

Atividade antimicrobiana e anti-inflamatória da Anadenanthera colubrina (Vell.)

Brenan

Antimicrobial and anti-inflammatory activity of Anadenanthera colubrina (Vell.)

Brenan

Actividad antimicrobiana y antiinflamatoria de Anadenanthera colubrina (Vell.)

Brenan

Recebido: 29/09/2019 | Revisado: 06/10/2019 | Aceito: 15/10/2019 | Publicado: 29/10/2019

Amélia Ruth Nascimento Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3565-5125>

Centro Universitário Unifacisa, Brasil

E-mail: ameliaruth.lima@gmail.com

Raissa Gonçalves Macedo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0677-4106>

Centro Universitário Unifacisa, Brasil

E-mail: raissagmacedonutri@gmail.com

Gustavo Gomes Batista

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1096-735X>

Centro Universitário Unifacisa, Brasil

E-mail: gustavogobatista@gmail.com

Gabriel Barbosa Câmara

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4964-0837>

Centro Universitário Unifacisa, Brasil

E-mail: gabrielbarbosacamara@hotmail.com

Rennaly de Freitas Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4964-0837>

Centro Universitário Unifacisa, Brasil

E-mail: rennaly_lima@hotmail.com

Tharcia Kiara Beserra de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6352-7254>

Centro Universitário Unifacisa, Brasil

E-mail: tharcia_kiara@hotmail.com

Resumo

O presente estudo teve como objetivo analisar a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória do extrato da *A. colubrina* (Vell.) Brenan através de um painel de atividades biológicas. O extrato hidroalcoólico da *A. colubrina* foi obtido através de maceração, o qual rotaevaporado e liofilizado. Foram realizados testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) contra *Candida albicans* (ATCC 10231 e cepa clínica), *Candida tropicalis* (ATCC 750) e *Candida krusei* (ATCC 6258), através da microdiluição. A atividade anti-inflamatória foi verificada através do edema de pata induzido. Diante dos testes realizados, o extrato da *A. colubrina* demonstrou forte atividade antifúngica contra a *C. albicans* (ATCC 10231) e a *C. krusei* (CIM: 7,81 µg/mL e 31,25 µg/mL, respectivamente). Para a cepa clínica da *C. albicans* e *C. tropicalis* a atividade antifúngica foi considerada fraca (CIM: 500 µg/mL e >2000 µg/mL, respectivamente). Para os testes de CFM, o extrato demonstrou atividade fungistática sobre as cepas *C. albicans*, (ATCC 10231 e cepa clínica) e *C. tropicalis* (CFM: > 1000 µg/mL, > 2000 µg/mL, > 5000 µg/mL, respectivamente), observando-se efeito fungicida apenas sobre a *C. krusei* (CFM: 31,25 µg/mL). Em relação à atividade anti-inflamatória, dentre as concentrações do extrato testadas, aquela administrada na menor dosagem apresentou maior redução do edema de pata induzido. De acordo com o exposto, é evidente o potencial anti-*Candida* da *A. colubrina*. É interessante a realização de estudos que possam confirmar o potencial anti-inflamatório da planta em teste.

Palavras-chave: Plantas medicinais; Testes de sensibilidade microbiana; Inflamação;

Abstract

The present study aimed to analyze the antimicrobial and anti-inflammatory activity of *A. colubrina* (Vell.) Brenan extract through a panel of biological activities. The hydroalcoholic extract of *A. colubrina* was obtained by maceration, which was rotary evaporated and lyophilized. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (CFM) tests were performed microdilution against *Candida albicans* (ATCC 10231 and clinical strain), *Candida tropicalis* (ATCC 750) and *Candida krusei* (ATCC 6258). Anti-inflammatory activity was verified by induced paw edema. According to the tests performed, *A. colubrina* extract showed strong antifungal activity against *C. albicans* (ATCC 10231) and *C. krusei* (MIC: 7.81 µg / mL and 31.25 µg / mL, respectively). For the clinical strain of *C. albicans* and *C. tropicalis*, antifungal activity was considered weak (MIC: 500 µg / mL and > 2000 µg / mL, respectively). For the CFM tests, the extract showed fungistatic activity on *C. albicans* strains (ATCC 10231 and clinical strain) and *C. tropicalis* (CFM:>

1000 µg / mL, > 2000 µg / mL, > 5000 µg / mL, respectively), with fungicidal effect on *C. krusei* (CFM: 31.25 µg / mL). About the anti-inflammatory activity, among the concentrations of the extract tested, the one administered at the lower dosage presented a greater reduction of the induced paw edema. According to the above, the anti-Candida potential of *A. colubrina*. It is interesting to carry out studies that can confirm the anti-inflammatory potential of the test plant.

