



**II CONPESQ**  
**Congresso de Pesquisa,**  
**Pós-Graduação e Inovação**

Os novos rumos da ciência pós-pandemia

12 a 16 de abril de 2021 Universidade Federal do Cariri - UFCA

**Avaliação da ação dos Extratos aquosos de *Ziziphus joazeiro*  
Mart. contra resistência microbiana no Tratamento de  
Biofilmes Fúngicos**

**Sheyla Henrique Morais Santana<sup>1</sup>**

Instituto de Formação de Educadores,  
Universidade Federal do Cariri  
[Sheyla.henrique@aluno@ufca.edu.br](mailto:Sheyla.henrique@aluno@ufca.edu.br)  
BPI- FUNCAP

**Juliete Bezerra Soares<sup>2</sup>**

Instituto de Formação de Educadores,  
Universidade Federal do Cariri  
[Julietesoares43@gmail.com](mailto:Julietesoares43@gmail.com)  
PIBIC-UFCA

**Camila Aparecida Pereira da Silva<sup>3</sup>**

Instituto de Formação de Educadores,  
Universidade Federal do Cariri  
[camila.pereira@aluno.ufca.edu.br](mailto:camila.pereira@aluno.ufca.edu.br)  
BPI- FUNCAP

**Jacqueline Cosmo Andrade<sup>4</sup>**

Instituto de Formação de Educadores,  
Universidade Federal do Cariri  
[Jacqueline.andrade@ufca.edu.br](mailto:Jacqueline.andrade@ufca.edu.br)  
Orientadora

**RESUMO:** Biofilmes são conjuntos de ecossistemas microbianos que representam uma das principais formas de resistência fúngica. Tendo em vista pesquisas etnobiológicas, casca e entrecasca do caule de *Ziziphus joazeiro* Mart. são utilizadas na medicina tradicional, principalmente na higiene bucal e tratamento de gengivites. O presente trabalho tem como objetivo averiguar a ação do extrato aquoso das folhas no tratamento de biofilmes fúngicos, e comparar com os efeitos do extrato aquoso das cascas do caule e com o fluconazol. O tratamento dos biofilmes pelos extratos aquosos foi verificado pela absorbância de OD600nm e pelo ensaio de violeta de cristal. Os resultados do extrato das

- 
- 1 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
  - 2 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.
  - 3 Será preenchido pela Comissão após avaliação com as informações dos metadados da submissão.

folhas apresentaram uma inibição da massa dos biofilmes, no entanto os biofilmes foram mais sensíveis à ação do extrato da casca. Sendo importante destacar que o extrato da folha apresentou erradicação significativa nas menores concentrações, em biofilmes maduros de leveduras, demonstrando assim sua potencialidade em modificar a suscetibilidade na resistência fúngica. Em conclusão, os resultados do tratamento apoiam o conhecimento etnofarmacológico da utilização das cacas do caule de *Ziziphus joazeiro* pela população.

**Palavras-chave:** Biofilmes fúngico; Leveduras; joazeiro.

**ABSTRACT:** Biofilms are sets of microbial ecosystems that represent one of the main forms of fungal resistance. In view of ethnobiological research, bark and bark of the stem of *Ziziphus joazeiro* Mart. they are used in traditional medicine, mainly in oral hygiene and treatment of gingivitis. The present work aims to investigate the action of aqueous leaf extract in the treatment of fungal biofilms, and to compare with the effects of the aqueous extract of the stem bark and with fluconazole. The treatment of biofilms by aqueous extracts was verified by the absorbance of OD600nm and by the crystal violet assay. The results of the leaf extract showed an inhibition of the biofilm mass, however the biofilms were more sensitive to the action of the bark extract. It is important to highlight that the leaf extract showed significant eradication in the lowest concentrations in mature yeast biofilms, thus demonstrating its potential to modify susceptibility in fungal resistance. In conclusion, the results of the treatment support the ethnopharmacological knowledge of the use of the cacas of the stem of *Ziziphus joazeiro* by the population.

