



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Flávia Camila Maia

Óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson como alternativa antifúngica contra *Candida* spp.: efeitos na transição morfológica e na formação de biofilme de *Candida albicans*

Piracicaba

2025

Flávia Camila Maia

Óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson como alternativa antifúngica contra *Candida* spp.: efeitos na transição morfológica e na formação de biofilme de *Candida albicans*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Biologia Buco-Dental, na Área de Microbiologia e Imunologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Fabiano Gomes Boriollo.

Esse exemplar corresponde a versão final da tese defendida pela aluna Flávia Camila Maia, e orientada pelo Prof. Dr. Marcelo Fabiano Gomes Boriollo.

Piracicaba

2025

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8-6159

M28o Maia, Flávia Camila, 1993-
Óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson como alternativa antifúngica contra *Candida spp.* : efeitos na transição morfológica e na formação de biofilme de *Candida albicans* / Flávia Camila Maia. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2025.

Orientador: Marcelo Fabiano Gomes Boriollo.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP).

1. *Candida albicans*. 2. Candidíase. 3. Biofilmes. 4. Essências e óleos essenciais. 5. *Cymbopogon martinii*. I. Boriollo, Marcelo Fabiano Gomes, 1974-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP). III. Título.

Informações complementares

Título em outro idioma: *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson essential oil as an antifungal alternative against *Candida spp.* : effects on the morphological transition and biofilm formation of *Candida albicans*

Palavras-chave em inglês:

Candida albicans

Candidiasis

Biofilms

Essences and essential oils

Cymbopogon martinii

Área de concentração: Microbiologia e Imunologia

Titulação: Doutora em Biologia Buco-Dental

Banca examinadora:

Marcelo Fabiano Gomes Boriollo [Orientador]

Manoel Francisco Rodrigues Netto

Felipe Augusto Godoy

Mateus Cardoso Oliveira

Janaina Priscila Barbosa

Data de defesa: 10-01-2025

Programa de Pós-Graduação: Biologia Buco-Dental

Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

ODS: 3. Saúde e bem-estar

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-1141-6661>

- Currículo Lattes do autor: <https://lattes.cnpq.br/3968292178060276>



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 10 de janeiro de 2025, considerou a candidata FLÁVIA CAMILA MAIA aprovada.

PROF. DR. MARCELO FABIANO GOMES BORIOLO

PROF. DR. FELIPE AUGUSTO GODOY

PROF. DR. MATEUS CARDOSO OLIVEIRA

PROF^a. DR^a. JANAINA PRISCILA BARBOSA

PROF. DR. MANOEL FRANCISCO RODRIGUES NETTO

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

EPÍGRAFE

“As pessoas que vencem neste mundo são as que procuram as circunstâncias de que precisam e, quando não as encontram, as criam”.

(George Bernard Shaw)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais:

Anderson Maia (*in memoriam*)

Que me ensinou sobre tudo, principalmente a perseverar independente da dificuldade da situação e que a felicidade não tem hora, deve existir a todo momento.

Adriana Cristina Menezes Maia

A mulher que me deu a vida e me ensina tudo sobre ela, que me deu todo incentivo e amor possível, por torcer e acreditar em mim em todos momentos. Por ser a mulher mais batalhadora que conheço e é quem me inspiro sempre.

Dedico a vocês com todo meu amor e gratidão!

.

AGRADECIMENTOS

À Deus, a minha religião e todos guias que me acompanham, por me proporcionar a vida, a força, criatividade e perseverança os quais me permitiram finalizar esta tese, por mais que as dificuldades mostrassem que não seria possível.

À Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e a Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP), pelos padrões de ensino e pesquisa excepcionais.

Ao Diretor Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas (FOP/UNICAMP).

À Coordenadoria da Pós-Graduação da FOP e aos coordenadores do programa de Biologia Buco-Dental.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz (ESALQ), pela parceria na análise cromatográfica do projeto.

Agradeço a meu Orientador, Prof. Dr. Marcelo Fabiano Gomes Boriollo, por ter aceito a minha orientação, por todo ensinamento, auxílio, paciência e pela confiança a mim depositada na elaboração e finalização do doutorado, com certeza um ótimo exemplo na minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Rafael Nobrega Stipp (*in memoriam*) por ter me proporcionado a vivência acadêmica inicial, pelas experiências profissionais proporcionadas.

Aos professores da área de Microbiologia e Imunologia: Prof. Dr. José Francisco Höfling, Prof^a Dr^a Renata de Oliveira Mattos-Graner, Prof^a Dr^a Marlise Inêz Klein Furlan.

Aos técnicos de laboratório da Faculdade e funcionários: Valéria Alessandra Defávani Franco, Adriano Luis Martins e Fábio Vinicius Borges Padilha pelo apoio, contribuição e por todo auxílio nas atividades desenvolvidas relacionadas a minha pesquisa.

Ao Programa de Estágio Docente (PED) pela oportunidade de vivenciar o estágio em docência aos alunos de graduação, na área de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Aos amigos doutorandos e mestrandos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, em especial a minha amiga Janaína, por todo conhecimento compartilhado, por toda ajuda e pelos diversos momentos descontraídos e divertidos que proporcionaram uma jornada mais leve.

Aos Professores: Prof^a. Dr^a. Renata de Oliveira Mattos Graner, Prof. Dr. Wagner Luis de Carvalho e Prof^a. Dr^a. Angélica Cristina de Souza por comporem a banca do exame de qualificação.

Aos professores: Prof. Dr. Marcelo Fabiano Gomes Boriollo, Prof. Dr. Manoel Francisco Rodrigues Netto, Prof. Dr. Felipe Augusto Godoy, Prof. Dr. Mateus Cardoso Oliveira e Prof^a Dr^a Janaína Priscila Barbosa, por terem aceitado o convite para integrar a banca examinadora da defesa da minha tese, assim como às professoras Prof^a Dr^a Thaísia Andrielle da Silva e Prof^a Dr^a Angélica Cristina de Souza, por terem gentilmente aceitado compor a banca examinadora suplente.

Ao meu noivo, amigo e companheiro, Fábio Vinicius Borges Padilha pelo constante apoio, que esteve ao meu lado em cada passo dessa jornada, oferecendo suporte, encorajamento e força diante das dificuldades enfrentadas ao longo de todo o período do doutorado.

Em especial, à minha mãe, Adriana, minha maior fonte de inspiração e força. Sua dedicação, amor incondicional e sabedoria foram fundamentais em cada passo dessa jornada. Agradeço por estar sempre ao meu lado, me apoiando nos momentos difíceis e celebrando as vitórias. Sou eternamente grata por tudo o que você representa em minha vida.

Agradeço imensamente a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a superação e realização deste trabalho, colaborando para a conclusão desta etapa.

RESUMO

As infecções causadas por espécies do gênero *Candida*, especialmente *Candida albicans*, representam uma preocupação crescente na saúde humana devido à sua capacidade de provocar infecções oportunistas que variam de manifestações leves a condições sistêmicas graves. A virulência de *C. albicans* está associada a diversos fatores, como adesão e invasão de tecidos do hospedeiro, variação fenotípica, transição morfológica e formação de biofilmes, tornando o tratamento e controle dessas infecções um desafio. A crescente resistência antifúngica e a limitação de opções terapêuticas eficazes reforçam a necessidade de novas alternativas terapêuticas. Nesse contexto, compostos naturais, como os óleos essenciais, têm se destacado, sendo o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Palmarosa) uma das alternativas promissoras, especialmente por conter geraniol como composto majoritário, um monoterpreno com propriedades antimicrobianas. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* contra cepas de *Candida* spp., com foco na sua interferência na formação de tubos germinativos e biofilmes de *C. albicans* (ATCC MYA-2876). A atividade antifúngica foi determinada por meio dos testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM), que indicaram efeito fungicida para todas as cepas testadas. Para *C. albicans* (ATCC MYA-2876), os valores de CIM e CFM foram de 1 mg/mL, evidenciando a eficácia do óleo essencial. Além disso, o óleo demonstrou inibição total da formação de tubos germinativos após 4 horas na concentração de CIM (1 mg/mL), e reduziu significativamente a biomassa de biofilmes nos estágios iniciais de desenvolvimento. O óleo essencial também apresentou efeitos importantes sobre os biofilmes de *C. albicans* após 24 horas de formação, evidenciando sua capacidade de atuar tanto nos primeiros estágios quanto após mais tempo de desenvolvimento. A análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelou alterações morfológicas nas células fúngicas tratadas, sugerindo impacto direto na integridade celular. Os resultados deste estudo destacam o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* como uma alternativa promissora no combate a infecções por *Candida*, especialmente *C. albicans*, devido à sua capacidade de inibir a formação de tubos germinativos e reduzir a biomassa de biofilmes em diferentes estágios de desenvolvimento. Diante da crescente resistência antifúngica, esses achados

reforçam o potencial terapêutico desse óleo essencial como uma estratégia inovadora para o controle de infecções fúngicas.

Palavras-chave: *Candida albicans*, candidíase, biofilmes, óleos essenciais, *Cymbopogon martinii*.

ABSTRACT

Infections caused by species of the genus *Candida*, especially *Candida albicans*, represent a growing concern in human health due to their ability to cause opportunistic infections that range from mild manifestations to severe systemic conditions. The virulence of *C. albicans* is associated with several factors, such as adhesion and invasion of host tissues, phenotypic variation, morphological transition and biofilm formation, making the treatment and control of these infections a challenge. Growing antifungal resistance and the limitation of effective therapeutic options reinforce the need for new therapeutic alternatives. In this context, natural compounds such as essential oils have been highlighted, with the essential oil of *Cymbopogon martinii* (Palmarosa) being one of the promising alternatives, especially as it contains geraniol as the majority compound, a monoterpene with antimicrobial properties. This study aimed to evaluate the antifungal activity of *Cymbopogon martinii* essential oil against *Candida* spp. strains, focusing on its interference in the formation of germ tubes and biofilms of *C. albicans* (ATCC MYA-2876). The antifungal activity was determined using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) tests, which indicated a fungicidal effect for all the strains tested. For *C. albicans* (ATCC MYA-2876), MIC and MFC values were 1 mg/mL, demonstrating the efficacy of the essential oil. In addition, the oil showed total inhibition of germ tube formation after 4 hours at the MIC concentration (1 mg/mL), and significantly reduced biofilm biomass in the early stages of development. The essential oil also showed significant effects on *C. albicans* biofilms after 24 hours of formation, demonstrating its ability to act both in the early stages and after a longer period of development. Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis revealed morphological changes in the treated fungal cells, suggesting a direct impact on cell integrity. The results of this study highlight the essential oil of *Cymbopogon martinii* as a promising alternative in the fight against *Candida* infections, especially *C. albicans*, due to its ability to inhibit the formation of germ tubes and reduce the biomass of biofilms at different stages of development. In the face of growing antifungal resistance, these findings reinforce the therapeutic potential of this essential oil as an innovative strategy for controlling fungal infections.

Keywords: *Candida albicans*, candidiasis, biofilms, essential oils, *Cymbopogon martinii*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Cromatograma do óleo essencial de Palmarosa (<i>Cymbopogon martinii</i>)	39
Figura 2. Quantificação da biomassa dos biofilmes de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) em diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i>	42
Figura 3. Microscopia Eletrônica de Varredura de controle do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876)	43
Figura 4. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) exposta a 0,5 mg/mL do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	44
Figura 5. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	44
Figura 6. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) exposta a 2 mg/mL do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	45
Figura 7. Microscopia Eletrônica de Varredura de controle do biofilme com 24 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876)	46
Figura 8. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) exposta a 0,5 mg/mL do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	46
Figura 9. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	47
Figura 10. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos identificados no óleo essencial de Palmarosa (<i>C. martinii</i>)	39
Tabela 2. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de <i>C. martinii</i>	40
Tabela 3. Porcentagem de células com tubos germinativos de <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876)	41

LISTA DE ABREVIATURAS

µg – Microgramas.

abs – Absorbância.

ATCC - *American Type Culture Collection*.

Ca - *Candida albicans*.

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

CFM - Concentração Fungicida Mínima.

CG-EMS - Cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas.

CIM - Concentração Inibitória Mínima.

CLSI - *Clinical Laboratorial Standart Investigation*.

CMI - Centro de Microscopia e Imagem.

ESALQ – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz.

FOP - Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

IR - Índice de Retenção.

MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura.

mg – Miligrama.

mL – Mililitro.

nm – Nanômetro.

OMS - Organização Mundial de Saúde.

PBS - *Phosphate Buffered Saline*.

RPMI-1640 - Meio de cultura desenvolvido por *Roswell Park Memorial Institute*.

SDA - *Sabouraud Dextrose Agar*.

SFB - Soro Fetal Bovino.

SUS - Sistema Único de Saúde.

tR: Tempo de Retenção.

UFC - Unidade Formadora de Colônia.

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas.

YPD - *Yeast Peptone Dextrose*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Doenças fúngicas	21
2.2 <i>Candida</i> spp.	22
2.3 <i>Candida albicans</i> : Importância Clínica, Patogenicidade e Desafios Terapêuticos	22
2.4 Morfologia, virulência e transição morfológica de <i>Candida albicans</i>	23
2.5 <i>Candida albicans</i> (ATCC MYA-2876)	24
2.6 Produtos naturais como agentes terapêuticos	25
2.7 <i>Cymbopogon</i> spp.	26
2.1 <i>Cymbopogon martinii</i>	27
3. PROPOSIÇÃO	29
3.1 Objetivo geral	29
3.1 Objetivos específicos do estudo	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Infraestrutura disponível	30
4.2 Microrganismos utilizados	30
4.2.1 Leveduras	30
4.2.2 Reativação de microrganismos	30
4.3 Descrição do Óleo Essencial de Palmarosa (<i>Cymbopogon martinii</i>)	31
4.3.1 Preparo do óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i>	31
4.3.2 Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EMS)	31
4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana	32
4.4.1 CIM frente às cepas de <i>Candida</i> spp.	32
4.4.2 CFM frente a cepa de <i>Candida</i> spp.	33
4.4.3 Tolerância de <i>C. albicans</i> ao óleo essencial de Palmarosa	34
4.4.4 Avaliação do Tubo Germinativo de <i>C. albicans</i> (ATCC MYA-2876)	34
4.5 Avaliação da atividade antibiofilme	35
4.5.1 Padronização da cepa	35
4.5.2 Formação do biofilme	36
4.5.3 Biofilme de <i>C. albicans</i> em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	36
4.5.4 Fixação da amostra para microscopia em MEV	37
4.6 Análises estatísticas	38
5. RESULTADOS	39
5.1 Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EMS)	39

5.2	CIM e CFM	40
5.3	Efeito na formação de tubo germinativo de <i>C. albicans</i>	40
5.4	Efeito do óleo essencial de Palmarosa no biofilme 2h e 24h de formação de <i>C. albicans</i> (ATCC MYA-2876)	41
5.5	Análise da morfologia celular do biofilme em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	43
6.	DISCUSSÃO	49
7.	CONCLUSÃO	53
8.	REFERÊNCIAS	54
ANEXOS		67
Anexo 1 – LAUDO TÉCNICO DE ANÁLISE (FORNECEDOR)		67
Anexo 2 – CERTIFICADO DE ANÁLISE E CROMATOGRAMA (FORNECEDOR)		68
Anexo 3 – CROMATOGRAMA (PARCERIA)		69
Anexo 4 – VERIFICAÇÃO DE ORIGINALIDADE E PREVENÇÃO DE PLÁGIO		70

1. INTRODUÇÃO

As espécies de *Candida* representam uma preocupação significativa para a saúde humana e os sistemas de saúde globais devido à sua capacidade de causar infecções oportunistas. Entre as espécies mais patogênicas e mais virulentas, destaca-se a *Candida albicans*, um fungo comensal que pode se tornar patogênico em condições de imunossupressão ou desequilíbrio da microbiota (Pappas *et al.*, 2016). Infecções causadas por *C. albicans* variam de infecções mucocutâneas, como a candidíase oral e vaginal, até infecções sistêmicas graves que podem ser fatais, especialmente em pacientes hospitalizados ou com sistema imunológico comprometido (Sardi *et al.*, 2013).

