oliveira ACD, Marques LCO. Estado regulatório dos fitoterápicos no Brasil: Um paralelo entre a legislação e o mercado farmacêutico (1995–2015). Vigil. sanit. debate 2016;4(4):139-148.

Park YK, Ikegaki M, Abreu JAS, Alcici NMF. Estudo de alguns 542 componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. Arquivos de biologia e 543 tecnologia, 1995;38(4):1253-1259.

Pinto NCC, Santos RCA, Machado DC, Florêncio JR, Fagundes SEM, Antinarelli L MR, Coimbra ES, Ribeiro A, Scio EA. Cytotoxic and antioxidant activity of *pereskia aculeata miller*. Archives, 2012;3:63–69.

Pisano CL, Paiva GV, Pizellig S, Ferreira JD. Plantas medicinais, uso e cultivo domiciliar no município de Bauru-SP. Ensaio e Ciência, Ciências biológicas Agraria e da Saúde. 2014;16(4):141-150.

Quindós G. Las micosis en el amanecer del siglo XXI. Rev. Iber. Micol., 9, p. 1-4.
Ribeiro, L. et al. (2004). Aspectos das leveduras de *Candida* vinculadas às infecções nosocomiais. NewsLab, 2002; 64(3):106-128.

Roque AA, Rocha RM, Loiola MIB. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, 2010;12(1): 31-42.

Santos AG, Garcia BH, Sartor CFP, Felipe DF. estudo do efeito antimicrobiano do extrato bruto das folhas de *pereskia aculeata* mill. sobre patógenos bucais. V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. 2010. ISBN 978-85-61091-69-9.

Santos AG, Tiburcio CS, Sartor CFP, Cortez LER. Avaliação das atividades antimicrobiana sobre patógenos bucais e hemolítica das folhas de *pereskia aculeata* out. 2011.. ISBN 978-85-8084-055-1.

Sidrim JJC, Moreira JLB. Fundamentos clínicos laboratoriais da micologia médica. Guanabara Koogan. 1999.

Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Reimpressão. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan,2012.

Turan H, Demirbilek M. Biofilm-forming capacity of blood-borne *Candida albicans* strains and effects of antifungal agentes. Rev Argent Microbiol. 2018;50(1):62-69

Turra AF, Marçal FJB, Baretta IP, Takemura OS, Laverde-Jr A. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (cactaceae). Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, 2007;11(1):9- 14.

Vargas AG. Influência da sazonalidade na composição química e nas atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas de *ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata* Miller). Universidade Tecnológica Federal do Paraná Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco. 2017.

Whibley N, Jillian R, Reid JD, Abhishek VG, Taylor JA, Cornelius J, Clancy MH, Nguyen PS, Biswas MJ, Mcgeachy GD, Brown SLG. Delinking CARD9 and IL-17: CARD9 Protects against *Candida tropicalis* Infection through a TNF- α -Dependent, IL-17-Independent Mechanism. J Immunol 2015; 195:3781-3792; Prepublished online.

White PL. et al. Detection of *Candida* in concentrated oral rinse cultures by realtime PCR. J. Clin. Microbiol, 2004;42(5):2101-2107.