**Keywords:** Fungal biofilms; Yeast; Joazeiro.

## INTRODUÇÃO

Biofilmes são conjuntos de ecossistemas microbianos que representam uma das principais formas de resistência fúngica, devido as vantagens evolutivas que confere aos micro-organismos, destacando-se proteção frente a condições extremas, como falta de nutrientes, temperatura e alterações de pH, radiação ultravioleta e presença de radicais livres, além da ação de antibióticos e até mesmo a ação do sistema imunológico do hospedeiro (MESSI, 2013; CONDÔ et al., 2018; CERCA; JEFFERSON, 2012).

O desenvolvimento de biofilmes é uma grave preocupação no campo da saúde, por causa das infecções persistentes ocasionadas, implicando cerca de 80% ou mais entre os casos de infecção microbianos (Davis, 2003; Albano et al., 2018).

Infecções causadas pelo gênero *Candida*, representa a quarta causa de infecções associadas aos cuidados da saúde (SANTANA et al., 2015). A patogenicidade de *Candida* spp está ligada diretamente aos seus fatores de virulência, dentre eles, o dimorfismo, a produção de enzimas extracelulares, a capacidade de aderência a superfícies e a facilidade de formar biofilmes. A formação de biofilmes é a principal repercussão clínica, principalmente devido ao aumento da resistência das espécies à terapia antifúngica (Ramage et al, 2005; Santana et al., 2013).

Tendo em vista pesquisas etnobiológicas, *Ziziphus joazeiro* Mart. é uma planta endêmica da caatinga, muito utilizada como antisséptico bucal (Lorenzi; Matos, 2008), antimicótico (CRUZ et al., 2007); expectorante, e no tratamento de bronquites e de úlceras gástricas (Lorenzi 2009). É utilizado popularmente na higiene bucal e tratamento de gengivites. Partes da planta, principalmente, casca e entrecasca do caule são trituradas e usadas na escovação dentária.

Devido às aplicações na medicina tradicional da espécie *Ziziphus joazeiro*, a retirada contínua das cascas do caule pela população, pode ocasionar danos ao vegetal, assim na busca de minimizar a utilização do caule, este trabalho, objetivou verificar a ação do extrato aquoso das folhas, contra a resistência fúngica, no tratamento de biofilmes fúngicos, e comparar com os efeitos do extrato aquoso das cascas do caule e com o fluconazol, droga padrão.

## METODOLOGIA

A coleta das folhas e cascas do caule de *Ziziphus joazeiro* Mart., foi realizada no Sítio Ipueiras, localizado na zona rural do município de Brejo Santo, sul do Ceará, Brasil, no mês de fevereiro de 2017, no sopé da Chapada do Araripe. Um exemplar da espécie foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA, sob o nº13.346 e identificada como *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae).

Os extratos aquosos das folhas e cascas do caule de *Z. joazeiro* (EAFZJ e EACCZJ) foram produzidos por maceração com extração a frio (Matos, 2009). Folhas frescas foram cortadas e as cascas do caule passaram por secagem em temperatura ambiente e trituração em moinho mecânico. Posteriormente ambos foram adicionados em água destilada e estéril. Acondicionados em recipiente protegido da ação da luz e o do ar, e após 72h foram filtrados, congelados e levados ao liofilizador (-60°C).

As linhagens padrões foram obtidas da Coleção de Cultura Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) do Instituto Brasileiro de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), *Candida albicans* INCQS 40006, *Candida tropicalis* INCQS 40042 e linhagens isoladas foram obtidas da coleção de Cultura da Universidade Federal de Pernambuco - Micoteca URM (*University Recife Mycology*) *Candida albicans* URM 4387, *Candida tropicalis* URM 4262. As cepas foram inoculadas em Sabouraud Dextrose Agar (SDA, KASVI) e incubadas durante 24 h a 37°C. Posteriormente, foi preparada uma suspensão inicial em 5 mL de solução salina esterilizada (NaCl; salina a 0,85%) e sua densidade foi ajustada de acordo com a escala 0.5 de MacFarland com transmitância de 90% determinada por espectrofotometria, utilizando-se comprimento de onda a 530nm. Esse procedimento fornece uma concentração padrão de levedura contendo  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  células por mL.

A solução dos produtos foi preparada através da diluição de 0,15 g de cada extrato e depois se diluindo em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO, Merck, Darmstadt, Alemanha). As concentrações testes variaram de 16.384µg/mL a 128µg/mL. O fluconazol (Pfizer) foi utilizado como droga antifúngica de referência com concentrações variando de 64µg/mL a 0,5µg/mL.