Keywords: Medicinal plants; Microbial sensitivity tests; Inflammation;

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo analizar la actividad antimicrobiana y antiinflamatoria del extracto de *A. colubrina* (Vell.) Brenan a través de un panel de actividades biológicas. El extracto hidroalcohólico de *A. colubrina* se obtuvo por maceración, se evaporó por rotación y se liofilizó. Las pruebas de concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima de fungicida (CFM) se realizaron contra *Candida albicans* (ATCC 10231 y cepa clínica), *Candida tropicalis* (ATCC 750) y *Candida krusei* (ATCC 6258) mediante microdilución. La actividad antiinflamatoria se verificó mediante edema de la pata inducido. Dadas las pruebas realizadas, el extracto de *A. colubrina* mostró una fuerte actividad antifúngica contra *C. albicans* (ATCC 10231) y *C. krusei* (MIC: 7,81 µg / ml y 31,25 µg / ml, respectivamente). Para la cepa clínica de *C. albicans* y *C. tropicalis*, la actividad antifúngica se consideró débil (MIC: 500 µg / ml y > 2000 µg / ml, respectivamente). Para las pruebas de CFM, el extracto mostró actividad fungistática en *C. albicans* (ATCC 10231 y cepa clínica) y *C. tropicalis* (CFM: > 1000 µg / ml, > 2000 µg / ml, > 5000 µg / ml, respectivamente), observando el efecto fungicida solo en *C. krusei* (CFM: 31.25 µg / mL). Con respecto a la actividad antiinflamatoria, entre las concentraciones del extracto analizado, el administrado en la dosis más baja presentó una mayor reducción del edema inducido de la pata. En consecuencia, el potencial anti-Candida de *A. colubrina*. Es interesante realizar estudios que puedan confirmar el potencial antiinflamatorio de la planta bajo prueba.

Palabras clave: Plantas medicinales; pruebas de sensibilidad microbiana; inflamación;

1. Introdução

Fitoterápicos são medicamentos produzidos a partir de matéria-prima vegetal, com propriedades profiláticas e/ou curativas, e necessitam assegurar qualidade, eficácia clínica e segurança para uso e comercialização, comprovados por meio de levantamentos

etnofarmacológicos e ensaios clínicos (Rodrigues, 2016). O desenvolvimento de pesquisas acerca de plantas com propriedades farmacológicas vem ampliando-se e instigando cada dia mais os pesquisadores na descoberta de novas características em plantas pouco estudadas, buscando o desenvolvimento de novos fármacos (Simonetti et al., 2016).

Dentre as plantas medicinais utilizadas comumente no Brasil encontra-se a *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, pertencente à família *Leguminosae*, subfamília *Mimosideae*, conhecida popularmente como angico, a qual ocorre em florestas estacionais, distribuindo-se no nordeste do Brasil, na Caatinga e em florestas estacionais ao longo das bacias do Paraguai e Paraná (Nepomuceno et al., 2007). Utiliza-se, popularmente, a casca do caule como intervenção terapêutica de várias complicações do fígado, gonorreia, infecção dos ovários, tratamento da bronquite e da angina e tratamento de inflamações em geral (Araújo, 2015; Araújo et al., 2015). Em relação ao potencial antifúngico, verifica-se importante ação da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, devido a presença de polifenóis, capazes de inativar enzimas essenciais para o crescimento de fungos (Carvalho et al., 2011; Lima et al., 2014). Gutierrez-Lugo et al. (2004) verificaram uma possível relação entre os compostos da *A. colubrina* e os efeitos em doenças inflamatórias, justificando a sua utilização na medicina tradicional para tratar problemas inflamatórios.

O presente estudo teve como objetivo analisar a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória do extrato da *A. colubrina* (Vell.) Brenan através de um painel de atividades biológicas.

