

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2026.



unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Efeitos do eugenol e cinamaldeído em isolados clínicos de *Candida auris*

DÉBORA SILVA MARQUES DE SOUSA

ORIENTADOR: PROF. DRA. LUCIANA DA SILVA RUIZ MENEZES

COORIENTADOR: PROF. ASSOC. ARY FERNANDES JÚNIOR

BOTUCATU-SP

2024



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Efeitos do eugenol e cinamaldeído em isolados clínicos de *Candida auris*

DÉBORA SILVA MARQUES DE SOUSA

ORIENTADORA: PROF. DRA. LUCIANA DA SILVA RUIZ MENEZES

COORIENTADOR: PROF. ASSOC. ARY FERNANDES JÚNIOR

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: Biologia de Parasitas e Microrganismos.

Prof. Dra. Luciana da Silva Ruiz Menezes

BOTUCATU-SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Sousa, Débora Silva Marques de.

Efeitos do eugenol e cinamaldeído em isolados clínicos de
Candida auris / Débora Silva Marques de Sousa. - Botucatu,
2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Luciana da Silva Ruiz Menezes

Coorientador: Ary Fernandes Júnior

Capes: 21201030

1. Antifúngicos. 2. *Candida auris*. 3. Eugenol.
4. Resistência a Múltiplos Medicamentos. 5. Produtos
Naturais.

Palavras-chave: Atividade antifúngica; *C. auris*;
Cinamaldeído; Eugenol; Multirresistência.

Dedicatória

Dedico esse trabalho aos meus pais e irmão, por todo o apoio durante esses anos.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus, por ter permitido que eu chegasse até aqui e me sustentado em meio às dificuldades. Por ter me dado forças quando eu acreditei que não conseguiria terminar esse trabalho.

Aos meus pais e irmão, Maria Sueli da Silva, José Marques de Sousa e Diego Silva Marques de Sousa, por todo o apoio emocional e financeiro por todos esses anos, desde a minha graduação.

Aos meus amigos de laboratório, Ana Flávia Marques Pereira, Tatiane Baptista Zapata, Alessandra Aguirra Sani, Nicolas Ripari, Gabrielle Pires de Moraes Monari e Cassiana Ferreira da Rosa. Obrigada por terem me ajudado a desenvolver esse trabalho e pela amizade nesses últimos anos. Vocês tornaram essa jornada mais leve.

Ao meu colaborador, Jacques Meis, por gentilmente ter cedido os isolados utilizados nesse trabalho.

À Mirian Carolin Esgoti Aal, por ter disponibilizado de seu tempo para me ensinar tudo sobre cultura celular. À equipe do Instituto de Biotecnologia de Botucatu (IBTEC) (Lucilene Delazari dos Santos, Bruna Cavecci Mendonça e aos demais alunos que colaboraram) pela disponibilidade de nos ajudar nesse trabalho com as análises proteômicas.

Aos professores Eduardo Bagagli e Sandra de Moraes Gimenes Bosco pelo apoio e por sempre me incentivarem a seguir em frente. Ao meu co-orientador, Ary Fernandes Júnior, por todo o apoio e incentivo no desenvolvimento desse trabalho.

À minha orientadora, Luciana da Silva Ruiz Menezes. Sempre serei grata por você ter aceitado me orientar em condições tão adversas. Obrigada por ter dividido comigo até o que você não tinha para que esse trabalho pudesse ser finalizado. Sem a sua ajuda, teria sido muito mais difícil finalizar essa dissertação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para realização deste projeto (processo número 2022/07036-0).

*“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”
(Leonardo da Vinci)*

“A maior recompensa pelo nosso trabalho não é o que nos pagam por ele, mas aquilo em que ele nos transforma.” (John Ruskin)

RESUMO

Candida auris foi identificada pela primeira vez no Japão há mais de uma década. Desde então, foi relatada em todos os continentes e tem se tornado uma ameaça global devido à sua rápida capacidade de desenvolver resistência à todas as classes de antifúngicos (azólicos, polienos e equinocandinas), comprometendo o tratamento das infecções. Também apresenta menor susceptibilidade aos desinfetantes hospitalares, facilitando sua permanência nesses locais. Em 2020 foi relatado o primeiro surto no Brasil, e desde então foram notificados mais de 70 casos em todo o país. Neste cenário, os produtos naturais têm sido amplamente estudados a fim de encontrar moléculas com potencial antimicrobiano. Poucos produtos com ação antifúngica foram aprovados nas últimas décadas por conta da citotoxicidade em células humanas. O eugenol e cinamaldeído apresentam ação antimicrobiana contra várias espécies de *Candida*. Assim, os objetivos deste estudo foi avaliar a ação destes compostos em isolados clínicos de *C. auris* através de testes de sensibilidade de microdiluição em caldo, bem como verificar os possíveis mecanismos de ação desses compostos através de análise proteômica. Ambos os produtos apresentaram uma ação fungicida em concentrações variando entre 31,25 e 250 µg/mL. Os produtos apresentaram ação sinérgica combinados entre si e em combinação com o itraconazol. Eugenol e cinamaldeído reduziram a produção de biomassa de biofilme em mais de 50%, entretanto, a biomassa de biofilme foi aumentada para a maioria dos isolados quando tratados com ambos os produtos. O eugenol não apresentou citotoxicidade nas concentrações em que inibe o crescimento da levedura. Por outro lado, o cinamaldeído se mostrou mais citotóxico nas concentrações em que houve inibição do crescimento, causando uma redução da viabilidade celular de até 95% na concentração de 500 µg/mL. A análise proteômica demonstrou que o mecanismo de ação de eugenol e cinamaldeído possivelmente está relacionada à biossíntese de ergosterol. Os resultados desse estudo sugerem que o eugenol pode ser um candidato para o desenvolvimento de formulações para o tratamento de infecções causadas por *C. auris*. Devido à elevada citotoxicidade e reatividade do cinamaldeído, esse composto poderia ser estudado como possíveis formulações de desinfetantes e seus derivados avaliados em relação à segurança.

Palavras-chave: Atividade antifúngica, *C. auris*, Cinamaldeído, Eugenol, Multirresistência, Produtos Naturais.

ABSTRACT

Candida auris was first identified in Japan more than a decade ago. Since then, it has been reported on all continents and has become a global threat due to its rapid ability to develop resistance to all classes of antifungals (azoles, polyenes and echinocandins), compromising the treatment of infections. It is also less susceptible to hospital disinfectants, making it easier to stay in these places. In 2020, the first outbreak was reported in Brazil, and since then more than 70 cases have been reported across the country. In this scenario, natural products have been widely studied in order to find molecules with antimicrobial potential. Few products with antifungal action have been approved in recent decades due to their cytotoxicity in human cells. Eugenol and cinnamaldehyde have antimicrobial action against several *Candida* species. So, the objectives of this study were to evaluate the action of these compounds on clinical isolates of *C. auris* through broth microdilution sensitivity tests, as well as to verify the possible mechanisms of action of these compounds through proteomic analysis. Both products showed a fungicidal action at concentrations ranging between 31.25 and 250 µg/mL. The products showed synergistic action combined with each other and in combination with itraconazole. Eugenol and cinnamaldehyde reduced biofilm biomass production by more than 50%, however, biofilm biomass was increased for most isolates when treated with both products. Eugenol did not show cytotoxicity at concentrations at which it inhibits yeast growth. On the other hand, cinnamaldehyde was more cytotoxic at concentrations where growth was inhibited, causing a reduction in cell viability of up to 95% at a concentration of 500 µg/mL. Proteomic analysis demonstrated that the mechanism of action of eugenol and cinnamaldehyde is possibly related to the biosynthesis of ergosterol. The results of this study suggest that eugenol may be a candidate for the development of formulations for the treatment of infections caused by *C. auris*. Due to the high cytotoxicity and reactivity of cinnamaldehyde, this compound could be studied as possible formulations of disinfectants and their derivatives evaluated for safety.

Keywords: Antifungal activity, *C. auris*, Cinnamaldehyde, Eugenol, Multidrug resistance, Natural Products.

Lista de Figuras

Figura 1. Interações sinérgicas entre eugenol e cinamaldeído, eugenol e itraconazol e cinamaldeído e itraconazol para os representantes dos clados I, II, III, IV, V, isolado da Bahia e CDC B11903.

Figura 2. Interações sinérgicas entre eugenol e cinamaldeído, eugenol e itraconazol e cinamaldeído e itraconazol para o representante do clado V, isolado da Bahia e CDC B11903.

Figura 3. Gráficos de inibição da formação de biomassa de biofilme por eugenol para os isolados 3, 4, 6, 10, 11 e 12.

Figura 4. Gráficos de inibição da formação de biomassa de biofilme por eugenol para os isolados 13, 19, 22, 25 e CDC B11903.

Figura 5. Gráficos de inibição da formação de biomassa de biofilme por cinamaldeído para os isolados 3, 4, 6, 10, 11 e 12.

Figura 6. Gráficos de inibição da formação de biomassa de biofilme por cinamaldeído para os isolados 13, 19, 22, 25 e CDC B11903.

Figura 7. Gráficos de atividade metabólica de biofilme por eugenol para os isolados 3, 4, 6, 10, 11 e 12.

Figura 8. Gráficos de atividade metabólica de biofilme por eugenol para os isolados 13, 19, 22, 25 e CDC B11903.

Figura 9. Gráficos de atividade metabólica de biofilme por cinamaldeído para os isolados 3, 4, 6, 10, 11 e 12.

Figura 10. Gráficos de atividade metabólica de biofilme por cinamaldeído para os isolados 13, 19, 22, 25 e CDC B11903.

Figura 11. Viabilidade celular após 48 horas de tratamento com eugenol.

Figura 12. Viabilidade celular após 48 horas de tratamento com cinamaldeído.

Figura 13. Elaboração da curva de calibração do método de Bradford, utilizando como proteína padrão comercial albumina bovina. Quatro diluições da proteína padrão foram ensaiadas para aquisição da equação da reta.

Figura 14. Diagrama de Venn evidenciando proteínas comuns entre os grupos Controle e Itraconazol.

Figura 15. Diagrama de Volcano Plot. Representando as proteínas comuns diferencialmente expressas entre o grupo Controle e o grupo Itraconazol.

Figura 16. Interação proteína-proteína evidenciando os principais processos biológicos, funções moleculares, componentes celulares e vias de sinalização envolvidos pelas proteínas diferencialmente expressas e exclusivas dos grupos Controle e Itraconazol.

Figura 17. Proteína expressa exclusivamente na amostra tratada com itraconazol, evidenciando a presença de transportadores do tipo ABC (bomba de efluxo).

Figura 18. Diagrama de Venn evidenciando 277 proteínas comuns entre os grupos Controle e Eugenol.

Figura 19. Diagrama de Volcano Plot. Representando as proteínas comuns diferencialmente expressas entre o grupo Controle e o grupo Eugenol.

Figura 20. Interação proteína-proteína evidenciando os principais processos biológicos, funções moleculares, componentes celulares e vias de sinalização envolvidos pelas proteínas diferencialmente expressas e exclusivas dos grupos Controle e Eugenol.

Figura 21. Diagrama de Venn evidenciando 218 proteínas comuns entre os grupos Controle e Cinamaldeído.

Figura 22. Diagrama de Volcano Plot. Representando as proteínas comuns diferencialmente expressas entre o grupo Controle e o grupo Cinamaldeído.

Figura 23. Interação proteína-proteína evidenciando os principais processos biológicos, funções moleculares, componentes celulares e vias de sinalização envolvidos pelas proteínas diferencialmente expressas e exclusivas dos grupos Controle e Cinamaldeído.

Figura 24. Diagrama de Venn evidenciando 46 proteínas comuns entre os grupos Controle e Cinamaldeído + Itraconazol.