A avaliação qualitativa da capacidade de formação de biofilme foi realizada utilizando o método visual adaptado de Shin et al. (2002). Após semeio dos isolados em meio ágar Sabouraud e preparo das suspensões descritas acima, 20µl foram inoculados em 180µl de Sabouraud líquido contido nos poços das microplacas, as quais foram mantidas a 35°C por 24h e 48h sem agitação. Em seguida, o conteúdo foi aspirado e os poços lavados com água destilada esterilizada e, sobre estes, adicionado o corante Fucsina (QEEL-Química Especializada Erich Ltda.) para realização de avaliação de acordo com a intensidade da coloração. A capacidade em corar foi avaliada visualmente e classificadas da seguinte forma: 1) Fortemente corado: quando o biofilme foi corado de forma intensa, possibilitando a correta determinação do contorno das áreas contendo biofilme; 2) Coloração mediana: quando o biofilme foi corado de forma mais fraca, mas ainda possibilitou a determinação do contorno das áreas com biofilme; 3) Fraca coloração: quando o biofilme não foi corado, impossibilitando a distinção da cor da placa e a cor

característica do corante. A interpretação representou uma atividade forte, moderada e fraca de formação de biofilme, respectivamente.

Para a produção de biofilme, foram utilizadas placas de microdiluição de 96 poços, 20 µL da suspensão foram transferidas para os poços das microplacas contendo 180µL de YPD (*Yeast extract – Peptone – Dextrose*). As placas foram incubadas a 37°C durante 48 horas. Após o tempo de incubação, os poços foram cuidadosamente aspirados e lavados duas vezes com 200µL de tampão PBS.

Os poços pré-lavados foram corados com 110 µL de solução cristal violeta aquosos a 0,4% durante 45 min. Após esta etapa, foram lavados três vezes com 200 µL de água ultrapura (Milli-Q) estéril e o biofilme descolorido pela adição de 200 µL de etanol por 45 minutos. Ao final, 100 µL de cada poço foram transferidos para uma nova microplaca sendo a formação do biofilme avaliado através da diferença de densidade óptica entre o biofilme formado e o poço controle, pela leitura em espectrofotômetro ajustado com comprimento de onda de 595 nm. Cada linhagem foi testada três vezes e os valores de absorvância do poço controle foram subtraídos aos dos poços teste para minimizar interferências (MELO et al., 2011).

Os biofilmes formados em placas de microdiluição, como descrito anteriormente. Após o período de 48h, os poços que continham biofilme foram preenchidos com 200µL de oito diluições seriadas dos Extratos aquosos de *Ziziphus joazeiro* (EAFZJ e EACCZJ) e do Fluconazol. Os extratos e a droga padrão foram diluídos em RPMI 1640, para atingir cada concentração. Poços com biofilme não tratados e poços livres de biofilmes foram incluídos como controles positivos e negativos, respectivamente. As placas de microdiluição foram incubadas por 24h e 48h a 35°C. Após cada período, foi realizada a quantificação do biofilme tratado como descrito anteriormente (Prazinska; Gospodarek, 2002).

Para a análise estatística, foi utilizado o *software Graphpad Prism*, v. 5.0. Os dados foram obtidos através da média aritmética das triplicatas em cada concentração testada e posteriormente analisados por ANOVA de duas vias ( $P < 0.05$ ; \* $P < 0.1$ ; \*\*\*\* $P < 0.0001$ ), comparando os valores para cada concentração do extrato, ponto a ponto, com o teste *post hoc* de *Bonferroni*. Uma comparação do comportamento geral de cada substância contra as cepas testadas foi inferida através da mesma análise já citada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As produções dos extratos aquosos das folhas e cascas do caule apresentaram um rendimento de 9,51% e 8,54% respectivamente.

A caracterização fitoquímica dos extratos EAFZJ e EACCZJ, evidenciou a presença de algumas classes de metabolitos secundários comuns a ambos como os flavonóides (leucoantocianidinas, flavonas; flavonóis, flavononóis, flavononas, xantonas, catequinas), esteróides e saponinas. Em particular, no EAFZJ foi evidenciado fenóis, taninos condensados e alcalóides.