2. Metodologia

O presente estudo trata-se de uma que coleta de dados quantitativos ou numéricos por meio do uso de medições de grandezas e obtém-se por meio da metrologia, números com suas respectivas unidades. Estes métodos geram conjuntos ou massas de dados que podem ser analisados por meio de técnicas matemáticas como é o caso das porcentagens, estatísticas e probabilidades, métodos numéricos, métodos analíticos e geração de equações e/ou fórmulas matemáticas aplicáveis a algum processo (Pereira., et al., 2018).

2.1 Material vegetal

A planta foi coletada na região do semiárido paraibano, na Serra de Bodocongó, município de Queimadas (7o 22' 25" S, 35o 59' 32"W), na meso região da Borborema e

micro-região do Cariri Oriental, no mês de setembro. O espécime testemunho da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan encontra-se depositado na coleção do Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I, Campina Grande, Paraíba (nº 667/ACAM).

2.2 Obtenção do extrato hidroalcoólico

A casca da *A. colubrina* (100g), seca e moída, foi imersa em álcool 80% (250 ml) por 48 horas, em temperatura ambiente. A mistura resultante foi filtrada e os resíduos imersos, por mais duas vezes, em álcool 80%. As três fases líquidas finais foram concentradas em rotaevaporador e, posteriormente, liofilizadas.

2.3 Cepas de microrganismos e atividade antimicrobiana

O teste de suscetibilidade foi realizado sobre cepas de diversas espécies de *Candida* spp.: *C. albicans* (ATCC 10231), *C. albicans* (cepa clínica), *C. tropicalis* (ATCC 750) e *C. krusei* (ATCC 6258). A atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *A. colubrina* foi identificada pela determinação das concentrações mínimas inibitória (CIM) e fungicida (CFM), de acordo com as normas Clinical and Laboratory Standards Institute (Wayne, 2008). O teste foi realizado em microplacas de 96 poços contendo 100 µL/poço do meio de cultura específico (RPMI 1640 - Angus Buffers & Biochemicals, Niagara Falls, NY, USA). O extrato foi diluído em álcool a 40% (8 mg/mL), transferido para o primeiro poço, e realizada diluições seriadas para se obter concentrações entre 15,62 e 2000 µg/mL. Foi utilizada a nistatina (Sigma-Aldrich®) para o controle de atividade antimicrobiana, o álcool 40% para eliminar a possibilidade de ação do diluente e o microrganismo sem tratamento para controle de crescimento do microrganismo. Os inóculos fúngicos ($5,0 \times 10^3$ UFC/mL) foram adicionados aos poços e as placas incubadas a 37°C por 24 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato que inibiu crescimento microbiano visível, confirmado pela mudança da coloração do meio RPMI 1640.

Para determinar a CFM, uma alíquota de 20 µL de cada poço, com concentrações maiores que a CIM, foram subcultivadas em meio Agar Sabouraud Dextrose, e incubadas a 37°C por 48 horas. A CFM foi definida como a menor concentração que inibiu crescimento visível no meio sólido utilizado.

2.4 Atividade anti-inflamatória

Foram utilizados camundongos Swiss, machos, com pesos entre 35 a 40 g, mantidos em câmaras com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) em ciclos claro-escuro de 12 horas. A atividade anti-inflamatória foi testada através do teste de edema de pata induzido por carragenina. Os protocolos utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento - CEUA/CESED.

O experimento foi realizado utilizando-se dois grupos controle e três grupos experimentais (06 camundongos por grupo): o extrato foi administrado nas concentrações de 100, 200 e 400mg/Kg; o grupo controle negativo foi o veículo diluente da *A. colubrina* (água destilada) e o controle positivo a indometacina na dose de 10mg/kg, todos administrados por via oral. O volume da pata traseira direita de todos os animais foi verificado antes de qualquer tratamento, sendo a pata marcada em altura definida para garantir a regularidade da medida, antes da administração das amostras (tempo 0h), através do uso de um pletismômetro (7140, Ugo, Basile, Itália). Após aplicação de 0,1 mL de carragenina (1% p/v em solução salina), as substâncias testadas foram administradas e as patas traseiras medidas nos períodos de 30 min, 1h, 2h e 3h. Os resultados foram calculados como porcentagem de inibição de edema de acordo com a equação: % de inibição do edema = $[(V_t - V_0)_{\text{controle}} - (V_t - V_0)_{\text{experimental}}] / (V_t - V_0) \times 100$, onde V_t é a média de volume para cada grupo e o V_0 o volume médio para cada grupo antes dos diferentes tratamentos.