Figura 25. Diagrama de Volcano Plot. Representando as proteínas comuns diferencialmente expressas entre o grupo Controle e o grupo Cinamaldeído + Itraconazol.

Figura 26. Interação proteína-proteína evidenciando os principais processos biológicos, funções moleculares, componentes celulares e vias de sinalização envolvidos pelas proteínas diferencialmente expressas e exclusivas dos grupos Controle e Cinamaldeído + Itraconazol.

Figura 27. Diagrama de Venn evidenciando 244 proteínas comuns entre os grupos Controle e Eugenol + Itraconazol.

Figura 28. Diagrama de Volcano Plot. Representando as proteínas comuns diferencialmente expressas entre o grupo Controle e o grupo Eugenol + Itraconazol.

Figura 29. Interação proteína-proteína evidenciando os principais processos biológicos, funções moleculares, componentes celulares e vias de sinalização envolvidos pelas proteínas diferencialmente expressas e exclusivas dos grupos Controle e Eugenol + Itraconazol.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Procedência e características filogenéticas das cepas de *C. auris* estudadas.

Tabela 2. Pontos de cortes provisórios (CDC-USA, 2020) para interpretação de testes de sensibilidade para isolados de *C. auris*.

Tabela 3. Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL para eugenol, cinamaldeído, itraconazol, anfotericina B e caspofungina.

Tabela 4. Valores de Concentração Fungicida Mínima (CFM) em µg/mL para eugenol, cinamaldeído, itraconazol, anfotericina B e caspofungina.

Tabela 5. Quantificação de biofilme com cristal violeta a 590 nm.

Tabela 6. Verificação de atividade metabólica de biofilme com XTT a 486 nm.

Tabela 7. Obtenção dos dados de absorbância frente à diferentes diluições (massa) da proteína comercial albumina para obtenção da equação da reta junto ao método de Bradford.

Tabela 8. Concentração de proteínas nas amostras obtidas pelo método de Bradford.

Tabela 9. Quantidade de genes relacionados a cada processo biológico na comparação entre controle e tratamento com itraconazol.

Tabela 10. Quantidade de genes relacionados a cada processo biológico na comparação entre controle e tratamento com eugenol.

Tabela 11. Quantidade de genes relacionados a cada processo biológico na comparação entre controle e tratamento com cinamaldeído.

Tabela 12. Quantidade de genes relacionados a cada processo biológico na comparação entre controle e tratamento com cinamaldeído + itraconazol.

Tabela 13. Quantidade de genes relacionados a cada processo biológico na comparação entre controle e tratamento com eugenol + itraconazol.

Lista de Abreviaturas

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Adenosina trifosfato
BALB/c	Camundongos albinos
Ca ²⁺	Cálcio
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CFM	Concentração Fungicida Mínima
Cl ⁻	Cloro
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CO ₂	Gás carbônico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido dexossirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EUCAST	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe ₃ O ₄ SiO ₂	Magnetita
HaCat	Queratinócitos imortalizados de pele humana
HeLa	Células imortalizadas de câncer cervical
HeLa	Células de hepatocarcinoma
Hep-2	Células de câncer de laringe
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSG	células de glândula submandibular humanas
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
K ⁺	Potássio
MALDI-TOF	<i>Matrix Associated Laser Desorption-Ionization</i>
Mg ²⁺	Magnésio
MOPS	ácido 3 (N-morfolino) propanosulfônico
MRC-5	Fibroblastos isolados de tecido pulmonar humano
NaOCl	Hipoclorito de sódio
PC12	Células de tumores secretores de hormônios
PBS	Tampão fosfato salino
TNF	Fator de necrose tumoral
UFC	Unidade formadora de colônia

Vero	Células epiteliais renais de macaco	
XTT	2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil) tetrazólio-5- carboxanilida	-2H-

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 <i>Candida auris</i>	15
1.2 BRASIL E <i>Candida auris</i>	17
1.3 BIOFILME	19
1.4 RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS	20
1.5 PRODUTOS NATURAIS	22
1.5.1 Eugenol	23
1.5.2 Cinamaldeído	24
1.5.3 Citotoxicidade	25
1.6 PROTEÔMICA	27
2. OBJETIVOS	29
2.1 OBJETIVOS GERAIS	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 LINHAGENS	30
3.2 PRODUTOS NATURAIS TESTADOS	31
3.3. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)	31
3.4 SINERGISMO	32
3.5 PRODUÇÃO DE BIOFILME	32
3.6 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE	35
3.7 ANÁLISE PROTEÔMICA	35
3.7.1 Extração de proteínas	35
3.7.2 Quantificação de Proteínas pelo método de Bradford	36
3.7.3 Digestão de proteínas	37
3.7.4 Análises de Espectrometria de Massas do tipo Shotgun	37
3.7.4 Sequenciamento peptídico por espectrometria de massas	37
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
4. RESULTADOS	39
4.1 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)	39
4.2 SINERGISMO	41
4.3 PRODUÇÃO DE BIOFILME	44
4.3.1 Quantificação de biomassa dos biofilmes	44
4.3.2 Atividade metabólica dos biofilmes	45
4.3.3 Ação de eugenol e cinamaldeído na biomassa dos biofilmes	46
4.3.4 Ação de eugenol e cinamaldeído na atividade metabólica de biofilme	53
4.4 Citotoxicidade	59

4.5 ANÁLISE PROTEÔMICA.....	60
4.5.1 Quantificação proteica.....	60
4.5.2 Proteínas expressas	62
5 DISCUSSÃO.....	83
6 CONCLUSÕES	96
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Candida auris*

Candida auris foi identificada pela primeira vez no canal auditivo de uma paciente no Japão em 2009 (Sato et al., 2009). No mesmo ano, foram reportados 15 isolados em pacientes com otite média na Coreia do Sul (Kim et al., 2009). A partir de então foi identificada em todos os continentes, e se tornou uma ameaça global, ocasionando infecções invasivas e surtos em unidades de saúde (Chowdhary et al., 2017; Sears e Schwartz, 2017).

Surgiu de forma simultânea e independente em quatro regiões distintas no planeta. Os isolados são classificados em 5 clados geográficos: clado I, do Sul asiático, clado II, do Leste asiático, clado III, da África do Sul, clado IV, da América do Sul e clado V, do Irã. Os isolados de diferentes clados diferem em dezenas de milhares de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). Entretanto, em um mesmo clado, os isolados são praticamente indistinguíveis entre eles em relação ao genoma. O ancestral comum mais recente de três dos cinco clados é datado de 1980 (Chow et al., 2020; Muñoz et al., 2021; Ruiz e Lorenz, 2020).

Os isolados dos clados I, III e IV são associados a uma maior prevalência de infecções multirresistentes e surtos em unidades de saúde. Esses isolados apresentam pelo menos uma de três mutações (Y132F, K143R e F126L) no alvo dos azólicos. Os isolados dos clados I e IV também apresentam mutações no gene que codifica a expressão das bombas de efluxo. Cerca de 7% dos isolados dos clados I, III e IV também apresentam resistência às equinocandinas. Por outro lado, o clado II está mais associado às infecções no canal auditivo e apresenta maior susceptibilidade aos fármacos antifúngicos e aos desinfetantes e são mais sensíveis à estressores ambientais (Muñoz et al., 2021).

As mudanças climáticas provavelmente são responsáveis pela emergência de *C. auris* como patógeno causador de infecções em humanos. Acredita-se que a levedura superou a barreira térmica dos mamíferos como adaptação ao aquecimento global e temperaturas mais elevadas dos reservatórios ambientais. Possivelmente, foi transportada de áreas úmidas ou ecossistemas costeiros por animais migratórios, como as aves, para outras áreas do planeta onde ocorreram colonizações em humanos (Garcia-Bustos et al., 2021). Arora et al. (2021) isolaram *C. auris* em um pântano e uma praia arenosa na Índia, sugerindo uma associação com o ecossistema marinho. Escandón (2022) isolou *C. auris* em estuários na Colômbia. Isolados obtidos em locais onde não há atividade humana apresentam susceptibilidade aos antifúngicos e crescimento mais lento a 37°C e 42°C, sugerindo que essa levedura rapidamente se adaptou às temperaturas mais elevadas.

O reservatório ambiental de *C. auris* ainda é desconhecido, seu modo de transmissão também é desconhecido e ainda não definido, mas sabe-se da presença da levedura em ambientes nosocomiais com risco de transmissão horizontal entre os pacientes (Brasil, 2017).

Dentro dos fatores que contribuem para a transmissão é de relevância a colonização prolongada de doentes clínicos e de triagem e a contaminação ambiental. A colonização persistente das pessoas afetadas e a falta de um regime de descolonização resultam num grande reservatório de pessoas que transportam o organismo, sendo que a falta de medidas de controle da infecção amplifica todo o processo (Adams et al., 2018). Estudos mostram que ainda existem dúvidas no que diz respeito ao tempo que indivíduos podem permanecer colonizados e nas medidas que podem ser eficazes para redução da carga fúngica (Berkow et al., 2017; Khan et al., 2017; Tsay et al., 2018).

Embora *C. auris* colonize preferencialmente a pele, já foi isolada do intestino e de mucosas oral e esofágica de indivíduos infectados. Pode ocasionar fungemia, infecções em feridas cirúrgicas e não cirúrgicas, do trato urinário, meningite, miocardite, abscessos cutâneos e infecções ósseas (Bandara e Samaranayake, 2022). Os surtos causados por *C. auris* estão associados à elevadas taxas de mortalidade, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (Borman et al., 2016; Chaabane et al., 2019). Foram relatados surtos em diversos países, como Kuwait, México, Omã, Rússia, Arábia Saudita, Espanha e Estados Unidos, atingindo uma mortalidade de cerca de 70% (Moraes, 2022). São comumente reportadas taxas de mortalidade de 30 a 40% associadas à infecção da corrente sanguínea por *Candida*, mesmo em pacientes que receberam tratamento antifúngico, enquanto a taxa geral de mortalidade intra-hospitalar da candidemia por *C. auris* varia de 30% a 60%, e as infecções ocorrem tipicamente várias semanas após a admissão (CDC, 2019).

Sistemas disponíveis comercialmente e métodos tradicionais fenotípicos frequentemente identificam *C. auris* erroneamente como outras espécies, entre elas *C. haemulonni*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae* e menos frequentemente *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. doobushaemulonni*, *C. lusitaniae* e *C. albicans* (Garcia-Bustos et al., 2021). A identificação desta levedura deve ser amparada por técnicas que permitam caracterizar com acurácia *C. auris*, como MALDI-TOF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization*) e/ou sequenciamento da região D1-D2 do DNA ribossômico (rDNA) ou da região interna espaçadora transcrita (ITS) do rDNA (Schelenz et al., 2016). Devido essas dificuldades para identificação e a subnotificação, sua real prevalência e epidemiologia ainda não são totalmente compreendidas (Cortegiani et al., 2018).

Kathuria et al. (2015) analisaram 102 isolados clínicos em Delhi, na Índia, previamente identificados como *C. haemulonii* no período entre 2010 e 2014. Dentre os isolados, 90 foram

confirmados como *C. auris* pelo sequenciamento da região ITS. Os achados foram confirmados por MALDI-TOF. Lee et al. (2011) analisaram seis isolados de casos de fungemia, dos quais dois foram obtidos em 1996 e quatro em 2009 em hospitais universitários da Coreia do Sul, identificados como *C. haemulonni* e *R. glutinis* pelos sistemas VITEK 2 YST e API 20C, respectivamente. Após o sequenciamento das regiões ITS e D1/D2 todos os isolados foram identificados como *C. auris* com 100% de similaridade no GenBank, indicando que a levedura coloniza humanos há pelo menos três décadas.