Análises fitoquímica de trabalhos realizados com extratos das folhas, cascas e entrecascas de *Ziziphus joazeiro*, destaca a presença de flavonoides, alcaloides, esteroides, taninos, saponinas, hidratos de carbono e celulose (FUMAGALI et al., 2008; SILVA et al., 2011; MELO et al., 2012; Dantas et al., 2014; BRITO et al., 2015).

Diversos compostos fenólicos, como flavonoides, taninos e saponinas apresentam atividade antimicrobiana, além de atuarem como inibidores da formação e da biomassa de biofilmes fúngicos e bacterianos (XING et al., 2012; BORGES et al., 2013).

As capacidades de formação de biofilme dos isolados clínicos de *Candida* spp, estão apresentadas na tabela 1, à interpretação foi realizada, levando em consideração a intensidade da coloração.

**Tab.1.** Avaliação da formação de biofilme pelo método do cristal violeta.

Isolados clínicos	Formação de biofilme
<i>Candida albicans</i> INCQS 40006	Forte
<i>Candida albicans</i> URM 4387	Moderado
<i>Candida tropicalis</i> INCQS 40042	Forte
<i>Candida tropicalis</i> URM 4262	Forte

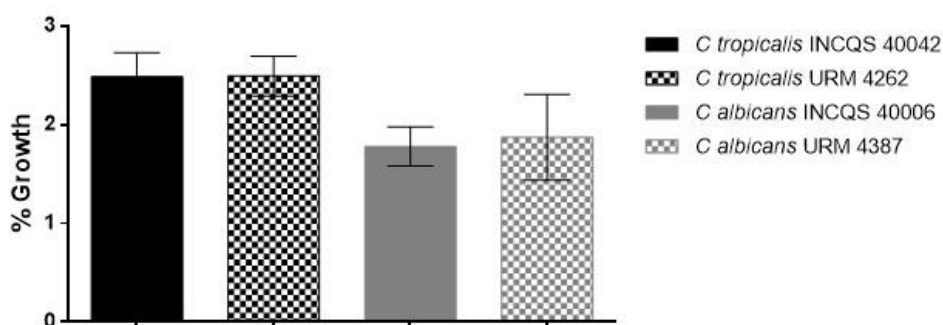
\* INCQS - Instituto Brasileiro de Controle de Qualidade em Saúde .; URM - Universidade Recife Micologia

A formação de biofilmes por *Candida* spp. está relacionado a espécie-dependente, ou seja, está condicionada ao tipo da espécie e as condições ambientais, cepas de *Candida albicans* e não *albicans* formam biofilme de modo semelhante, mas com particularidades bem definidas (Henrique; Negri; Silva, 2012). *Candida albicans* e *Candida tropicalis* são espécies do gênero *Candida* que mais formam biofilme (Mohammed; Al-Fattani; Douglas, 2006).

Isolados de *C. albicans* possuem biofilmes mais espessos e menos compactos, com presença de leveduras na parte basal e formas filamentosas na parte superior (Santana et al., 2013). Biofilmes de *C. tropicalis* consiste no aglomerado de células e filamentos, essas diferenças contribuem para o potencial patogênico de cada estripe (Negri et al., 2011).

A figura 1, apresenta os resultados da indução do biofilme, obtidos em valores de densidade óptica, todos os isolados de leveduras mostraram-se capazes de formar biofilmes em 24 e 48 horas com diferentes intensidades. Os isolados de *C. tropicalis* apresentaram, quando comparado estatisticamente aos demais, a maior capacidade de produção de biofilme URM 4262 (2,494nm) e INCQS 40042 (2,487nm). Seguidos por *C. albicans* INCQS 40006 (1,780nm) e URM 4387 (1,873nm).