A virulência de *C. albicans* está associada a diversos fatores, incluindo a capacidade de aderir e invadir tecidos do hospedeiro, formação de biofilmes, secreção de enzimas hidrolíticas e variação fenotípica (Gucwa *et al.*, 2018). A formação de biofilmes, em particular, contribui para a resistência a tratamentos antifúngicos e proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro. Estes fatores de virulência tornam o controle e tratamento das infecções por *Candida* um desafio constante para a medicina moderna e sistemas de saúde (Khan *et al.*, 2013).

Diante da crescente resistência antifúngica e da limitação de opções terapêuticas eficazes, a busca por novos fármacos antifúngicos é de extrema importância. Estudos recentes têm explorado a potencialidade de compostos naturais, como os óleos essenciais de plantas, que demonstram atividade antifúngica promissora (Kalua & Bedane, 2020). Entre esses, os óleos essenciais de *Cymbopogon martinii*, popularmente conhecido como palmarosa, têm se destacado (Tibenda *et al.*, 2022).

O óleo essencial de palmarosa é composto majoritariamente por geraniol, um monoterpreno com propriedades antimicrobianas. Estudos demonstram que o óleo essencial de *C. martinii* possui significativa atividade antifúngica contra várias espécies de *Candida*, incluindo *C. albicans* (D'avila & Rosa, 2019; Huang *et al.*, 2024).

A pesquisa sobre o uso de óleos essenciais, como o de palmarosa, no combate às infecções por *Candida* é essencial não apenas por sua eficácia, mas também pelo seu potencial de reduzir a dependência de antifúngicos sintéticos e minimizar os efeitos colaterais associados. O desenvolvimento de novos tratamentos baseados em compostos naturais pode oferecer uma alternativa viável e sustentável no manejo de infecções fúngicas (Yadav & Singh, 2020). Os óleos essenciais

destacam-se como uma solução prática e sustentável devido à sua origem renovável, já que são derivados de plantas, uma fonte natural que pode ser cultivada e colhida de forma responsável. Além disso, sua extração e uso, quando bem manejados, têm um impacto ambiental significativamente menor em comparação com a produção de compostos químicos sintéticos. Por serem biodegradáveis e menos persistentes no ambiente, contribuem para a redução da poluição. Sua versatilidade é outro ponto de destaque, permitindo substituir substâncias tóxicas em cosméticos, produtos de limpeza, pesticidas e medicamentos, oferecendo alternativas mais ecológicas e alinhadas com o mercado crescente de produtos naturais e sustentáveis (Carrubba & Catalano, 2009).

Estudos recentes têm evidenciado que o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* não só inibe o crescimento de *C. albicans*, mas também é eficaz na inibição da formação de biofilmes, um dos principais mecanismos de virulência dessa espécie (Almeida & Souza, 2016). Isso sugere que o óleo essencial de palmarosa pode ser uma ferramenta valiosa na prevenção de infecções recorrentes e persistentes.

Além disso, o uso de óleos essenciais apresenta a vantagem de uma menor probabilidade de desenvolvimento de resistência por parte dos patógenos, comparado aos antifúngicos tradicionais. Isto se deve à complexa composição química dos óleos essenciais, que dificulta a adaptação dos microrganismos a múltiplos compostos ativos simultaneamente (Yadav & Singh, 2020).

A exploração e aplicação de óleos essenciais, particularmente o de *Cymbopogon martinii*, representa um avanço promissor no combate contra as infecções fúngicas causadas pelo gênero *Candida*, com especial destaque para *C. albicans*. A continuidade da pesquisa nesta área pode fornecer alternativas terapêuticas eficazes e seguras, contribuindo para o aprimoramento dos cuidados de saúde e melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças fúngicas

O corpo humano abriga trilhões de microrganismos que desempenham funções essenciais para a saúde e o equilíbrio do organismo. Essa microbiota está distribuída por diversas regiões, como a pele, o trato gastrointestinal, a cavidade oral e o trato urogenital, englobando centenas de espécies de bactérias, fungos, protozoários e vírus (Esmaeili *et al.*, 2023).

Os fungos podem causar diversas doenças, porém as infecções fúngicas não são sistematicamente monitoradas no Brasil. Além disso, elas não integram a lista nacional de doenças de notificação compulsória, o que dificulta a vigilância epidemiológica. Essa lacuna resulta na ausência de dados epidemiológicos que possam delinear a ocorrência, magnitude e relevância clínica da candidíase sistêmica em âmbito nacional. Estudos indicam que a taxa de incidência de candidemia no Brasil atinge 2,49 casos por 1.000 admissões hospitalares, sendo que, em hospitais públicos terciários, essa taxa pode ser de duas a quinze vezes superiores às registradas em instituições de saúde nos Estados Unidos e na Europa. Essa discrepância ressalta a necessidade de uma abordagem mais rigorosa e sistemática no monitoramento e na notificação dessas infecções, a fim de melhor compreender sua epidemiologia e implementar estratégias adequadas de prevenção e controle (Brasil, [s.d]).

As espécies de *Candida* são amplamente reconhecidas como patógenos oportunistas, sendo que, embora existam aproximadamente 200 espécies desse gênero, apenas uma fração delas desperta maior interesse clínico. As espécies de maior relevância incluem *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. auris* e *C. albicans* (Alburquenque *et al.*, 2011).

Cada uma dessas espécies apresenta características únicas que influenciam seu comportamento patogênico e sua interação com o hospedeiro. Entre essas características, destacam-se o perfil de suscetibilidade aos antifúngicos, que pode variar entre as espécies, e o perfil de virulência, que determina a capacidade de cada uma delas em causar infecções em diferentes contextos clínicos. Além disso, a distribuição geográfica dessas espécies é variável, com diferenças observadas entre países, regiões e até mesmo entre hospitais em uma mesma cidade. Essa heterogeneidade sublinha a necessidade de vigilância epidemiológica e do entendimento aprofundado das dinâmicas das infecções fúngicas com o gênero *Candida* (Brasil, [s.d]).

2.2 *Candida* spp.

A presença de leveduras do gênero *Candida* na microbiota humana não indica, por si só, a existência de doença, pois essas leveduras fazem parte da microbiota natural, colonizando a cavidade orofaríngea, o trato gastrointestinal, vaginal e a pele de indivíduos saudáveis sem causar sintomas clínicos. No entanto, algumas espécies podem atuar como patógenos oportunistas em determinadas condições, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes com HIV, câncer, diabetes ou aqueles submetidos a procedimentos invasivos e imunossupressores. Estudos indicam que *Candida albicans* representa cerca de 60% dos isolados de amostras clínicas, mas outras espécies de *Candida* não-*albicans* como *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa* e *C. tropicalis*, têm emergido como agentes patogênicos relevantes (Peixoto *et al.*, 2014; Barbosa *et al.*, 2018; Maia *et al.*, 2020; Talapko *et al.*, 2021).

As infecções por *Candida* variam de manifestações superficiais a quadros sistêmicos severos, sendo mais comuns em ambientes hospitalares. Além de *Candida albicans*, que é a espécie predominante em amostras clínicas. Algumas apresentam maior resistência a antifúngicos, como fluconazol e anfotericina B, o que torna o tratamento mais desafiador. Em especial, espécies frequentemente associadas a candidemias e infecções hospitalares apresentam alta taxa de mortalidade, afetando principalmente pacientes em estado crítico ou com barreiras imunológicas comprometidas (Barbedo & Sgarbi, 2010; Silva, 2011; Kumar *et al.*, 2022; Mendoza-Reyes *et al.*, 2022).

2.3 *Candida albicans*: Importância Clínica, Patogenicidade e Desafios Terapêuticos

Candida albicans é um fungo comensal, diplóide e polimórfico, que coloniza tecidos e mucosas do trato geniturinário, gastrointestinal, cavidade oral e pele da maioria dos indivíduos saudáveis. Embora normalmente benigno, pode atuar como patógeno oportunista, causando infecções superficiais e invasivas, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes com HIV, câncer, diabetes ou submetidos a transplantes e terapias imunossupressoras (Brasil, [s.d.]; Zipfel *et al.*, 2014; Bath *et al.*, 2014; Lass-Flörl *et al.*, 2024; Parambath *et al.*, 2024). Na unidade de terapia intensiva (UTI), a candidemia pode representar até 15% das infecções

nosocomiais, com uma mortalidade atribuível de aproximadamente 47% (Chow *et al.*, 2021).

A patogenicidade de *C. albicans* deve-se a uma série de fatores de virulência que favorecem sua adaptação ao hospedeiro e a resistência ao tratamento antifúngico. Destaca-se sua plasticidade morfológica, que permite alternar entre as formas de levedura unicelular, pseudo-hifas e hifas verdadeiras em resposta a estímulos ambientais, facilitando a colonização, a evasão da resposta imune e a invasão de tecidos profundos. Além disso, a capacidade de formação de biofilmes em superfícies abióticas, como dispositivos médicos, contribui para infecções persistentes e para o aumento da resistência aos antifúngicos (Simões *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2017).

A resistência antifúngica tem se tornado um problema crescente, comprometendo a eficácia terapêutica e dificultando o manejo clínico das infecções. Esse fenômeno está diretamente associado ao uso excessivo e inadequado desses fármacos, favorecendo a seleção de cepas resistentes e limitando as opções terapêuticas. Além da resistência, a toxicidade dos antifúngicos representa um desafio adicional, uma vez que os efeitos colaterais podem comprometer a adesão ao tratamento e impactar a saúde dos pacientes (Bergold & Georgiadis, 2004; Costa & Santiago, 2016).

2.4 Morfologia, virulência e transição morfológica de *Candida albicans*

Candida albicans é um fungo oportunista que exibe uma notável plasticidade fenotípica, permitindo sua adaptação a diferentes ambientes do hospedeiro. Seu metabolismo desempenha papel essencial na sua sobrevivência e patogenicidade, regulando a expressão gênica e interagindo diretamente com o sistema imunológico do hospedeiro. Os principais mecanismos de virulência incluem a morfogênese levedura-hifa, adesão celular, secreção de hidrolases e formação de biofilmes. A capacidade de alternar entre levedura e hifas confere vantagem competitiva e favorece sua persistência no organismo humano (Chow *et al.*, 2021; Pellon *et al.*, 2022).

As células de levedura (blastocônídios) possuem formato oval e são essenciais para disseminação na corrente sanguínea. Os tubos germinativos, que se desenvolvem sob condições favoráveis, marcam o início da formação de hifas verdadeiras, facilitando a adesão e penetração nos tecidos do hospedeiro. As pseudo-hifas, que apresentam características intermediárias, estão associadas à colonização

em ambientes oportunistas. As hifas verdadeiras, estruturadas em crescimento anisotrópico, são fundamentais na formação de biofilmes e no estabelecimento da infecção (Leite-Jr *et al.*, 2023).

A virulência de *Candida albicans* resulta de fatores como adesão e invasão tecidual, formação de biofilmes, secreção de enzimas hidrolíticas e variação fenotípica. A formação de biofilmes, em particular, desempenha papel crucial na resistência a tratamentos antifúngicos e na proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro e é um dos principais desafios clínicos associados às infecções por *C. albicans*. Os biofilmes, predominantemente compostos por hifas, aderem a superfícies biológicas e abióticas, incluindo dispositivos médicos, conferindo maior resistência a antifúngicos e à resposta imune. A elevada taxa de mortalidade associada a infecções fúngicas invasivas evidencia as limitações das terapias disponíveis. O número restrito de antifúngicos, aliado ao aumento progressivo da resistência, ressalta a necessidade urgente de novas estratégias terapêuticas (Desai *et al.*, 2018; Gow & Lenardon, 2022; Richardson, 2022; Leite-Jr *et al.*, 2023).

2.5 *Candida albicans* (ATCC MYA-2876)

A cepa *Candida albicans* (ATCC MYA-2876), um isolado clínico padrão, é uma das linhagens mais estudadas e utilizadas em pesquisa científica. Este isolado destaca-se por suas características fenotípicas e comportamentais, incluindo alta capacidade de invasão tecidual, intensa filamentação e robusta formação de biofilmes, comuns em isolados clínicos, mas particularmente acentuados nessa cepa (ATCC, [s.d]; Calderone & Fonzi, 2001; Jones *et al.*, 2004; Glazier *et al.*, 2023).

Além disso, sua consistência sob diversas condições laboratoriais torna-a uma referência em estudos de patogenicidade, resistência antifúngica e biologia molecular. Diversas investigações têm utilizado essa cepa para elucidar mecanismos de resistência a antifúngicos, bem como para caracterizar genes e vias envolvidos na resposta ao estresse, adesão ao hospedeiro e formação de biofilmes, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras. Estudos também evidenciam sua importância na compreensão dos mecanismos que permitem a evasão do sistema imunológico, destacando a capacidade de adaptação de *C. albicans* a diferentes ambientes (Calderone & Fonzi, 2001; Glazier *et al.*, 2023).

2.6 Produtos naturais como agentes terapêuticos

Considerando a elevada patogenicidade de *Candida albicans* e o crescente número de infecções fúngicas graves e resistentes aos tratamentos convencionais, os óleos essenciais surgem como alternativas terapêuticas promissoras. Esses compostos naturais, extraídos principalmente de plantas medicinais, têm mostrado potencial contra infecções fúngicas, oferecendo uma abordagem complementar ao arsenal terapêutico atual e com menor risco de indução de resistência (Hou & Huang, 2024). As plantas medicinais, segundo a definição da Organização Mundial da Saúde (OMS), são aquelas utilizadas no tratamento de diversas condições em humanos ou animais, por diferentes vias de administração, e que exercem ações farmacológicas comprovadas. Estima-se que existam cerca de 500 mil espécies de plantas no mundo, muitas das quais possuem propriedades curativas e preventivas bem documentadas (Gurib-Fakim, 2006; França *et al.*, 2008; Brasil, 2006).

Diversos estudos têm evidenciado os efeitos benéficos de óleos essenciais no tratamento de infecções causadas pelo microrganismo *Candida albicans*. Extratos e óleos extraídos de plantas como canela (*Cinnamomum* spp.), cravo (*Syzygium* spp.), jasmim (*Jasminum* spp.), alecrim (*Rosmarinus* spp.), menta (*Mentha* spp.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), lavanda (*Lavandula* spp.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), entre outros, demonstraram a capacidade de inibir fatores de virulência de *C. albicans*, como a transição morfológica do blastoconídio para o tubo germinativo e hifa. Além disso, os óleos essenciais de plantas medicinais possuem atividade antifúngica, tornando-os promissores no tratamento de infecções superficiais causadas por *Candida* (Hammer *et al.*, 2000; Barbosa *et al.*, 2018; D'Ávila *et al.*, 2019; Ferrão *et al.*, 2020; Maia *et al.*, 2020; Wijesinghe *et al.*, 2020; Carvalho Bernardo *et al.*, 2021; El-Baz *et al.*, 2021; Bernardo *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2024).

Entre os óleos essenciais, destaca-se o óleo extraído do gênero *Cymbopogon* spp., pertencente à família Gramineae, que inclui diversas ervas conhecidas mundialmente por seu alto teor de óleo essencial. As plantas desse gênero são amplamente distribuídas globalmente e têm uma vasta gama de aplicações, desde a aromaterapia até o uso na indústria alimentícia e farmacêutica, evidenciando seu potencial terapêutico e comercial (Avoseh *et al.*, 2015).

2.7 *Cymbopogon* spp.

O gênero *Cymbopogon*, pertencente à família Poaceae, contém mais de 140 espécies que são encontradas globalmente em regiões tropicais e subtropicais. É amplamente distribuído e inclui diversas espécies de plantas conhecidas principalmente por suas aplicações comerciais e medicinais. Nativa da Ásia, especialmente Índia e Paquistão, mas amplamente cultivada em outras regiões do mundo devido à sua versatilidade (Dubey & Luthra, 2001; Kumar *et al.*, 2022). o que tem atraído crescente interesse nas áreas de farmacologia, fitoterapia e indústrias de fragrâncias e cosméticos. A identificação e o estudo de seus compostos bioativos têm permitido explorar o potencial terapêutico das espécies deste gênero, em especial no contexto de agentes antimicrobianos, anti-inflamatórios e antioxidantes (Isman, 2000; Bakkali *et al.*, 2008). Algumas das espécies mais conhecidas de *Cymbopogon* incluem o capim-limão (*Cymbopogon citratus*), o capim-santo (*Cymbopogon nardus*), o capim-alecrim (*Cymbopogon winterianus*), o capim-palmarosa (*Cymbopogon martinii*) cujos óleos essenciais possuem uma gama de propriedades farmacológicas de interesse (Dubey & Luthra, 2001; Avoseh *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2022; Sen *et al.*, 2023).

