RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 21/01/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

GEOVANI MOREIRA DA CRUZ

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DE *Origanum vulgare* L. SOBRE CULTURAS PLANCTÔNICAS E BIOFILMES DE *Candida* spp.

2025

GEOVANI MOREIRA DA CRUZ

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Origanum vulgare* L. SOBRE CULTURAS PLANCTÔNICAS E BIOFILMES DE *Candida* spp.

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Microbiologia e Imunologia. Linha de pesquisa: Agentes antimicrobianos e métodos de controle para infecções de interesse médico-odontológico.

Orientadora: Profa. Dra. Vanessa Marques Meccatti Domiciano

São José dos Campos

2025

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2025]. Disponível em http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Cruz, Geovani Moreira Da
Atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico de Origanum vulgare L. sobre culturas planctônicas e biofilmes de Candida spp. / Geovani Moreira Da Cruz. - São José dos Campos : [s.n.], 2025.
68 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2025.
Orientador: Vanessa Marques Meccatti Domiciano.

1. Fitoterapia. 2. Biofilme. 3. Candida spp. 4. Origanum vulgare. I. Domiciano, Vanessa Marques Meccatti, orient. II. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - UNESP. IV. Universidade Estadual Paulista (UNESP). V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática, ICMC/USP
com adaptações - STATI, STRAUD e DTI do ICT/UNESP.
Renata Aparecida Couto Martins CRB-8/8376

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

As infecções fúngicas têm se tornado uma preocupação crescente no ambiente clínico e a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a gravidade desse problema e tem alertado para a necessidade de novas abordagens terapêuticas, especialmente no combate a patógenos oportunistas como o gênero *Candida* spp., que frequentemente causam infecções graves, particularmente em pacientes hospitalizados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Nesse contexto, a busca por alternativas terapêuticas eficazes é fundamental e a fitoterapia se destaca como uma opção promissora, apresentando propriedades antifúngicas, antibiofilme e anti-inflamatórias. Este estudo foca na análise da atividade antifúngica do extrato hidroalcóolico de *Origanum vulgare* L. contra cepas ATCC de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida dubliniensis*. A investigação inclui uma análise fitoquímica detalhada, além de avaliações de citotoxicidade e genotoxicidade das concentrações testadas, com o objetivo de contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas no combate à infecção fúngica.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Fungal infections have become a growing concern in the clinical environment and the World Health Organization (WHO) recognizes the seriousness of this problem and has warned of the need for new therapeutic approaches, especially in the fight against opportunistic pathogens such as the genus *Candida* spp., which often cause serious infections, particularly in patients hospitalized in Intensive Care Units (ICU). In this context, the search for effective therapeutic alternatives is essential and phytotherapy stands out as a promising option, with antifungal, antibiofilm, and anti-inflammatory properties. This study focuses on the analysis of the antifungal activity of the hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L. against ATCC strains of *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida dubliniensis*. The research includes detailed phytochemical analysis, as well as cytotoxicity and genotoxicity assessments of the concentrations tested, with the aim of contributing to the development of new therapeutic approaches in the fight against fungal infection.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Vanessa Marques Meccatti Domiciano (Orientadora)
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Marianne Spalding
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Jonatas Rafael de Oliveira
Universidade Anhembi Morumbi
Escola de Medicina
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 21 de janeiro de 2025.

DEDICATÓRIA

Primeiramente eu dedico esse mestrado a Deus, a Ele toda honra e glória e o louvor. Amém.

Dedico este trabalho à minha noiva, Yasmin Martins, pelo amor, paciência e apoio incondicional em cada etapa desta jornada. Sua presença foi essencial para que eu superasse os desafios e alcançasse este objetivo. Yasmin, você é minha fonte constante de inspiração e força. Nos momentos mais difíceis, foi sua confiança em mim que me impulsionou a seguir em frente. Este trabalho é tanto seu quanto meu. Agradeço por acreditar em mim, mesmo quando eu duvidei de mim mesmo. Sua paciência, amor e compreensão tornaram este caminho possível. Ao seu lado, sinto que não há limites para o que podemos alcançar. Com todo o meu carinho e gratidão, dedico esta conquista a você, minha luz em todos os momentos.

Aos meus pais, José Laurindo da Cruz e Claudia Maria Moreira da Cruz, minha eterna gratidão. Vocês sempre foram meu porto seguro, oferecendo amor, apoio e orientação em todos os momentos. Suas palavras de encorajamento e exemplos de determinação e resiliência me inspiraram a nunca desistir dos meus sonhos. Este trabalho é fruto dos valores que me ensinaram e da educação que me deram. Sem vocês, nada disso seria possível. Obrigado por acreditarem em mim, por cada sacrifício feito e por estarem sempre ao meu lado. Esta conquista também é de vocês.

E, finalmente, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento pessoal e acadêmico, dedico esta conquista com gratidão e respeito.

AGRADECIMENTOS

Quero deixar minhas palavras de agradecimento a três professoras: Profa. Dra. Luciane Dias de Oliveira e Profa. Dra. Vanessa Marques Meccatti Domiciano que ao longo do meu mestrado acadêmico tiveram a paciência e o cuidado de me orientarem ao máximo.

E quero deixar palavras de carinho também a Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci por cada ajuda na composição fitoquímica da amostra, tendo paciência comigo e explicando passo a passo cada reação química.

Agradeço a Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal (CASB) pela oportunidade de realizar um dos meus objetivos acadêmicos o mestrado, pela excelente infraestrutura e suporte ao desenvolvimento deste trabalho.

Gostaria de agradecer humildemente a cada colaborador da equipe de limpeza que limpava o laboratório e fazia a retirada do lixo.

A equipe geral do laboratório que trocamos várias experiências e crescemos profissionalmente.

Agradecer a colaboradora Carla que sempre se dispôs a ajudar em organizações de documentos administrativos.

Aos técnicos Sérgio e Jane por sempre estar de prontidão para atender as demandas do laboratório com pesquisas e urgências que ocorreram.

Agradecer a cada professor que ministrou créditos que eu tive o privilégio de participar e a oportunidade de ministrar aulas no PAADES (bioquímica) e no estágio docência (farmacologia).

Agradeço com muita humildade o período de bolsa que eu tive da CAPES, processo nº 88887.939882/2024-00.

"Dá instrução ao sábio, e ele se fará mais sábio; ensina o justo e ele aumentará em entendimento. O temor do Senhor é o princípio da sabedoria, e o conhecimento do Santo a prudência ". (Provérbios 9; 9 -10)

RESUMO

Cruz GM. Atividade antifúngica do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. sobre culturas planctônicas e biofilmes de *Candida* spp. [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2025.