**Figura1.** Formação de biofilmes de isolados clínicos de *Candida* spp



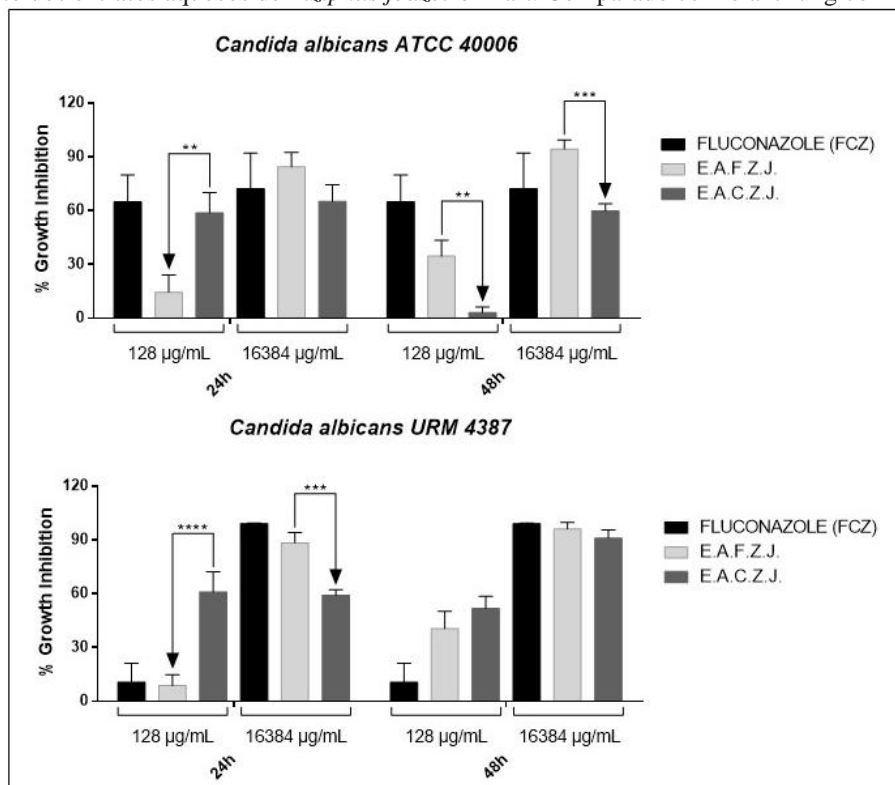
O processo de formação de biofilmes em *Candida* spp. corresponde a três etapas, fase inicial, fase intermediária e fase madura. Na fase madura, especificamente em 48 horas, todo o biofilme é envolvido pela matriz extracelular polimérica e seu crescimento é tridimensional, nessa fase os mecanismos de resistência já estão estabelecidos e ativos

(GHANNOUM et al., 2015).

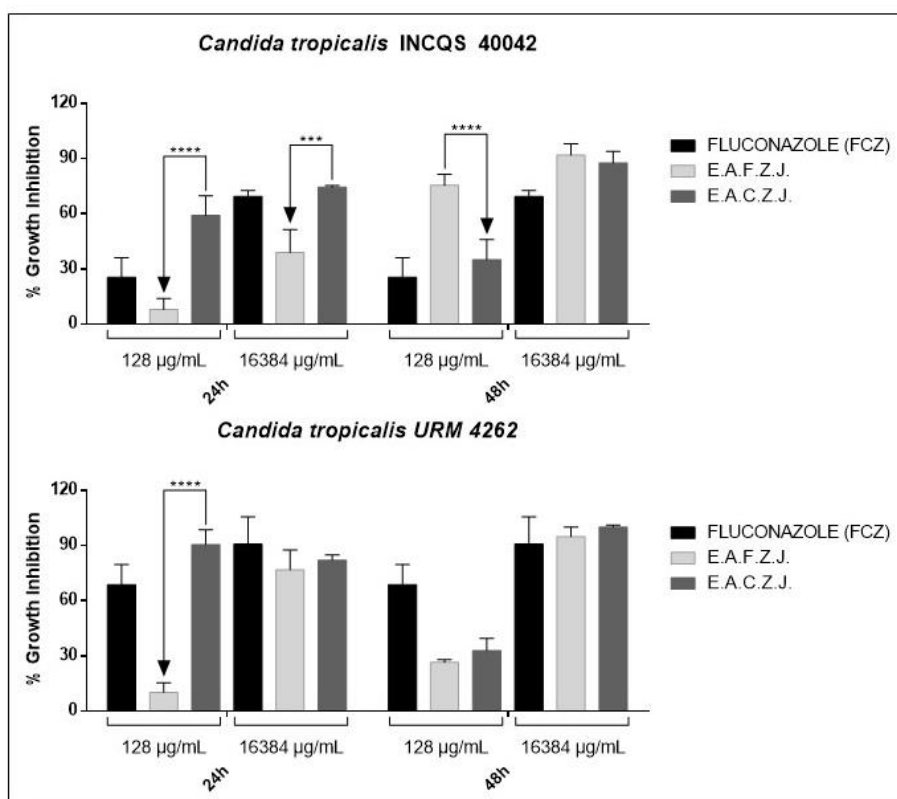
O tratamento do biofilme formado por isolados de *C. albicans* (Figura 2), demonstra uma significativa inibição na estripe INCQS 40006, 24h, de 58.8%, pelo EACZJ, na menor concentração, quando comparado ao EAFZJ (14.6%). Em 48h, é perceptível a inibição em ambas concentrações do EAFZJ, destacando a ação na maior concentração, uma inibição de 94.4%, sobre 59.9% do EACZJ e 72.2% do fluconazol. Para o isolado URM 4387, a inibição ocorreu somente em 24h de formação de biofilme, na concentração de 128 µg/mL, o EACZJ apresentou um percentual de 61.1%, sendo estatisticamente, o melhor resultado quando comparado a EAFZJ (8.7%) e ao fluconazol (10.6%). Em 16.384 µg/mL, ocorre uma inversão de resultados o EAFZJ se destaca sobre o EACZJ, com 88.4% de inibição, apresentando um resultado equivalente a droga padrão (99.1%).