As espécies do gênero *Cymbopogon* são predominantemente herbáceas e se caracterizam por folhas lineares e longas, uma morfologia típica que facilita sua identificação. A extração do óleo essencial dessas plantas é comumente realizada por destilação a vapor, um método eficaz que preserva as propriedades químicas e bioativas dos compostos voláteis. Entre os principais componentes do óleo essencial, destacam-se o citronelal, o geraniol, o neral e o citrônolol, compostos conhecidos por suas atividades biológicas. Os compostos químicos bioativos essenciais do gênero conferem o potencial anti-inflamatório, antisséptico, antipiréticos, antiespasmódica, analgésico, tranquilizante, diurético. São utilizados também para aliviar indigestão, dismenorreia, resfriados e seus sintomas, picadas de insetos, bem como tem propriedades antibacteriana, antifúngicas e prevenção do câncer (Verdi *et al.*, 2019; Santamarta *et al.*, 2020; Zahra *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2022; Tibenda *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2023a).

O óleo essencial de *Cymbopogon* tem diversas aplicações, não apenas como aromatizante e em cosméticos, mas também na medicina tradicional, sendo utilizado para o tratamento de condições como dores musculares, distúrbios digestivos e febres. Além disso, o óleo essencial de *Cymbopogon* é reconhecido por suas propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas, o que o torna valioso para diversas

abordagens terapêuticas e vem sendo utilizado mundialmente pelas indústrias de perfumaria e cosméticos, condimentos e alimentos, indústrias farmacêuticas e outras (Dubey & Luthra, 2001; Avoseh *et al.*, 2015; Llana-Ruiz-Cabello *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2022; Sen *et al.*, 2023).

Estudos recentes têm enfatizado o potencial antifúngico e antibacteriano das espécies de *Cymbopogon*, especialmente contra patógenos resistentes, como *C. albicans*, a tratamentos convencionais, o que amplia suas perspectivas terapêuticas (Dubey & Luthra, 2001; Verdi *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2022). A pesquisa tem demonstrado que seus compostos possuem potente ação contra uma variedade de patógenos, incluindo *Candida albicans* (Silva *et al.*, 2023b). Esse potencial antimicrobiano coloca as espécies de *Cymbopogon* como uma alternativa interessante no desenvolvimento de terapias naturais e complementares para o tratamento de infecções fúngicas e bacterianas, visto que é crescente a preocupação na medicina contemporânea devido à resistência antimicrobiana (Avoseh *et al.*, 2015).

Além disso, o gênero *Cymbopogon* é de grande importância econômica e ambiental, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Seu cultivo para a extração de óleos essenciais não apenas contribui para a geração de emprego e renda, mas também tem sido considerado uma prática sustentável em diversas comunidades agrícolas. O potencial de cultivo em larga escala, com a crescente demanda por produtos naturais e orgânicos, fortalece ainda mais o papel de *Cymbopogon* nas indústrias de óleos essenciais e fitoterápicos. Sua versatilidade, tanto do ponto de vista terapêutico quanto econômico, torna o gênero um foco contínuo de pesquisas científicas e aplicação industrial (Mahmoud *et al.*, 2022).

2.1 *Cymbopogon martinii*

A classificação científica de *Cymbopogon martinii* segue a taxonomia tradicional das plantas, sendo descrita da seguinte forma: Reino Plantae, Filo Tracheophyta, Divisão Magnoliophyta, Classe Liliopsida, Ordem Poales, Família Poaceae, Gênero *Cymbopogon*, Espécie *Cymbopogon martinii* (GBIF, [s.d]).

A espécie *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson, descrita inicialmente por Roxburgh e validada por Will Watson em 1798, é particularmente conhecida pelo óleo essencial rico em Geraniol, utilizado em perfumaria e com propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Avoseh *et al.*, 2015; Mabberley, 2017). É uma

espécie rica em metabólitos secundários voláteis com uma perspectiva industrial (Sen *et al.*, 2023)

A planta *C. martinii* possui diversos nomes populares, como palmarosa, gerânio indiano, capim-gengibre ou capim-rosa, amplamente cultivada em países asiáticos devido produção de seu óleo essencial, mais comumente conhecida como Palmarosa, é um dos botânicos do gênero com maior teor de Geraniol presente no óleo essencial, sendo essa espécie a mais cultivada para obtenção do Geraniol (Santamarta *et al.*, 2020). Seu óleo é bastante utilizado para conferir aroma à perfumes, sabonetes, cosméticos, produtos de higiene e tabaco, produtos voltados à indústria cosmética, alimentícia e farmacêutica (Dubey & Luthra, 2001; Verdi *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2022).

O óleo essencial de *C. martinii* contém uma variedade de compostos químicos, entre os quais se destacam: Neral, Geranial α -Elemol, Geranila, Acetato de Geranila, Citral, Citronelol e Geraniol, sendo este último o composto predominante. O óleo essencial de palmarosa possui um odor característico e duradouro, semelhante ao de rosas, o que o torna valorizado e amplamente utilizado na indústria de sabonetes, perfumaria e cosméticos no geral (Akhila, 2010; Dangol *et al.*, 2023; Sen *et al.*, 2023).

Com base nas informações provenientes da literatura, propôs-se avaliar o óleo essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) e sua ação contra as leveduras do gênero *Candida*, especialmente *C. albicans* e seus fatores de virulência e formação de biofilme.

3. PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos biológicos do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* contra as leveduras do gênero *Candida*, bem como a atividade contra a formação de tubos germinativos e biofilme de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876).

3.1 Objetivos específicos do estudo

- Analisar os compostos fitoquímicos presentes no óleo essencial de *Cymbopogon martinii* através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EMS).
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* em cepas ATCC de *Candida* spp.
- Determinar a Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* em cepas ATCC de *Candida* spp.
- Determinar a tolerância das cepas de *Candida* spp. ao óleo essencial de *C. martinii* utilizando a razão entre CFM/CIM.
- Avaliar a produção de tubos germinativos de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) após exposição ao óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.
- Analisar o impacto do óleo essencial de *C. martinii* sobre a cinética de formação de biofilmes de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) empregando períodos de desenvolvimento de 2 e 24 horas.
- Verificar o efeito do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* sobre a cinética de formação dos biofilmes da cepa *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Infraestrutura disponível

A presente pesquisa foi conduzida na instituição de ensino superior Faculdade de Odontologia de Piracicaba, unidade da Universidade Estadual de Campinas (FOP/UNICAMP), nos laboratórios da Área de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Diagnóstico Oral.

4.2 Microrganismos utilizados

4.2.1 Leveduras

Foram utilizadas cepas de *Candida* spp. com nomenclatura oficial definida pela *American Type Culture Collection* (ATCC) recomendadas para testes pelo *Clinical and Laboratory Standards Institutes* - CLSI (2008), sendo elas: *C. albicans* (ATCC MYA-2876), *C. albicans* (ATCC 90028), *C. dubliniensis* (ATCC MYA-646), *C. glabrata* (ATCC 5207), *C. guilliermondii* (ATCC 6260), *C. krusei* (ATCC 749), *C. lusitaniae* (ATCC 42720), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. rugosa* (ATCC 10571) e *C. tropicalis* (ATCC 750). A cepa de *Candida albicans* (Robin) Berkhout (ATCC MYA-2876) foi escolhida para os ensaios de fatores de virulência por apresentar interesse médico e acadêmico. Refere-se a um isolado clínico padrão que apresenta características típicas, tornando-a uma referência para comparações e experimentos replicáveis, também é altamente invasiva e expressa filamentação e formação de biofilme robustos em relação a muitos outros isolados clínicos (Calderone & Fonzi, 2001; Cowen *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2004; Glazier *et al.*, 2023).

4.2.2 Reativação de microrganismos

As cepas utilizadas neste estudo foram obtidas da coleção microbiológica do laboratório da Área de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/UNICAMP). Os microrganismos estavam armazenados em ultrafreezer a -80°C, em microtubos, tipo Eppendorf, contendo glicerol 80%. Para reativação das leveduras do gênero *Candida* utilizou-se meio de cultura *Yeast extract Peptone Dextrose* (YPD, Oxoid) e *Saboraud Dextrose Agar* (SDA, Kasvi), em condição aeróbica à 37°C por período de 24 horas.

4.3 Descrição do Óleo Essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*)

A planta Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) foi escolhida com base nas suas propriedades biológicas. O óleo essencial da planta foi obtido, mediante compra, através da Empresa Terra Flor.

O óleo essencial de Palmarosa foi produzido pela Yanih Cosméticos e Farmacêutica Ltda (CNPJ: 77.517.993/0001-06), sob o lote de produção PR2/21, e fornecido pela Terra Flor Aromaterapia (CNPJ: 08.786.084/0001-42). O lote comercial da Terra Flor é identificado como 21161, com data de produção em 07 de junho de 2021 e validade até junho de 2024.

Foi obtido por arraste a vapor das folhas da planta, sendo geraniol e geranila os principais componentes químicos identificados. Suas características físicas incluem aparência líquida, odor fresco e herbáceo, e cor que varia entre levemente amarelado e amarelo pálido. A densidade apresentada pela Terra Flor Aromaterapia foi de 0,889 g/cm³, enquanto o índice de refração foi medido em 1,464. As propriedades e especificações foram analisadas e fornecidas pela Terra Flor Aromaterapia (Anexo 1).

4.3.1 Preparo do óleo essencial de *Cymbopogon martinii*

A pesquisa foi conduzida com o óleo essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tendo como solubilizante o Polisorbato 80, conhecido também como Tween 80, não excedendo 0,025%, e como solvente foi utilizado meio de cultura específico ao experimento.

Foram definidas as concentrações do óleo essencial a partir do ensaio preliminar, o qual foi determinante para a escolha da maior concentração (inicial) a ser utilizada na pesquisa. Sendo assim, para os ensaios optou-se pela concentração inicial de 16 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*, com razão de diluição de 2x.

4.3.2 Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EMS)

A caracterização química dos constituintes voláteis presentes no óleo essencial de *Cymbopogon martinii* foi realizada com a contribuição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz (ESALQ), utilizando um cromatógrafo a gás (Hewlett-

Packard 5890, Série II) acoplado a detector seletivo de massas (Hewlett40 Packard 5971), conforme as condições descritas a seguir:

- Coluna capilar HP-5MS (25 m x 0,20 mm x 0,33 μ m)
- Volume injetado: 1,0 μ L
- Vazão do gás de arraste (He super seco): 1,0 mL/min⁻¹

Temperaturas:

- Injetor split/splitness: 220°C
- Detector: 280°C
- Coluna: 60°C (1 min)
- Rampa de aquecimento: 3°C/min⁻¹
- Temperatura final: 240°C (7 min)
- Sistema de ionização de elétrons: 70 eV.

O óleo essencial foi solubilizado em acetato de etila para a análise. O Índice de Retenção (IR) foi definido pela injeção de padrões de hidrocarbonetos.

Os analitos identificados no óleo essencial de *C. martinii* através de CG-EMS foram analisados pelo *software* MSD ChemStation (G1701DA, D.02.00.275, Agilent Technologies), comparando-se os picos cromatográficos com dados de IR da literatura (Adams, 2007) e perfis da biblioteca eletrônica Nist-11.

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

4.4.1 CIM frente às cepas de *Candida* spp.

A atividade antifúngica do óleo essencial de *C. martinii* foi determinada através do ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de Palmarosa contra algumas cepas de *Candida*, sendo elas: *C. albicans* (ATCC MYA-2876), *C. albicans* (ATCC 90028), *C. dubliniensis* (ATCC MYA-646), *C. glabrata* (ATCC 5207), *C. guilliermondii* (ATCC 6260), *C. krusei* (ATCC 749), *C. lusitaniae* (ATCC 42720), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. rugosa* (ATCC 10571) e *C. tropicalis* (ATCC 750). Realizada através da técnica de microdiluição em caldo seguindo a metodologia do protocolo de referência para teste de suscetibilidade antifúngica de leveduras por diluição em caldo, protocolo para fungos M27-A3 (Santurio *et al.*, 2007; CLSI, 2008).

Utilizou-se uma microplaca de 96 poços estéril onde foram distribuídos, em todos os poços da placa, 100 µL do meio de cultura RPMI 1640 (Sigma Aldrich, EUA). Adicionou-se 100 µL do óleo essencial de Palmarosa na placa de microtitulação de 96 poços estéril (NEST biotechnology, CN), na concentração inicial de 16 mg/mL apenas na primeira coluna e seguiu-se com a microdiluição seriada (razão de 2x), onde foi homogeneizado e retirado 100 µL de cada poço da coluna 1 para a coluna 2, e assim sucessivamente até a coluna 12, obtendo-se, então, as concentrações do óleo essencial de Palmarosa (16 a 0,01 mg/mL) (Santurio *et al.*, 2007; Bona *et al.*, 2014).

Posteriormente, os inóculos das cepas de *Candida* foram padronizados em $2,5 \times 10^3$ UFC/mL. Ajustadas em solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% (NaCl 0,9%), através de espectrofotômetro (Thermo Electron Corporation, USA) na absorbância de 0,08 a 0,1 abs, a 530 nm, as quais foram inoculadas nas cavidades da placa de 96 poços, exceto nos locais indicados como controle, estas placas foram incubadas por 24h a 37°C e examinadas visualmente quanto a turbidez das suspensões (Bona *et al.*, 2014). Posteriormente, foram examinadas visualmente quanto o crescimento dos microrganismos e o resultado foi confirmado com a adição de 30 µL de Cloreto de Trifeniltetrazólio (CTT) a 0,5% em cada cavidade, incubando a placa novamente em estufa sob temperatura de 37°C por um período de 2 horas. A coloração com CTT é um método colorimétrico que demonstra a atividade das enzimas desidrogenase compreendidos no processo de respiração celular, por meio da reação das propriedades químicas do corante e o microrganismo presente no meio. O CTT ao apresentar distinção de cor, coloração avermelhada demonstra a presença de células vivas e quando as células não se apresentam viáveis o corante mantém a sua cor original (Sobreira *et al.*, 2020).

4.4.2 CFM frente a cepa de *Candida* spp.

A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi estabelecida como a concentração menor do óleo essencial de *C. martinii* que impediu o crescimento do microrganismo na cultura sólida por leitura visual (Gullo *et al.*, 2012).

Após a leitura visual da CIM e anteriormente a adição do corante CTT, os poços das placas foram homogeneizados por pipetagem. Coletou-se uma alíquota de 5 µL de cada cavidade da placa e transferiu-as para superfície do meio de cultura

sólido SDA em placa de Petri. As placas de SDA com as alíquotas foram deixadas em estufa microbiológica por 24 horas a 37°C, para determinação da menor concentração do óleo essencial de Palmarosa capaz de inibir o crescimento de colônias da levedura no meio sólido através de identificação visual (Santurio *et al.*, 2007; Bona *et al.*, 2014).

4.4.3 Tolerância de *C. albicans* ao óleo essencial de Palmarosa

Para determinar a tolerância do microrganismo ao óleo essencial de *C. martinii* utilizou-se o cálculo da razão entre CFM/CIM. Onde, o cálculo de razão CFM/CIM resultante em >4 demonstra que o óleo essencial teve característica fungistática, sendo que o sufixo “stático” indica que a ação antimicrobiana do óleo essencial se limita a inibição do crescimento, impedindo a multiplicação do microrganismo sem provocar a morte do mesmo. O cálculo de razão CFM/CIM que resultou ≤ 4 demonstra que o óleo tem característica fungicida, onde o sufixo “cida” indica que a ação antimicrobiana é a morte dos microrganismos a que se referem (Brasil, 2007; Ganan *et al.*, 2019).