As leveduras de *Candida* spp. são comensais e podem ocasionar infecções sistêmicas com alta taxa de mortalidade em pacientes com o sistema imune debilitado. A fitoterapia tem recebido alta visibilidade, pois utiliza plantas medicinais como alternativas no combate a infecções fúngicas. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade fitoquímica, citotoxicidade, genotoxicidade e ação antifúngica do extrato hidroalcóolico de *Origanum vulgare* L. (orégano) sobre cepas padrão (ATCC) de *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida tropicalis* (ATCC 13803) e *Candida dubliniensis* (ATCC MYA 646). Após o procedimento de extração do vegetal, foi realizada a quantificação de teor de sólidos solúveis, fenóis, flavonoides, atividade antioxidante e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Para as análises da citotoxicidade e genotoxicidade utilizou-se a linhagem de queratinócitos humanos (HaCat). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo (CLSI M7-A6). Para a formação do biofilme de 48 horas foi utilizado o caldo BHI, o tempo de contato com as concentrações pré-determinadas do extrato vegetal foi de 1h e 24h, sendo a clorexidina 0,06% o controle positivo. O teste colorimétrico MTT foi utilizado para verificar o percentual de redução. Com relação a análise estatística, se os dados apresentaram normalidade, foram analisados por ANOVA e Teste de Tukey; caso contrário, pelo teste de Kruskal-Wallis e Teste de Dunn. Foi utilizado o programa GraphPad Prism 5.0, considerando-se um nível de significância de 5%. O valor de sólidos e solúveis foi de 3,15 mg/mL. Fenóis totais foi de 0,888 mg/mL, flavonoides de 0,076 mg/mL e atividade antioxidante de 35,64 µg/mL. Na análise por HPLC foram identificados picos de carvacrol, ácido cafeoilquínico, ácido clorogênico, vitexina, isovitexina e ácido rosmarínico. O extrato apresentou ação antifúngica sobre as culturas planctônicas de *C. albicans* e *C. tropicalis*. Em relação a erradicação do biofilme, obteve-se porcentagem de redução acima de 60% para *C. albicans*, *C. tropicalis*, em ambos os tratamentos de 1 h e 24 h ($p < 0,05$), *C. dubliniensis* apresentou percentual de erradicação de 17,9% em 1 h e 70,9% em 24h. O extrato não apresentou citotoxicidade, pois após aplicação de diferentes concentrações, a viabilidade celular manteve-se acima de 70 % ($p > 0,05$). A análise de genotoxicidade apresentou poucos micronúcleos em algumas das diluições avaliadas. Diante disso, conclui-se que o extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. apresenta importantes atividades biológicas como a ação antioxidante, antifúngica e antibiofilme contra *Candida* spp. e que não apresenta efeitos citotóxicos e genotóxicos na faixa de concentrações testadas.

Palavras-chave: fitoterapia; biofilme; *Candida* spp.; *Origanum vulgare*.

ABSTRACT

Cruz GM. Antifungal activity of the hydroalcoholic extract of Origanum vulgare L. on planktonic cultures and Candida spp. biofilms [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2025.

Candida spp. yeasts are commensal and can cause systemic infections with a high mortality rate in patients with weakened immune systems. Phytotherapy has received high visibility, as it uses medicinal plants as alternatives in the fight against fungal infections. The aim of this study was to evaluate the phytochemical activity, cytotoxicity, genotoxicity and antifungal action of the hydroalcoholic extract of Origanum vulgare L. (oregano) on standard strains (ATCC) of Candida albicans (ATCC 18804), Candida tropicalis (ATCC 13803) and Candida dubliniensis (ATCC MYA 646). After the vegetable extraction procedure, the quantification of soluble solids, phenols, flavonoids, antioxidant activity and high-performance liquid chromatography (HPLC) was performed. For the analysis of cytotoxicity and genotoxicity, the human keratinocyte strain (HaCat) was used. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungal Concentration (MFC) were determined by the broth microdilution method (CLSI M7-A6). For the formation of the 48-hour biofilm, BHI broth was used, the contact time with the predetermined concentrations of the plant extract was 1h and 24h, with 0.06% chlorhexidine being the positive control. The MTT colorimetric test was used to verify the percentage of reduction. Regarding the statistical analysis, if the data were normal, they were analyzed by ANOVA and Tukey's test; otherwise, by the Kruskal-Wallis test and Dunn's test. The GraphPad Prism 5.0 program was used, considering a significance level of 5%. The value of solids and solubles was 3.15 mg/mL. Total phenols were 0.888 mg/mL, flavonoids 0.076 mg/mL, and antioxidant activity was 35.64 µg/mL. In the HPLC analysis, peaks of carvacrol, caffeoylquinic acid, chlorogenic acid, vitexin, isovitexin and rosmarinic acid were identified. The extract showed antifungal action on planktonic cultures of C. albicans and C. tropicalis. Regarding the eradication of biofilm, a reduction percentage above 60% was obtained for C. albicans, C. tropicalis, in both treatments of 1 h and 24 h ($p < 0.05$), C. dubliniensis showed an eradication percentage of 17.9% in 1 h and 70.9% in 24 h. The extract did not present cytotoxicity, because after application of different concentrations. Cell viability remained above 70 % ($p > 0.05$). The genotoxicity analysis showed few micronuclei in some of the dilutions evaluated. Therefore, it is concluded that the hydroalcoholic extract of O. vulgare L. has important biological activities such as antioxidant, antifungal and antibiofilm action against Candida spp. and that it does not present cytotoxic and genotoxic effects in the range of concentrations tested.

Keywords: phytotherapy; biofilm; Candida spp; Origanum vulgare.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema ilustrativo do modelo de extração do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. 25

Figura 2 - Ilustração do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. 26

Figura 3 - Esquema ilustrativo para quantificação do teor de sólidos e solúveis do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. 26

Figura 4 - Cultura das leveduras em ágar *Sabouraud-Dextrose*. 30

Figura 5 - Demostração da preparação do inóculo fúngico 31

Figura 6 - Ilustração da metodologia da CIM e CFM 32

Figura 7 - Demonstração da metodologia de produção de biofilme in vitro em 48 h. 33

Figura 8 - Ilustrações das etapas para análise da citotoxicidade em queratinócitos humanos 35

Figura 9 - A: Cromatogramas do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L 280 nm; B: Cromatogramas em 320 mn. 40

Figura 10 - Comparação dos cromatogramas de *O. vulgare* L. em diferentes comprimentos de onda 41

Figura 11 - Avaliação de viabilidade celular do biofilme monotípico de *Candida albicans* após aplicação do extrato vegetal (1 hora) 45

Figura 12 - Avaliação de viabilidade celular do biofilme monotípico de *Candida albicans* após aplicação do extrato vegetal (24 horas) 46

Figura 13 - Avaliação de viabilidade celular do biofilme monotípico de *Candida tropicalis* após aplicação do extrato vegetal (1 hora)..... 47

Figura 14 - Avaliação de viabilidade celular do biofilme monotípico de *Candida tropicalis* após aplicação do extrato vegetal (24 horas)..... 47

Figura 15 - Avaliação de viabilidade celular do biofilme monotípico de *Candida dubliniensis* após aplicação do extrato vegetal (1 hora) 48

Figura 16 - Avaliação de viabilidade celular do biofilme monotípico de *Candida dubliniensis* após aplicação do extrato vegetal (24 horas) 49