Os resultados foram demonstrados através da média \pm erro padrão. Análise de variância (ANOVA) seguida do teste de t-Student foi utilizada para medir o grau de significância ($p < 0,05$).

3. Resultado e Discussão

Os valores da CIM e CFM para o extrato hidroalcoólico da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan estão representados na Tabela 1. O presente estudo indica potencial atividade antifúngica para o extrato hidroalcoólico da casca da *A. colubrina*, observando-se boa atividade antimicrobiana sobre a cepa padrão da *Candida albicans* (CIM = 7,81 $\mu\text{g/mL}$) e *Candida krusei* (CIM = 31,25 $\mu\text{g/mL}$), moderada atividade sobre a cepa clínica da *Candida albicans* (CIM = 500 $\mu\text{g/mL}$), e inatividade sobre a *Candida tropicalis* (CIM > 2000 $\mu\text{g/mL}$) (Holetz et al., 2002).

TABELA 1. Concentrações Mínimas Inibitória e Fungicida do extrato hidroalcoólico da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan avaliado contra espécies de *Candida spp.*

Microrganismos	A. colubrina	
	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CFM ($\mu\text{g/mL}$)
Candida albicans ATCC 10231	7,81	> 1000
Candida albicans Cepa clínica	500	> 2000
Candida tropicalis ATCC 750	> 2000	> 2000
Candida krusei ATCC 6258	31,25	31,25

Fonte: Próprio Autor, 2019.

Para a maioria das cepas foi observada ação de caráter fungistático, indicando potencial na inibição do crescimento fúngico, observando-se que apenas para a *Candida krusei* foi observado um valor de CFM menor (31,25 $\mu\text{g/mL}$), indicando ação do extrato na morte desta cepa, como é mostrado na tabela acima.

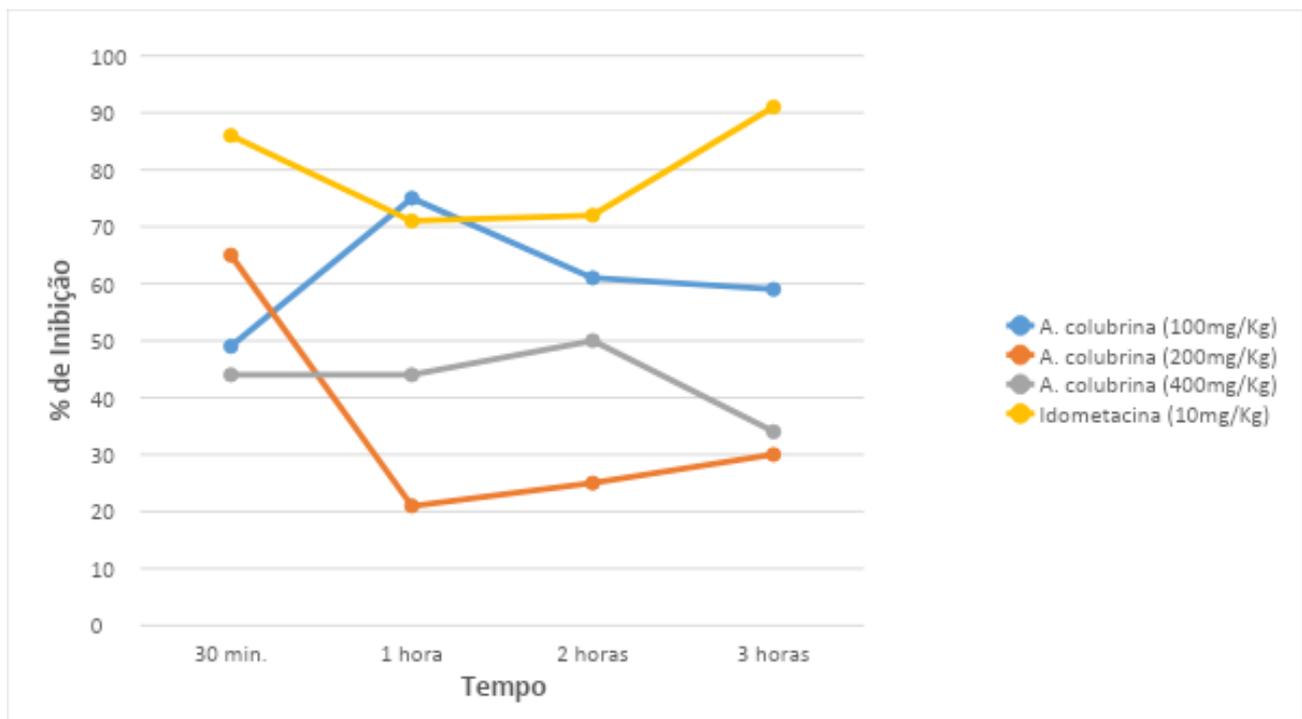
Considerando as limitações dos agentes antifúngicos comercialmente disponíveis para o tratamento de doenças fúngicas, devido ao aumento da resistência fúngica, alto custo e efeitos adversos, os produtos naturais consistem em importantes alternativas para o tratamento destas doenças (Bakhshi et al., 2012). Observa-se que a *A. colubrina* apresenta forte potencial antifúngico, capaz de inibir o crescimento celular e a formação de biofilme de *Candida albicans* (Lima et al., 2014), verificando-se a potencialidade desta planta para o desenvolvimento de novos fármacos, que possam ser mais efetivos contra as infecções fúngicas e com menores efeitos tóxicos para o organismo humano.