4.4.4 Avaliação do Tubo Germinativo de *C. albicans* (ATCC MYA-2876)

A avaliação do teste tubo germinativo, que observa a transição de blastoconídios para hifas foi realizada usando o protocolo padrão publicado por Hammer e coautores (2000).

Candida albicans (ATCC MYA-2876) foi incubada em meio de cultura líquido YPD com agitação de 100 rpm à 37°C por um período de 24 horas. Após, foi submetido a centrifugação (Eppendorf 5810R, EUA) por 3 minutos a 9.000 rpm e lavagem com solução PBS (*Phosphate Buffered Saline* / Tampão fosfato-salino) por duas vezes, após esse procedimento o inóculo foi ressuspenso em solução PBS (pH 7.4).

A cepa de *C. albicans* foi padronizada a uma concentração de 5×10^6 UFC/mL em *Yeast extract Peptone Dextrose* (YPD, Himedia, Índia) e adicionada aos tubos de ensaio contendo as concentrações do óleo de Palmarosa preparadas em Soro Fetal Bovino (1:1) (SFB, Gibco, Estados Unidos).

Procedeu-se com a diluição das soluções de tratamento do óleo essencial de *C. martinii* em SFB (Gibco, Estados Unidos) e misturadas com volume igual da suspensão de células de *Candida* em caldo YPD.

As concentrações para este teste foram escolhidas de acordo com os resultados do ensaio anterior (CIM). Assim, as três concentrações do óleo essencial de Palmarosa foram 0,5; 1 (CIM) e 2 mg/mL, mantendo um grupo controle negativo preparado apenas com SFB e um controle positivo com inóculo de *C. albicans*.

Todos os tubos com as amostras foram incubados a 37°C. E a cada período uma amostra de 10 µL de cada tubo foi coletada e contada em câmara de contagem aprimorada de Neubauer. As contagens foram realizadas observando a quantidade de células apresentando tubos germinativos (alongamento sem constrição) em relação ao controle, sem tratamento. Foram analisadas as amostras de cada tratamento iniciando com o tempo zero seguida de quatro amostras com intervalos de 1h entre cada coleta (Hammer *et al.*, 2000).

As células de cada lâmina foram analisadas e pontuadas morfolologicamente, considerando como tubo germinativo a célula contendo protuberância arredondada com comprimento maior ou igual ao diâmetro da célula-mãe, não restrito na base. Considerou-se para a contagem apenas as células que apresentavam tubo germinativo, e a porcentagem de células contendo tubos germinativos foi então calculada em relação ao controle, sem tratamento (Hammer *et al.*, 2000; Maia, 2020).

4.5 Avaliação da atividade antibiofilme

4.5.1 Padronização da cepa

Para os ensaios de biofilme, as células de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876), dos estoques armazenados a -80°C, foram semeadas por estriamento em placas de SDA, posteriormente a cepa foi obtida desta placa e incubada em meio líquido YPD, permanecendo sobre incubação durante a noite a 30°C em uma incubadora *shaker* (NI 1711, Nova Instruments) a 180 rpm. Essas condições foram seguidas para obter-se a *C. albicans* como blastoconídios.

Após o período de incubação, uma alíquota de 7 mL da cultura líquida foi centrifugada (Eppendorf, 5810R, EUA) a 3.000 rpm por 5 minutos, na temperatura de 4°C. O sobrenadante foi descartado e adicionou-se ao *pellet* a solução PBS (*Phosphate Buffered Saline*) estéril, seguido de agitação em agitador de tubos, tipo vórtice (Phoenix, AP56, BR) e novamente centrifugado, esta lavagem repetiu-se por duas vezes. Depois da última centrifugação o sobrenadante foi descartado e o *pellet* ressuspendido em 7 mL de RPMI.

A suspensão celular resultante foi ressuspensa em meio de cultura líquido RPMI-1640, preparando-se a diluição de 1:100 e utilizando a Câmara de Neubauer e um microscópio óptico com objetiva de 40x, aumento de 400x. Assim, padronizou-se a suspensão celular com uma densidade final de $1,0 \times 10^6$ células/mL em RPMI 1640 para *Candida albicans* (Pierce *et al.*, 2008).

4.5.2 Formação do biofilme

Cada poço de uma placa de poliestireno com fundo plano (NEST biotechnology, CN) foi inoculado com 200 µL desta suspensão, para a formação do biofilme. Dois períodos de formação de biofilme foram analisados, sendo uma placa com biofilme em estágio inicial (2 horas) e outra com biofilme em formação (24 horas). Posteriormente, o inóculo foi removido e o meio de cultura com as diluições do óleo essencial e controles foram aplicados, e manteve-se essas placas em incubação a 37°C por 24 horas (Pierce *et al.*, 2008).

O biofilme previamente formado foi analisado de acordo com a metodologia proposta por Djordjevic *et al.* (2002), através coloração com solução de Cristal Violeta e leitura espectrofotométrica da densidade óptica (DO) em Espectrofotômetro Leitor de Microplacas de Elisa. Após a formação do biofilme, cada poço foi lavado duas vezes com para remoção das células não aderentes, seguido de secagem em temperatura ambiente por 45 min. Posteriormente, nos poços foram acrescentados 100 µL de solução aquosa de Cristal Violeta (0,4%) por 45 minutos. Os poços foram lavados com água destilada estéril e imediatamente descorados com 100 µL de etanol 95%. Após 45 minutos, 100 µL da solução descorada resultante de cada poço foi transferida para os poços de uma nova placa de poliestireno com fundo plano (NEST biotechnology, CN), e a quantidade do Cristal Violeta foi mensurada a 595 nm no leitor de microplacas de Elisa. Os resultados foram demonstrados como absorbância de biomassa em relação ao grupo controle (Versa MAX, molecular Devices, EUA) (Djordjevic *et al.*, 2002; Furletti *et al.*, 2011; Zanin, 2017; Honorato *et al.*, 2022).

4.5.3 Biofilme de *C. albicans* em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

A cepa de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) foi padronizada conforme o item 4.8.1, na concentração de 1×10^6 céls/mL em RPMI 1640. A cepa padronizada foi inoculada nos poços das lâminas de cultura com 8 compartimentos (BD Falcon),

sendo mantidas em incubação sob agitação por 2 horas a 75 rpm (Nova Instrumentos, Brasil) para a formação de biofilme com 2 horas, e para a formação de biofilme com 24 horas, a incubação foi realizada em câmara de aerobiose a 37°C por 24 horas.

Após a incubação, os reservatórios das lâminas de ambos os períodos (biofilme de 2 horas e biofilme de 24 horas) foram lavados com PBS 1%. Foram então adicionadas concentrações de 0,5 mg/mL, 1 mg/mL (CIM) e 2 mg/mL do óleo essencial de *Cymbopogon martinii*. Em um dos compartimentos da lâmina de ambos períodos, foi adicionado apenas o meio de cultura RPMI, para obtenção do biofilme sem interferências (controle). As amostragens foram realizadas em duplicata. Após a adição do tratamento, as lâminas foram incubadas em estufa de aerobiose a 37°C por 24 horas.

4.5.4 Fixação da amostra para microscopia em MEV

Para a análise das amostras em Microscópio Eletrônica de Varredura (MEV) é necessário seguir os protocolos de desidratação, fixação e metalização de cada compartimento das lâminas com os tratamentos e controle.

O qual se inicia com a preparação das amostras, onde o sobrenadante dos compartimentos da lâmina foi cuidadosamente aspirado e descartado. O biofilme aderido à lâmina foi então lavado três vezes com uma solução de PBS a 1% (m/v), seguido de imersão em glutaraldeído a 2,5% (v/v) a 4°C por um período de 60 minutos para a fixação primária. Após a fixação com glutaraldeído, as amostras foram lavadas com PBS a 1% e submetidas a um processo de desidratação sequencial em soluções de etanol de concentrações crescentes (70%, 80%, 95% e 100%), permanecendo por 10 minutos em cada concentração. As lâminas foram então secas em estufa incubadora, e após a secagem completa, foram colocadas em *stubs* de alumínio com fitas condutivas de carbono. Então, prosseguiu-se com o processo de metalização com ouro para permitir a condução elétrica durante a análise no MEV (Wijesinghe *et al.*, 2020; Ruiz-Duran *et al.*, 2023).

As amostras preparadas foram analisadas utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL, JSM 5600LV, Japão) operando no modo de alto vácuo a 10 kV (Mokobi, 2024).

As imagens obtidas foram processadas e os biofilmes foram examinados quanto ao aspecto morfológico das células e preenchimento do substrato e fotografados em MEV, com aumentos de 500 e 1500 x, com o objetivo de observar os

efeitos e modificações estruturais causadas pela presença do óleo essencial de *C. martinii*. Este protocolo foi seguido rigorosamente para assegurar a reprodutibilidade e a qualidade das imagens obtidas (Silva *et al.*, 2017; Barbosa, 2018; Oliveira *et al.* 2018; Wijesinghe *et al.*, 2020; Ruiz-Duran *et al.*, 2023).

Todas as análises de MEV foram realizadas no Centro de Microscopia e Imagem (CMI) da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/UNICAMP), seguindo padrões estabelecidos para a observação detalhada das amostras e a documentação das alterações morfológicas induzidas pelos tratamentos experimentais.

4.6 Análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em três ensaios independentes, e os resultados foram apresentados como a média dos valores obtidos, acompanhada do desvio-padrão (com exceção dos ensaios de determinação da CIM e CFM, onde os resultados são apresentados pela moda dos valores). A análise estatística foi realizada utilizando a análise de variância (ANOVA) de um fator, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas, sendo considerados significativos os valores de $P < 0,05$. Todas as análises estatísticas foram executadas com o software BioEstat versão 5.3 (Instituto Mamirauá) (Maia *et al.*, 2022).

5. RESULTADOS

5.1 Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EMS)

A análise dos compostos químicos presentes no óleo essencial de *Cymbopogon martinii* foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EMS) utilizando o software MSD ChemStation (G1701DA, D.02.00.275, Agilent Technologies). A identificação dos compostos foi feita por meio da comparação dos picos cromatográficos com dados de infravermelho (IR), da literatura e perfis da biblioteca eletrônica NIST-11 (Figura 1). Essa análise permitiu a identificação de compostos minoritários, como o trans-cariofileno (0,699%), óxido de cariofileno (0,975%), óxido de linalol (0,885%). Além disso, foi possível identificar o constituinte majoritário, o geraniol, que representou 68,925% da composição total do óleo essencial (Tabela 1).

Figura 1. Cromatograma do óleo essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*).

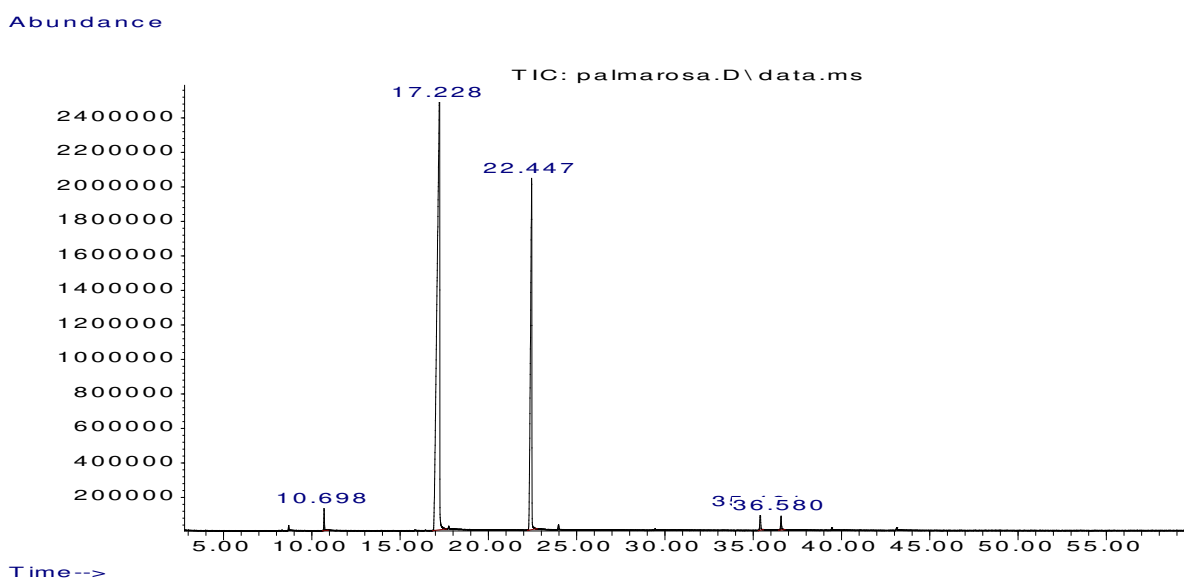


Tabela 1. Compostos identificados no óleo essencial de Palmarosa (*C. martinii*).

t_R (min.)	IR	Identificação	% rel.
17,228	1252	Geraniol	68,925
36,580	1419	Trans-Cariofileno	0,699
10,698	1092	Óxido de Linalol	0,885
22,447	1386	Acetato de Geranila	0,975
35,401	1581	Óxido de Cariofileno	0,975

t_R : tempo de retenção em minutos; IR: índice de retenção; % rel.: fração em porcentagem da área total integrada para o cromatograma.

5.2 CIM e CFM

As cepas de *Candida* spp. testadas apresentaram sensibilidade ao óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Palmarosa), evidenciando sua atividade antifúngica. Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variaram de 0,25 a 1 mg/mL, enquanto as Concentrações Fungicidas Mínimas (CFM) oscilaram entre 0,5 e 1 mg/mL, resultando em uma relação CFM/CIM igual ou inferior a 4 para todas as cepas avaliadas, o que demonstra a atividade fungicida do óleo essencial. Especificamente, para *Candida albicans* (ATCC MYA-2876), os valores de CIM e CFM foram ambos de 1 mg/mL, demonstrando ação antimicrobiana provocando a morte, constatada pela razão $CFM/CIM \leq 4$ (Tabela 2). De acordo com os resultados do MIC, foram escolhidas as concentrações para estudos posteriores com a *C. albicans* (ATCC MYA-2876).

Tabela 2. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *C. martinii*.

Cepas	<i>Cymbopogon martinii</i> (mg/mL)			Característica	Fluconazol*
	CIM	CFM	Razão CFM/CIM		CIM (mg/mL)
<i>C. albicans</i> (ATCC MYA-2876)	1	1	1 (≤ 4)	Fungicida	0.000125
<i>C. albicans</i> (ATCC 90028)	0.5	1	1 (≤ 4)	Fungicida	0.001
<i>C. dubliniensis</i> (ATCC MYA-646)	0.5	0.5	1 (≤ 4)	Fungicida	0.00025
<i>C. glabrata</i> (ATCC 5207)	0.5	1	2 (≤ 4)	Fungicida	0.008
<i>C. guilliermondii</i> (ATCC 6260)	0.5	1	2 (≤ 4)	Fungicida	0.001
<i>C. krusei</i> (ATCC 749)	1	1	1 (≤ 4)	Fungicida	0.008
<i>C. lusitaniae</i> (ATCC 42720)	1	1	1 (≤ 4)	Fungicida	0.001
<i>C. parapsilosis</i> (ATCC 22019)	0.25	0.5	2 (≤ 4)	Fungicida	0.002
<i>C. rugosa</i> (ATCC 10571)	1	1	1 (≤ 4)	Fungicida	0.001
<i>C. tropicalis</i> (ATCC 750)	0.5	0.5	1 (≤ 4)	Fungicida	0.002

CIM = Concentração Inibitória Mínima; CFM = Concentração Fungicida Mínima. * = Validação dos microrganismos conforme o protocolo M27-A3 do CLSI (2008).