Figura 17 - Percentual da viabilidade celular após a exposição do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L (mg/mL) em 1 hora..... 50

Figura 18 - Percentual da viabilidade celular após a exposição do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L (mg/mL) em 24 horas 51

Figura 19 - análise dos efeitos genotóxicos em queratinócitos humanos (HaCat) ... 52

Figura 20 - Microfotografia de núcleos de queratinócitos humanos (HaCat)..... 52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....18
2.1 Gênero *Candida* spp.....18
2.2 Fitoterapia 20
2.3 Orégano (*Origanum vulgare* L.).....22
3 PROPOSIÇÃO 24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....25
4.1 Preparação do extrato do *O. vulgare* L.....25
4.2 Teor de Sólidos Solúveis 26
4.3 Determinação de fenóis totais na amostra do extrato de *O. vulgare* L.....27
4.4 Determinação do teor de flavonoides totais do extrato 28
4.5 Avaliação da atividade supressora de radicais livres do extrato.....28
4.6 Análise fitoquímica do extrato 29
4.7 Leveduras.....30
4.8 Preparações do inóculo fúngico 30
4.9 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do extrato de *O. vulgare* L. 31
4.10 Avaliação da ação antibiofilme dos grupos experimentais por meio de análise colorimétrica de MTT 32
4.11 Queratinócitos humanos (HaCat).....34
4.11.1 Cultivo, manutenção e contagem celular 34
4.11.2 Avaliação do percentual de citotoxicidade do extrato de *O. vulgare* L. ..34
4.12 Avaliação da genotoxicidade 36
4.13 Análise estatística 36
5 RESULTADO 37
5.1 Teor de sólidos solúveis.....37
5.2 Determinação de fenóis totais na amostra do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L.....37
5.3 Determinação do teor de flavonoides totais do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L.....38

5.4 Avaliação da atividade supressora de radicais livres do extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. 38
5.5 Avaliação da composição fitoquímica por HPLC 39
5.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do extrato de *O. vulgare* L. 44
5.7 Avaliação da ação antibiofilme do extrato de *O. vulgare* L. 44
5.8 Percentual de citotoxicidade do extrato de *O. vulgare* L. em queratinócitos humanos (HaCat) 49
5.9 Avaliação da genotoxicidade 51
6 DISCUSSÃO 53
7 CONCLUSÃO 58
REFERÊNCIAS.....59

1 INTRODUÇÃO

Tem sido relatado o aumento global nas infecções causadas pelo gênero *Candida* spp. resistentes aos antifúngicos já comercializados (Arendrup, 2017). Esse micro-organismo sendo comensal é rotineiramente isolado no trato gastro intestinal, epidérmico, mucosa oral e trato geniturinário feminino. Contudo, é um patógeno oportunista e deve-se atentar ao cuidado nas contaminações cruzadas em leitos de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), pois se trata de um micro-organismo já presente na microbiota humana e a diminuição da imunidade possibilita a proliferação desse fungo resultando no desenvolvimento de patologia com características oportunistas (Lopes et al., 2022; Takashima et al., 2022).

Sabe-se que o gênero *Candida* spp. tem um potencial para causar doenças sistêmicas e que se enquadra como uma das infecções nosocomias presentes na corrente sanguínea sendo a mais prevalente dentre as infecções de origem fúngica. São inúmeras as espécies de *Candida* spp. presentes como exemplo: *Candida albicans, Candida tropicalis, Candida glabrata, Candida parapsilosis* e *Candida krusei* que são isoladas em amostras clínicas como fluídos biológicos para identificação do patógeno. Também uma espécie específica denominada *Candida auris*, com alto fator de virulência e patogenicidade, têm emergindo desde meados de 2009 no Japão e tem chamado atenção, devido ao seu alto índice de mortalidade em pacientes debilitados e que são acometidos pela Covid-19 (Hoenigl et al., 2022; Sikora et al., 2022; Lopes et al., 2022.). Com a técnica de biologia molecular (PCR) e antibiogramas, *Candida auris* foi classificada como multirresistente aos antifúngicos disponíveis como linha de tratamento, sendo uma única linha de tratamento as equinocandinas que inibem sua síntese de beta-glucano (Pristov et al., 2019; Sikora et al., 2022).

Didaticamente as espécies do gênero *Candida* spp. são divididas em *albicans* e não *albicans* com intuito de facilitar sua identificação no âmbito clínico e acadêmico. Observa-se uma prevalência da espécie *albicans* em amostras de pacientes considerados saudáveis que foram submetidos a cirurgias gastrointestinais devido a seu sítio da microbiota intestinal (Kapitan et al., 2018; Pereira et al., 2021). Todavia, esses pacientes não apresentam doença relacionada

ao patógeno quando apresentam homeostase do sistema imunológico e uma simbiose microbiana (Lim et al., 2021). Outras espécies desse gênero são *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii* e *Candida lusitaniae* (Jabri et al., 2022). São fungos leveduriformes intimamente relacionados com infecções dérmicas e sistêmicas (todas denominadas infecções micóticas independente de sua localização). Algumas cepas clínicas de *C. dubliniensis* apresentam certa resistência a fármacos que *C. albicans* não desenvolveu até o momento pela diferença de um gene específico (Jadri et al., 2022; Lee et al., 2022; Lopes et al., 2022).

Morfologicamente *Candida* spp. possui estágios de acordo com seu grau de patogenicidade, sendo as leveduriformes, pseudo-hifas e hifas verdadeiras que geram infecções mais profundas em situações oportunistas (Deng et al., 2021). As condições ambientais para essa levedura tornar-se invasiva são: soro, N-acetyglucosamina e elevados níveis de CO_2 que são potenciadores na indução de crescimento “filamentoso” em *C . albicans,* além de queda no sistema imunológico inato (Deng et al., 2021; Jabri et al., 2022), sendo sua visualização clara em microscopia comum com uma coloração de Gram. A levedura se apresenta em formato ovoide em estágios iniciais da proliferação e as pseudo-hifas em estágios mais avançados sob ligações quase em hifas septadas verdadeiras em um formato de um fungo filamentoso dando um sinal de um processo invasivo do micro-organismo (Deng et al., 2021). Infecções nosocomiais (infecçôes adquiridas em hospitais, após 48h de internação) são frequentemente causadas por materias implantáveis e descartáveis, tais como: sondas vesicais, acessos centrais e tubos orotraqueiais por mais de 24h em contato direto com o paciente via venoso. Vale ressaltar que a interação entre meio externo e interno, independente da textura do material, possibilitam a formação de biofilme. Em biofilmes podem ser isolados diversas espécies de *Candida* spp. e inúmeras colonicas de micro-organismos (Jadri et al., 2022; Liu et al., 2020), assim, dificultando ainda mais a penetração de qualquer ação terapêutica com antimicrobiano devido a uma matriz protetora que envolve essa comunidade microbiológica atuando como uma “proteção natural” para essa comunidade. (Suleyman et al., 2021).

