



Atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra isolados patogênicos de *Candida* spp.

The antifungal activity of ethanol extract of red propolis against pathogenic isolates of Candida spp.

Ana Laura de Cabral Sobreira¹; Matheus Merson de Araújo Silva²; Luana Sayuri Okamura²; Júlia Beatriz Pereira de Souza³; Egberto Santos Carmo³

¹Doutoranda em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, lauracabralas@gmail.com;

²Farmacêutico(a), Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, Paraíba, +5583996584947, matheusmerson10@gmail.com; sayuriokamura1.1@gmail.com;

³Docentes, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, Paraíba, juliabtriz@gmail.com; egbertosantos@ufcg.edu.br

NOTA

Recebido: 16/05/2020

Aprovado: 16/09/2020

Palavras-chave:

Candidíase

Infecção oportunista

Antimicrobiano

RESUMO

A busca por novas substâncias antifúngicas se faz necessária, devido ao aumento de casos de infecções fúngicas nos últimos anos, associado ao aparecimento de cepas resistentes aos tratamentos convencionais e efeitos adversos observados durante as terapias farmacológicas. Dentre estas infecções, destacam-se as candidíases, como uma das mais comuns a acometerem os seres humanos. Assim, objetivou-se avaliar o potencial antifúngico do extrato etanólico de própolis vermelha contra isolados patogênicos de *Candida* spp. A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pela técnica de microdiluição, em placas de 96 cavidades, na qual verificou-se a sensibilidade de cepas de *Candida* spp. a concentrações do extrato de própolis numa variação de 15.000 µg/mL a 29,3 µg/mL. Os valores de CIM foram determinados pela análise visual da inibição do crescimento. Em seguida, adicionou-se cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) para determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM). Todos os experimentos foram feitos em triplicata. A CIM encontrada variou de 234,4 µg/mL a 937,5 µg/mL, sendo a espécie *C. albicans*, a mais sensível entre as testadas. Observou-se que a CFM foi idêntica a CIM. A partir destes resultados, conclui-se que o extrato etanólico de própolis vermelha apresentou moderada atividade antifúngica sobre a maioria das cepas de *Candida* spp., ratificando-se seu uso tradicional quanto a suas propriedades antimicrobianas, as quais podem ser melhor exploradas através de futuros estudos pré-clínicos e clínicos.

ABSTRACT

The search for new antifungal substances is necessary, due to the increase in cases of fungal infections in recent years, associated with the appearance of strains resistant to conventional treatments and adverse effects observed during pharmacological therapies. Among these infections, candidiasis stands out, as one of the most common to affect humans. Thus, the objective was to evaluate the antifungal potential of the ethanol extract of red propolis against pathogenic isolates of *Candida* spp. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was obtained by using the microdilution, technique in 96-well plates, in which the sensitivity of *Candida* spp. was evaluated at concentrations of propolis extract in a range from 15,000 µg/mL to 29.3 µg/mL. MIC values were determined by visual analysis of growth inhibition. Then, triphenyltetrazolium chloride (TTC) was added to determine the Minimum Fungicidal Concentration (MFC). All experiments were performed in triplicate. The MIC ranged from 234.4 µg/mL to 937.5 µg/mL, with the species *C. albicans* being the most sensitive among those tested. The MFC was identical to MIC. From these results, we concluded that the ethanol extract of red propolis showed moderate antifungal activity on most strains of *Candida* spp., confirming its traditional use regarding its antimicrobial properties, which can be better explored through future pre-clinical and clinical studies.

Key words:

Candidiasis

Opportunistic infection

Antimicrobial



INTRODUÇÃO

Candida sp. é uma levedura comensal que habita diferentes partes do nosso organismo como o trato gastrointestinal, mucosa oral e vagina, considerada oportunista, que pode causar doenças no hospedeiro em situações de desequilíbrio imunológico (BARBEDO; SARBI, 2010; BERNARDO; LIMA, 2015). Este fungo causa a candidíase através de sua reprodução por brotamento, e dependendo da espécie, pode formar como fatores de virulência, pseudo-hifas e hifas, as quais facilitam a invasão aos tecidos. No meio de cultura, suas colônias possuem coloração que varia de branca a creme e apresentam superfície rugosa ou lisa (GIACOBINO, 2018).