A figura 3 apresenta o tratamento dos biofilmes formados por *C. tropicalis*, para INCQS 40042, 24 h, é possível verificar a redução de biofilme na menor e maior concentração do EACZJ, inibindo 59.1% e 74.4%, respectivamente. Apresentando assim uma significativa inibição quando comparado ao EAFZJ (7.9% e 38.9%) e ao antifúngico convencional (25.5% e 69.3%). Em 48h, na menor concentração, o EAFZJ proporcional uma inibição de 75.5%, obtendo destaque entre o EACZJ (35.1%) e fluconazol (25.5%). O tratamento frente ao isolado URM 4262 foi estatisticamente relevante, em 24 h, na concentração de 128 µg/mL, onde o EACZJ reduziu aproximadamente 90.5% da biomassa do biofilme.

**Figura 2.** Inibição da formação de biofilme (%) dos isolados de *Candida albicans*, em 24 e 48 horas, pelo tratamento dos extratos aquosos de *Ziziphus joazeiro* Mart. Comparado com o antifúngico fluconazol padrão.



**Figura 3:** Inibição de formação (%) de biofilme de isolados de *Candida tropicalis*, em 24 e 48 horas, por tratamento pelos extratos aquosos de *Ziziphus joazeiro* Mart. Comparado com o antifúngico fluconazol padrão.



Frente aos resultados, é verificado que o EAFZJ realiza uma maior inibição em biofilmes formados por 48h, ou seja, em biofilmes maduros, enquanto o EACZF, atua nos biofilmes intermediários, com 24h de formação. Além disso, as ações de inibição do EACZJ, sob biofilmes de isolados de *Candida*, aconteceram em maior número quando comparado ao EAFZJ.

Em relação a inibição de biofilme, os resultados apoiam os levantamentos etnofarmacológicos da utilização das cacas do caule de *Ziziphus joazeiro* pela comunidade, usando-a como dentífrico (CAVALCANTI et al., 2011), em contraponto trabalhos realizados com o extrato aquoso das cascas (Alviano et al., 2008) e óleo essencial da folha (Bersan et al., 2014) de *Ziziphus joazeiro* não foram ativos contra biofilmes bacterianos e fúngicos.

A ação das saponinas também é relatada por Sadowska e colaboradores (2014) em testes de erradicação de biofilmes maduros de *Candida albicans*, destacando a instabilidade ocasionada na parede celular e diminuição na aderência das leveduras na formação de biofilmes.

Comparando o período de formação de biofilme dos isolados de leveduras, é perceptível que em 48 h, na concentração maior (16.384 µg/mL), quase não ocorreu inibição da biomassa dos biofilmes, Segundo Gutierrez e colaboradores (2018), a baixa redução da biomassa e/ou aumento do biofilme, quando exposto a algum extrato, é uma particularidade específica das espécies de leveduras, ocorrendo uma produção acentuada de filamentação, como tentativa de defesa e potencialização da sua virulência, para superar o estresse e a morte pela presença dos produtos naturais.