Os principais fatores de risco predisponentes para a infecção por *C. auris* são similares a outras espécies de *Candida*, pois são patógenos oportunistas. Assim incluem, a hospitalização prolongada, cirurgia abdominal, internamento em unidade de terapia intensiva, doença de base grave e imunossupressão, como malignidade hematológica, tumores sólidos, transplante de medula óssea e HIV, doença renal crônica, presença de cateteres venosos centrais e/ou urinários centrais, cirurgia recente, terapia com corticosteroides, nutrição parentérica, neutropenia, exposição prévia a antibióticos de amplo espectro e terapia antifúngica nos últimos 90 dias de internação (Sardi et al., 2018).

Candida auris possui uma elevada capacidade de colonizar e persistir em superfícies. Welsh et al., (2017) demonstraram que *C. auris* permanece viável em superfícies plásticas por até duas semanas. Esse fator possivelmente está relacionado à tolerância ao estresse ambiental e à formação de biofilmes. A permanência em ambientes hospitalares é potencializada pela resistência aos desinfetantes utilizados nestes locais. (Chaabane et al., 2019). Kean et al. (2018) analisaram a eficácia de NaOCl (hipoclorito de sódio) e ácido paracético em aço inoxidável, polímeros e superfícies de celulose. Ambos os desinfetantes se mostraram eficazes para eliminar células de *C. auris* em todas as superfícies analisadas. Entretanto, algumas células viáveis permaneceram após a aplicação de hipoclorito de sódio em superfícies não porosas. Mesmo com uma exposição prolongada ao desinfetante a uma maior concentração, ocorreu um crescimento residual quando as células foram inoculadas em um meio de cultura rico.

Além da resistência aos compostos desinfetantes, isolados de *C. auris* se mostram pouco sensíveis aos antifúngicos utilizados na clínica. Cerca de 90% dos isolados de *C. auris* são resistentes ao fluconazol, embora as taxas de resistência variem consideravelmente entre os diferentes clados. A taxa de resistência à anfotericina B pode chegar até 30% (Lockhart, 2019).

1.2 BRASIL E *Candida auris*

Em dezembro de 2020 foi notificado a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) o primeiro caso positivo de *C. auris* no Brasil, isolado de ponta de cateter de paciente

internado em uma UTI de um hospital em Salvador/BA. O paciente, de 59 anos e do sexo masculino, sempre morou na região e não tinha histórico de viagens internacionais recentes. Este foi o primeiro caso de um surto com 15 casos, que culminou em dois óbitos (Anvisa, 2020). Uma segunda paciente, do sexo feminino, de 74 anos, também sempre morou na região de Salvador e não tinha histórico de viagens internacionais recentes. Houve a confirmação dos isolados de *C. auris* por meio de espectrometria de massa e análise de dados de sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) de rDNA. Ambos os isolados apresentaram 66% de similaridade com os isolados do clado Sul asiático. Os isolados apresentaram concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de 1 µg/mL, 2 µg/mL, 0,03 µg/mL e 0,06 µg/mL para anfotericina B, fluconazol, voriconazol e anidulafungina, respectivamente. Esses dados são diferentes dos encontrados na maioria dos isolados Sul asiáticos. As mutações relacionadas a resistência aos azólicos e equinocandinas estavam ausentes nos genes *ERG11* e *FKS1*. Os isolados ainda não foram suficientemente estressados para se tornarem resistentes e foram introduzidos recentemente no hospital de Salvador. O histórico de restrição de viagens devido à pandemia de COVID-19 leva à hipótese de que a espécie foi introduzida vários meses antes do reconhecimento e/ou emergiu localmente (De Almeida et al., 2021a).

Em outro estudo conduzido por De Almeida et al. (2021b), observou-se que a maioria dos pacientes colonizados por *C. auris* no hospital em Salvador teve culturas de esfregaço de axilas positivas. Também foi verificada uma elevada taxa de positividade de cultura em termômetros digitais. O monitoramento de temperatura com sondas reutilizáveis e termômetros digitais desinfetados de maneira inadequada pode ter contribuído para o surto que ocorreu no hospital após o relato do primeiro caso no Brasil, semelhantemente a um surto que ocorreu no Reino Unido em 2018 (Eyre et al., 2018).

Unidades de Terapia Intensiva sobrecarregadas com pacientes ventilados mecanicamente e com outros procedimentos invasivos, elevada pressão seletiva antibacteriana e antifúngica e reutilização de equipamentos de proteção individual devido à escassez podem levar a disseminação de *C. auris* no contexto da pandemia de COVID-19, como ocorrido nos Estados Unidos, Índia, México, Itália e Líbano (De Almeida et al., 2021b; Eyre et al., 2018). O histórico de restrição de viagens devido à pandemia de COVID-19 levou à hipótese de que a espécie foi introduzida vários meses antes do reconhecimento e/ou emergiu localmente (De Almeida et al., 2021b).

Em dezembro de 2021, a Anvisa recebeu a notificação de outro surto de *C. auris*, que ocorreu em um Hospital da Rede Pública de Salvador/BA. *Candida auris* foi isolada e identificada em uma amostra de urina em paciente de 88 anos, caracterizando o segundo surto (ANVISA, 2021).

Em janeiro de 2022, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) recebeu a notificação e confirmação de dois casos de *C. auris* em um hospital em Pernambuco, caracterizando o terceiro surto do fungo no país (ANVISA, 2022).

Em maio de 2023, foram notificados novos surtos em três hospitais de Pernambuco. Em junho do mesmo ano, foi notificado o primeiro caso no estado de São Paulo, em um recém-nascido. A identificação ocorreu através de uma amostra de swab retal de vigilância, e posteriormente, em hemocultura e urocultura por meio de análises em MALDI-TOF. Com a identificação deste isolado, 77 casos de *C. auris* são totalizados no Brasil (ANVISA, 2023).

1.3 BIOFILME

Os fatores de virulência de um microrganismo são atributos que contribuem para a sua patogenicidade, causando doença no hospedeiro. Frequentemente, esses fatores contribuem para a sobrevivência do organismo em ambientes inóspitos, permitindo sua multiplicação e sobrevivência. Dentre os fatores de virulência comuns em espécies de *Candida*, destacam-se a capacidade de alterar seu fenótipo e morfologia, formação de hifas e pseudo-hifas, evasão do sistema imune, capacidade de evasão e a formação de biofilmes (Watkins et al., 2022).

Os biofilmes produzidos por espécies do gênero *Candida* são de relevância clínica e estão associados à resistência adaptativa aos antifúngicos e a elevadas taxas de mortalidade e morbidade. *Candida auris* sobrevive e persiste em superfícies, incluindo aço e plástico, por até quatro semanas e formam biofilmes altamente resistentes, cuja formação é associada à falha de tratamento e à recorrência de infecções crônicas (Rajendran et al., 2012). Os biofilmes produzidos por *C. auris* são constituídos predominantemente por leveduras em brotamento e pseudo-hifas, diferentemente dos biofilmes produzidos por *C. albicans*, que são predominantemente constituídos por hifas (Sherry et al., 2017).

Os pacientes acometidos por infecções invasivas causadas por *C. auris* são frequentemente submetidos a procedimentos médicos, como implantação de cateteres venosos e urinários e tubos para alimentação parenteral. Esses dispositivos parecem desempenhar um importante papel na patogênese da candidemia causada por esta espécie. As infecções de corrente sanguínea possivelmente estão associadas com a formação de biofilmes nas extremidades de cateteres, ocasionando sua disseminação através dos vasos sanguíneos (Sayeed et al., 2020).

Há quatro estágios na formação de biofilmes por *C. auris*. Na adesão, as células planctônicas em forma de levedura aderem a superfícies bióticas, como pele e mucosas, ou abióticas, incluindo cateteres e próteses. Na iniciação, as células começam a proliferar e a formar pseudo-hifas. Na fase de maturação, a multiplicação continua e ocorre a formação de

uma matriz extracelular que envolve as células do biofilme. Na fase de dispersão, algumas células se desprendem do biofilme e aderem em novas superfícies, formando novos biofilmes, ou caem na corrente sanguínea (Bapat e Nobile, 2021).

Durante a formação de biofilmes, a levedura secreta polissacarídeos de manana e glucana para formar uma barreira isolando-o do ambiente externo. As células ancoram-se à uma superfície por meio de adesina. Quando o biofilme se ancora, as camadas passam a se espessar e formam uma barreira, a qual o sistema imune do hospedeiro e os antifúngicos não conseguem acessar. Além disso, as bombas de efluxo são superativadas em biofilmes, auxiliando na expulsão de agentes antifúngicos. É comum que biofilmes estabelecidos há mais tempo sejam pan-resistentes, ou seja, apresentem resistência à todas as três classes de antifúngicos disponíveis. Essas estruturas de resistência também são responsáveis pela disseminação nosocomial, incluindo a dispersão por meio dos profissionais de saúde (Kean e Ramage, 2019; Watkins et al., 2022).

Por meio de análises transcriptômicas, verificou-se que *C. auris* regula positivamente as adesinas CSA1, IFF4, PGA24 e PGA 26 ao formar e manter biofilmes. Com o amadurecimento do biofilme, as proteínas transportadoras CDR1, SNQ2 e YHD3 são ativadas. É provável que as proteínas ALS1 e ALS5 contribuam para a adesão durante a formação de biofilme, entretanto, nessa espécie, a quantidade de proteínas do grupo ALS é menor do que em *C. albicans*, fator que pode estar relacionado ao fato de biofilmes formados por *C. albicans* serem mais robustos (Watkins et al., 2022).

Além dos mecanismos de resistência aos antifúngicos, os biofilmes de *C. auris* também apresentam menor susceptibilidade aos desinfetantes utilizados em ambientes hospitalares. Diversos produtos que normalmente alteram a viabilidade celular, causam danos ao material genético, alterações metabólicas e danos à parede celular, não são capazes de alterar a viabilidade de *C. auris*, não impedem a proliferação e não previnem a regeneração de biofilme, representando um sério risco à desinfecção adequada desses ambientes. A espécie também apresenta menor susceptibilidade aos desinfetantes à base de quaternários de amônio, que são comumente utilizados em ambientes de assistência à saúde (Cadnum et al., 2017; Ledwoch e Maillard, 2019).

1.4 RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS

A incidência de doenças causadas por fungos aumentou consideravelmente nos últimos anos. Estima-se que ocorram cerca de 300 milhões de infecções fúngicas potencialmente fatais anualmente, resultando em 1,7 milhões de mortes. As terapias atuais apresentam limitações,

como toxicidade, baixa biodisponibilidade e aumento de resistência. (Beardsley et al., 2018; Gow et al., 2022).

A pressão exercida pelo uso de antifúngicos seleciona microrganismos intrinsecamente resistentes ou esses microrganismos podem adquirir resistência durante terapias prolongadas (Gow et al., 2022). O uso de antifúngicos agrícolas também está relacionado com o aumento da resistência, sendo que os azólicos utilizados na agricultura compartilham o mesmo alvo de ação dos fármacos utilizados clinicamente (Barber et al., 2020). Shelton et al. (2022) avaliaram a resistência ao tebuconazol, um dos compostos fungicidas mais utilizados no Reino Unido. Cerca de 15% dos isolados avaliados eram resistentes ao antifúngico, o que confere resistência cruzada com os fármacos utilizados para tratar doenças em humanos e animais. Yadav et al. (2022) avaliaram a presença de leveduras em maçãs armazenadas e que foram tratadas com fungicidas agrícolas. Mais de 70% das leveduras isoladas nas superfícies das frutas pertencem ao gênero *Candida* e cerca de 11% foram identificadas como *C. auris*. Com exceção de um isolado, todos apresentaram resistência ao fluconazol. Esses isolados também apresentaram baixa susceptibilidade aos fungicidas triazólicos agrícolas. Foi observada resistência cruzada entre os fungicidas agrícolas e os antifúngicos utilizados para tratar infecções em humanos e animais.