Os biofilmes em um hospedeiro humano são compostos por uma gama de micro-organismos. Por exemplo, existe um amplo espectro de Gram-positivos e Gram-negativos e fungos. Com um foco em um ambiente como o trato

gastrointestinal, com destaque para o anexo da região oral que é colonizada por número elevado de micro-organismos, se torna evidente o rico microbioma presente nesta região anatômica (Pereira et al., 2021). Todavia, tem-se a construção de uma “comunidade” de micro-organismos aeróbios e anaeróbios facultativos e restritos se caso não ocorrer uma higienização adequada da região bucal. No decorrer de algumas horas (48h), o biofilme se formará devido à microbiota amplamente variável no hospedeiro e micro-organismos exógenos que estão impregnados na alimentação, mãos, superfícies em gerais se somaram com o microbioma endógeno do hospedeiro que possuí uma má higienização (Lopes et al., 2022; Soltani et al., 2021). Assim, a região oral como parte do trato gastrointestinal torna-se propício para formação de um biofilme, uma região anatômica em comum pelas infecções oportunistas de *Candida* spp. (Shariati et al., 2021; Soltani et al., 2021; Suleyman et al., 2021).

Nota-se que certas espécimes de *Candida* spp. como *C. albicans, C. tropicalis, C. dubliniensis* produzem enzimas hidrolíticas que servem para quebrar a formação de um princípio ativo de uma droga como anfotericina B, fluconazol e caspofungina, ou que possuem mecanismo em sua membrana de ergosterol com ação de efluxo (Shariati et al., 2021). A matriz extracelular encontrada nos biofilmes de uma levedura do gênero *Candida* spp. porporciona proteção a levedura de vários componentes tóxicos, drogas antifúngicas e também células do sistema imune inato (Perlin et al., 2020).

Citologicamente a levedura é classificada como eucarionte, o que consiste em uma barreira para pesquisas de novos antifúngicos, pois é necessário achar uma droga que seja eficaz no combate ao fungo e que não possua um efeito citotóxico em células humanas (Perlin et al., 2020; Soltani et al., 2021). Uma diferenciação característica de uma célula fúngica é o ergosterol, estrutura integrada da membrana do gênero *Candida* spp. e que em células eucariontes humanas é o colesterol (Liaqat et al., 2021). A membrana plásmatica dessa levedura é um alvo ideal para atuação de uma droga antifúngica, pois sua composição é um diferencial das células humanas que possuem uma bicamada lípidica de fosfolipídeos (Konopka et al., 2022; Soltani et al., 2021).

O sistema imunológico debilitado atua como um facilitador para a proliferação de uma ampla variedade de micro-organismos patogênicos

oportunistas, dentre eles o gênero *Candida* spp., porque a resposta imunológica normal do corpo, responsável por controlar o crescimento da microbiota comensal fica comprometida e permite a proliferação dessa levedura (Sun et al., 2023). Em pacientes submetidos a tratamentos imunossupresores ou que possuem o vírus da imuno deficiência adquirida, o processo de homeostasia imunológico é rompido. A baixa da atividade celular imunológica inata permite a proliferação da levedura *Candida* spp. de uma forma exponencial, podendo ocasionar desde infecções superficiais até sistêmicas (Tharmalingam et al., 2023).

As pesquisas clínicas estudam compostos de origens naturais que possuem potencial inibitório para *Candida* spp. para solucionar o advento da resistência antifúngica (Jabri et al., 2022; Shariati et al., 2022). Alguns exemplos de extratos hidroalcoólicos de plantas e frutos são testados para um possível tratamento de candídiase, alguns exemplos são: alecrim, lavanda, gengibre, romã, curcuma, canela e tomilho (Hajifattahi et al., 2016; Perlin et al., 2020; Soltani et al., 2021).

Um estudo *in vitro* com *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim) realizado por Oliveira et al (2017) demostrou que o alecrim possui uma alta ação contra biofilmes monotípicos de *C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. mutans* e *P. aeruginosa* sobre um tempo de contato de 5 minutos. Outro estudo com foco também realizado Figueira et al (2022) mostrou que o os extratos etanólicos e aquosos de *Curcuma Longa* L. (Açafrão), *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim) e *Thymus vulgares* L. (Tomilho) podem auxiliar os macrófagos a combaterem *S. mutans* em uma infecção *in vitro*.

Diversas plantas possuem propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, anticancerígenas, antidiabéticas e que podem ser encontradas em caules, folhas, brotos, cascas, frutos, sementes e que devem ser estudadas mais profundamente (Soliman et al., 2017). Outro exemplo promissor para pesquisa é a *Ficus. carica* L. (popularmente conhecida como figueira) que há bastante tempo é usado pela população como um tratamento caseiro contra infecções do trato gastrointestinal (Cruz et al., 2021; Li et al., 2021).

O orégano, utilizado rotineiramente na gastronomia italiana, em especial da espécie *Origanum vulgare* L., tem chamado a atenção no meio científico devido ao seu potêncial antifúngico, antimicrobiano, antioxidante e antitumoral (Choi et al., 2017; Cid-Chevecich et al., 2022; Liaqat et al., 2021). *O. vulgare* L. é uma planta

aromática com distribuição por toda a Ásia, já utilizada para tratamento de doenças do trato respiratório. Seus componentes fitoquímicos incluem eriocitrina, rosmarínico, apigenina-7-glicosídeo, luteolina-7-oglicosídeo, ácido ursólico e origanol A e B, compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonóides) (Cid-Chevecich et al., 2022; Oniga et al., 2018).

O extrato alcóolico do orégano apresenta ação antimicrobiana isolada ou em sinergismo com antifúngicos já disponíveis no mercado, porém, apresenta uma percentual de citotoxicidade a queratinócitos humanos. Já o extrato aquoso não apresenta toxicidade significativa e uma concentração inibitória miníma para o gênero *Candida* spp. que ainda foi definida (Lombrea et al., 2020). Em termos de comparação com uma droga convencional já disponível no mercado, uma vantagem é vista ao extrato, pela sua fonte natural sendo um fitoterápico e com um potencial menor em citotoxicidade para os hepatócitos (células hepáticas, responsáveis pelo metabolismo de qualquer substância química) (Bouyahya et al., 2021).

Uma proporção de monoterpenos oxigenados em comparação com os hidrocarbonetos monoterpenos estão apresentando maior atividade antimicrobiana para *Candida* spp. (Kosakowska et al., 2021; Mandras et al., 2021). Supõe-se que esse feito pode estar correlacionado com o carvacrol e seus constituintes aplicados, seguindo as metodologias de cada pesquisa com suas concentrações específicas para não gerarem um efeito citotóxico nocivo às células de um hospedeiro (Proškovcová et al. 2021).