Alguns fatores predis põem o surgimento dessa micose, como contagem de linfócitos T-CD4 abaixo de 200 células/mm³, tabagismo, uso de terapia imunossupressora, antibioticoterapia, procedimentos cirúrgicos, idade, desnutrição, higiene precária, xerostomia e diabetes mellitus. Além de infecções superficiais, a *Candida* spp. pode desencadear infecções sistêmicas que comprometem as vísceras como resultado da disseminação hematogênica, sendo estas complicações infecciosas geralmente documentadas em pacientes críticos, portadores de doenças degenerativas e/ou neoplásicas (CORRÊA, 2017; VIEIRA et al., 2018). De todas as espécies existentes do gênero, destaca-se entre os isolados de amostras clínicas a espécie *Candida albicans*, correspondendo a 70-80% destas, prevalecendo em infecções superficiais e invasivas (PANWAR FAUJDAR, 2016; BRANDOLT et al., 2017; CASTANHEIRA et al., 2017).

Aproximadamente 80% da população adulta saudável possui espécies de *Candida* no tubo gastrointestinal. Entre as mulheres cerca de 20 a 30% apresentam colonização por este fungo na vagina, e em hospitais, o gênero responde por cerca de 80% das infecções fúngicas documentadas, representando um grande desafio aos médicos de diferentes especialidades, devido às dificuldades diagnósticas e terapêuticas das infecções acarretadas por tais agentes (BARBEDOSGARBI, 2015; EMERIBE et al., 2015; BHESANIA e NARAYAKHEDKAR, 2017). Todavia espécies não-albicans têm surgido como importantes patógenos oportunistas, com predomínio de *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei* (CAMARGO et al., 2015; GOULART et al., 2016; GLEHN et al., 2016; BRANDOLT et al., 2017).

Na atualidade, o tratamento de candidíase consiste na administração de medicamentos, tanto tópicos quanto de uso sistêmicos, isolados ou associados, conforme manifestações clínicas. Os fármacos comumente empregados são os polienos como a anfotericina B, em variadas formulações, os azólicos como o fluconazol, cetoconazol e o voriconazol e as equinocandinas (SIQUEIRA et al., 2015). Contudo, estes antifúngicos, especialmente de uso sistêmico, possuem inúmeros efeitos adversos, podendo desencadear nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, reações de hipersensibilidade e ginecomastia (JENSEN et al., 2015). Agravando o problema relacionado às infecções, muitas cepas vêm desenvolvendo mecanismos de resistência aos tratamentos instituídos (NISHIMOTO; SHARMA; ROGERS, 2020).

Diante destes problemas apresentados, fica evidente que novos estudos envolvendo o desenvolvimento de fármacos

antifúngicos são necessários. Nesse sentido, a própolis, que apresenta um largo espectro de atividades biológicas, incluindo antimicrobiana, é uma interessante candidata a ter seu potencial antifúngico avaliado (BRASIL, 2018). Desta forma, no presente estudo objetivou-se avaliar o potencial antifúngico do extrato etanólico da própolis vermelha, frente a isolados patogênicos de *Candida* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa do tipo experimental, cujos testes de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro de Educação e Saúde-CES, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus Cuité, Paraíba.

A matéria prima para realização dos testes microbiológicos, foi o extrato etanólico de própolis vermelha (Apis Flora®), adquirido com recursos próprios em uma farmácia localizada na cidade de Cuité, Paraíba. A concentração contida no rótulo do produto era de 30% de própolis vermelha em sua composição. O lote do produto é 000801418 e fabricação 24/09/18.

As leveduras que foram utilizadas nos ensaios foram provenientes de isolados clínicos, de culturas feitas no setor de microbiologia do laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC), sendo elas: *Candida albicans* HU-01; *Candida albicans* ES-01; *Candida haemulonii* SA-01; *Candida parapsilosis* UR-01.

Quanto aos meios de cultura, utilizou-se o Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) para manutenção das leveduras teste e o caldo Sabouraud Dextrose duplamente concentrado para os ensaios microbiológicos. Ambos foram preparados de acordo com as instruções do fabricante (Kasvi®) sendo solubilizados com água destilada e esterilizados em autoclave, a 121°C por 15 minutos.