Atualmente são utilizadas cinco classes de fármacos para tratar as infecções causadas por fungos. A classe dos polienos, que inclui a anfotericina B, que interage com o ergosterol presente na membrana plasmática destes organismos, formando poros e resultando na liberação de glicose e dos íons K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} e Cl^- . Apresenta ação fungicida contra espécies de *Candida*, *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus*. Os azólicos inibem a ação da 14- α -demetilase, impedindo a conversão de lanosterol em precursores do ergosterol, apresentando geralmente efeito fungistático contra leveduras. As equinocandinas impedem a síntese de 1,3- β -D-glucana, um importante componente da parede celular. Essa classe de antifúngico apresenta ação fungicida para espécies de *Candida*. A 5-flucitosina, um análogo sintético da citosina, interfere na síntese de DNA. A griseofulvina interage com os microtúbulos, impedindo a divisão celular. É utilizada para tratar infecções causadas por dermatófitos (Aris et al., 2017; Houst et al., 2020).

Uma das grandes preocupações relacionadas à *C. auris* é sua multirresistência às principais classes de antimicrobianos usados no tratamento de infecções fúngicas. Em geral, *C. auris* é resistente ao fluconazol, equinocandinas (anidulafungina, caspofungina, micafungina) e à anfotericina B (Forsberg et al., 2019).

Os mecanismos moleculares associados à evasão dos antifúngicos por isolados de *C. auris* são semelhantes aos relatados para outras espécies. A resistência aos azólicos está associada à superexpressão de bombas de efluxo e alterações na síntese de ergosterol, através

de mutações em *ERG11*, *Y132F* e *K143R*. A resistência às equinocandinas é atribuída às mutações no gene *FKS1*. Os polimorfismos de nucleotídeo único em genes relacionados à síntese de ergosterol são relacionados à resistência aos polienos. A substituição do aminoácido fenilalanina por isoleucina (F211I) no gene *FUR1*, importante para a metabolização da 5-flucitosina é responsável pela resistência em análogos de nucleosídeos (Bandara e Samaranayake, 2022; Rhodes et al., 2018).

Devido ao perfil multirresistente de isolados de *C. auris*, devem ser realizados testes de suscetibilidade antes de iniciar a terapêutica, sendo a microdiluição preconizada pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” e “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)” a metodologia mais utilizada e recomendada como padrão ouro. Porém, ainda não estão estabelecidos valores de referência definitivos (“breakpoints”) para a categorização de resistências em *C. auris*.

Com base na evidência clínica, enquanto os resultados dos testes de sensibilidade estão pendentes, a primeira linha de tratamento são as equinocandinas, não estando recomendada a terapia antifúngica combinada numa fase inicial da infecção (TSAY *et al.*, 2018). Quando não há sucesso no uso deste antifúngico, a anfotericina B é utilizada.

1.5 PRODUTOS NATURAIS

A incidência crescente de infecções fúngicas invasivas graves provocadas por fungos oportunistas tem sido alvo de constante preocupação, acarretando a busca por tratamentos cada vez mais eficazes e drogas cada vez mais seguras (Bentubo e Gompertz, 2014). Porém, aumento da variedade de patógenos associados com infecções fúngicas não tem encontrado correspondência com o número de agentes antifúngicos disponíveis para tratamento. O desenvolvimento de terapias antifúngicas diminuiu, infelizmente, pois a indústria farmacêutica tem dado menor atenção à essas patologias.

As limitações na eficácia e na tolerância destes agentes em uso, falha na resposta clínica, grande toxicidade, crescente tolerância por microrganismos e as poucas opções terapêuticas atuais no mercado, tem estimulado a pesquisa de novas substâncias com potencial antifúngico, tais como os produtos de origem natural (Fuentefria *et al.*, 2017; Padovan *et al.*, 2019).

Os produtos naturais têm sido amplamente estudados nos últimos anos devido ao seu potencial farmacológico. As plantas medicinais, produtos vegetais e derivados de óleos essenciais são utilizados como componentes de medicamentos tradicionais devido ao seu potencial farmacológico. Em geral, os componentes com atividade biológica nesses compostos são fenilpropanóides, alcalóides, terpenóides e quinonas. Cerca de 65% dos compostos

orgânicos aprovados para uso humano nos últimos quarenta anos correspondem a produtos naturais ou derivados. (Arif et al., 2009; Moraes, 2022).

Óleos essenciais são compostos voláteis extraídos de raízes, tronco, casca, caules, folhas, flores e frutos de plantas. São amplamente utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos, alimentos e produtos químicos. (Ju et al., 2020; Qian et al., 2020). Gupta et al., (2018) verificaram que os óleos essenciais de cravo e canela, cujos principais compostos ativos são eugenol e cinamaldeído, respectivamente, são capazes de eliminar até 80% do biofilme produzido por *C. glabrata*, além de inibir o crescimento de células planctônicas em concentrações que variam de 64 a 128 µg/mL, bem como aumentar a geração de espécies reativas de oxigênio, lise celular e diminuição da quantidade de ergosterol. Essas observações sugerem que esses compostos podem reduzir a integridade da membrana celular.

1.5.1 Eugenol

O eugenol (2-metoxi-4-(2-propenil) fenol) é um composto, presente em óleos essenciais de plantas das famílias *Lamiaceae*, *Laureaceae*, *Myrtaceae* e *Myristicaceae* e o principal composto do óleo essencial de cravo-da-Índia (*Eugenia caryophyllata*). É extraído principalmente de *Ocimum tenuiflorum*, *Cassia fistula*, *Zieria smithii* e *Pimenta racemosa*. Quimicamente o eugenol é classificado como um terpenóide, da classe dos monoterpenos, apresentando atividade antioxidante, analgésica, antimutagênica, antiplaquetária, antialérgica e anti-inflamatória. Demonstra ação antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, parasitas, incluindo *Giardia lamblia* e contra fungos (Ju et al., 2020; Marchese et al., 2017; Qian et al., 2020).

Em um estudo conduzido por Jianhua e Hai (2009) foi avaliada a sensibilidade de *C. albicans* ao eugenol por meio da citometria de fluxo. O crescimento celular, bem como o índice de proliferação, foi inibido proporcionalmente à elevação da concentração do produto. O produto comprometeu a integridade da membrana, indicando que a morfologia celular sofreu alterações, reduzindo seu tamanho. Por análise de fluorescência, também foi possível observar uma perda de segmento de DNA.

Sharifzadeh e Shokri (2020) avaliaram a ação do eugenol em isolados de *C. krusei* e *C. tropicalis*. Para a primeira espécie, a concentração inibitória mínima variou entre 200 e 400 µg/mL. Já para *C. tropicalis*, os valores variaram entre 400 - 800 µg/mL. A combinação com voriconazol diminuiu a CIM desse antifúngico de 7,77 µg/mL para 0,41 µg/mL em *C. krusei*. Mais de 80% dos isolados de *C. tropicalis* e 70% dos isolados de *C. krusei* analisados foram

susceptíveis à combinação entre eugenol e voriconazol, demonstrando uma ação sinérgica entre esses produtos, e não houve ação antagonista para nenhum dos isolados.

Lone et al., (2020) demonstraram que a tosilação do eugenol no grupo hidroxila resulta em moléculas com maior atividade antifúngica. As concentrações inibitórias mínimas variaram entre 0,125 - 512 µg/mL. Também foi observado um aumento na quantidade de células apoptóticas e despolarização da membrana mitocondrial de acordo com a dose empregada do composto, indicando a ativação de vias necróticas. Biernasiuk et al., (2023) obtiveram CIMs variando entre 0,25 e 4 mg/mL de eugenol para *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 2091, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. krusei* ATCC 14243 e trinta isolados clínicos de *Candida spp.* não *albicans* obtidos de pacientes hospitalizados com doenças hematológicas. Também foi demonstrada uma ação do eugenol em combinação com o cloreto de cetilpiridínio, clorexidina e triclosan, ambos compostos antissépticos.

He et al., (2007) demonstraram que o eugenol apresenta ação inibitória na formação de biofilmes por *C. albicans* dose-dependente e impede a formação de hifas. Com uma exposição de 48 horas em uma concentração de 500 µg/mL o eugenol não eliminou completamente as células do biofilme, mas reduziu a atividade metabólica em cerca de 80%. Células expostas à uma concentração de 200 µg/mL produziram biofilmes compostos principalmente por leveduras e pouca filamentação, enquanto em exposição à uma concentração de 2000 µg/mL, o biofilme formado apresentava apenas algumas leveduras.

1.5.2 Cinamaldeído

O cinamaldeído é um dos principais compostos encontrados no óleo essencial de canela. Apresenta ação antioxidante, anti-inflamatória, imunomoduladora, antidiabética, regenerativa, antibacteriana e antiviral. É capaz de inibir a atividade da cicloxigenase-2, induzida por IL-1beta, justificando sua ação anti-inflamatória e estimula a produção de fator de necrose tumoral (TNF) induzida por IL-8, resultando em sua ação anticancerígena. Apresenta atividade antifúngica contra *Aspergillus flavus* e *A. niger* (Shreaz et al., 2016).

Em um estudo conduzido por Thirapanmethee et al. (2021), cinamaldeído apresentou uma potente atividade antimicrobiana contra isolados de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. Todos os 25 isolados apresentaram CIMs variando entre 0,01 - 0,04% (v/v). Também apresentou efeito sinérgico com colistina e imipenem em ensaios de fração inibitória mínima. O tratamento com cinamaldeído por 8 horas alterou a morfologia de *A. baumannii* de cocos para células alongadas e a divisão celular foi interrompida.

Bang et al., (2000) verificaram que o trans-cinamaldeído inibe a atividade da β -1,3-glucana sintase e da quitina sintase em *Saccharomyces cerevisiae* com concentrações inibitórias

de 0,84 e 1,44 mM, respectivamente. Saracino et al., (2022) verificaram a ação do cinamaldeído em 18 isolados de *Candida spp.*, sendo 15 de *C. albicans*, dois de *C. glabrata* e um de *C. lusitanae*. O composto levou à perda de células viáveis em até 4 horas, com CIM variando entre 20,48 e 163,80 µg/mL. Em combinação com o eugenol, cinamaldeído apresenta efeito aditivo por meio do método de checkerboard.

Shreaz et al., (2011) analisaram a ação do cinamaldeído em 18 isolados de *Candida spp.* incluindo *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermodii*. Foram realizados ensaios de microdiluição, difusão de discos e curvas de crescimento. Todos os isolados foram sensíveis ao cinamaldeído, com CIMs variando entre 100 e 400 µg/mL. Todos os isolados apresentaram halos de inibição significativos com o tratamento com o composto majoritário e as curvas de crescimento mostraram uma atividade fungicida dependente da concentração de cinamaldeído. Miranda-Cadena et al. (2021a) demonstraram que biofilmes de *Candida spp.* tratados com cinamaldeído apresentaram hifas deformadas e redução do número de células em comparação ao biofilme não tratado. O produto também foi capaz de reduzir a atividade metabólica na fase de adesão dos biofilmes, conforme verificado por meio da leitura das microplacas após a adição de 2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil) -2H- tetrazólio-5- carboxanilida (XTT).

Alves et al., (2020) demonstraram alterações na micromorfologia de espécies de *Candida*, onde foi possível observar a formação de hifas e clamidoconídios na ausência de tratamento. Entretanto, ao utilizar 37,83 µM de cinamaldeído, ocorreram mudanças na forma filamentosa, prejudicando o desenvolvimento celular, com rara formação de pseudo-hifas e ausência de clamidoconídios. O composto também foi capaz de reduzir a formação de biofilme de 64,52 para 33,75% com concentrações variando entre 151,3 e 378,3 µM.