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, pode-se concluir que:

a) O extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. apresentou em sua composição fitocompostos como carvacrol, ácido rosmarínico, ácido cafeoilquínico, ácido clorogênico e vitexina identificados pela análise de HPLC. Além de quantidades significativas de flavonoides e fenóis, apresentou um resultado significativo para atividade antioxidante CE_{50};

b) O extrato hidroalcóolico de *O. vulgare* L. apresentou ação antifúngica para culturas planctônicas das espécies de *C. albicans* e *C. tropicalis*. Porém, não apresentou CFM para *C. dubliniensis*. Nas análises de avaliação de viabilidade celular de biofilmes de *Candida* spp., o tempo de tratamento mais eficiente para as três cepas testadas foi o período de 24h, com o percentual médio de erradicação de 65%;

c) O extrato não apresentou efeito citotóxico e genotóxico para queratinócitos humanos HaCat nas concentrações de 0,39 mg/mL.

REFERÊNCIAS

Aghdash SN. Phytotherapy in the Treatment of Epilepsy. Curr Drug Targets. 2021; 22(3):356-67. DOI:10.2174/1389450121999201001152221.

Almuhayawi MS, Zullkiflee N, Zaini SNZ, Taha H, Hashim F, Usman A. Propolis as novel antibacterial agents. Saudi J Biol Sci. 2020;27(11):3079-86. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.09.016.

Alves SE, Zhao P, He Y, Amaral SC, Pruski BB. Antimicrobial effect of oregano essential oil against multidrug-resistant bacteria. Rev Bras Plantas Med. 2023;25(1): 45-52. doi: 10.1590/S1516-05722023000100007.

Antoniadou M, Rozos G, Vaou N, Zaralis K, Ersanli C, Alexopoulos A et al. Comprehensive bio-screening of phytochemistry and biological capacity of *Oregano* (*Origanum vulgare*) and *Salvia triloba* extracts against oral and pathogenic foodborne cariogenic bacteria. Biomolecules. 2024;14(6):619. DOI: 10.3390/biom14060619. PMID: 38927023; PMCID: PMC11201555.

Arendrup MC, Patterson TF. Multidrug-Resistant Candida: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. J Infect Dis. 2017 Aug 15;216(3): S445-S451. doi: 10.1093/infdis/jix131. PMID: 28911043.

Barros MP, Santo B, Pereira LJ. Use of Origanum vulgare essential oil as a natural preservative in food products. Aliment Cienc e Ing. 2022;42(2), p. e12345, 2022. DOI: 10.1590/1678-457X.42e12345.

Bělonožníková K, Sladkovská E, Kavan D, Hýsková V, Hodek P, Šmíd D et al. Effect of *Agrimonia eupatoria* L. and *Origanum vulgare* L. Leaf, Flower, Stem, and Root Extracts on the Survival of *Pseudomonas aeruginosa*. Molecules. 2023 Jan 19;28(3):1019. doi: 10.3390/molecules28031019. PMID: 36770686; PMCID: PMC9921178.

Betlej I, Żurek N, Cebulak T, Kapusta I, Balawejder M, Kiełtyka-Dadasiewicz A, et al. Evaluation of Chemical Profile and Biological Properties of Extracts of Different *Origanum vulgare* Cultivars Growing in Poland. Int J Mol Sci. 2024 Aug 30;25(17):9417. doi: 10.3390/ijms25179417. PMID: 39273364; PMCID: PMC11395194.

Bouchelaghem S. Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. Saudi J Biol Sci. 2022 Apr;29(4):1936-46. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.11.063. PMID: 35531223; PMCID: PMC9072893.

Bouyahya A, Chamkhi I, Benali T, Guaouguaou FE, Balahbib A, El Omari N et al. Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of Origanum majorana L. J Ethnopharmacol. 2021 Jan 30; 265:113318. doi: 10.1016/j.jep.2020.113318.. PMID: 32882360.

Caccia-Bava MDCGG, Bertoni BW, Pereira AMS, Martinez EZ. Availability of herbal medicines and medicinal plants in the primary health facilities of the state of São Paulo, Southeast Brazil: results from the National Program for Access and Quality Improvement in Primary Care. Cien Saude Colet. 2017 May;22(5):1651-59. Portuguese, English. doi: 10.1590/1413-81232017225.16722015. PMID: 28538934.

Choi HA, Cheong DE, Lim HD, Kim WH, Ham MH, Oh MH, et al. Antimicrobial and Anti-Biofilm Activities of the Methanol Extracts of Medicinal Plants against Dental Pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. J. Ind Microbiol Biotech. 2017 Jul28;27(7):1242-48. doi: 10.4014/jmb.1701.01026. PMID: 28478657.

Cid-Chevecich C, Müller-Sepúlveda A, Jara JA, López-Muñoz R, Santander R, Budini M, et al. Origanum vulgare L. essential oil inhibits virulence patterns of Candida spp. and potentiates the effects of fluconazole and nystatin in vitro. BMC Complement Med Ther. 2022 Feb9;22(1):39. doi: 10.1186/s12906-022-03518-z. PMID: 35139827; PMCID: PMC8827202.

Cruz JMDA, Corrêa RF, Lamarão CV, Kinupp VF, Sanches EA, Campelo PH, et al. Ficus spp. fruits: Bioactive compounds and chemical, biological and pharmacological properties. Food Res Int. 2022 Feb 23(4): 152:110928. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110928. Epub 2021 Dec 31. PMID: 35181099.

Deng Y, Li S, Bing J, Liao W, Tao L. Phenotypic Switching and Filamentation in Candida haemulonii, an Emerging Opportunistic Pathogen of Humans. Microbiol Spectr. 2021 Dec 22;9(3):e0077921. doi: 10.1128/Spectrum.00779-21. Epub 2021 Dec 8. PMID: 34878301; PMCID: PMC8653834.

Ding Y, Zhao D, Wang T, Xu Z, Fu Y, Tao L. Medicinal patterns of vines used in Chinese herbal medicine: a quantitative study. J Ethnopharmacol. 2024 Jan 30;319(Pt 2):117184. doi: 10.1016/j.jep.2023.117184. Epub 2023 Oct 11. PMID: 37827301.

Figueira LW, de Oliveira JR, Camargo SEA, de Oliveira LD. Curcuma longa L. (turmeric), Rosmarinus officinalis L. (rosemary), and Thymus vulgaris L. (thyme) extracts aid murine macrophages (RAW 264.7) to fight Streptococcus mutans during vitro infection. Arch Microbiol. 2020 Oct;202(8):2269-77. doi: 10.1007/s00203-020-01945-5. PMID: 32535791.

Gatto M, Mota GAF, Okoshi MP. Influence of the Immune System on Cardiovascular Disease. Arq Bras Cardiol. 2023 Jul;12(8):e20230398. English, Portuguese. doi: 10.36660/abc.20230398. PMID: 37586006; PMCID: PMC10464861.

Geremia N, Brugnaro P, Solinas M, Scarparo C, Panese S. *Candida auris* as an Emergent Public Health Problem: A Current Update on European Outbreaks and Cases. Healthcare (Basel). 2023 Feb2;11(3):425. doi: 10.3390/healthcare11030425. PMID: 36767000; PMCID: PMC9914380.

Gök HN, Luca SV, Ay ST, Komsta Ł, Salmas RE, Orhan IE, et al. Profiling the annual

change of the neurobiological and antioxidant effects of five Origanum species in correlation with their phytochemical composition. Food Chem. 2022 Jan;2(8): 368:130775. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130775. PMID: 34399175.