Na preparação do inóculo fúngico, os isolados foram primeiramente cultivados em meio ASD inclinado a 37°C por 24 horas (overnight). Inicialmente foram preparadas suspensões dos microrganismos em tubos contendo salina estéril (NaCl a 0,85% p/v). Todas as suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio do aparelho Vortex Biomixer. Após agitação, cada suspensão teve sua turbidez comparada e ajustada, utilizando o aparelho Espectrofotômetro Bel Photonics SP 1102, para a transmitância de 70%, no comprimento de onda de 530 nm, correspondendo aproximadamente a 10⁶ UFC/mL (SOUZA et al., 2007; MOREIRA et al., 2010).

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” (SOUZA et al., 2007; MOREIRA et al., 2010). Essa etapa foi determinada conforme recomendações da norma técnica e M27-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ambas publicadas em 2002. Em cada orifício da placa de microdiluição foram adicionados 100 µL do caldo Sabouraud Dextrose. Em seguida, 100 µL da substância teste foram adicionados na primeira cavidade e diluições seriadas sucessivas foram feitas, de forma que as concentrações variando de 15000 µg/mL a 29,3 µg/mL fossem alcançadas. Em seguida, 10 µL da suspensão fúngica foram adicionados a cada orifício da placa

contendo o meio com produto, resultando em uma concentração final de inóculo 10^5 UFC/mL.

Um controle de viabilidade do microrganismo foi realizado colocando-se em determinadas cavidades 100 μ L do meio sem os produtos teste com microrganismos. Paralelamente, foi realizado o mesmo experimento com o antifúngico cetoconazol. O cetoconazol foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluído no meio de cultura até atingir 0,03 μ g/mL a 16 μ g/mL. Para o controle da viabilidade do meio de cultura, foi dissolvido o DMSO (1%) no caldo Sabouraud Dextrose, no intuito de confirmar que o DMSO não apresentaria qualquer efeito inibitório. Ao final, todas as placas foram seladas e incubadas a 37°C por um período de 24 a 48 horas.

Compreende-se a CIM como a menor concentração capaz de inibir 100% do crescimento fúngico, sendo avaliada pela visualização da inibição do crescimento em cada cavidade, comparando com o controle (ausente de drogas). Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado expresso pela média geométrica.

Por fim, determinou a Concentração Fungicida Mínima (CFM). Nesta última etapa, foram adicionados 10 μ L de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) em cada cavidade, sendo a placa então incubada em estufa sob temperatura de 37°C durante um período de 2 horas, aproximadamente. Este agente químico revela a atividade das enzimas desidrogenase envolvidas no processo de respiração celular, através de uma reação entre suas propriedades

químicas e o microrganismo presente, assim distinguindo células vivas, que obtêm coloração avermelhada, das não viáveis, que mantem a sua cor (KUMAR; TARAFDAR, 2003). Estes ensaios foram realizados em triplicata.

A análise estatística foi realizada a partir do *software Statistical Package for the Social Sciences*, versão 13.0. Os dados foram mensurados em μ g/mL e houve a obtenção das médias. Utilizou-se o teste U de Mann-Whitney, em que $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para as hipóteses de nulidade.

A atividade de acesso ao patrimônio genético foi cadastrada no sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado (SisGen) em atendimento a Lei nº 13.123/2015, sob o número de cadastro A0D09C9.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após as microdiluições para avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM), demonstraram que o extrato de própolis vermelha apresentou atividade antifúngica, sendo capaz de inibir todas as cepas de *Candida* spp. testadas, com uma CIM variando de 234,4 a 937,5 μ g/mL (Tabela 1). Percebeu-se ainda, conforme interação do sistema com TTC, que os valores da Concentração Fungicida Mínima foram os mesmos da CIM.

Tabela 1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (μ g/mL) e Concentração Fungicida Mínima (μ g/mL) do extrato etanólico de própolis vermelha (PV) com controles positivo e negativo. (N=3).