1.5.3 Citotoxicidade

Dentre as principais vantagens dos produtos fitoquímicos destacam-se a sua disponibilidade, diversidade de produtos químicos e baixos preços. Os produtos naturais têm sido amplamente estudados para o tratamento de diversas doenças. Entretanto, uma elevada quantidade desses produtos não é aprovada nas fases de testes pré-clínicos e clínicos devido à toxicidade (Patra et al., 2018). Atsumi et al., (2005) avaliaram a citotoxicidade do eugenol e isoeugenol por meio do método MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) em células HSG (células de glândula submandibular humana), demonstrando que o primeiro composto apresenta menor citotoxicidade do que o isoeugenol.

Teles et al., (2021) analisaram a atividade antimicrobiana e citotóxica do óleo essencial de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) e do eugenol e verificaram que a concentração citotóxica para 50% das células quando tratadas com óleo essencial foi maior que 1000 µg/mL

em macrófagos peritoneais de camundongo BALB/c, enquanto para o eugenol foi de 292,7 µg/mL. A atividade citotóxica do eugenol também foi avaliada em células cancerígenas e não cancerígenas por Ranjitkar et al., (2021). O composto não afetou a viabilidade celular de fibroblastos e células HeLa até a concentração de 400 µg/mL. Nesse estudo também foi analisada a citotoxicidade do carvacrol para ambas as células. Esse composto se mostrou mais citotóxico em relação ao eugenol em concentrações a partir de 100 µg/mL. Trans-cinamaldeído não apresentou citotoxicidade para ambos os tipos celulares em concentrações menores que 200 µg/mL.

Lopes et al., (2018) verificaram que o eugenol não é tóxico para neutrófilos humanos através do teste de MTT nas concentrações de 5, 10, 50 e 100 µg/mL. Os dados foram confirmados por meio da análise por citometria de fluxo, onde foi analisada a integridade de membrana celular utilizando o corante iodeto de propídio, que penetra apenas em células com alterações na membrana, emitindo fluorescência vermelha quando excitado a 488 nm. Para esse ensaio, foram utilizadas concentrações de 10, 25 e 50 µg/mL, cujos resultados confirmam que não houve ruptura celular. A possível atividade citotóxica da nanoemulsão de eugenol também foi avaliada através do método de MTT em macrófagos murinos, em concentrações até 200 µg/mL e não houve redução da viabilidade celular (Islamuddin et al., 2016).

Cheng et al., (2022) avaliaram a citotoxicidade da combinação de cinamaldeído com nanopartículas de prata e quitosana, observando-se uma viabilidade celular de pelo menos 90%. De acordo com a norma ISO-10993-5, uma amostra não é considerada tóxica quando a viabilidade celular é de pelo menos 70%. A citotoxicidade de óleo essencial de canela e emulsão foi avaliada por Ganic et al., (2022) em células MRC-5. A viabilidade celular variou entre 7 e 90% para o óleo essencial e entre 6 e 77% para a emulsão, de acordo com a concentração empregada.

O cinamaldeído é amplamente utilizado em cosméticos e como saborizante na indústria alimentícia. A Organização Mundial da Saúde (OMS) permite que até 0,7 mg/kg sejam ingeridas diariamente. A toxicidade aguda apresenta valores de dose letal para 50% da população entre 0,6 e mais de 2 g/kg para várias espécies (Shreaz et al., 2016).

Cesur et al., (2023) produziram adesivos de nanofibras contendo cinamaldeído e gentamicina para evitar o desenvolvimento de ceratite microbiana. Essas estruturas foram incubadas com fibroblastos embrionários de camundongo e não houve redução da viabilidade celular. Panjaitan et al., (2022) avaliaram a eficácia antibiofilme do extrato etanólico da canela e a citotoxicidade também em fibroblastos. A viabilidade celular se manteve em torno de 90% para a maior parte das concentrações de extrato avaliadas. Feng et al., (2023) verificaram a ação e segurança de uma nanoemulsão de cinamaldeído. A toxicidade foi avaliada em zebra-fish e

células epiteliais humanas BEAS-2B. A viabilidade celular foi de mais de 95% após o tratamento. Os resultados em zebra-fish também atestaram a segurança da nanoemulsão.

Cinamaldeído não apresenta citotoxicidade para eritrócitos humanos em concentrações entre 62,5 e 4000 μ M. Entretanto, uma baixa toxicidade foi observada para células HaCat (queratinócitos humanos imortalizados), resultando em uma viabilidade celular de cerca de 73% após 48 horas de exposição (Brustolin et al., 2022). Sharma et al., (2017) verificaram que a exposição à combinação de timol e cinamaldeído em células Vero, através de ensaio de MTT, resulta em uma viabilidade celular de cerca de 78%.

1.6 PROTEÔMICA

Ensaio proteômico têm sido utilizados para determinar possíveis mecanismos de ação de produtos naturais com potencial atividade antifúngica. Piatek et al., (2022) utilizaram esses ensaios para verificar a ação de um composto de prata em *C. parapsilosis*. Foi observado um aumento de proteínas relacionadas às bombas de efluxo, como resposta ao estresse celular e diminuição de proteínas ribossômicas e outras proteínas relacionadas à transcrição, tradução e alongamento de proteínas, além da diminuição da formação de biofilme na etapa de adesão.

Muthamil et al., (2020) verificaram os mecanismos de ação do ácido oleico derivado de *Murraya koenigii* em *C. albicans* por meio de análises proteômicas. Seus alvos de ação são as proteínas envolvidas no metabolismo da glicose, biossíntese de ergosterol e aminoácidos, produção de lipase e homeostase de ferro. Ao formar as redes de interação entre proteínas, foi possível observar que a maioria das proteínas reguladas de maneira diferencial em relação ao controle sem tratamento estão relacionadas a funções moleculares, correspondendo a cerca de 35% das interações, seguido de proteínas relacionadas à processos biológicos, correspondendo a 33% das interações. Por fim, cerca de 31% das interações correspondem a proteínas relacionadas à síntese de componentes celulares.

Neto et al., (2018) verificaram os possíveis mecanismos de ação de naftofuranquinonas em *C. tropicalis*. Foi observado um aumento na expressão de proteínas envolvidas na resposta ao estresse metabólico, metabolismo energético, glicólise e processos de montagem de proteínas e tradução. O composto também ocasionou danos ao DNA.

A ação de β - citronelol em *C. albicans* também foi avaliada por meio de análises proteômicas. As proteínas alteradas em relação ao controle relacionavam-se à atividade catalítica, regulação de funções moleculares, estrutura e regulação da tradução. Nas interações entre proteínas foi possível observar a supressão de proteínas relacionadas à síntese de componentes da parede celular, como *rtbi1*, *Als2p* e 1,3,-beta-glucanosiltransferase *PGA4*. Proteínas relacionadas à resposta ao estresse oxidativo foram reguladas negativamente, como

6 CONCLUSÕES

Neste estudo, as linhagens foram sensíveis à anfotericina B e à caspofungina. Entretanto, a inibição do crescimento não foi total para a caspofungina, observando-se um crescimento residual em concentrações intermediárias, denominado “efeito eagle” ou “fenômeno paradoxal”. Eugenol e cinamaldeído apresentaram ação fungicida para todos os isolados e ação sinérgica entre si e com o itraconazol, reduzindo consideravelmente a quantidade de colônias. Esses resultados estão de acordo com dados encontrados na literatura a respeito da ação de ambos os compostos em espécies de *Candida*. Ambos os produtos causaram uma redução na produção de biomassa de biofilmes produzidos por *C. auris*. Entretanto, a atividade metabólica de biofilme da maioria dos isolados foi aumentada quando tratados com eugenol e cinamaldeído. O eugenol não apresentou citotoxicidade de *C. auris* para células. Cinamaldeído apresentou citotoxicidade nas concentrações em que ocorre inibição da levedura. Os achados estão de acordo com dados de outros estudos, confirmando a segurança de eugenol e redução de viabilidade celular em diferentes tipos celulares quando expostas ao cinamaldeído. Os achados sugerem que, eugenol e cinamaldeído, possivelmente atuam inibindo a síntese de ergosterol, assim como os azólicos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams E, Quinn M, Tsay S, Poirot E, Chaturvedi S, Southwick K. et al. *Candida auris* in healthcare facilities, New York, USA, 2013–2017. **Emerging Infectious Diseases**, 2018.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa no 02/2020. Confirmação de caso de *Candida auris* no Brasil. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/comunicados-de-risco-1/alerta-02-2020-candida-auris-09-12-2020.pdf>>. Acesso em 16/11/2023.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa no 01/2021. Confirmação de novo caso de *Candida auris* no Brasil Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa no 01/2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/comunicados-de-risco-1/alerta-candida-auris-dezembro-de-2021.pdf>>. Acesso em 16/11/2023.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa nº 01/2022: confirmação de caso de *Candida auris* em Hospital de Pernambuco. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/comunicados-de-risco-1/alerta-de-risco-gvims-ggtes-anvisa-no-01-2022>>. Acesso em 16/11/2023.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa nº 01/2023. Confirmação de caso de *Candida auris* em Hospital de São Paulo. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/comunicados-de-risco-1/alerta-candida-auris-em-sp-09-06-2023.pdf>>. Acesso em 16/11/2023.

Ahmed A, Wani MY, Khan A, Manzoor N, Molepo J. Synergistic Interactions of Eugenol-tosylate and Its Congeners with Fluconazole against *Candida albicans*. **PLoS One**, 2015.

Alam H, Srivastava V, Sekgele W, Wani MY, Al-Bogami AS, Molepo J, Ahmad A. Cellular apoptosis and cell cycle arrest as potential therapeutic targets for eugenol derivatives in *Candida auris*. **PLoS one**, v. 18, 2023.

Alves DN, Monteiro AFM, Andrade PN, Lazarini JG, Abílio GMF, Guerra FQS, Scotti MT, Scotti L, Rosalen PL, De Catro RD. Docking Prediction, Antifungal Activity, Anti-Biofilm Effects on *Candida* spp., and Toxicity against Human Cells of Cinnamaldehyde. **Molecules**, v.

25, 2020.

Alves DN, Martins RX, Ferreira ES, Alves AF, Andrade JC, Batista TM, Lazarini JG, Amorim LS, Rosalen PL, Farias DF, Castrop RD. Toxicological Parameters of a Formulation Containing Cinnamaldehyde for Use in Treatment of Oral Fungal Infections: An In Vivo Study. **BioMed Research International**, 2021.

Arif T, Bhosale JD, Kumar N, Mandal TK, Bendre RS, Lavekar GS, Dabur R. Natural products –antifungal agents derived from plants. **Journal of Asian Natural Products Research**, v.11, 2009.

Aris P, Wei Y, Mohamadzadeh M, Xia X. Griseofulvin: An Updated Overview of Old and Current Knowledge. **Molecules**, v. 27, 2022.

Arora P, Singh P, Wang Y, Yadav A, Pawar K, Singh A, Padmavati G, Xu J, Chowdhary A. Environmental Isolation of *Candida auris* from the Coastal Wetlands of Andaman Islands, India. **mBio**, v. 2, 2021.

Atsumi T, Fujisawa S, Tonosaki K. A comparative study of the antioxidant/prooxidant activities of eugenol and isoeugenol with various concentrations and oxidation conditions. **Toxicology in vitro**, 2005.

Ayala-Gaytán JJ, Montoya AM, Martínez-Resendez MF, Guajardo-Lara CE, De J Treviño-Rangel R, Salazar-Cavazos L, Llaca-Díaz JM, González GM. First case of *Candida auris* isolated from the bloodstream of a Mexican patient with serious gastrointestinal complications from severe endometriosis. **Infection**, v. 49, p. 523-525, 2021.

Bapat PS, Nobile CJ. Photodynamic Therapy is Effective Against *Candida auris* Biofilms. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, 2021.

Bandara N, Samaranayake L. Emerging and future strategies in the management of recalcitrant *Candida auris*. **Medical Mycology**, v. 60, 2022.

Bang K, Lee D, Park H, Rhee Y. Inhibition of Fungal Cell Wall Synthesizing Enzymes by *trans*-Cinnamaldehyde. **Bioscience, Biotechnonology, and Biochemistry**, v. 64. P. 1061-1063, 2000.