5.3 Efeito na formação de tubo germinativo de *C. albicans*

Na amostra controle, observou-se uma rápida transição para a formação de hifas, atingindo 100% das células nesse formato após algumas horas de incubação. Em contraste, os tratamentos com o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* reduziram significativamente a formação de tubos germinativos e a presença de blastoconídios, com efeitos mais pronunciados conforme o aumento da

concentração. Em concentrações abaixo da CIM, houve uma diminuição gradual dos tubos germinativos, enquanto que na CIM e em concentrações mais elevadas, a inibição foi quase total em períodos mais curtos de incubação. Assim, os tratamentos com o óleo essencial de *C. martinii* mostraram-se eficazes na inibição da formação de tubos germinativos (Tabela 3). A inibição da formação de tubos germinativos nos levou a levantar a hipótese de que a formação de biofilme também poderia ser afetada na presença do óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.

Tabela 3. Porcentagem de células com tubos germinativos de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876).

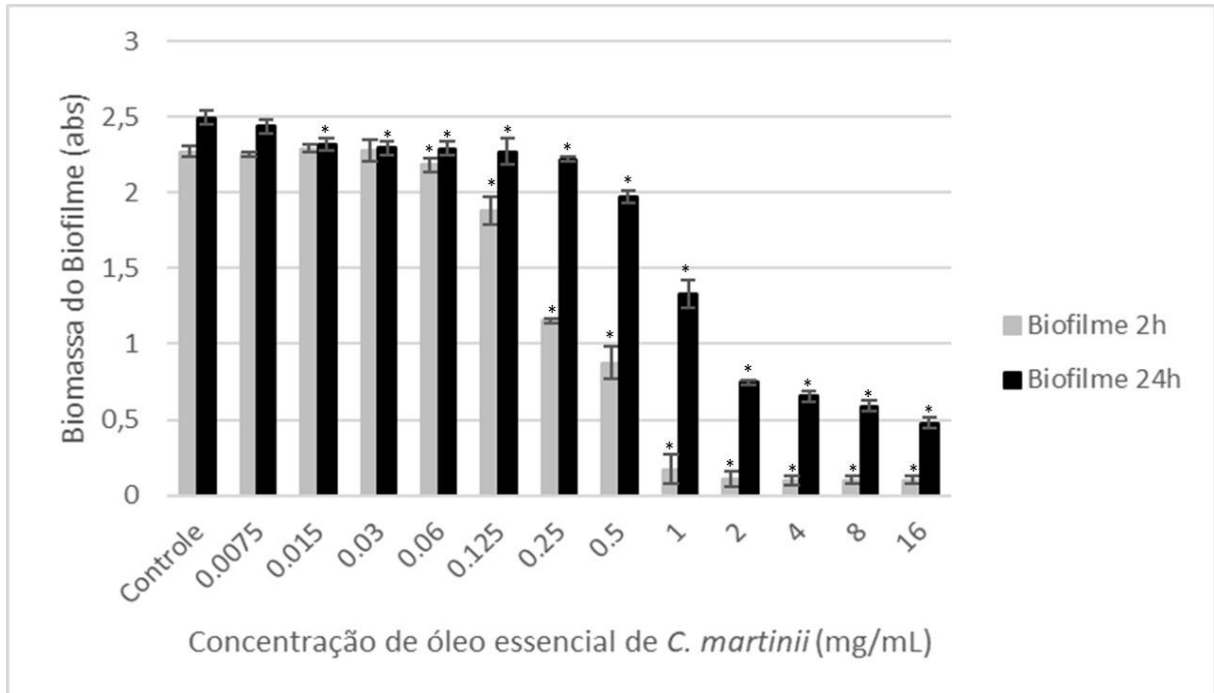
Tempo de Incubação	Controle	Óleo essencial de <i>Cymbopogon martinii</i>		
		0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL
0 hora	10%	9%	10%	8%
1 hora	69%	28%	25%	3%
2 horas	98%	17%	9%	0%
3 horas	100%	13%	0%	0%
4 horas	100%	2%	0%	0%

5.4 Efeito do óleo essencial de Palmarosa no biofilme 2h e 24h de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876)

O óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (palmarosa) demonstrou uma redução significativa na biomassa de biofilmes em formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876), com resultados observados tanto para biofilmes em estágio inicial (2 horas) quanto para biofilmes em formação (24 horas). A absorbância, medida como um indicador da biomassa, apresentou uma redução progressiva em resposta ao aumento da concentração do óleo essencial.

No presente estudo, em concentrações de 0,25 mg/mL e 0,5 mg/mL, verificou-se que a absorbância dos biofilmes foi reduzida de aproximadamente 2,5 (controle) para valores próximos de 1, evidenciando uma diminuição substancial da biomassa em biofilmes de 2 horas e 24 horas, respectivamente. Na Concentração Inibitória Mínima (CIM), equivalente a 1 mg/mL, a absorbância foi ainda mais reduzida, atingindo valores próximos de 0,2 nos biofilmes de 2 horas e cerca de 1,3 nos biofilmes de 24 horas, promovendo uma redução efetiva na biomassa dos biofilmes em diferentes estágios de formação (Figura 2).

Figura 2. Quantificação da biomassa dos biofilmes de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Cymbopogon martinii*.

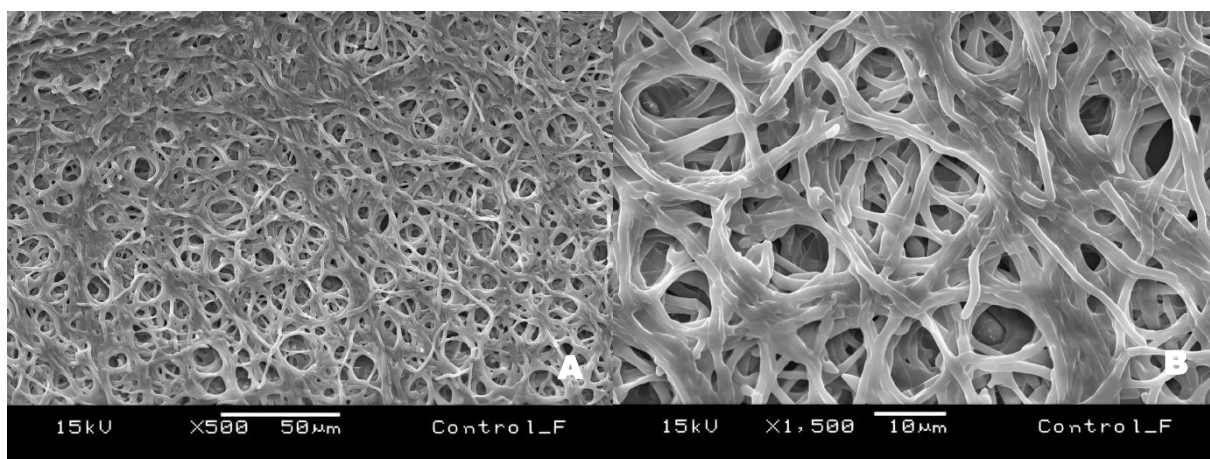


Abs: Absorbância; Controle: *Candida albicans* sem tratamento; * = diferenças significativas em relação ao controle ($p < 0,01$). Análise de variância (ANOVA: um critério) seguida de teste Tukey.

5.5 Análise da morfologia celular do biofilme em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

A análise morfológica das células do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) sem tratamento (Figura 3) por MEV, revelou uma organização tridimensional complexa, caracterizada por células em fase filamentosa, representadas por hifas ramificadas com aspecto rugoso e heterogêneo. As quais se entrelaçam, formando uma rede contínua e densa que se estende por toda a lâmina analisada (Figura 3).

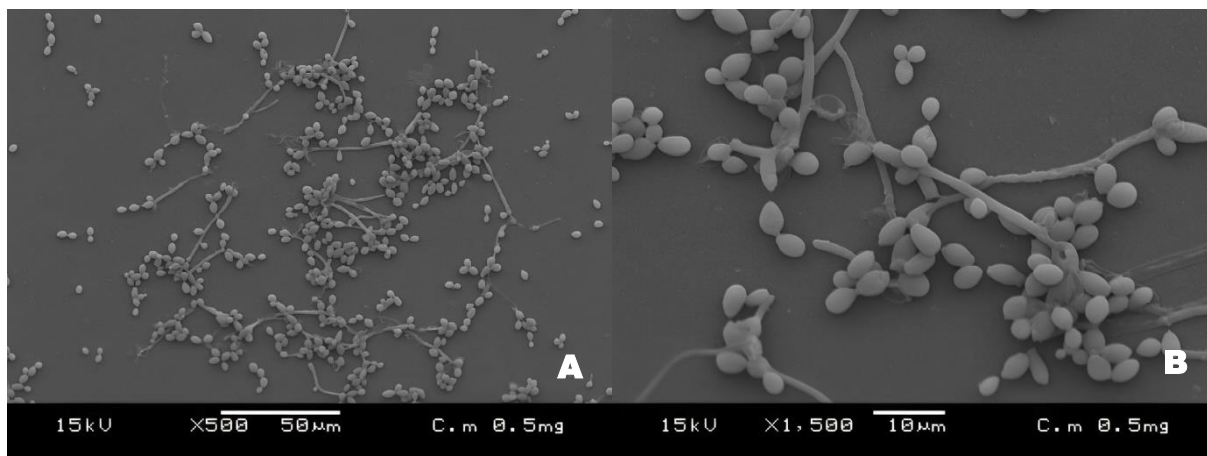
Figura 3. Microscopia Eletrônica de Varredura de controle do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876).



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 2 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) sem tratamento observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do controle do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando a estrutura tridimensional das hifas.

Alterações no biofilme após 2 horas de formação em exposição ao óleo essencial de *Cymbopogon martinii* na concentração de 0,5 mg/mL (Figura 4) foram observadas, como uma inibição no desenvolvimento de tubos germinativos e na formação de hifas, com predominância de células em forma de levedura. Além disso, sinais morfológicos indicativos de danos celulares foram visualizados, como a presença de abaulamentos na superfície celular e murchamento.

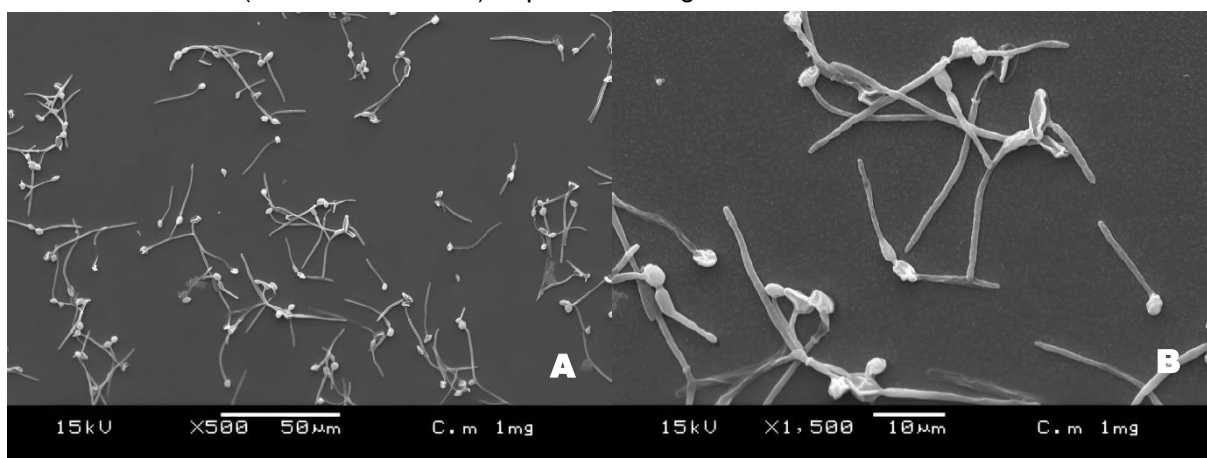
Figura 4. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 0,5 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*.



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 2 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 0,5 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando o efeito do óleo essencial de *C. martinii* na estrutura tridimensional das hifas e leveduras.

As imagens de MEV das células de *Candida albicans* expostas à Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 1 mg/mL (Figura 5) revelaram uma redução no número de blastoconídeos e hifas os quais apresentaram morfologia irregular em comparação às células controle. Observou-se que ambas as estruturas sofreram danos celulares, evidenciados pelo murchamento das células, sugerindo comprometimento da membrana plasmática. Além disso, foram identificados concavidades, enrugamentos e parede colapsada.

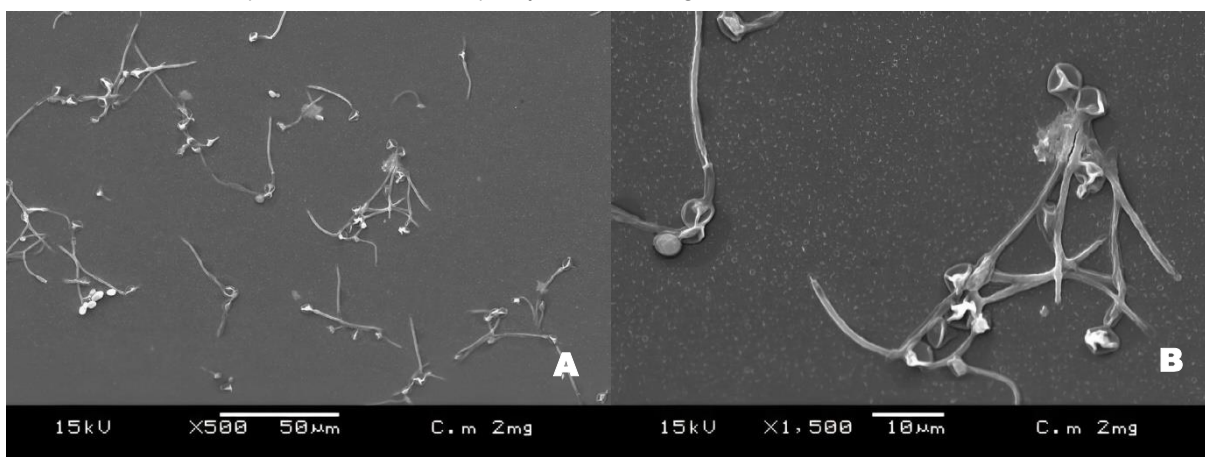
Figura 5. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*.



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 2 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando o efeito do óleo essencial de *C. martinii* na estrutura tridimensional das hifas e leveduras.

As células de *Candida albicans* expostas à 2 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* (Figura 6) demonstraram redução radical no número de blastoconídios e hifas, além de alterações estruturais notáveis nessas formas celulares. Observou-se que tanto os blastoconídios quanto as hifas apresentaram danos morfológicos evidentes como nas concentrações anteriores, porém os danos apresentados nas células fúngicas expostas a 2 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* foram mais evidentes, caracterizadas por acentuadas deformações celulares, como a superfície intensamente enrugada, murchamento das células, sugerindo comprometimento da membrana plasmática. Além disso, foram identificadas concavidades, protruções e parede celular colapsada.

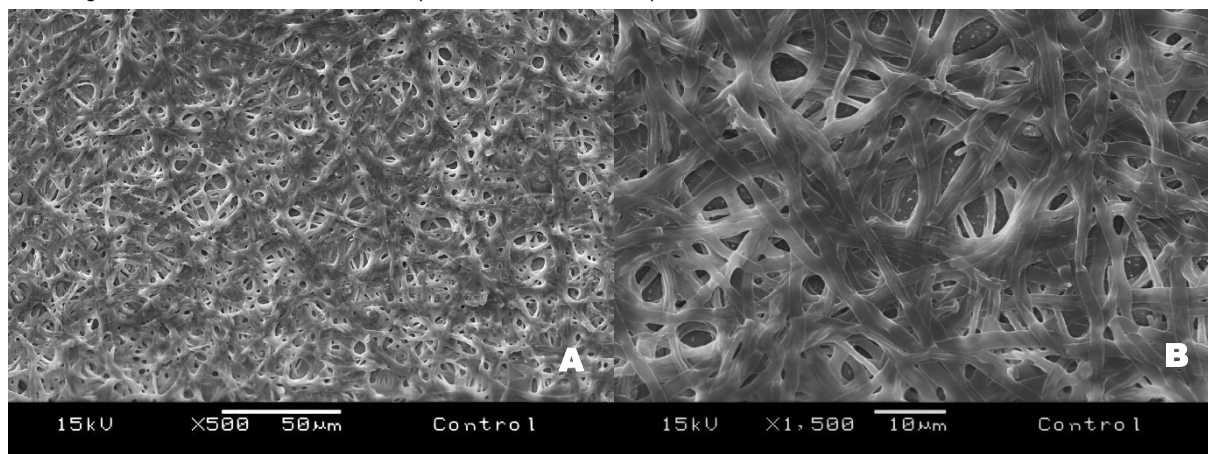
Figura 6. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 2 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*.