Microrganismos	CIM da PV (μ g/ml)	CFM da PV (μ g/mL)	CIM do Cetoconazol (μ g/mL)	Controle de viabilidade	Controle com DMSO	P
<i>C. albicans</i> HU-01	234,4	234,4	0,25	+	+	0,029
<i>C. albicans</i> ES-01	468,8	468,8	0,125	+	+	
<i>C. haemulonii</i> SA-01	468,8	468,8	4,0	+	+	
<i>C. parapsilosis</i> UR-01	937,5	937,5	2,0	+	+	

(+): Crescimento fúngico. P – Teste U de Mann Whitney. *Em relação ao desvio padrão (DP), torna-se necessário evidenciar que os valores das triplicatas foram idênticos, logo, DP=0.

Para elaboração de um parâmetro comparativo dos resultados obtidos nos testes de CIM e CFM realizados, foi preparada uma placa de microdiluição contendo o antifúngico cetoconazol a 2%, utilizando como método de referência CLSI. Ao realizar a comparação entre o cetoconazol e o extrato etanólico de PV, observou-se diferenças significativas entre os valores de CIM ($p=0,029$) indicando que o cetoconazol, para este parâmetro, apresentou melhor atividade antifúngica frente as cepas investigadas.

Nota-se, em tempos de resistência antifúngica crescente, que além do extrato etanólico de própolis vermelha, ter apresentado uma moderada atividade biológica contra leveduras do gênero *Candida* nesta pesquisa, os resultados obtidos sobre a inibição das cepas selvagens de *Candida* spp., pelo antifúngico comercial cetoconazol foram satisfatórios, tendo em vista os baixos valores de CIM apresentados.

De acordo com estudo publicado por Cutrim et al. (2019), valores de CIM para extratos vegetais entre 100 e 500 μ g/mL, situação semelhante a encontrada no presente estudo para a maioria das cepas (tabela 1), configuram atividade

antimicrobiana moderada. A atividade antifúngica da própolis é corroborada por estudos anteriores, a exemplo de Fianco et al. (2013), no qual utilizaram extrato etanólico de própolis vermelha, para demonstrar que a própolis não só tinha atividade contra *C. albicans*, mas também contra outras espécies como *C. glabrata*, *C. kruzei* e *C. tropicalis*. Inclusive com uma CIM de 31,2 μ g/mL para uma cepa de *C. glabrata*, demonstrando forte atividade antifúngica.

Outros trabalhos também reforçam o potencial fungicida da própolis. Segundo Queiroz (2010), que estudou a atividade de extratos etanólicos de três tipos de própolis, contra espécies de *Candida* sp. através da CIM e CFM, as frações da própolis vermelha foram as que apresentaram menores valores de CIM, sendo todas as cepas inibidas.

Diante dos resultados encontrados na atual pesquisa, na qual observou-se que o extrato de própolis vermelha apresentou atividade anti-*candida*, buscou-se trabalhos que pudessem elucidar como se daria, possivelmente, essa interação da própolis com os microrganismos. Quanto a esse possível mecanismo de ação da própolis vermelha contra *Candida* sp., de acordo com

estudos realizados por Pippi et al. (2015), sugere-se que o composto atue sobre a parede celular do fungo. Além disso, estudos como o de Portilho et al. (2013), indicam que a própolis inibe a atividade da enzima extracelular fosfolipase, fato que prejudicaria a adesão das células fúngicas às células epiteliais do hospedeiro.

Segundo análises de Freire et al. (2016), foi observado que os componentes ativos da própolis também obtiveram uma alta capacidade fungicida, quando colocados frente a leveduras de *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, entre outras espécies, comprovando assim, que este produto natural pode agir como uma alternativa relevante no combate a fungos que causam infecções oportunistas, em especial, as candidíases.

Quanto a segurança de utilização da própolis, baseando-se em estudos pré-clínicos de toxicidade, realizados por pesquisadores como Pinto, Prado e Carvalho (2011), pode-se dizer que ela apresenta baixa toxicidade inata.

CONCLUSÕES

O extrato etanólico de própolis vermelha, apresenta atividade antifúngica moderada frente a isolados clínicos de *Candida* spp. com CIM e CFM, equivalentes, variando de 234,4 µg/mL a 937,5 µg/mL.

REFERÊNCIAS

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. DST. J Bras de Doenças Sexualmente Transmissíveis, v. 22, n.1, p.22-38, 2010.