Barber AE, Riedel J, Sae-Ong T, Kang K, Brabetz W, Panagiotou G, Deising HG, Kurzai O. Effects of Agriculture Fungicide Use of *Aspergillus fumigatus* Abundance, Antifungal Susceptibility, and Population Structure. **mbio**, 2020.

Beardsley J, Halliday CL, Chen SCA, Sorrel TC. Respondind to the emergence of antifungal

drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. **Future Microbiology**, v. 13, p. 1175-1191, 2018.

Bentubo HD, Gompertz OF. Effects of temperature and incubation time on the in vitro expression of proteases, phospholipases, lipases and DNases by different species of *Trichosporon*. **Springerplus**. v.3; p.377, 2014.

Berkow EL, Aangulo D, Lockhart SR. In vitro activity of a novel glucan synthase inhibitor, SCY-078, against clinical isolates of *Candida auris*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.61, 2017.

Biernasiuk A, Baj T, Malm A. Clove Essential Oil and Its Main Constituent, Eugenol, as Potential Natural Antifungals against *Candida spp.* Alone or in Combination with Other Antimycotics Due to Synergistic Interactions. **Molecules**, 2023.

Borman AM, Szekely A, Johson EM. Comparative Pathogenicity of United Kingdom Isolates of the Emerging Pathogen *Candida auris* and Other Key Pathogenic *Candida* Species. **mSphere**, v. 18, 2016.

Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72(1–2), 248–254.

Braga PC, Sasso MDAL, Culici M, Alfieri M. Eugenol and thymol, alone or in combination, induce morphological alterations in the envelope of *Candida albicans*. **Fitoterapia**, v. 78, p. 396-400, 2007.

Bustolin AA, Ramos-Milaré ACFH, De Mello TFP, Aristides SMA, Lonardoni MVC, Silveira TGV. In vitro activity of cinnamaldehyde on *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Experimental Parasitology**, 2022.

Buakaew W, Sranujit RP, Noysang C, Krobthong S, Yingchutrakul Y, Thongsri Y, Potup P, Daowtak K, Usuwanthim K. Proteomic Analysis Reveals Proteins Involved in the Mode of Action of β -Citronellol Identified From *Citrus hystrix* DC. Leaf Against *Candida albicans*. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022.

Cadnum JL, Shaik AA, Piedrahita T, Sankar T, Jencson AL, Larkin EL, Ghannoum MA, Donskey CJ. Effectiveness of Disinfectants Against *Candida auris* and Other *Candida* Species. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, 2017.

Carvalho PC, Lima DB, Leprevost FV, et al. PatternLab for proteomics 4.0: A one-stop shop for analyzing shotgun proteomic data. **Nature protocols**, v.11, p. 102-117, 2016.

Centers For Disease Control And Prevention. CDC. *Candida auris*. Antifungal Susceptibility Testing and Interpretation 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>>. Acesso em 18 de outubro de 2023.

Centers For Disease Control And Prevention (CDC). Recommendations for identification of *Candida auris*. 13 nov. 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/candida-auris-qanda.html>>. Acesso em 12 de outubro de 2023.

Cesur S, Ilhan E, Tut TA, Kaya E, Dalbayrak B, Bosgelmez-Tinaz G, Arisan ED, Gunduz O, Kijenska-Gawronska. Design of Cinnamaldehyde- and Gentamicin-Loaded Double-Layer Corneal Nanofiber Patches with Antibiofilm and Antimicrobial Effects. **ACS Omega**, 2023.

Chaabane F, Graf A, Jequier L, Coste AT. Review on Antifungal Resistance Mechanisms in the Emerging Pathogen *Candida auris*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019.

Cheng CH, Tu YY, Lin JC. Studies of Mercaptosuccinic Acid-Crosslinked Chitosan Hydrogel with Grafted Cinnamaldehyde and Silver Nanoparticles for Antibacterial Biomedical Application. **International Journal of Molecular Sciences**, 2022.

Chong J, Soufan O, Li C, Caraus, A, Li s, Bourque G, Wishart DS, Xia J. MetaboAnalyst 4.0: Towards more transparent and integrative metabolomics analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 46, p. 486–494, 2014.

Chow NA, Munoz JF, Gade L, Berkow EL, Li X, Welsh RM, Forsberg K, Lockhart SR, Adam R, Alanio A, Alaustrey-Izquierdo A, Althawadi S, Araújo AB, Ben-Ami R, Bharat A, Calvo B, Desons-Ollivier M, Escandón P, Gardam D, Gunturu R, Heath CH, Kurzai O, Martin R, Litvinseva A, Cuomo AC. Tracing the Evolutionary History and Global Expansion of *Candida auris* Using Population Genomic Analyses. **mBio**, v. 28, 2020.

Chowdhary A, Sharma C, Meis JF. *Candida auris*: a rapidly emerging cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. **PLoS Pathogens**, v. 13, n. 5, 2017.

Chowdhary, A, Prakash A, Sharma C, Kordalewskis M, Kumar A, Sarma S. et al. A multicentre study of antifungal susceptibility patterns among 350 *Candida auris* isolates (2009–17) in India: role of the *ERG11* and *FKS1* genes in azole and echinocandin resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, p. 891-899, 2018.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2015.

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 4th ed. CLSI standard M27. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2017.

CLSI. AST News update June 2022: hot topic *Candida auris* update: method variability with amphotericin B susceptibility testing. Disponível em: <<https://clsi.org/about/bog/ast-news-update-june-2022-hot-topic/>>. Acesso em 18 de outubro de 2023.

Cordeiro RA, Serpa R, Mendes PBL, Evangelista AJJ, Andrade ARC, *et al.* The HIV aspartyl protease inhibitor ritonavir impairs planktonic growth, biofilm formation and proteolytic activity in *Trichosporon* spp. **Biofouling**, v. 33, n. 7, 2017.

Cortegiani A, Misseri G, Fasciana T, Giammanco A, Giarranto A, Chowdhary A. Epidemiology, clinical characteristics, resistance and treatment of *Candida auris*. **Journal of Intensive Care**, v. 6, 2018.

De Almeida JN, Jr, Francisco EC, Hagen F, Brandão IB, Pereira FM, Presta Dias, PH, De Miranda Costa MM, De Souza Jordão RT, De Groot T, Colombo AL. Emergence of *Candida auris* in Brazil in a COVID-19 Intensive Care Unit. **Journal of Fungi**, v. 7 2021a.

De Almeida JN, JR, Brandão IB, Francisco EC, Almeida SLR, Dias PO, Pereira FM, Ferreira FS, Andrade TS, Costa MMM, Jordão RTS, Meis JF, Colombo AL. Axillary Digital Thermometers uplifted a multidrug-susceptible *Candida auris* outbreak among COVID-19 patients in Brazil. **Mycoses**, v. 64, p. 1062-1072, 2021b.

De Moraes DC. Current scenario of the search for new antifungal agents to treat *Candida auris* infections: An integrative review. **Journal of Medical Mycology**, v. 32, 2022.

Deshkar S, Patil N, Amberkar S, Lad A, Siddiqui F, Sharan S. Identification and Antifungal Drug Susceptibility Pattern of *Candida auris* in India. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 14, p. 131-165, 2022

De Paula SB, Bartelli TF, Raimo V, Santos JP, Morey AT, Bosini MA, Nakamura CV, Yamauchi LM, Yamada-Ogatta SM. Effect of Eugenol on Cell Surface Hydrophobicity, Adhesion, and Biofilm of *Candida tropicalis* and *Candida dubliniensis* Isolated from Oral Cavity of HIV-Infected Patients. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2014.

Di Vito M, Garzoli S, Rosato R, Mariotti M, Gervasoni J, Santucci L, Ovidi E, Cacaci M, Lombarini G, Torelli R, Urbani A, Sanguinetti M, Bugli F. A New Potential Resource in the Fight against *Candida auris*: the *Cinnamomum zeylanicum* Essential Oil in Synergy with Antifungal Drug. **Microbiology Spectrum**, v. 11, 2023.

Didehdar M, Chegini Z, Shariati A. Eugenol: A novel therapeutic agent for the inhibition of *Candida species* infection. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.

Dornelas-Ribeiro M, Pinheiro EO, Guerra C, Braga-Silva LA, Carvalho SMF, Santos ALS, Rozental S, Fracalanza SEL. Cellular characterisation of *Candida tropicalis* presenting fluconazole-related trailing growth. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2017.

Du H, Bing J, Hu T, Ennis CL, Nobile CJ, Huang G. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. **PLoS Pathogens**. 2020; 16(10): 1-18.

Escandón P. Novel Environmental Niches for *Candida auris*: Isolation from a Coastal Habitat in Colombia. **Journal of Fungi**, v. 19, 2022.

EUCAST- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Método para determinação de concentração inibitória mínima em caldo dos agentes antifúngicos para leveduras, 2020.

Eyre DW, Sheppard AE, Madder H, Moir I, Moroney R, Quan TP, Griffiths D, George S, Butcher L, Morgan M, Newnham R.; Sunderland M, Clarke T, Forter D, Hoffman P, Borman AM, Johnson E, Morre G, Brown CS, Walker AS, Peto TEA, Crook DW, Jeffery KJM. A *Candida auris* Outbreak and Its Control in an Intensive Care Setting. **The New England Journal of Medicine**, v. 379, p. 1322-1331, 2018.

Feng J, Sun L, Zhai T, Liang Q, Jiang T, Chen Z. Preparation of cinnamaldehyde nanoemulsions: Formula optimization, antifungal activity, leaf adhesion, and safety assessment. **Industrial Crops and Products**, 2023.

Forsberg K, Woodworth K, Walters M, Berkow EL, Jackson B, Chiller T. *et al.* *Candida auris*: the recent emergence of a multidrug-resistant fungal pathogen. **Medical Mycology**, v. 57, n. 1, p. 1-12, 2019.

Fuentefria AM, Pippi B, Dalla Lana DF, Donato KK, De Andrade SF. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Applied Microbiology**, v.66, n.1, p. 2-13, 2017.

Fuentes C, Ruiz-Rico M, Fuentes A, Barat JM, Ruíz MJ. Comparative cytotoxic study of silica materials functionalised with essential oil components in HepG2 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 147, 2021.

Gabriela N, Rosa AM, Catiana ZI, Soledad C, Mabel OR, Esteban SJ, Veronica B. Daniel W, Ines IM. The Effect of *Zuccagnia punctata*, an Argentine Medicinal Plant, on Virulence Factors from *Candida* Species. **Natural Product Communications**, v. 9, p. 933-936, 2014.

Gao X, Liu Q, Qing H, Mu K, Zhang J, Zhang D, Li H, Mao S. Development of eugenol-loaded submicron emulsion and its antiepileptic effect through regulating the oxidative stress. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 587, 2020.

Ganic T, Vuletic S, Nikolic B, Stevanovic M, Kuzmanovic M, Kekic D, Durovic S, Cvetkovic S, Mitic-Culafic D. Cinnamon essential oil and its emulsion as efficient antibiofilm agents to combat *Acinetobacter baumannii*. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022.

Garcia-Bustos V, Cabanero-Navalon MD, Ruiz-Saurí A, Ruiz-Gaitán AC, Salavert M, Tormo MA, Pemán J. What Do We Know about *Candida auris*? State of the Art, Knowledge Gaps and Future Directions. **Microorganisms**, v.10, 2021.

Gautam P, Mushahary D, Hassan W, Upadhyay SK, Madan T, Sirdeshmukh R, Sundaram CS, Sarma PU. In-depth 2-DE reference map of *Aspergillus fumigatus* and its proteomic profiling on exposure to itraconazole. **Medical Mycology**, v. 54, p. 524-536, 2016.