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 2 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 2 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando o efeito do óleo essencial de *C. martinii* na estrutura tridimensional das hifas e leveduras.

A análise morfológica do biofilme de 24 horas de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) sem tratamento (Figura 7) por MEV revela uma organização estrutural altamente complexa. Observa-se uma densa rede tridimensional de hifas interligadas, caracterizadas por um aspecto rugoso e heterogêneo, indicando intensa proliferação e maturação do biofilme. As regiões mais escuras na imagem sugerem um acúmulo significativo de camadas sobrepostas de hifas, formando uma estrutura espessa e multifacetada.

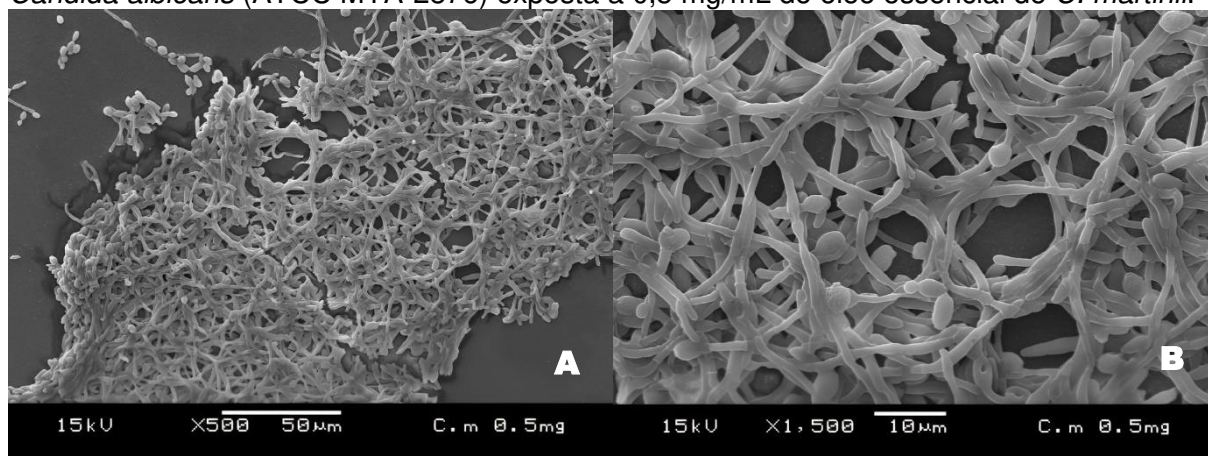
Figura 7. Microscopia Eletrônica de Varredura de controle do biofilme com 24 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876).



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 24 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) sem tratamento observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do controle do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando a estrutura tridimensional das hifas.

As células de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) tratado com 0,5 mg/mL de óleo essencial de *C. martinii*. (Figura 8), obtida por MEV, revelou uma estrutura parcialmente desorganizada e menos densa em comparação ao controle. Observou-se que a descontinuidade da rede de hifas. As hifas ainda são predominantes e interconectadas, porém há disposição mais aberta, permitindo a visualização de espaços vazios entre as camadas. Além disso, é possível notar a presença de células leveduriformes dispersas na região periférica da estrutura.

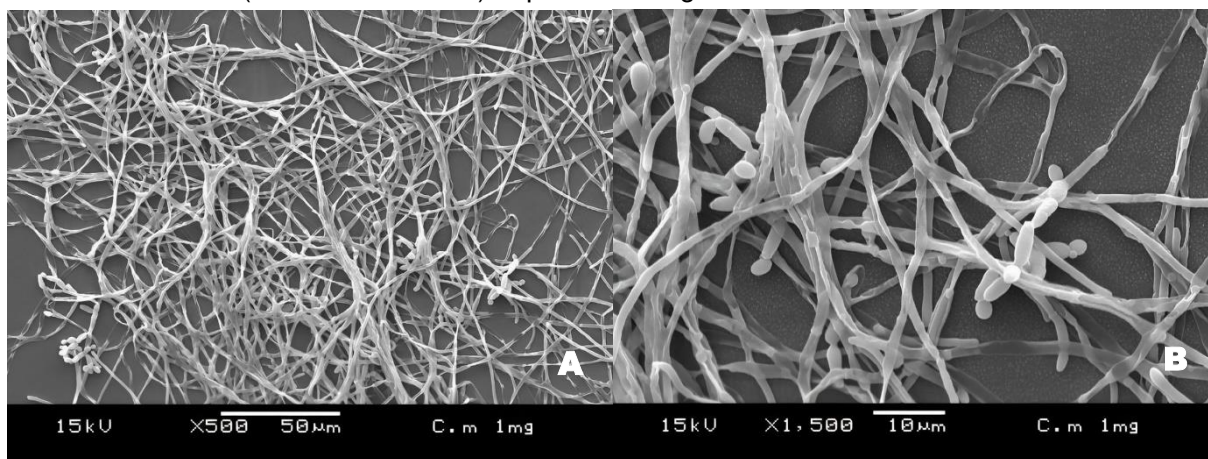
Figura 8. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 0,5 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*.



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 24 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 0,5 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando o efeito do óleo essencial de *C. martinii* na estrutura tridimensional das hifas e leveduras.

As imagens de MEV das células de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) tratado com 1 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* (Figura 9), revelaram uma estrutura significativamente menos densa e desorganizada em comparação ao controle. Observa-se uma rede filamentosa mais esparsa, com hifas alongadas e finas, formando uma estrutura menos compacta. Nota-se que a estrutura do biofilme apresenta áreas vazias e a presença de células em levedura dispersas.

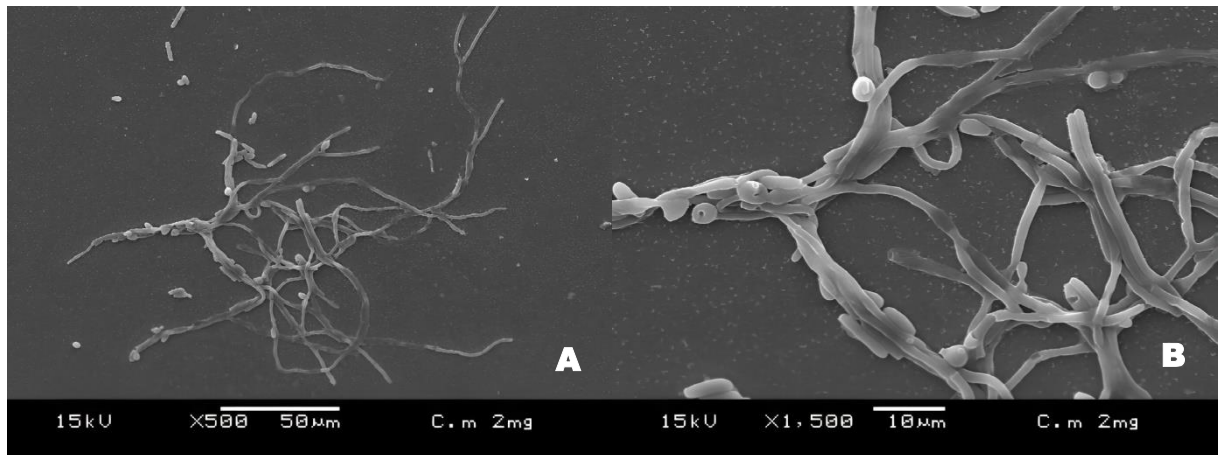
Figura 9. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*.



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 24 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 1 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando o efeito do óleo essencial de *C. martinii* na estrutura tridimensional das hifas e leveduras.

O biofilme de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) tratado com 2 mg/mL de óleo essencial de *C. martinii* (Figura 10) apresentou uma desestruturação significativa, evidenciando uma drástica redução na densidade da rede filamentosa de hifas. Observou-se a presença de poucas hifas dispersas e desorganizadas, com perda da estrutura tridimensional, as hifas remanescentes exibiram um aspecto fino e alongado, algumas hifas e blastoconídios apresentam morfologia alterada, com segmentos abaulados e côncavos, outro aspecto relevante é a transparência observada em algumas estruturas.

Figura 10. Microscopia Eletrônica de Varredura do biofilme com 2 horas de formação de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 2 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii*.



Fotografia de MEV: A: Biofilme com 24 horas de formação de *C. albicans* (ATCC MYA-2876) exposta a 2 mg/mL do óleo essencial de *C. martinii* observada no aumento de 500x. B: Detalhamento do biofilme de *C. albicans* no aumento de 1500x, evidenciando o efeito do óleo essencial de *C. martinii* na estrutura tridimensional das hifas e leveduras.

6. DISCUSSÃO

A análise cromatográfica do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* revelou a presença de alguns compostos como: o Óxido de Linalol, Óxido de Cariofileno e Trans-Cariofileno, e o Acetato de Geranila e Geraniol, sendo este último, o composto de maior abundância neste óleo essencial. O Óxido de Linalol, formado a partir do Linalol por oxidação natural ou processos sintéticos, possui propriedades antibacterianas e antifúngicas (Dias *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2021). O Óxido de Cariofileno e o Trans-Cariofileno, dois compostos derivados do Cariofileno, são conhecidos por possuir atividade inibitória moderada contra bactérias Gram-negativas e *Candida albicans* (Schmidt *et al.*, 2010; Áćimović *et al.*, 2020; Bezerra *et al.*, 2023). O Acetato de Geranila, um éster derivado do Geraniol, também contribui para as características antibacterianas e antifúngicas do óleo (Celuppi *et al.*, 2022; Manjunath *et al.*, 2023). O composto encontrado com maior porcentagem relativa foi o Geraniol (68,925%), o qual é reconhecido por possuir características biológicas, como atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos, apresentando-se como um antimicrobiano de maior eficiência quando em sinergismo com antibióticos padrão (Bhattamisra *et al.*, 2018; Qi *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2022). É frequentemente utilizado em cosméticos, produtos domésticos e farmacêuticos, devido à sua baixa toxicidade e perfil ecologicamente correto (Chen & Viljoen, 2022).

A literatura reporta uma ampla variação nos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* contra *Candida albicans*. Estudos prévios indicam valores que variam de 0,256 mg/mL a 1,024 mg/mL, podendo ultrapassar 2 mg/mL. Essa variação pode ser atribuída a diferenças nas metodologias empregadas, na procedência do óleo essencial ou nas características intrínsecas das cepas testadas (Duarte *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2012; Almeida *et al.*, 2012).

O geraniol demonstrou atividade antifúngica significativa contra diferentes espécies do gênero *Candida*, com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variando entre 0,11 e 0,883 mg/mL (Silva *et al.*, 2024). Para *Candida albicans*, foram reportadas CIMs entre 0,0225 e 0,250 mg/mL, enquanto para espécies de *Candida* não-*albicans*, os valores observados foram de 0,300 mg/mL (Singh *et al.*, 2016; Kaypetch *et al.*, 2022). Além disso, os valores de CIM e Concentração Fungicida Mínima (CFM) encontrados neste estudo foram semelhantes aos previamente relatados. A razão CIM/CFM reforça a natureza fungicida do geraniol, característica

também observada no óleo essencial de *Cymbopogon martinii*, cujo principal constituinte é esse monoterpeno (Singh *et al.*, 2016).

Angiolella (2020) relatou que, na concentração de 195 µg/mL (0,195 mg/mL), o óleo essencial de *C. martinii* inibiu completamente a formação de tubos germinativos de *C. albicans*. Além disso, outros estudos demonstraram sua eficácia na inibição total do crescimento micelial e da germinação de fungos filamentosos após 4 horas de exposição a 0,25 mg/mL. Esses achados corroboram com os resultados do presente estudo, no qual a exposição de *C. albicans* a 0,5 mg/mL do óleo essencial resultou em uma inibição quase completa da formação de tubos germinativos dentro de 4 horas, bem como em concentrações mais elevadas de 1 e 2 mg/mL promoveram inibição total dessas estruturas em 3 e 4 horas, respectivamente (Xavier *et al.*, 2020; Filho *et al.*, 2021). Foi observado que o Geraniol inibiu eficientemente a transição de blastoconídios em hifas, sendo considerado um potente inibidor da formação de tubos germinativos de *C. albicans* (Singh *et al.*, 2016). A inibição dessa atividade pelo óleo essencial de Palmarosa ressaltou a possibilidade de que a formação de biofilmes também poderia ser afetada na sua presença.

Sendo assim, a formação de biofilmes foi testada e percebeu-se a redução da biomassa dos biofilmes de *Candida albicans* observada neste estudo. Agarwal *et al.* (2008) relataram uma diminuição de 40,46% na biomassa de biofilmes de *C. albicans* com a aplicação de óleo essencial de palmarosa em uma concentração de 16,8 mg/mL. Adicionalmente, Millezi *et al.* (2019) identificaram uma redução na biomassa de biofilmes bacterianos. Lara (2023) também evidenciou a redução de biofilmes em concentrações de 5, 10 e 20 mg/mL de óleo essencial.

Estudos com o óleo essencial de *C. martinii* demonstram diminuição de 40,46% na biomassa de biofilmes de *C. albicans* a uma concentração de 16,8 mg/mL, bem como estudos demonstram a redução na biomassa de biofilmes bacterianos (Agarwal *et al.* 2008; Millezi *et al.*, 2019; Lara, 2023).

O geraniol demonstrou eficácia na redução da formação de biofilmes após 2 horas de exposição, na concentração de 1200 µg/mL (1,2 mg/mL) (Silva Pontes *et al.*, 2023). O tratamento com geraniol resultou em uma redução significativa da adesão e da formação de biofilmes, com inibição superior a 50%, destacando seu potencial como inibidor de fatores de virulência. Se mostrou eficaz na inibição da transição de levedura para hifa, além de atuar como um potente inibidor

nos estágios iniciais da formação de biofilmes e na adesão celular de *Candida albicans* (Singh *et al.*, 2016).

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciaram a morfologia clássica das leveduras no grupo controle, com aglomerados de células bem preservadas, apresentando múltiplas camadas de hifas e paredes celulares intactas, lisas e homogêneas. Em contraste, as células do biofilme de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) exibiram morfologia irregular, com redução acentuada de hifas e blastoconídeos, além de superfícies rugosas, côncavas e deformadas. Essas alterações indicam um colapso visível da parede celular após o tratamento com óleo essencial de *Cymbopogon martinii*, efeito que se intensificou com o aumento da concentração. Observou-se uma desintegração significativa do biofilme, células encolhidas e ausência da camada de hifas, sugerindo a interrupção da transição de levedura para hifa nas maiores concentrações testadas. Resultados semelhantes foram relatados por Silva Pontes *et al.* (2023), que descreveram diminuição das hifas, superfícies alteradas, encolhimento celular e discreta desintegração do biofilme em células tratadas com geraniol a 300 µg/mL (0,3 mg/mL), achados que corroboram com os dados do presente estudo.

Kaypetch *et al.* (2022) descreve que observou nas imagens por MEV, o tratamento com geraniol, o mesmo revelou alterações morfológicas nas células, que se apresentaram com formatos e superfícies irregulares e deformadas, o geraniol tem diversos efeitos nas células *Candida*, incluindo danos à parede celular, disfunção mitocondrial e perturbação da homeostase, descritas como indução do tratamento com geraniol a lise celular em *Candida* spp. pelo autor, características morfológicas também observadas neste estudo.

O tratamento com *C. martinii* aparentemente causou distúrbios osmóticos observados pelo murchamento celular, rugosidade, translucidez e rupturas na parede celular, bem como danos a membrana e parede celular, porém estudos adicionais devem ser realizados para comprovação. Tais efeitos são relatados, em outros estudos, como danos relacionados ao estresse e lise celular (Khan *et al.*, 2017; Fiołka *et al.*, 2020; Maia, 2020).