Gonçalves SAPP, Sousa DL, Gimenes PS, Czezaniak WPDS, Moretto LF, Rey LMR, et al. COVID-19 (SARS-CoV-2) in Patients Treated in The Unified Health System (SUS) with Flu and Respiratory Symptoms from Three Brazilian Municipalities in the Border Region. Disaster Med Public Health Prep. 2022 Jul;28(17): e243. doi: 10.1017/dmp.2022.195. PMID: 35899936; PMCID: PMC9509785.

Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. Arch Toxicol. 2020 Mar;94(3):651-715. doi: 10.1007/s00204-020-02689-3. PMID: 32180036.

Hacioglu M, Oyardi O, Kirinti A. Oregano essential oil inhibits *Candida* spp. biofilms. Z Naturforsch C J Biosci. 2021 Apr;76(11-12):443-450. doi: 10.1515/znc-2021-0002. PMID: 33915040.

Hajifattahi F, Moravej SE, Taheri M, Mahboubi A, Kamalinejad M. Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of Punica granatum Linn. Petal on Common Oral Microorganisms. Int J Biomater. 2016;(2):8098943. doi: 10.1155/2016/8098943. Epub. PMID: 26884763; PMCID: PMC4738741.

Handschuh BRA, Silva EN, Urrutia M, Martínez P. Actividad antifúngica de los enjuagues bucales frente a Candida albicans y Rhodotorula mucilaginosa: un estudio in vitro [Antifungal activity of mouthwashes against Candida albicans and Rhodotorula mucilaginosa: An in vitro study. Rev Iberoam Micol. 2020 Jun;37(2):47-52. Spanish. doi: 10.1016/j.riam.2019.10.006. Epub. PMID: 32709501.

Hassan MA, Elmaaty AMA, Zaglool AW, Mohamed SAM, Zeid SM, Farag MR, et al. *Origanum vulgare* Essential Oil Modulates the AFB1-Induced Oxidative Damages, Nephropathy, and Altered Inflammatory Responses in Growing Rabbits. Toxins (Basel). 2023 Jan;15(1):69. doi: 10.3390/toxins15010069. PMID: 36668888; PMCID: PMC9864656.

Hoenigl M, Seidel D, Sprute R, Cunha C, Oliverio M, Goldman GH, et al. COVID-19-associated fungal infections. Nat Microbiol. 2022 Aug;7(8):1127-40. doi: 10.1038/s41564-022-01172-2. PMID: 35918423; PMCID: PMC9362108.

Idir F, Van S, Coppola GA, Grenier D, Steenackers HP, Bendali F. *Origanum vulgare* ethanolic extracts as a promising source of compounds with antimicrobial, anti-biofilm, and anti-virulence activity against dental plaque bacteria. Front Microbiol. 2022 Nov 2;(13):999839. doi: 10.3389/fmicb.2022.999839. PMID: 36406439; PMCID: PMC9668103.

Jabri B, Iken M, Amar S, Rida S, Bouziane A, Ennibi OK. *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in Periodontitis in Adolescents and Young Adults. Int J Microbiol. 2022 Jan (11);2022:4625368. doi: 10.1155/2022/4625368. PMID: 35058983; PMCID: PMC8766183.

Jafari KG, Morshedloo MR, Mumivand H, Emami BZ, Maggi F, Khademi A. Natural diversity in phenolic components and antioxidant properties of oregano (Origanum vulgare L.) accessions, grown under the same conditions. Sci Rep. 2022;12(1):5813. doi:10.1038/s41598-022-09742-4

Junior AJ, Lencina JDS, Santos ED, Silva MJ, Cuman RKN, Konkiewitz EC, et al. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Ethanolic Extract of *Piper vicosanum* Leaves. Pharmaceutics. 2022 Nov;14(11):2455. doi: 10.3390/pharmaceutics14112455. PMID: 36432646; PMCID: PMC9692771.

Kakehi A, Hagiya H, Iio K, Nakano Y, Ihoriya H, Taira Y, et al. Candida dubliniensis fungemia in a patient with severe COVID-19: A case report. J Infect Chemother. 2022 Oct;28(10):1433-1435. doi: 10.1016/j.jiac.2022.07.007. PMID: 35863730; PMCID: PMC9293379.

Kapitan M, Niemiec MJ, Steimle A, Frick JS, Jacobsen ID. Fungi as Part of the Microbiota and Interactions with Intestinal Bacteria. Curr Top Microbiol Immunol. 2019;(22):265-301. doi: 10.1007/82_2018_117. PMID: 30062595.

Kaur J, Nobile CJ. Antifungal drug-resistance mechanisms in Candida biofilms. Curr Opin Microbiol. 2023 Feb;71:102237. doi: 10.1016/j.mib.2022.102237. PMID: 36436326; PMCID: PMC11569868.

Konopka JB. Plasma Membrane Phosphatidylinositol 4-Phosphate Is Necessary for Virulence of Candida albicans. mBio. 2022 Jun 28;13(3):e0036622. doi: 10.1128/mbio.00366-22. Epub 2022 Apr 25. PMID: 35467420; PMCID: PMC9239155.

Korbecka M, Karpiński TM. In Vitro Assessment of Antifungal and Antibiofilm Efficacy of Commercial Mouthwashes against *Candida albicans*. Antibiotics (Basel). 2024 Jan 25;13(2):117. doi: 10.3390/antibiotics13020117. PMID: 38391503; PMCID: PMC10885913.

Kosakowska O, Węglarz Z, Pióro-Jabrucka E, Przybył JL, Kraśniewska K, Gniewosz M, Bączek K. Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and Common Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). Molecules. 2021 Feb;26(4):988. doi: 10.3390/molecules26040988. PMID: 33668450; PMCID: PMC7918425.

Kryeziu TL, Haloci E, Loshaj-Shala A, Kiut HB, Jhuan H, Dan L, et al. Nanoencapsulation of Origanum vulgare essential oil into liposomes with anticancer potential. Pharmazie. 2022;77(6):172-8. doi:10.1691/ph.2022.1230

Kumar A**.** Antifungal susceptibility pattern of Candida species isolated from clinical specimens. Can J Microbiol. 2021;7(8):635-43.

Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and beyond. Chem Rev. 2021 Mar 24;121(6):3390-

411. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00199. Epub 2020 May 22. PMID: 32441527; PMCID: PMC8519031.

Levy E, Delvin E, Marcil V, Spahis S. Can phytotherapy with polyphenols serve as a powerful approach for the prevention and therapy tool of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)? Am J Physiol Endocrinol Metab. 2020 Oct 1(4):E689-E708. doi: 10.1152/ajpendo.00298.2020. PMID: 32755302; PMCID: PMC7518070.

Li Z, Yang Y, Liu M, Zhang C, Shao J, Hou X, Tian J, et al. A comprehensive review on phytochemistry, bioactivities, toxicity studies, and clinical studies on Ficus carica Linn. leaves. Biomed Pharmacother. 2021 May;(13):111393. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111393. PMID: 33761610.