Outro fator relacionado é a composição fitoquímica do extrato, que por sua vez, pode contribuir com nutrientes para o desenvolvimento da matriz extracelular, garantindo assim mais resistência ao biofilme. A matriz das espécies de *Candida* é constituída

principalmente por hidratos de carbono, proteínas, fosfato e hexosaminas, os extratos aquosos de *Ziziphus joazeiro*, possuem uma quantidade considerável de hidratos de carbonos (Dantas et al., 2014).

Estudo realizado por Paula-Mattiello e colaboradores (2017), em biofilmes de *C. parapsilosis* formados entre 6, 12 e 24 h demonstraram perda de viabilidade celular, quando tratados com cetoconazol, enquanto biofilmes da mesma espécie de 48 h se mostraram resistentes a este antifúngico, mostrando assim uma maior complexidade estrutural do biofilme maduro.

O tratamento de biofilmes maduros por drogas padrões e substâncias naturais, na sua maioria, não são efetivos, devido à complexidade e resistência da sua estrutura, como a matriz extracelular, que atua como uma barreira neutralizando as substâncias, e a presença de células resistentes a altas concentrações, as *persisters*, que colaboram com a resistência e insistência de infecções por biofilme fúngicos (Wuyts et al., 2018).

Assim, é importante ressaltar o resultado do EAFZJ, que apresentou uma inibição significativa frente aos biofilmes de *Candida* de 48 h, essa redução é bastante relevante, pois demonstra uma alteração na suscetibilidade na resistência dos biofilmes maduros. Na composição fitoquímica da folha foi observado a presença de taninos condensados que, por sua vez, em biofilmes maduros de *Candida* sp., podem interagir com polissacarídeos, inativando enzimas responsáveis pela manutenção da matriz extracelular, assim diminuindo a massa do biofilme e a hidrofobicidade da superfície celular (Morey et al., 2016; Dutreixa et al., 2018).

## CONCLUSÃO

Os resultados dessa pesquisa apontam erradicação de biofilmes fúngicos pelos extratos aquosos de *Ziziphus joazeiro* apoiando o conhecimento etnofarmacológico da utilização das cacas do caule de *Ziziphus joazeiro* pela comunidade.

Diante de análise comparativa, o EACCZJ apresentou um tratamento mais eficaz do que o EAFZJ frente aos biofilmes, apresentando algumas inibições semelhantes as drogas padrões utilizadas.

É importante destacar que o EAFZJ apresentou tratamento significativa nas menores concentrações, em biofilmes maduros de leveduras, demonstrando assim sua potencialidade em modificar a suscetibilidade na resistência microbiana. No mais, há a necessidade de ensaios referentes a investigações dos mecanismos de ação dos referidos extratos sobre os biofilmes.

## AGRADECIMENTOS

À Funcap pelo apoio financeiro para a realização desse trabalho e as Universidades Federais do Cariri – UFCA e Regional do Cariri – URCA.

## REFERÊNCIAS

ALBANO M, et al. Antibacterial and anti-biofilm activities of cinnamaldehyde against *S. epidermidis*. *Microb Pathog* 2019; 126: 231-238. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401018316061> Acesso:

20 mar. 2021

ALVIANO WS, C et al. *In vitro* antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. *Arch Oral Biol* 2008; 53:545-52. *Básica Apl* 2011; 32:193-199.

BERSAN SM, GM et al. Action of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. *BMC Complement Altern Med* 2014;18: 441-451.

BORGES A, et al. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microb Drug Resist* 2013; 19:256-265. Disponível em: <http://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/mdr.2012.0244> Acesso: 23 mar. 2021

BRITO SM, et al. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. using HPLC-DAD. *Food Chem* 2015; 1:185-191

CAVALCANTI, M.T, et al. Obtenção da farinha do fruto do juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) e Teor de caracterização físico-química. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 2011; 6: 220-224.

CERCA N, AZEVEDO N. F. Biofilmes na saúde, no meio ambiente, na indústria. Braga, Porto: Publindústria, 2012.

CONDÓ, C et al. Antimicrobial activity of spices essential oils and its effectiveness on mature biofilms of human pathogens. *Nat Prod Res* 2018; 13:1-8.