Barreto et al. (2016) relatou o potencial antimicrobiano da *A. colubrina* contra bactérias, verificando que o extrato da casca do caule foi capaz de potencializar o efeito da neomicina e amicacina contra a *Staphylococcus aureus*, importantes antibióticos utilizados pela população, indicando que esta planta pode ser uma fonte de metabólitos secundários ativos contra bactérias.

Apesar de ser amplamente utilizada pela população, poucos são os estudos publicados que investigam o mecanismo de ação da *A. colubrina* sobre os microrganismos causadores de patologias. Estudos relatam a presença de compostos importantes na casca do caule do angico que podem justificar sua ampla utilização pela população, tais como taninos e polifenóis totais (Pessoa et al., 2012; Lima et al., 2014). Melo et al. (2010) identificou potencial antioxidante médio para a *A. colubrina*, podendo apresentar função retardativa na velocidade da oxidação de radicais livres, agindo como substância importante na prevenção de diversas doenças.

Em relação à atividade anti-inflamatória investigada no presente estudo, os resultados encontram-se expressos na Figura 1 e na Tabela 2.

FIGURA 1. Efeito da administração por via oral do extrato hidroalcoólico da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan sob o edema de pata induzido por carragenina.



Fonte: Próprio Autor, 2019.

Como pode ser demonstrado na figura 1, houve alterações durante a administração do extrato a *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan com 100, 200 e 400 mg/Kg,

respectivamente (30 min, e de 1 em 1 hora), e da indometacina, sendo 10 mg/Kg sobre o edema de pata induzido por carragenina (1000 μ g/pata).

O grupo que recebeu a *A. colubrina* na concentração de 100 mg/Kg, dentre as substâncias em teste, apresentou o comportamento mais expressivo na inibição do edema, não havendo diferença estatisticamente significativa com o resultado apresentado pelo controle, indometacina ($p > 0,05$). Observa-se, porém diferença estatisticamente significativa da *A. colubrina* (100 mg/Kg) e indometacina com as duas outras concentrações da *A. colubrina* ($p < 0,05$).

Observa-se que o pico de inibição para a concentração de 100 mg/Kg da *A. colubrina* foi no período de 1 hora, inibindo a inflamação em 75%, enquanto que para a indometacina ocorreu no tempo máximo, de 3 horas, com inibição DE 91%.

TABELA 2. Efeito do extrato hidroalcoólico da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan sobre o volume do edema de pata induzido por carragenina (n = 6).

Grupos experimentais	Média \pm E.P.	Média % de Inibição
A. colubrina (100mg/Kg)	0,46 \pm 0,3*	61
A. colubrina (200mg/Kg)	0,78 \pm 0,4	35,25
A. colubrina (400mg/Kg)	0,71 \pm 0,6	43
Idometacina (10mg/Kg)	0,24 \pm 0,2*	80
Controle	1,22 \pm 0,4	-

Fonte: Próprio Autor, 2019.

Torna-se importante observar que a Idometacina como fármaco de referência, mostrou resultado significativo após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de t-Student ($p < 0,05$).

A inibição do edema de pata induzido por carragenina envolve mecanismos relacionados com a produção de prostaglandinas, em especial PGE2 α e PGF2 α , apresentando pico máximo entre 2 a 3 horas após a aplicação, sendo a atividade equivalente a um anti-inflamatório não-esteroidal (Sartori et al., 2003).