BERNARDO, K. M. R.; LIMA, A. P. W. Ocorrência de candidíase no exame citológico de pacientes do hospital geral de Curitiba. Revista Saúde e Desenvolvimento, v.8, n.4, p.198-206, 2015.

BHESANIA, A. H.; NARAYANKHEDKAR, A. Vulvovaginal Candidosis. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, v. 6, n.1, p. 240-250, 2017. [10.20546/ijemas.2017.601.029](https://doi.org/10.20546/ijemas.2017.601.029).

BRANDOLT, T.M.; KLAFKE, G. B.; GONÇALVES, C. V.; BITENCOURT, L. R.; MARTINEZ, A. M. B.; MENDES, J. F.; MEIRELES, M. C. A.; XAVIER, M. O. Prevalence of *Candida* spp. in cervical-vaginal samples and the in vitro susceptibility of isolates. Brazilian Journal of Microbiology, v. 48, n.1, p.145–150, 2017. [10.1016/j.bjm.2016.09.006](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.006).

BRASIL. Ministério da Saúde. Glossário temático: práticas integrativas e complementares em saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2018.

CAMARGO, K. C.; ALVES, R. R. F.; BAYLÃO, L. A.; RIBEIRO, A. A.; ARAUJO, N. L. A. S.; SANTOS, S. H. R. Secreção vaginal anormal: Sensibilidade, especificidade e concordância entre o diagnóstico clínico e citológico. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria, v. 37, n. 5, p.222–228, 2015. [10.1590/SO100-720320150005183](https://doi.org/10.1590/SO100-720320150005183).

CASTANHEIRA, M.; DESHPANDE, L. M.; DAVIS, A. P.; RHOMBERG, P. R.; PFALLER, M. A. Monitoring Antifungal Resistance in a Global Collection of Invasive Yeasts and Molds: Application of CLSI Epidemiological Cutoff Values and Whole-Genome Sequencing Analysis for Detection of Azole Resistance in *Candida albicans*. Antimicrobial Agents Chemother, v.61, n.10, p.1-20, 2017. [10.1128/AAC.00906-17](https://doi.org/10.1128/AAC.00906-17).

CORRÊA, R. O. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de extratos vegetais frente aos principais microrganismos causadores da candidíase. Mestrado (Dissertação). Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, 2017.

CUTRIM, E. S. M.; TELES, A. M.; MOUCHREK, A. N.; MOUCHREK Filho, V. E.; EVERTON, G. O. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). Revista Virtual de Química, v. 11, n.1, p. 60-81, 2019.

EMERIBE, A. U.; NASSIR, I. A.; IFUNANYA, A. L. Prevalence of vulvovaginal candidiasis among nonpregnant women attending a tertiary health care facility in Abuja. Prevalence of vulvovaginal candidiasis among nonpregnant women attending a tertiary health care facility in Abuja, Nigeria. Research and Reports in Tropical Medicine, v. 6, n. 2, p.37–42, 2015. [10.2147/RRTM.S82984](https://doi.org/10.2147/RRTM.S82984).

FIANCO, A. L. B.; FALCÃO, M. A.; CASSEL, E.; MILÃO, D. Determinação da atividade antimicrobiana e teor de polifenóis totais de extratos etanólicos de própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). Revista Liberato, v.14, n.21, p.1-112, 2013.

FREIRES, I. A.; QUEIROZ, V. C. P. P.; FURLETTI, V. F.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; DUARTE, M. C. T.; ROSALEN, P. L. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. Journal de Mycologie Medicale, v. 26, n. 2, p.122-132, 2016. [10.1016/j.mycmed.2016.01.003](https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.01.003)

GIACOBINO, J. Aspectos microbiológicos e ambientais de candidemias em hospital terciário (HC/FMB/UNESP/Botucatu) localizado na região centro - sul do estado de São Paulo, Brasil. 88p. Doutorado (Tese). Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2018.

GLEHN, M. D. P.; FERREIRA, L. C. E. S.; SILVA, H. D. F.; MACHADO, E. R. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans* among Brazilian Women of Reproductive Age. Journal of Clinical and Diagnostic Research, v. 10, n. 11, p.24-27, 2016. [10.7860/JCDR/2016/21325.8939](https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21325.8939).