Liaqat I, Mahreen A, Arshad M, Arshad N. Antimicrobial and toxicological evaluation of Origanum vulgare: an in vivo study. Braz J Biol. 2021 Aug;6(9):244551. doi: 10.1590/1519-6984.244551. PMID: 34378661.

Lim SJ, Mohamad AMS, Sabri S, Muhd ND, Salleh AB, Oslan SN. Opportunistic yeast pathogen Candida spp.: Secreted and membrane-bound virulence factors. Med Mycol. 2021 Dec;59(12):1127-44. doi: 10.1093/mmy/myab053. PMID: 34506621.

Liu JY, Dickter JK. Nosocomial Infections: A History of Hospital-Acquired Infections. Gastrointest Endosc Clin N Am. 2020 Oct;30(4):637-52. doi: 10.1016/j.giec.2020.06.001. Epub 2020 Jul 30. PMID: 32891222.

Lombrea A, Antal D, Ardelean F, Avram S, Pavel IZ, Vlaia L, et al. A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil. Int J Mol Sci. 2020 Dec17;21(24):9653. doi: 10.3390/ijms21249653. PMID: 33348921; PMCID: PMC7765853.

Lopes JP, Lionakis MS. Pathogenesis and virulence of Candida albicans. Virulence. 2022 Dec;13(1):89-121. doi: 10.1080/21505594.2021.2019950. PMID: 34964702; PMCID: PMC9728475.

Mandras N, Roana J, Scalas D, Del Re S, Cavallo L, Ghisetti V, et al. The Inhibition of Non-albicans Candida Species and Uncommon Yeast Pathogens by Selected Essential Oils and Their Major Compounds. Molecules. 2021 Aug15;26(16):4937. doi: 10.3390/molecules26164937. PMID: 34443525; PMCID: PMC8400735.

Meccatti VM, Santos LF, de Carvalho LS, Souza CB, Carvalho CAT, Marcucci MC, et al. Antifungal Action of Herbal Plants' Glycolic Extracts against *Candida* Species. Molecules. 2023 Mar;22(6):2857. doi: 10.3390/molecules28062857. PMID: 36985829; PMCID: PMC10054556.

Mirzaee F, Fakari FR, Babakhanian M, Roozbeh N, Ghazanfarpour M. The Effectiveness of Herbal Medicines on Cyclic Mastalgia: A Systematic Review on Meta-analysis. Rev Bras Ginecol Obstet. 2022 Oct;44(10):972-85. doi: 10.1055/s-0042-1755456. PMID: 36446563; PMCID: PMC9708400.

Moghrovyan A, Sahakyan N, Babayan A, Chichoyan N, Petrosyan M, Trchounian A. Essential Oil and Ethanol Extract of Oregano (Origanum vulgare L.) from Armenian Flora as a Natural Source of Terpenes, Flavonoids and other Phytochemicals with Antiradical, Antioxidant, Metal Chelating, Tyrosinase Inhibitory and Antibacterial Activity. Curr Pharm Des. 2019;25(16):1809-16. doi: 10.2174/1381612825666190702095612. PMID: 31267860.

Monagas M, Brendler T, Brinckmann J, Dentali S, Gafner S, Giancaspro G, et al. Understanding plant to extract ratios in botanical extracts. Front Pharmacol. 2022 Sep;(13):981978. doi: 10.3389/fphar.2022.981978. PMID: 36249773; PMCID: PMC9561911.

Nawrot J, Gornowicz PJ, Budzianowski J, Nowak G, Schroeder G, Kurczewska J. Medicinal Herbs in the Relief of Neurological, Cardiovascular, and Respiratory Symptoms after COVID-19 Infection A Literature Review. Cells. 2022 Jun 11;11(12):1897. doi: 10.3390/cells11121897. PMID: 35741026; PMCID: PMC9220793.

Oliveira JRC, Santana GF, REIS V, Oliveira, LD. Antibiofilm efficacy of Rosmarinus officinalis extract against monomicrobial and polymicrobial biofilms formed by oral pathogens. Brazilian Dental Science. 2017;(20):91–9. Disponível em: https://bds.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/1392.

Oniga I, Pușcaș C, Silaghi-Dumitrescu R, Olah NK, Sevastre B, Marica R, Marcus I, et al. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical Composition and Biological Studies. Molecules. 2018 Aug19;23(8):2077. doi: 10.3390/molecules23082077. PMID: 30126246; PMCID: PMC6222339.

Pereira R, Santos FRO, Brito EHS, Morais SM. The biofilm of Candida albicans: formation, regulation and resistance. J Appl Microbiol. 2021 Jul11(1):11-22. doi: 10.1111/jam.14949. PMID: 33249681

Perlin DS. Cell Wall-Modifying Antifungal Drugs. Curr Top Microbiol Immunol. 2020 Aug;6(4)25:255-75. doi: 10.1007/82_2019_188. PMID: 31875267.
PMID: 35139827; PMCID: PMC8827202.

Ponde NO, Lortal L, Ramage G, Naglik JR, Richardson JP. Candida albicans biofilms and polymicrobial interactions. Crit Rev Microbiol. 2021;(47):91-111. DOI: 10.1080/1040841X.2020.1843400.

Pristov KE, Ghannoum MA. Resistance of Candida to azoles and echinocandins worldwide. Clin Microbiol Infect. 2019 Jul;25(7):792-98. doi: 10.1016/j.cmi.2019.03.028. PMID: 30965100.

Proškovcová M, Čonková E, Váczi P, Harčárová M, Malinovská Z. Antibiofilm activity of selected plant essential oils from the Lamiaceae family against Candida albicans clinical isolates. Ann Agric Environ Med. 2021 Jun 14;28(2):260-6. doi: 10.26444/aaem/135892. Epub 2021 Apr 29. PMID: 34184508

Rathore S, Mukhia S, Kumar R, Kumar R. Essential oil composition and antimicrobial potential of aromatic plants grown in the mid-hill conditions of the Western Himalayas. Sci Rep. 2023;13(1):4878. doi:10.1038/s41598-023-31875-3

Santis F, Poerio N, Gismondi A, Nanni V, Di Marco G, Nisini R, et al. Hydroalcoholic extract from Origanum vulgare induces a combined anti-mycobacterial and anti-inflammatory response in innate immune cells. PLoS One. 2019 Mar 4;14(3):e0213150. doi: 10.1371/journal.pone.0213150. PMID: 30830942; PMCID: PMC6398838.

Samira O, Abderrahim A, Otmane H, Angelo MG, El S. Synergistic Potential of Co-millinged Edible Argan Oil (Argania spinosa L.) and Oregano Leaves (Origanum vulgare L.) in Food Applications, Future Foods. 2024;4(3):100430. ISSN 2666-8335, https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100430.

Saoudi B, Bariz K, Saci S, Belounis Y, Ait H, Abbaci M, et al. Enhancing Antibiotic Efficacy and Combating Biofilm Formation: Evaluating the Synergistic Potential of *Origanum vulgare* Essential Oil against Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. Microorganisms. 2024 Aug 12;12(8):1651. doi: 10.3390/microorganisms12081651. PMID: 39203493; PMCID: PMC11356740.