CRUZ M.C.S, et al. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. *J Ethnopharmacol* 2007; 111:409-412 Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874106006349> Acesso: 23 mar. 2021

DANTAS F.C.P. et al. *Ziziphus joazeiro* Mart. - Rhamnaceae: características biogeoquímicas e importância no bioma Caatinga. *Res principal* 2014; 25: 51-57. Disponível em: <http://periodicos.ifpb.edu.br/index.php/principia/article/view/172> Acesso: 24 mar. 2021

DUTREIX L, et al. Do raspberry extracts and fractions have antifungal or anti-adherent potential against *Candida* spp.? *Int J Antimicrob Agents* 2018; 52:947-953.

FUMAGALI E, et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. *Rev bras farmacogn* 2008; 18: 627-641. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n4/v18n4a22.pdf>. Acesso: 21 mar. 2021

GHANNOUM M, et al. The Role of Echinocandins in *Candida* Biofilm-Related Vascular Catheter Infections: In Vitro and In Vivo Model Systems. *Clin Infect Dis* 2015; 6:618-621.

HENRIQUES A, et al. O impacto clínico de biofilmes de espécies de *Candida*. In. Biofilmes na saúde, no meio ambiente, na indústria. Braga, Porto: Publindústria, 2012.

- LORENZI H, et al. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa – São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.
- LORENZI H.E. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa – São Paulo: Instituto Plantarum, 2009.
- MATOS F.J.A. *Introdução à fotoquímica experimental*. 3 ed. Fortaleza, Ceará: Editora UFC, 2009.
- MELO AS, et al. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida* spp. Isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex. *Med Mycol* 2011; 49: 253- 62.
- MELO M.S.F, et al. Pesquisa de bioativos com atividade antimicrobiana nos extratos hidroetanólicos do fruto, folha e casca de caule do *Ziziphus joazeiro* Mart. *Rev Universidade do Vale Verde* 2012; 10:43-51. Disponível em: <http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunicor/article/view/670>  
Acesso: 23 mar. 2021
- MESSI P. *Biofilm formation, development and relevance*. editors Biofilm in bioengineering. Hauppauge, New York: Nova Science, 2013.
- MOHAMMED A, et al. *Biofilm matrix of Candida albicans and Candida tropicalis: chemical composition and role in drug resistance*. *J Med Microbiol* 2006; 5: 999–1008.
- MOREY AT, et al. Antifungal activity of condensed tannins from *Stryphnodendron adstringens*: Effect on *Candida tropicalis* growth and adhesion properties. *Curr Pharm. Biotechnol* 2016.; 17: 365-75.
- NEGRI M, et al. *Candida tropicalis* biofilms: artificial urine, urinary catheters and flow model. *Med Mycol* 2011; 49:739-47.
- PAULA- MATTIELLO S, et al. In vitro evaluation of hydrolytic enzyme activity and biofilm formation of *Candida parapsilosis* species complex from a nosocomial environment. *Rev Soc Bras Med Trop* 2017; 50: 558-561.
- PRAZINSKA M, GOSPODAREK E. In vitro Effect of Amphotericin B on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida parapsilosis* biofilm formation. *Mycopathologia* 2002; 177:19-27.
- RAMAGE G, et al. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res* 2006; 6: 979-986.
- SANTANA DP, et al. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. *Rev Ciênc Méd Biol* 2013; 12:229-233

SANTANA DP, et al. Ação de chalconas contra a formação de biofilme de *Candida albicans*. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2015; 36:83-90.

SHIN JH, et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol* 40; 1244–1248.

SILVA T.C.D.L, et al. Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. *Rev Ciênc Farm*.

TRIGO-GUTIERREZ JK, et al. Effect of Chloroaluminium phthalocyanine in cationic nanoemulsion on photoinactivation of multispecies biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2018; 24:212-219.

WUYTS J, et al. Fungal persister cells: The basis for recalcitrant infections? *PLoS Pathog* 2018; 8;1-14.

XING M, et al. Antimicrobial efficacy of the alkaloid harmaline alone and in combination with chlorhexidine digluconate against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* grown in planktonic and biofilm cultures. *Lett Appl Microbiol* 2012; 54:475-482. Disponível em:

<http://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1472-765X.2012.03233.x> Acesso: 22 mar. 2021