Gow NAR, Johnson C, Berman J, Coste AT, Cuomo CA, Perlin DS, Bicanic T, Harrison TS, Wiederhold N, Bromley M, Chiller T, Edgar K. The importance of antimicrobial resistance in medical mycology. **Nature Communications**, v. 13, 2022.

Gundel SS, Reis TR, Copetti PM, Favarin FR, Sagrillo MR, Silva AS, Segat JC, Baretta D, Ourique AF. Evaluation of cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity of nanoemulsions containing Mancozeb and Eugenol. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, 2019.

Gupta P, Gupta S, Sharma M, Kumar N, Pruthi V, Poluri KM. Effectiveness of Phytoactive Molecules on Transcriptional Expression, Biofilm Matrix, and Cell Wall Components of *Candida glabrata* and Its Clinical Isolates. **ACS Omega**, 2018.

Hata DJ, Humphries R, Lockhart SR. College of American Pathologists Microbiology Committee. *Candida auris*: An Emerging Yeast Pathogen Posing Distinct Challenges for Laboratory Diagnostics, Treatment, and Infection Prevention. **Archives Pathology Laboratory Medicine**, v. 144, p. 107-114, 2020.

He M, Du M, Fan M, Bian Z. In vitro activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. **Mycopathologia**, v. 163, p. 137-143, 2007.

Hoehamer CF, Cummings ED, Hilliard GM, Rogers PD. Changes in the Proteome of *Candida albicans* in Response to Azole, Polyene, and Echinocandin Antifungal Agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, p. 1655-1664, 2010.

Houst J, Spizek J, Havlicek V. Antifungal Drugs. **Metabolites**, v. 10, 2020.

Identificação de caso de risco de *Candida auris* no Brasil. **Ministério da Saúde**, 2022. Disponível em: ><https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/identificacao-de-possivel-caso-de-candida-auris-no-brasil>> Acesso em 20 de setembro de 2023.

Islamuddin M, Chouhan G, Want MY, Ozbak, Hemeg HA, Afrin F. Immunotherapeutic Potential of Eugenol Emulsion in Experimental Visceral Leishmaniasis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 2016.

Jafri H, Khan MSA, Ahmad I. In vitro efficacy of eugenol in inhibiting single and mixed-biofilms of drug-resistant strains of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. **Phytomedicine**, 2019.

Jianhua W, Hai W. Antifungal susceptibility analysis of berberine, baicalin, eugenol and curcumin on *Candida albicans*. **Journal of Medical Colleges of PLA**, v. 24, p. 132-147, 2009.

Jin Y, Yip HK, Samaranayake YH, Yau JY, Samaranayake LP. Biofilmforming ability of *Candida albicans* is unlikely to contribute to high levels of oral yeast carriage in cases of human immunodeficiency virus infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 7, p. 2961-2967, 2003.

Ju J, Xie Y, Yu H, Guo Y, Cheng Y, Qian H, Yao W. Analysis of the synergistic antifungal mechanism of eugenol and citral. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 123, 2020.

Kamatou GP, Vermaak I, Viljoen AM. Eugenol- From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A review of a remarkable and versatile molecule. **Molecules**, v. 17, p. 6953-6981, 2012.

Kar A, Jayaraman A, Raja MRC, Srinivasan S, Debnath J, Mahapatra SK. Synergic effect of eugenol oleate with amphotericin B augments anti-leishmanial immune response in experimental visceral leishmaniasis in vitro and in vivo. **International Immunopharmacology**, v. 91, 2021.

Karpinski TM, Ozarowski M, Seremak-Mrozikiewicz A, Wolski H, Adamczak A. Plant Preparations and Compounds with Activities against Biofilms Formed by *Candida spp.* **Journal of Fungi**, v. 7, 2021.

Kathuria S, Singh PK, Sharma C, Prakash A, Masih A, Kumar A, Meis JF, Chowdhary A. Multidrug-Resistant *Candida auris* Misidentified as *Candida haemulonni*: Characterization by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and DNA

Sequencing and Its Antifungal Susceptibility Profile Variability by Vitek2, CLSI Broth Microdilution, and Etes Method. **Journal of Clinical Microbiology**. V. 6, 2015.

Kean R, Sherry L, Townsend E, Mckloud E, Short B, Akinbobola A, Mackay WG, Williams C, Jones BL, Ramage G. Surface disinfection challenges for *Candida auris*: an in vitro study. **Journal of Hospital Infection**, v. 98, p. 433-436, 2018.

Kean R, Ramage G. Combined Antifungal Resistance and Biofilm Tolerance: The Global Threat of *Candida auris*. **mSphere**, v. 4, 2019.

Khadke SK, Lee JH, Kim YG, Raj V, Lee J. Appraisal of Cinnamaldehyde Analogs as Dual-Acting Antibiofilm and Anthelmintic Agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2022.

Khan Z, Ahmad S. *Candida auris*: An emerging multidrug-resistant pathogen of global significance. **Current Medicine Research and Practice**, v. 6, p. 240-248, 2017.

Khan SN, Khan S, Misba L, Sharief M, Hashimi A, Khan AU. Synergistic fungicidal activity with low doses of eugenol and amphotericin B against *Candida albicans*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 528, p. 459-464, 2019.

Kim MN, Shin JH, Sung H, Lee K, Kim EC, RN Lee JL, Jung SI, Park KH, Kee SJ, Kim SH, Shin MG, Suh SP, Ryang DW. *Candida haemulonii* and Closely Species at 5 University Hospitals in Korea: Identification, Antifungal Susceptibility and Clinical Features. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, p. 55-61, 2009.

Kim HR, Eom YB. Antifungal and anti-biofilm effects of 6-shogaol against *Candida auris*. **Journal of Applied Microbiology**, 2020.

Kordalewska M, Lee A, Park S, Berio I, Chowdhary A, Zhao Y, Perli DS. Understanding Echinocandin Resistance in the Emerging Pathogen *Candida auris*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2018.

Kuhn DM, George T, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Antifungal Susceptibility of *Candida* Biofilms: Unique Efficacy of Amphotericin B Lipid Formulations and Echinocandins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, 2002.

Lara-Aguillar V, Rueda C, García-Barbazán I, Varona S, Monzón S, Jiménez P, Cuesta I, Zaballos A, Zaragoza O. Adaptation of the emerging pathogenic yeast *Candida auris* to high caspofungin concentrations correlates with cell wall changes. **Virulence**, v. 12, p. 1400-1417, 2021.

Ledwoch K, Maillard J. *Candida auris* Dry Surface Biofilm (DSB) for Disinfectant Efficacy Testing. **Materials**, 2019.

Lee WG, Shin JH, Uh Y, Kang MG, Kim SH, Park KW, Jang HC. First Three Reported Cases

of Nosocomial Fungemia Caused by *Candida auris*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n.9, p. 3139-3142, 2011.

Li X, Yan Z, Xu J. Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. **Microbiology**, v. 149, p. 353-362, 2003.

Lim D, Lim KH, Kang E, Lim SE, Ricci J, Sung SK, Kwon MT, Jeong SH. comprehensive evaluation of carboxylated nanodiamond as a topical drug delivery system. **International Journal of Nanomedicine**, 2016.

Liu J, Li Q, Wang C, Shao J, Wang T, W D, Ma K, Yan G, Yin D. Antifungal evaluation of traditional herbal monomers and their potential for inducing cell wall remodeling in *Candida albicans* and *Candida auris*. **Biofouling**. v. 36, n. 3, p. 319-331, 2020.

Lockhart SR. *Candida auris* and multidrug resistance: Defining the new normal. **Fungal Genetics and Biology**, v. 131, 2019.

Lockhart SR, Etienne KA, Vallabhaneni S. et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on 3 continents confirmed by wholegenome sequencing and epidemiological analyses. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, 2022.

Lone SA, Wani MY, Fru P, Ahmad A. cellular apoptosis and necrosis as therapeutic targets for novel eugenol tosylate congeners against *Candida albicans*. **Scientific Reports**, 2020.

Lopachin RM, Gavin T. Molecular Mechanisms of Aldehyde Toxicity: A Chemical Perspective. **Chemical Research in Toxicology**, 2014.

Lopes AA, Fonseca FN, Rocha TM, Freitas LB, Araújo EVO, Wong DVT, Júnior RCPM, Leal LKAM. Eugenol as a Promising Molecule for the Treatment of Dermatitis: Antioxidant and Anti-inflammatory Activities and Its Nanoformulation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2018.

Maurice MN, Huseein EAM, Monib MEMM, Alsharifi FM, Namazi NI, Ahmad AA. Evaluation of the scolical activities of eugenol essential oil and its nanoemulsion against protoscoleces of hydatid cysts. **PLoS one**, 2021.

Marchese A, Barbieri R, Corpo E, Orhan IE, Daglia M, Izadi M, Abdollahi M, Nabavi SM, Ajami M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, 2017.

Miranda-Cadena K, Marcos-Arias C, Mateo E, Aguirre-Urizar JM, Quindós G, Eraso E. In vitro activities of carvacrol, cinnamaldehyde and thymol against *Candida biofilms*. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v.143, 2021(a).

Miranda-Cadena K, Dias M, Costa-Barosa, Collins T, Marcos-Arias C, Eraso, Elena, Pais C, Quindós G, Sampaio P. Development and Characterization of Monoolein-Based Liposomes of Carvacrol, Cinnamaldehyde, Citral or Thymol with Anti-*Candida* Activities. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 65, 2021(b).

Moraes DC. Current scenario of the search for new antifungal agents to treat *Candida auris* infections: An integrative review. **Journal of Medical Micology**, v. 32, 2022.

Mosmann T. Rapid Colrimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1986.

Muñoz JF, Welsh RM, Shea T, Batra D, Gade L, et al. 2021. Clade-specific chromosomal rearrangements and loss of subtelomeric adhesins in *Candida auris*. **Genetics**, 2021.

Muthamil S, Prasath KG, Priya A, Precilla P, Pandian SK. Global proteomic analysis deciphers the mechanism of action of plant derived oleic acid against *Candida albicans* virulence and biofilm formation. **Scientific Reports**, v. 10, 2020.

Neto JBA, Silva CR, Campos RS. et al., 2018. Action mechanism of naphthofuranquinones against fluconazole-resistant *Candida tropicalis* strains evidenced by proteomic analysis: The role of increased endogenous ROS. **Microbial Pathogenesis**, v. 117, p. 32-42.

Padovan ACB, Rocha WPDS, Toti ACM, Freitas De Jesus DF, Chaves GM, Colombo AL. Exploring the resistance mechanisms in *Trichosporon asahii*: Triazoles as the last defense for invasive trichosporonosis. **Fungal Genetics and Biology**. v.133, 103267, 2019.

Patra JK, Das G, Fraceto LF, Campos EVR, Rodriguez-Torres MP, Acosta-Torres LSL, Diaz-Torres LA, Grillo R, Swamy MK, Sharma S, Habtemariam S, Shin H. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanotechnology**, 2018.

Panjaitan CC, Widyarman AS, Astoeti TE. Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Cinnamon (*Cinnamomum burmani*) Extract on Periodontal Pathogens—An in vitro study. **European Journal of Dentistry**, v. 16, 2022.

Pereira WA, Pereira CDS, Assunção RG, Silva ISC, Rego FS, Alves LSR, Santos JS, Nogueira FJR, Zagmignan A, Thomsen TT, Lobner-Olesen A, Krogfelt KA, Silva LCN Abreu AG. New Insights into the Antimicrobial Action of Cinnamaldehyde towards *Escherichia coli* and Its Effects on Intestinal Colonization of Mice. **Biomolecules**, 2021.

Piatek M, O’Beirne C, Beato Z, Tacke M, Kavanagh K. Exposure of *Candida parapsilosis* to the silver(I) compound SBC3 induces alterations in the proteome and reduced virulence. **Metalomics**, v. 14, 2022.

Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, Wormley FL, Jr Mowat E, Ramage G, Lopez-Ribot JL. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. **Nature protocols**, v. 3, p. 1494–1500, 2008.

Polaquini CR, Torrezan GS, Santos VR, Nazaré AC, Campos DL, Almeida LA, Silva IC, Ferreira H, Pavan FR, Duque C, Regasini LO. Antibacterial and Antitubercular Activities of Cinnamylideneacetophenones. **Molecules**, v. 22, 2017.

Poulsen JS, Madsen AM, White JK, Nielsen JL. Physiological Responses of *Aspergillus niger* Challenged with Itraconazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, 2021.

Prajapati J, Rao P, Poojara L, Acharya D, Patel SK, Goswami D.; RAWAL, R.M. A Comprehensive in vitro and in silico Assessment on Inhibition of CYP51B and Ergosterol Biosynthesis by Eugenol in *Rhizopus oryzae*. **Springer Nature - PMC COVID-19 Collection**, v. 80, 2023.

Prasath KG, Sethupathy S, Pandian SK. Proteomic analysis uncovers the modulation of ergosterol, sphingolipid and oxidative stress pathway by myristic acid impeding biofilm and virulence in *Candida albicans*. **Journal of Proteomics**, v. 208, 2019.

Qian W, Sun Z.; WANG, TIN.; YANG, M.; LIU, M.; ZHANG, J.; LI, Y. Antimicrobial activity of eugenol against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its effects on biofilms.

Microbial Pathogenesis, v. 139, 2020.

Rangel ML, Aquino SG, Lima JM, Castellano LR, Castro RD. In Vitro Effect of Cinnamomum zeylanicum Blume Essential Oil on *Candida spp.* Involved in Oral Infections. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2018.

Rajendran R, Sherry L, Nile CL, Sherriff A, Johson EM, Hanson MF, Williams C, Munro CA, Jones BJ, Ramage G. Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with *Candida albicans* bloodstream infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, p. 87-93, 2012.

Ranjitkar S, Zhang D, Sun F, Salman S, He W, Venkitanarayana K, Tulman ER, Tian X. Cytotoxic effects on cancerous and non-cancerous cells of *trans*-cinnamaldehyde, carvacrol, and eugenol. **Scientific Reposrts**, v. 11, 2021.

Raut JS, Shinde RB, Chauhan NM, Kaeuppayil SM. Terpenoids of plant origin inhibit morphogenesis, adhesion, and biofilm formation by *Candida albicans*. **Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, 2012.

Rhodes J, Abdolrasouli A, Farrer RA, Cuomo CA, Aanensen DM, Aamostrong-James D, Fisher MC, Schelens S. Genomic epidemiology of the UK outbreak of the emerging humam fungal pathogen *Candida auris*. **Emerging Microbes and Infections**, v. 7, 2018.

Rosenberg A, Ene JV, Bibi M, Zakin S, Segak SE, Ziv N, Dahan AM, Colombo AL, Bennett RJ, Berman J. Antifungal tolerance is a subpopulation effect distinct from resistance and is associated with persistent candidemia. **Nature Communications**, 2018.

Rueda C, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O. Paradoxical Growth of *Candida albicans* in the Presence of Caspofungin Is Associated with Multiple Cell Wall Rearrangements and Decreased Virulence. **Antimicrobial Agents and Chemoterapy**, v. 58, 2014.

Ruiz GB, Lorenz A. What do we know about the biology of the emerging fungal pathogen of humans *Candida auris*? **Microbiological Researcher**, 2020.

Ruiz-Gaitán AC, Cantón E, Fernández-Rivero ME, Ramírez P, Pemán J. Outbreak of *Candida auris* in Spain: A comparison of antifungal activity by three methods with published data. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 53, p. 541-546, 2019.

Saracino IM, Foschi C, Pavoni M, Spigarelli R, Valerii MC, Spisni E. Antifungal Activity of Natural Compounds vs. *Candida spp.*: A Mixture of Cinnamaldehyde and Eugenol Shows Promising In Vitro Results. **Antibiotics**, 2022.

Sardi JCOC, Silva DR, Mendes-Giannini MJS, Rosalen PL. *Candida auris*: Epidemiology, risk factors, virulence, resistance, and therapeutic options. **Microbial Pathogenesis**, 2018.

Satoh K, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. **Microbiology and Immunology**, v. 53, n. 1, p. 41-44, 2009.

Sawicki R, Golus J, Przekora A, Ludwiczuk A, Sieniawksa E, Ginalksa G. Antimycobacterial Activity of Cinnamaldehyde in a *Mycobacterium tuberculosis* (H37Ra) Model. **Molecules**, 2018.

Sayeed MA, Farooqi J, Jabeen K, Mahmood SF. Comparison of risk factors and outcomes of *Candida auris* candidemia with non-*Candida auris* candidemia: A retrospective study from Pakistan. **Medical Mycology**, 2020.

Schelenz S. et al. First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 5, p. 35, 2016.

Sears D, Schwartz BS. *Candida auris*: An emerging multidrug-resistant pathogen. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 63, p. 95-98, 2017.

Shaban S, Patel M, Ahmed A. Improved efficacy of antifungal drugs in combination with monoterpene phenols against *Candida auris*. **Scientific reports**, v. 10, 2020.

Shahabadi N, Akbari A, Karampour F, Falsafi M. Cytotoxicity and antibacterial activities of new chemically synthesized magnetic nanoparticles containing eugenol. **Journal of Drug Delivery Science and Techonolgy**, v.49, 2019.

Sharifzadeh A, Shokri H. In vitro synergy of eugenol on the antifungal effects of voriconazole against *Candida tropicalis* and *Candida krusei* strains isolated from the genital tract of mares. **Equine Veterinary Journal**, 2020.

Shahina Z, Ndlovu E, Persaud O, Sultana T, Dahms TES. *Candida albicans* Reactive Oxygen Species (ROS)-Dependent Lethality and ROS-Independent Hyphal and Biofilm Inhibition by Eugenol and Citral. **Microbiology Spectrum**, v. 10, 2022.

Sharma G, Raturi K, Dang S, Gupta S, Gabrani S. Inhibitory effect of cinnamaldehyde alone and in combination with thymol, eugenol and thymoquinone against *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of Herbal Medicine**, v.9, p. 68-73, 2017.

Shelton JMG, Collins R, Uzzell CB, Alghamdi A, Dyer PS, Singer AC, Fisher MC. Citizen Science Surveillance of Triazole-Resistant *Aspergillus fumigatus* in United Kingdom Residential Garden Soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, 2022.

Sherry L, Ramage G, Kean R, Borman A, Johsson EM, Richardson MD, Rautemaa-Richardson R. Biofilm-Forming Capability of Highly Virulent, Multidrug-Resistant *Candida auris*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, 2017.

Shreaz S, Bathia R, Khan N, Muralidhar S, Basir SF, Manzoor N, Khan LA. Spruce oil cinnamaldehyde exhibits potent anticandidal activity against fluconazole resistant clinical isolates. **Fitoterapia**, v. 82, p. 1012-1020, 2011.

Shreaz S, Wani WA, Behbehani JM, Raja V, Irshad M, Karched M, Ali I, Siddiqi WA, Hun LT. Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. **Fitoterapia**, v. 112, p. 116-131, 2016.

Silva AL, Bezerra LP, Freitas CDT. et al., 2022. *Luffa operculata* seed proteins: Identification by LC-ESI-MS/MS and biotechnological potential against *Candida albicans* and *C. krusei*. **Analytical Biochemistry**, v. 655.

Soll DR, Daniels KJ. Plasticity of *Candida albicans* Biofilms. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, p. 565-595, 2016.

Song N, Zhou X, Li D, Li X, Liu W. A Proteomic Landscape of *Candida albicans* in the Stepwise Evolution to Fluconazole Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 66, 2022.

Spivak ES, Hanson KE. *Candida auris*: an Emerging Fungal Pathogen. **Journal of Clinical Microbiology**, 2018.

Spruijtenburg B, Badali H, Abastabar M, Mirhendi H, KhoDdavaissy S, Sharifisooraki J, Taghizadeh Armaki M, De Groot T, Meis JF. Confirmation of fifth *Candida auris* clade by whole genome sequencing. **Emerging Microbes and Infections**, v. 11, p. 2405-2411, 2022.

Stevens DA, Espiritu M, Parmar R. Paradoxical Effect of Caspofungin: Reduced Activity against *Candida albicans* at High Drug Concentrations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, 2004.

Stevens DA, Ichinomiya M, Koshi Y, Horiuchi H. Escape of *Candida* from caspofungin inhibition at concentrations above the MIC (paradoxical effect) accomplished by increased cell wall chitin; evidence for beta-1,6-glucan synthesis inhibition by caspofungin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, 2006.

Sun W, Wang D, Yu C, Huang X, Li X, Sun S. Strong synergism of dexamethasone in

combination with fluconazole against resistant *Candida albicans* mediated by inhibiting drug efflux and reducing virulence. **Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, p. 399-405, 2017.

Szweda P, Guewa K, Kurzyk E, et al. Essential Oils, Silver Nanoparticles and Propolis as Alternative Agents Against Fluconazole Resistant *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida krusei* Clinical Isolates. **Indian Journal of Microbiology**, v. 55, p. 175-183, 2015.

Teles AM, Silva-Silva JV, Fernandes JMP, Abreu-Silva AN, Calabrese KS, Filho NEM, Moushrek AN, Almeida-Souza F. GC-MS Characterization of Antibacterial, Antioxidant, and Antitrypanosomal Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil and Eugenol. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, 2021.

Thirapanmethee K, Kanathun P, Khuntayaporn P, Huayhongthong S, Surassmo S, Chomnawang MT. Cinnamaldehydhe: A plant-derived antimicrobial for overcoming multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 48, 2021.

Tsay S, Kallen A, Jackson BR, Chiller TM, Vallabhaneni S. Approach to the Investigation and Management of Patients with *Candida auris*, an Emerging Multidrug-Resistant Yeast. **Clinical Infectious Diseases**, v. 66, p. 306-311, 2018.

Wani MY, Ahmad A, Aqlan FM, Al-Bogami AS. Modulation of key antioxidant enzymes and cell cycle arrest as a possible antifungal mode of action of cinnamaldehyde based azole derivative. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**, v. 1, 2022.

Watkins RR, Gowen R, Lionakis MS, Ghannoum M. Update on the Pathogenesis, Virulence, and Treatment of *Candida auris*. **Pathogens and Immunity**, v. 7, p. 46-65, 2022.

Welsh RM, Bentz ML, Shams A, Houston H, Lyons A, Rose LJ, Litvintseva AP. Survival, Persistence, and Isolation of the Emerging Multidrug-Resistant Pathogenic Yeast *Candida auris* on a Plastic Health Care Surface. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, p. 2996-3005, 2017.

Wijesinghe GK, Maia FC, Oliveira TR, Feiria SNB, Joia F, Barbosa JP, Boni GC, Sardi JCO, Rosalen PL, Hofling JF. Effect of *Cinnamomum verum* leaf essential oil on virulence factors of *Candida* species and determination of the in-vivo toxicity with *Galleria mellonella* model. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, 2020.

Yadav A, Jain K, Wang Y, Pawar K, Kaur H, Sharma KK, Tripathy V, Singh A, Xu J, Chowdhary A. *Candida auris* on Apples: Diversity and Clinical Significance. **mBio**, v. 13, 2022.

Ye W, Chen Y, Zhang W, Liu T, Liu Y, Li M, Li S, Xu L, Liu H. Potential Anti-*Candida albicans* Mechanism of Trichoderma Acid from Trichoderma spirale. **Molecular Sciences**, v. 46, 2023.

Zhang J, Liu L, He Y, Kong W, Huang S. Cytotoxic effect of trans-cinnamaldehyde on human leukemia K562 cells. **Acta Pharmacologia Sinica**, 2010.