GOULART, L. S.; SANTIAGO, E. F.; RAMON, J. L.; MOURA, S. V.; SILVA, A. R.; SILVA JR, I. F.; CHÁVEZ-PAVONI, J. H.; ARAÚJO, C. Species distribution and antifungal susceptibility to vulvovaginal *Candida* spp. in southern Mato Grosso State, Brazil. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina

- Laboratorial, v. 52, n. 4, p.233–237, 2016. [10.5935/1676-2444.20160039](https://doi.org/10.5935/1676-2444.20160039).
- JENSEN, R. H.; ASTVAD, K. M. T.; SILVA, L. V.; SANGIARD, D.; JORGENSEN, R.; NIELSON, K. F.; MATHIASSEN, E. G.; DOROUDIAN, G.; PERLIN, D. S.; ARENDRUP, M. C. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance in vivo in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.70, n.9, p.2551-2555, 2015. [10.1093/jac/dkv140](https://doi.org/10.1093/jac/dkv140).
- KUMAR, P.; TARAFDAR, J. C. 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) as electron acceptor of culturable soil bacteria, fungi and actinomycetes. *Biology and Fertility of Soils*, v. 38, p.186-189, 2003.
- MOREIRA, A. C. P.; LIMA, E. O.; WANDERLEY, P. A.; CARMO, E. S.; SOUZA, E. L. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Brazilian Journal Microbiol*, v. 41, n. 1, p.28-33, 2010. [10.1590/S1517-83822010000100006](https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000100006).
- NISHIMOTO, A. T.; SHARMA, C.; ROGERS, P. D. Molecular and genetic basis of azole antifungal resistance in the opportunistic pathogenic fungus *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 75, n.2, p.257-270, 2020. [10.1093/jac/dkz400](https://doi.org/10.1093/jac/dkz400).
- PANWAR, S.; FAUJDAR, S. S. Prevalence, Distribution, Risk factors and Antifungal Susceptibility Profiles of *Candida* species in a Tertiary Care Hospital. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 5, n. 4, p. 329–337, 2016. [10.20546/ijcmas.2016.504.039](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.039).
- PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades, usos e aplicações da própolis. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 8, n.3, p.76–100, 2011. [10.5216/ref.v8i3.15805](https://doi.org/10.5216/ref.v8i3.15805).
- PIPPI, B.; LANA, A. J. D.; MORAES, R. C.; GUEZ, C. M.; MACHADO, M.; OLIVEIRA, L. F. S.; POSER, G. L. V.; FUENTEFRÍA, A. M. *In vitro* evaluation of the acquisition of resistance, antifungal activity and synergism of Brazilian red propolis with antifungal drugs on *Candida* spp. *Journal of Applied Microbiology*, v.118, n.4, p.839-850, 2015. [10.1111/jam.12746](https://doi.org/10.1111/jam.12746).
- PORTILHO, D. R.; MELO, I. A.; GUERRA, R. C.; BATISTA, H. L.; FERNANDES, C. H. C. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do tocatins. *Revista Científica do ITPAC*, v. 6, n. 2, 2013.
- QUEIROZ, V. C. P. P. Avaliação do potencial antifúngico de própolis de *Apis mellifera* contra leveduras do gênero *Candida*. 82p. Mestrado (Dissertação). Campinas: Universidade Estadual de Campina. 2010.
- SIQUEIRA, A. B. S.; RODRIGUEZ, L. R. N. A.; SANTOS, R. K. B.; ABREU, S.; PEIXOTO, R. F.; GUREL, B. C. V. Antifungal activity of propolis against *Candida* species isolated from cases of chronic periodontitis. *Brazilian Oral Research*, v.29, n.1, p.1-6, 2015. [10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0083](https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0083).
- SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Control*, v. 8, n.5, p. 409–413, 2007. [10.1016/j.foodcont.2005.11.008](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.008).
- VIEIRA, C. A.; SOUZA, W. W. R.; LIMA, J. S.; GOULART, L. S. Estudo comparativo das espécies de *Candida*: sensibilidade antifúngica e genes de virulência. *Multitemas*, v. 23, n. 54, p.169-182, 2018. [10.20435/multi.v23i54.1709](https://doi.org/10.20435/multi.v23i54.1709).