O óleo essencial de *Cymbopogon martinii* revelou a presença de compostos fitoquímicos bioativos, como o Geraniol, composto majoritário deste óleo. Os compostos presentes se destacam por apresentarem efeitos biológicos, os quais foram observados no presente estudo. A transição da forma de levedura para a forma

hifal é considerada uma propriedade de virulência essencial de *Candida* spp., pois contribui para a fixação e invasão dos tecidos do hospedeiro, sendo um fator determinante na formação de biofilmes. No presente estudo, a análise dos biofilmes de *C. albicans* indicou que o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* inibiu essa transição, além de atuar como um inibidor da formação de hifas nos biofilmes. Esses achados estão de acordo com o presente estudo e estudos anteriores, que demonstraram a capacidade do geraniol de prevenir a formação de hifas e biofilmes de *C. albicans* (Leite *et al.*, 2015; Kaypetch *et al.*, 2022). A sobrevivência e reprodução de *C. albicans* dependem da integridade de sua membrana e parede celular. Danos a essas estruturas essenciais provocam distúrbios osmóticos, resultando na ruptura da membrana e na liberação do conteúdo intracelular, comprometendo a viabilidade do microrganismo e levando à sua morte (Fiołka *et al.*, 2020).

Esses resultados destacam o óleo essencial de Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) como uma alternativa promissora para a prevenção e tratamento de biofilmes microbianos, com destaque para *Candida albicans* e seus fatores de virulência, oferecendo uma solução eficaz especialmente em contextos onde os tratamentos convencionais apresentam eficácia limitada. Esse potencial abre caminho para o desenvolvimento de novas estratégias no tratamento das candidíases.

7. CONCLUSÃO

As análises realizadas no presente estudos revelaram que o óleo essencial de *Cymbopogon martinii* possui:

Compostos químicos bioativos observados através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EMS), sendo o Geraniol o principal entre eles.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi de 1 mg/mL para todas as cepas de *Candida* spp. testadas.

A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi de 1 mg/mL para todas as cepas de *Candida* spp. testadas.

Tolerância antifúngica demonstrada através da razão CFM/CIM.

Atividade inibitória de tubos germinativos de *C. albicans* (ATCC MYA-2876).

Demonstrou impacto redutivo na biomassa dos biofilmes de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) em períodos de 2 e 24 horas, indicando sua eficácia na inibição e no controle da formação da levedura em diferentes estágios de formação do biofilme.

A cepa de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876) apresentou alterações morfológicas e estruturais significativas, indicativas de um impacto direto sobre sua integridade celular.

O óleo essencial de *Cymbopogon martinii* demonstrou atividade antifúngica contra *Candida* spp., além de efeito inibitório sobre a formação de tubos germinativos e biofilmes de *Candida albicans* (ATCC MYA-2876), conforme evidenciado nos ensaios realizados. Futuros estudos devem ser conduzidos para avaliar a citotoxicidade e elucidar seu mecanismo de ação, ampliando o conhecimento sobre os efeitos desse óleo essencial.

8. REFERÊNCIAS*

- Aćimović M, Zorić M, Zheljaskov VD, Pezo L, Čabarkapa I, Stanković JJ, Cvetković M. Chemical characterization and antibacterial activity of essential oil of medicinal plants from Eastern Serbia. *Molecules*. 2020; 25(22): 5482.
- Agarwal V, Lal P, Pruthi V. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia*. 2007; 165(1), 13–19.
- Akhila A (Org.). Essential oil-bearing grasses: the genus *Cymbopogon*. Medicinal and aromatic plants—industrial profiles, v. 46. Boca Raton: CRC Press, 2010. ISBN 978-0-8493-7857-7. Disponível em: https://www.academia.edu/62833006/The_genus_Cymbopogon_Botany_including_anatomy_physiology_biochemistry_and_molecular_biology. Acesso em: 8 jun. 2024.
- Albuquerque OC, Silva AV, Fuentes GM, Tapia CC, Silva VV. Susceptibilidad *in vitro* a anidulafungina en 100 cepas de especies de *Candida* aisladas previo a la introducción de esta equinocandina en Chile. *Rev. chil. infectol*. 2011; 28(5): 399-403.
- Almeida JRGS, Souza GR. Óleos essenciais e seus constituintes: uma fonte alternativa para novos medicamentos antifúngicos. *Tóp. Atuais em Quím. Medicinal*. 2016; 16(13): 1541-1558.
- Angiolella L. Synergistic activity of *Pelargonium capitatum* and *Cymbopogon martinii* essential oils against *C. albicans*. *Nat Prod Res*. 2021; 35(24):5997-6001.
- ATCC. *Candida albicans* ATCC® MYA-2876™. Disponível em: <https://www.atcc.org/products/mya-2876>. Acesso em: 7 dez. 2024.
- Avoseh O, Oyedeji O, Rungqu P, Nkeh-Chungag B, Oyedeji A. *Cymbopogon* species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. *Molecules*. 2015; 20(5):7438-7453.

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem Toxicol*. 2008; 46(2): 446-75.

Barbedo LS, Sgarbi DBG. Candidíase. *DST – J. Bras. Doenças Sex. Transm*. 2010; 22(1): 22-38.

Barbosa JP, Oliveira TR, Puppim DGPB, Teixeira AL, Boni GC, Feiria SNB *et al*. Anti-*Candida* activity of essential oils from *Eucalyptus* species. A preliminary study. *Adv Dent & Oral Health*. 2018; 8(2): 555740.

Barbosa JP. Atividade anti-*Candida* de óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus* [dissertação]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2018.

Bath V, Sharma SM, Shetty V, Shastry CS, Rao V, Shenoy MS, Saha S, Balaji S. Screening of selected plant essential oils for their antifungal activity against *Candida* species isolated from denture stomatitis patients. *Nitte Univ.J. Health Sci*. 2014; 4(1): 46-51.

Bergold AM, Georgiadis S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. *Visão Acad*. 2004; 5(2): 159-172.

Bernardo WLC, Boriollo MFG, Tonon CC, da Silva JJ, Oliveira MC, de Moraes FC, Spolidorio DMP.. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Syzygium cumini* leaves and their potential effects on odontogenic pathogens and biofilms. *Fron. Microbiol*. 2022; 13, 995521.

Bezerra CF, Júnior JGA, Honorato RL, Santos ATL, Silva JCP, Silva TG, *et al*. Antifungal effect of the liposome encapsulation of the Trans-Caryophyllene and its association with fluconazole. *Chem. Biol. Interact*. 2023; 1; 373:110377.

Bhattamisra SK, Kuean CH, Chieh LB, Yan VLY, Lee CK, Hooi LP, *et al*. Antibacterial activity of geraniol in combination with standard antibiotics against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. *Nat. Prod. Commun*. 2018; 13(7).

Bona EAM, Pinto FGS, Fruet TK, Jorge TCM, Moura AC. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração

inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. Arq. Inst. Biol. 2014; 81(3): 218-225.

Brasil. A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da Central de Medicamentos. Ministério da Saúde, Brasília, 2006; 148p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. Dispõe sobre as boas práticas para o funcionamento de serviços de alimentação. 2007. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0014_28_02_2007.html. Acesso em: 18 nov. 2024.

Brasil. Ministério da Saúde. Situação epidemiológica da candidíase sistêmica. [s.d]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/candidiase-sistematica/situacao-epidemiologica>. Acesso em: 7 jan. 2023.

Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends Microbiol.; 2001; 9, 327-335.

Carrubba A, Catalano C. Essential Oil Crops for Sustainable Agriculture – A Review. In: Lichtfouse, E. (eds) Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms. Sustain. Agric. Rev. 2009; 2.

Carvalho Bernardo WL, Boriollo MFG, Tonon CC, da Silva JJ, Cruz FM, Martins AL, Höfling JF, Spolidorio DMP. Antimicrobial effects of silver nanoparticles and extracts of *Syzygium cumini* flowers and seeds: Periodontal, cariogenic and opportunistic pathogens. Arch. of Oral Biol. 2021; 125, 105101.

Celuppi LCM, Capelezzo AP; Cima LB, Zeferino RCF, Zanetti M, Riela HG, Fiori MA. Filmes antimicrobianos de acetato de celulose por incorporação de acetato de geranila para aplicação em embalagens ativas de alimentos. Pesq. Soc. Desenv. 2022; 1: e40111125141.

Chen W, Viljoen AM. Genaniol - A review update. S. Afr J. Bot. 2022; 150: 1205-1219.

Chow EWL, Pang LM, Wang Y. From Jekyll to Hyde: The Yeast-Hyphal Transition of *Candida albicans*. *Pathogens*. 2021; 7;10(7):859.

CLSI. Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade de leveduras a terapia antifúngica. 2. ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. CLSI Norma M27-A3: 2008; 28(14).

Costa KRA, Santiago SB. Mecanismos de resistência da *Candida albicans*. 4º Seminário Pesquisar. Faculdade Alfredo Nasser. Goiânia. 2016.

Cowen LE, Sanglard D, Howard SJ, Rogers PD, Perlin DS, Mechanisms of antifungal drug resistance. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.* 2015; 5 (7): a19752.

Dangol S, Poudel DK, Ojha PK, Maharjan S, Poudel A, Satyal R, *et al.* Essential oil composition analysis of *Cymbopogon* species from eastern nepal by GC-MS and chiral GC-MS, and antimicrobial activity of some major compounds. *Molecules*. 2023; 5; 28(2): 543.

D'ávila GDP, Rosa CA. Atividade antifúngica de óleos essenciais e seus compostos contra *Candida* spp. *Ver. Bras. Microbiol.* 2019; 50(4), 1145-1155.

Desai JV. *Candida albicans* Hyphae: From Growth Initiation to Invasion. *J. Fungi Basel*. 2018; 4(1):10.

Dias IJ, Trajano ERIS, Castro RD, Ferreira GLS, Medeiros HCM, Gomes DQC. Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. *Braz. J. Biol.* 2018; 78(2):368-374.

Djordjevic D, Wiedmann M, McLandsborough LA. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(6): 2950-8.

Duarte MCT. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *Rev. Multiciência*. 2005; 7(10): 1-17.

Dubey VS, Luthra R. Biotransformation of geranyl acetate to geraniol during palmarosa (*Cymbopogon martinii*, Roxb. wats. var. motia) inflorescence development, *Phytochemistry*. 2001; 57, 5; 675-680.

El-Baz AM, Mosbah RA, Goda RM, Mansour B, Sultana T, Dahms TES *et al.* Back to Nature: Combating *Candida albicans* biofilm, phospholipase and hemolysin using plant essential oils. *Antibiotics* (Basel). 2021;10(1):81.

Esmaeili S, Esmaeili S, Zabeti A. Oral Microbiome and Multiple Sclerosis? A Novel Concept! *Eur. J. Dent. Oral Health*. 2023; 4(6):19-20.

Ferrão SK, Butzge J, Mezzomo L, Calil LN, Apel M, Mezzari A, Limberger RP. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Candida* spp. / Antifungal activity of essential oils against *Candida* spp. *Braz. J. Health Rev*. 2020; 3(1). 100–113.

Filho JGO, Silva GC, Azeredo HMC, Ferreira MD. Antifungal activity of essential oils and their combinations against postharvest fruit pathogen. *Acta Hortic. ISHS*: 2021: 183-189.

Fiołka MJ, Mieszawska S, Czaplewska P, Szymanska A, Stepnik K, Sofinska-Chmiel W, *et al.* *Candida albicans* cell wall as a target of action for the protein–carbohydrate fraction from coelomic fluid of *Dendrobaena veneta*. *Sci Rep*. 2020;10, 16352.

França IS, Souza JA, Baptista RS, Britto VRS. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. *Rev. Bras. Enferm*. 2008; 61(2): 201-208.

Furletti VF, Teixeira IP, Obando-Pereda G, Mardegan RC, Sartoratto A, Figueira GM, Duarte RM, Rehder VL, Duarte MC, Höfling JF. Action of *Coriandrum sativum* L. Essential oil upon oral *Candida albicans* biofilm formation. *Evid. Based Complement. Alternat. Med*. 2011; 2011:985832.

Ganan M, Lorentzen SB, Agger JW, Heyward CA, Bakke O, Knutsen SH, *et al.* Antifungal activity of well-defined chito-oligosaccharide preparations against medically relevant yeasts. *PLoS One* 2019; 8: 1-14.

GBIF. Global Biodiversity Information Facility. *Cymbopogon martinii*. Disponível em: <https://www.gbif.org/species/165651708>. Acesso em: 25 fev. 2023.

Glazier VE, Kramara J, Ollinger T, Solis NV, Zarnowski R, Wakade RS, *et al.* The *Candida albicans* reference strain SC5314 contains a rare, dominant allele of the

transcription factor Rob1 that modulates biofilm formation and oral commensalism. *bioRxiv*. 2023; 17:2023.06.17.545405.

Gow NAR, Lenardon MD. Architecture of the dynamic fungal cell wall. *Nat Rev Microbiol*. 2023; 21(4):248-259.

Gucwa K, Milewski S, Dymerski T, Szweda P. Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils. *Molecules*. 2018; 8;23(5): 1116.

Gullo FP, Sardi JCO, Santos VAFFM, Sangalli-Leite F, Pitangui NS, Rossi SA, de Paula e Silva ACA, *et al*. Antifungal activity of Maytenin and Pristimerin. [s.l]. 2012. 340787.

Guo F, Chen Q, Liang Q, Zhang M, Chen W, Chen H, Yun Y, Zhong Q, Chen W. Antimicrobial activity and proposed action mechanism of linalool against *Pseudomonas fluorescens*. *Front. Microbiol*. 2021; 28;12: 562094.

Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med*. 2006; 27(1): 1-93.

Hammer KA, Carson CF. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. *Med. Mycol*. 2000; 38: 355–362.

Honorato L, Araujo JFD, Ellis CC, Piffer AC, Pereira Y, Frases S, *et al*. Extracellular vesicles regulate biofilm formation and yeast-to-hypha differentiation in *Candida albicans*. *mBio*. 2022; 28;13(3):e0030122.

Hou GW, Huang T. Essential oils as promising treatments for treating *Candida albicans* infections: research progress, mechanisms, and clinical applications. *Front. Pharmacol*. 2024; 15:1400105.

Huang T, Zhang ZY, Qiu ZL, Li L, Liu XX, Wang L, *et al*. Effect of *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson essential oil on antioxidant activity, immune and intestinal barrier-related function, and gut microbiota in pigeons infected by *Candida albicans*. *Front Pharmacol*. 2024; 2; 15:1380277.

Isman, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 2000; 19: 603-608.

Jones T, *et al.* The diploid genome sequence of *Candida albicans*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004; USA 101: 7329-7334.

Kalua CM, Bedane B. O potencial dos óleos essenciais e seus principais constituintes como agentes antifúngicos: uma revisão. *Micoses*. 2020; 63(7): 669-690.

Kaypetch R, Rudrakanjana P, Churnjitapirom P, Tua-Ngam P, Tonput P, Tantivitayakul P. Geraniol and thymoquinone inhibit *Candida* spp. biofilm formation on acrylic denture resin without affecting surface roughness or color. *J. Oral Sci.* 2022;1;64(2):161-166.

Khan MSA, Ahmad I, Cameotra, SS. Compostos fenólicos naturais como inibidores de biofilme. *Biotec. Farmacêutica Atual*. 2013; 14(3): 272-279.

Khan MSA, Malik A, Ahmad I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*, *Med. Mycol.* 2012; 50(1): 33–42.

Khan SN, Khan S, Iqbal J, Khan R, Khan AU. Enhanced killing and antibiofilm activity of encapsulated Cinnamaldehyde against *Candida albicans*. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 1-15.

Kim C-M, Ko YJ, Lee S-B, Jang SJ. Adjuvant antimicrobial activity and resensitization efficacy of geraniol in combination with antibiotics on *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *PLoS ONE*. 2022; 17(7): e0271516.

Kumar S, Kumar A, Roudbary M, Mohammadi R, Černáková L, Rodrigues CF. Overview on the infections related to rare *Candida* species. *Pathogens*. 2022; 11, 963.

Lara AL. Avaliação da atividade antimicrobiana, antibiofilme e citotoxicidade do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* frente a *Staphylococcus aureus* [dissertação]. Brasil: Universidade Federal de Santa Maria, 2023.