Santos et al. (2013) avaliaram o potencial anti-inflamatório e antinociceptivo do extrato aquoso da casca da *A. colubrina* em ratos e camundongos e verificaram consistência

nos resultados, embasando o uso popular desta planta para tratamento de doenças inflamatórias, sugerindo a presença de componentes ativos para o desenvolvimento de agentes farmacológicos, embora o mecanismo de ação ainda precise ser elucidado. Damascena et al. (2014), também avaliando o extrato aquoso da casca da *A. colubrina*, constataram efeitos antinociceptivos orofaciais centrais e periféricos, evidenciando o potencial do extrato em reduzir a propagação dos mediadores inflamatórios da dor.

4. Considerações Finais

De acordo com os resultados encontrados no presente estudo, confirma-se a ação da indometacina como substância anti-inflamatória e sugere-se a necessidade de estudos mais específicos para a comprovação da *A. colubrina* com esta finalidade, uma vez que a inibição da inflamação ocorreu apenas para o extrato de menor concentração, com o pico após 1 hora da aplicação da carragenina.

Estudos futuros para determinação do mecanismo de ação da *A. colubrina* como antifúngico sobre microrganismos do gênero *Candida* também são importantes, a fim de, futuramente, isolar o princípio ativo responsável pelo expressivo efeito antifúngico, objetivando o desenvolvimento de fármacos e obtenção de futuras patentes.

Referências

Araújo, D.R.C. (2015) - *Anadenanthera colubrina* var. *Cebil* (Griseb.) Altschul (Fabaceae: Mimosoideae): Potencial antimicrobiano e variações sazonais nos teores de metabólitos secundário. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Ciências Biológicas) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Araújo, E.R.D. et al. (2015) - Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera Colubrina* frente à bactérias gram negativa e gram positiva. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, 5(3): 66-71.

Bakhshi, M. et al. (2012) - Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatinmouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology*, 29(2): 680–684.

Barreto, H.M. et al. (2016) - Enhancement of the antibiotic activity of aminoglycosides by extracts from *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* against multi-drug resistant bacteria. *Natural product research*, 30(11):1289-1292.

Damascena, N.P. et al. (2014) - Antioxidant and orofacial antinociceptive activities of the stem bark aqueous extract of *Anadenanthera colubrina* (Velloso) Brenan (Fabaceae). *Natural product research*, 28(10):753-756.

Holetz, F.B. et al. (2012) - Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7): 10027-1031.

Lima, R. D. F., Alves, É. P., Rosalen, P. L., Ruiz, A. L. T. G., Teixeira Duarte, M. C., Góes, V. F. F., ... & Melo de Brito Costa, E. M. (2014). Antimicrobial and antiproliferative potential of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Melo, J.G. et al. (2010) - Antiproliferative Activity, Antioxidant Capacity and Tannin Content in Plants of Semi-Arid Northeastern Brazil. *Molecules*, 15(12):8534-8542.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica.[e-book]*. Santa Maria/RS, Ed. UAB/NTE/UFSM.

Pessoa, W.S. et al. (2012) - Effects of angico extract (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) in cutaneous wound healing in rats. *Acta cirurgia brasileira*, 27(10):655-670.

Rodrigues, L.A. et al. (2016) - Elaboração de um fitoterápico antibiótico a partir da casca de *Anadenanthera macrocarpa*. *Revista científica da Faminas*, v. 10, n. 3.

Santos, J.S. et al. (2013) - Beneficial effects of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan extract on the inflammatory and nociceptive responses in rodent models. *Journal of ethnopharmacology*, 148(1):218-222.

Sartori, L.R. et al. (2003) - Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 13, p.17-19.

Simonetti, E. et al. (2016) - Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. *Rev. bras. plantas med.*, Botucatu, 18:(1)9-18.

Wayne, P. (2008) - Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. *CLSI document M27-A3 and Supplement S*, 3, 6-12.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Amélia Ruth Nascimento Lima – 16,67%

Raissa Gonçalves Macedo – 16,66%

Gustavo Gomes Batista – 16,66%

Gabriel Barbosa Câmara – 16,66 %

Rennaly de Freitas Lima – 16,66 %

Tharcia Kiara Beserra de Oliveira - 16,66%