Scandorieiro S, Teixeira FMMB, Nogueira MCL, Panagio LA, Oliveira AG, Durán N, et al. Antibiofilm Effect of Biogenic Silver Nanoparticles Combined with Oregano Derivatives against Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. Antibiotics (Basel). 2023 Apr14;12(4):756. doi: 10.3390/antibiotics12040756. PMID: 37107119; PMCID: PMC10135348.

Shaik MR, Ali ZJ, Khan M, Kuniyil M, Assal ME, Alkhathlan HZ, et al. Green Synthesis and Characterization of Palladium Nanoparticles Using Origanum vulgare L. Extract and Their Catalytic Activity. Molecules. 2017 Jan19;22(1):165. doi: 10.3390/molecules22010165. PMID: 28106856; PMCID: PMC6155754.

Shariati A, Didehdar M, Razavi S, Heidary M, Soroush F, Chegini Z. Natural Compounds: A Hopeful Promise as an Antibiofilm Agent Against Candida Species. Front Pharmacol. 2022 Jul11;13:917787. doi: 10.3389/fphar.2022.917787. PMID: 35899117; PMCID: PMC9309813.

Sikora A, Hashmi MF, Zahra F. Candida Auris. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Apr;8(12):342–48. PMID: 33085444

Soliman S, Alnajdy D, El-Keblawy AA, Mosa KA, Khoder G, Noreddin AM. Plants' Natural Products as Alternative Promising Anti-Candida Drugs. Pharmacogn Rev. 2017 Dec;11(22):104-122. doi: 10.4103/phrev.phrev_8_17. PMID: 28989245; PMCID: PMC5628516.

Soltani S, Shakeri A, Iranshahi M, Boozari M. A Review of the Phytochemistry and Antimicrobial Properties of Origanum vulgare L. and Subspecies. Iran J Pharm Res. 2021 Spring;20(2):268-285. doi: 10.22037/ijpr.2020.113874.14539. PMID: 34567161; PMCID: PMC8457725.

Vijayarathna S, Zakaria Z, Chen Y, Latha LY, Kanwar JR, Sasidharan S. The Antimicrobial efficacy of Elaeis guineensis: characterization, in vitro and vivo studies. Molecules. 2012 Apr26;17(5):4860-77. doi: 10.3390/molecules17054860. PMID: 22538489; PMCID: PMC6268431.

Stojanović NM, Mitić KV, Nešić M, Stanković M, Petrović V, Baralić M, et al. Oregano (Origanum vulgare) Essential Oil and Its Constituents Prevent Rat Kidney Tissue Injury and Inflammation Induced by a High Dose of L-Arginine. Int J Mol Sci. 2024 Jan 11;25(2).

Suleyman G, Alangaden GJ. Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. Infect Dis Clin North Am. 2021 Dec;35(4):1027-1053. doi: 10.1016/j.idc.2021.08.002. PMID: 34752219.

Sun LL, Li H, Yan TH, Cao YB, Jiang YY, Yang F. Aneuploidy enables cross-tolerance to unrelated antifungal drugs in *Candida parapsilosis*. Front Microbiol. 2023 Apr11;14:1137083. doi: 10.3389/fmicb.2023.1137083. PMID: 37113223; PMCID: PMC10126355

Tabesh M, Shi ME, Etemadi M, Naddaf F, Heidari F, Alizargar J. The antibacterial activity of Nasturtium officinale extract against common oral pathogenic bacteria. Niger J Clin Pract. 2022; (25):1466-75, 2022. DOI: 10.4103/njcp.njcp_1887_21.

Takashima M, Sugita T. Taxonomy of Pathogenic Yeasts Candida, Cryptococcus, Malassezia, and Trichosporon. Med Mycol J. 2022;63(4):119-132. doi: 10.3314/mmj.22.004. PMID: 36450564.

Tharmalingam BT, Sujeenthar GJ. Molecular mechanisms associated with antifungal resistance in pathogenic Candida species. Cells. 2023;12(22):2655-63, 2023. DOI: https://doi.org/10.3390/cells12222655.

Thomas DO, Schlattmann P, Pletz M, Kurzai O, Bloos F. Risk Factors for Invasive Candida Infection in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. Chest. 2022 Feb;16(2):345-355. doi: 10.1016/j.chest.2021.08.081. PMID: 34673022; PMCID: PMC8941622.

Valand N, Girija UV. Pathogenicity of Candida and interaction with the immune system. Adv Exp Med Biol. 2021;1313:241-272. doi:10.1007/978-3-030-67452-6_11

Weber J, Bonn EL, Auer DL, Kirschneck C, Buchalla W, Scholz KJ, Cieplik F. Preprocedural mouthwashes for infection control in dentistry-an update. Clin Oral Investig. 2023 Jun;27(Suppl 1):33-44. doi: 10.1007/s00784-023-04953-z. PMID: 37079156; PMCID: PMC10116478.

Wu YY, Xu YM, Lau ATY. Epigenetic effects of phytotherapy. Clin Epigenética. 2023; 15(1):85. doi:10.1186/s13148-023-01481-1

Xu M, Wu RX, Li XL, Zeng YS, Liang JY, Fu K, Liang Y, Wang Z. Traditional medicine in China for ischemic stroke: bioactive components, pharmacology, and mechanisms. J Integr Neurosci. 2022 Jan 21(1):26. doi: 10.31083/j.jin2101026. PMID: 35164462.

Yu H, Zhang P, Liu H. Hypoglycemic activity of Origanum vulgare L. and its main chemical constituents identified with HPLC-ESI-QTOF-MS. Food Funct. 2021;12(6):2580-2590. doi:10.1039/d0fo03166f

Yuan Y, Sun J, Song Y, Raka RN, Xiang J, Wu H, Xiao J, Jin J, Hui X. Antibacterial activity of oregano essential oils against Streptococcus mutans in vitro and analysis of active components.Complement Med Ther. 2023 Feb 21;23(1):61. doi: 10.1186/s12906-023-03890-4. PMID: 36810055; PMCID: PMC9942419.

Zahedipour F, Hosseini SA, Sathyapalan T, Majeed M, Jamialahmadi T, Al-Rasadi K, et al. Potential effects of curcumin in the treatment of COVID-19 infection. Phytother Res. 2020 Nov;34(11):2911-20. doi: 10.1002/ptr.6738. Epub 2020 Jun 23. PMID: 32430996; PMCID: PMC7276879.

Zhou G, Wang CZ, Mohammadi S, Sawadogo WR, Ma Q, Yuan CS. Pharmacological effects of Ginseng: Multiple constituents and multiple actions in humans. Sou J Chin Med. 2023;51(5):1085-104. doi:10.1142/S0192415X23500507

Zhu T, Wang L, Feng Y, Sun G, Sun X. Classical Active Ingredients and Extracts of Chinese Herbal Medicines: Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Molecular Mechanisms for Ischemic Stroke. Oxid Med Cell Longev. 2021;(21):8868941. doi:10.1155/2021/8868941