Lass-Flörl C, Kanj SS, Govender NP, Thompson GR 3rd, Ostrosky-Zeichner L, Govrins MA. Invasive candidiasis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2024; 21;10(1):20.

Leite MC, de Brito Bezerra AP, de Sousa JP, de Oliveira Lima E. Investigating the antifungal activity and mechanism(s) of geraniol against *Candida albicans* strains. *Med. Mycol*. 2015; 53, 275-284.

Leite MCA, Brito Bezerra AP, Sousa JP, Oliveira Lima E. Investigating the antifungal activity and mechanism(s) of geraniol against *Candida albicans* strains. *Med. Mycol*. 2014; 53(3), 275–284.

Leite-Jr DP, Vivi-Oliveira VK, Maia MLS, Macioni MB, Oliboni GM, Oliveira ID, *et al*. The *Candida* genus complex: Biology, evolution, pathogenicity virulence and one health aspects, beyond the *Candida albicans* paradigm. a comprehensive review. *Virol. Immunol. J*. 2023; 7(2): 000331.

Lin L, Long N, Qiu M, Liu Y, Sun F, Dai M. The inhibitory efficiencies of geraniol as an anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial, natural agent against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection *in vivo*. *Infect. Drug Resist*. 2021; 5;14: 2991-3000.

Liu X, Ma Z, Zhang J, Yang L. Antifungal compounds against *Candida* infections from traditional chinese medicine. *J. BioMed. Res. Int*. 2017; 2017: 12.

Llana-Ruiz-Cabello M, Pichardo S, Maisanaba S, Puerto M, Prieto AI. Gutiérrez-Praena D, *et al*. *In vitro* toxicological evaluation of essential oils and their main compounds used in active food packaging: A review. *Food Chem.Toxicol*. 2015; 81: 9-27.

Mabberley DJ. Mabberley's Plant-Book. In: Mabberley's Plant-Book: A portable dictionary of plants, their classification and uses. Cambridge University Press; 2017:i-i.

Mahmoud N, Abdou MAH, Salaheldin S, Soliman WS. Lemongrass growth, essential oil and active substances as affected by water deficit. *Horticulturae*. 2022; 8: 250.

Maia FC, Wijesinghe GK, Barbosa JP, Feiria SNB d, Oliveira TR, Boni GC *et al.* Anticandidal activity of hydroalcoholic extract of *Phyllanthus niruri* L. (Stone-Breaker). Braz. Arch. Biol. Tech. 2022; 65:1-12.

Maia FC, Wijesinghe GK, Oliveira TR, Barbosa JP, Feiria SB, Boni GC *et al.* *Phyllanthus niruri* L. (stone-breaker) as an alternative of anti-human diseases, antimicrobial agent, and its applicability to combat resistant microorganisms. A Brief Review. Braz. J. Nat. Sci. 2020; 3(2):342.

Maia FC. Efeito do extrato hidroalcoólico de *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra) sobre células planctônicas e em biofilme de *Candida albicans* [dissertação]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2020.

Manjunath A, Chinmayi GVA, Renganathan S, Chandramohan V, Sabat S. Antimicrobial activity of Geranyl acetate against cell wall synthesis proteins of *P. aeruginosa* and *S. aureus* using molecular docking and simulation. J. Biomol. Struct. Dyn. 2023; 18:1-21.

Mendoza-Reyes DF, Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM. *Candida lusitanae*: Biology, pathogenicity, virulence factors, diagnosis, and treatment. Infect. Drug Resist. 2022; 31(15): 5121-5135.

Millezi, AF, Schuh V, Schuh J, Amaral TPA. Anti-biofilm property of essential oils from *Cymbopogon* sp. against pathogenic bacteria in single-culture and co-culture. Ciência e Natureza., 2020; 42, e1, 1-17.

Mokobi F. Scanning electron microscope (SEM): Principle, parts, uses. Editado por Sagar Aryal. 5 maio 2024. Disponível em: <https://microbenotes.com/scanning-electron-microscope-sem/>. Acesso em: 8 set. 2024.

Oliveira TR. Avaliação da toxicidade “*in vivo*”, atividade antifúngica e efeito anti-proliferativo do óleo essencial de *Melaleuca* spp. (Tea tree, Cajuput e Naiuli) sobre espécies do gênero *Candida* [tese]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2018.

Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L. Diretriz de prática clínica para o manejo da candidíase: atualização de 2016 pela

Infectious Diseases Society of America. Doenças Infecciosas Clínicas. 2016; 62(4):1-50.

Parambath S, Dao A, Kim HY, Zawahir S, Izquierdo AA, Tacconelli E, Govender N, *et al.* *Candida albicans* - A systematic review to inform the World Health Organization Fungal Priority Pathogens List. Med Mycol. 2024; 27-62(6): myae045.

Peixoto JV, Rocha MG, Nascimento RTL, Moreira VV, Kashiwabara TGB. Candidíase- Uma Revisão de Literatura. Braz. J. Surg. Clin. Res. 2014; 8(2): 75-82.

Pellon A, Begum N, Sadeghi Nasab SD, Harzandi A, Shoaie S, Moyes DL. Role of Cellular Metabolism during *Candida*-Host Interactions. Pathogens. 2022; 11(2):184.

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. Nat. Protoc. 2008; 3 (9): 1494-500.

Qi F, Yan Q, Zheng Z, Liu J, Chen Y, Zhang G. Geraniol and geranyl acetate induce potent anticancer effects in colon cancer Colo-205 cells by inducing apoptosis, DNA damage and cell cycle arrest. J. BUON. 2018; 23(2):346-352.

Richardson JP. *Candida albicans*: A Major Fungal Pathogen of Humans. Pathogens. 2022; 11;11(4):459.

Ruiz-Duran J, Torres R, Stashenko EE, Ortiz C. Antifungal and antibiofilm activity of colombian essential oils against diferente *Candida* strains. Antibiotics (Basel). 2023; 12(4): 668.

Santamarta S, Aldavero AC, Rojo MÁ. Propriedades antibacterianas do óleo essencial de *Cymbopogon martinii* contra *Bacillus subtilis* patógeno da indústria alimentícia. Processos. 2020; 66(1):1.

Santos, AA, Oliveira-Filho, AA., Teixeira BA., Borchardt H, Galvão JLFM, Medeiros M. AA, *et al.* *Lavandula dentata* L. essential oil: a promising antifungal and antibiofilm agent against oral *Candida albicans*. Braz. J. Biol. 2024; 84: 1-15.

Santurio MJ, Santurio DF, Pozzati P, Moraes C, Franchin PR, Alves SH *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* de origem avícola. Ciência Rural. 2007; 37(3): 803-808.

Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. Espécies de *Candida*: epidemiologia atual, patogenicidade, formação de biofilme, produtos antifúngicos naturais e novas opções terapêuticas. J. Microbiol. Méd. 2013; 62(1): 10-24.

Schmidt E, Bail S, Friedl SM, Jirovetz L, Buchbauer G, Wanner J, Denkova Z, Slavchev A, Stoyanova A, Geissler M. Antimicrobial activities of single aroma compounds. Nat. Prod. Commun. 2010; 5(9): 1365-8.

Sen S, Israr M, Singh S, Singh MK, Verma RS, Bawankule DU. Pharmaceutical, cosmeceutical, food additive and agricultural perspectives of *Cymbopogon martinii*: A potential industrial aromatic crop. S. Afr. J. Bot. 2023; 158: 277-291.

Sharma R, Kaushik R. Atividade antifúngica de óleos essenciais contra espécies de *Candida*: uma revisão. J. Pesq. Óleos Essenciais. 2018; 30(5):323-337.

Silva DR. Potencial antifúngico e antibiofilme contra espécies de *Candida* e toxicidade da *Anadenanthera colubrina* vell. Brenan [dissertação]. Brasil: Universidade Estadual da Paraíba; 2017.

Silva LJ, Rodrigues DS, de Farias Cabral VP, da Silva CR, Sá LGDAV, de Andrade-Neto JB, *et al.* Unveiling novel insights: geraniol's enhanced anti- *Candida* efficacy and mechanistic innovations against multidrug-resistant *Candida* strains. Braz. J. Microbiol. 2024; 55(4):3721-3731.

Silva Pontes C, Garcia de Carvalho G, Rosa Perin Leite A, Chorilli M, Palomari Spolidorio DM. Improving drug delivery on *Candida albicans* using geraniol nanoemulsion. Pharmaceutics. 2023; 15(10):2475.

Silva RS, Oliveira KMS, Cavalcante GM. Atividade antifúngica de *Sideroxylon obtusifolium* frente a diferentes espécies de *Candida* sp. Estação Científica (UNIFAP) 2017; 7(1): 95-102.

Silva VS, Oliveira PLL, Alves LGS, Silva FA, Bonato J MVS, Falcai Â, *et al.* Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Essencial de *Cymbopogon martinii*. Rev. Foco. 2023a; 16(11): e3639.

Silva, KCFD. Avaliação do uso de plantas medicinais com atividade antimicrobiana como conservantes em formulações farmacêuticas [trabalho de conclusão de curso]. Brasil: Instituto de Tecnologia de Fármacos - Farmanguinhos/ Fiocruz; 2011.

Simões CD, Maukonen J, Kaprio J, Rissanen A, Pietiläinen KH, Saarela M. Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. J. Nut. 2013; 143(4), 417–423.

Singh S, Fatima, Z, Hameed S. Insights into the mode of action of anticandidal herbal monoterpenoid geraniol reveal disruption of multiple MDR mechanisms and virulence attributes in *Candida albicans*. Arch. Microb. 2016; 198(5), 459–472.

Sobreira A, Silva M, Okamura L, Souza J, Carmo E. Atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra isolados patogênicos de *Candida* spp. Ver. Verde de Agroecol. Desenvol. Sustent. 2020; 15: 429-433.

Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, Škrlec I. *Candida albicans* - The virulence factors and clinical manifestations of infection. J. Fungi (Basel). 2021; 22;7(2):79.

Tibenda JJ, Yi Q, Wang X, Zhao Q. Review of phytomedicine, phytochemistry, ethnopharmacology, toxicology, and pharmacological activities of *Cymbopogon* genus. Front. Pharmacol. 2022; 29: 13:997918.

Verdi R, Bertoldi FC, Zamboni FM. Características produtivas e químicas de duas espécies de plantas bioativas: *Cymbopogon martinii* e *Ocimum gratissimum*, com óleo essencial rico em geraniol. Rev. Bras. Plant. Med. 2019; 21:32-37.

Wijesinghe GK, Maia FC, de Oliveira TR, de Feiria SNB, Joia F, Barbosa JP, Boni GC, Sardi JCO, Rosalen PL, Höfling 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. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2020; 25;115:e200349.

Xavier ALD, França KRS, Cardoso TAL. Efeito do óleo essencial de palmarosa (*Cymbopogon martinii*) sobre fungos fitopatogênicos em sementes de soja. Res., Soc. Dev. 2020: 9, 10, e4529108660.

Yadav R, Singh DP. Uma revisão dos óleos essenciais: um novo horizonte no combate à resistência microbiana. Open Access Maced. J. Med. Sci. 2020; 8(1): 283-287.

Zahra AA, Hartati R, Fidrianny I. Review of the Chemical Properties, Pharmacological Properties, and Development Studies of *Cymbopogon* sp. Biointerface Res. Appl. Chem. 2020; 11 (3): 10341 – 10350.

Zanin ICJ, Golçalves RB, Júnior AB, Hope CK, Pratten J. Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an *in vitro* study. J. Antimicrob. Chemother. 2005; 56, 324–330.

Zipfel PF, Skerka C, Kupka D, Luo S. Immune escape of the human facultative pathogenic yeast *Candida albicans*: the many faces of the *Candida* Pra1 protein. Int. J. Med. Microbiol. 2011; 301(5):423-30.

ANEXOS

Anexo 1 – LAUDO TÉCNICO DE ANÁLISE (FORNECEDOR)





LAUDO TÉCNICO DE ANÁLISE

NOME COMERCIAL	Óleo Essencial de Palmarosa
NOME CIENTÍFICO	<i>Cymbopogon martinii</i>
PARTE DA PLANTA E FORMA DE EXTRAÇÃO	Arraste a vapor das folhas
COMPONENTES PRINCIPAIS	Geraniol/ Geranila
LOTE TERRA FLOR	21161
PRODUZIDO EM	07/06/2021
VALIDADE	Jun-24

PROPRIEDADES

	FORNECEDOR	ANÁLISE TERRA FLOR
APARÊNCIA	Líquido	Líquido
ODOR	Característico	Fresco, herbáceo
COR	Levemente amarelado	Amarelo pálido
DENSIDADE (g/cm³)	0,861	0,889
ÍNDICE REFRAÇÃO	1,464	N/D
ROTAÇÃO ÓPTICA	N/D	N/D

ESTE DOCUMENTO É UMA CÓPIA FIEL DO LAUDO TÉCNICO DO FORNECEDOR E A ANÁLISE DO PRODUTO FEITA PELA TERRA FLOR DE ACORDO COM O CONTROLE DE QUALIDADE DEFINIDO PELA EMPRESA. ESTE LAUDO É DIGITAL, PORTANTO, DISPENSA ASSINATURA.

Anexo 2 – CERTIFICADO DE ANÁLISE E CROMATOGRAMA (FORNECEDOR)

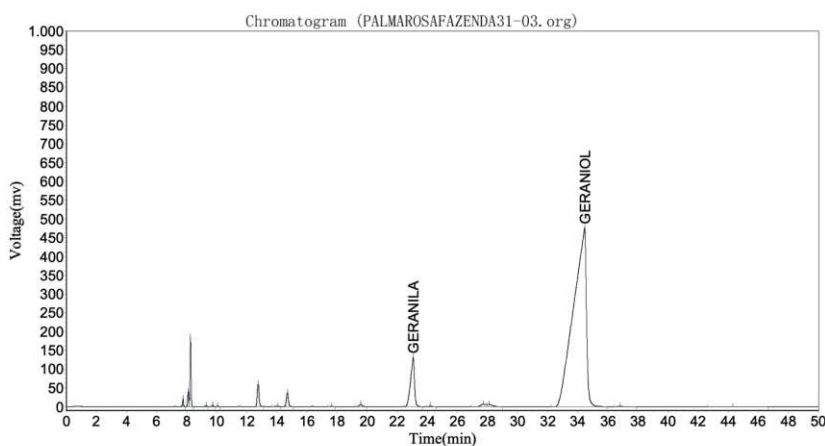
Rua 9, quadra 10 - Lote 01
Setor Planalto - Alto Paraíso de Goiás
(62) 3446-2162 - atendimento@terra-flor.com



Este documento é uma cópia fiel do fornecedor.

Óleo essencial: Palmarosa - *Cymbopogon martinii*
Lote Fornecedor: PR2/21
Lote Terra Flor: 21161
Data produção lote: 07/06/2021

Sample Description:



Results

Peak No.	Peak ID	Ret Time	Height	Area	Conc.
1		7,753	20643,000	93957,602	0,2822
2		8,103	40022,316	206157,625	0,6193
3		8,243	184447,578	908119,188	2,7278
4		9,283	2670,286	12288,600	0,0369
5		9,723	3955,203	20988,000	0,0630
6		10,048	1327,978	6085,800	0,0183
7		12,743	60636,555	495074,250	1,4871
8		14,058	1133,968	11135,800	0,0334
9		14,688	37541,695	362875,813	1,0900
10		17,628	835,878	6647,400	0,0200
11		19,548	6143,307	80061,602	0,2405
12	GERANILA	23,058	131324,438	2346262,750	7,0477
13		24,198	1385,125	14779,000	0,0444
14		27,698	7052,876	159493,188	0,4791
15		28,098	5274,353	137370,219	0,4126
16	GERANIOL	34,458	474242,219	28395428,000	85,2945
17		36,798	1149,842	16461,000	0,0494
18		44,318	182,580	17837,199	0,0536
Total			979969,196	33291023,033	100,0000

Documento digital, válido sem assinatura.

Anexo 3 – CROMATOGRAMA (PARCERIA)

Condições cromatográficas

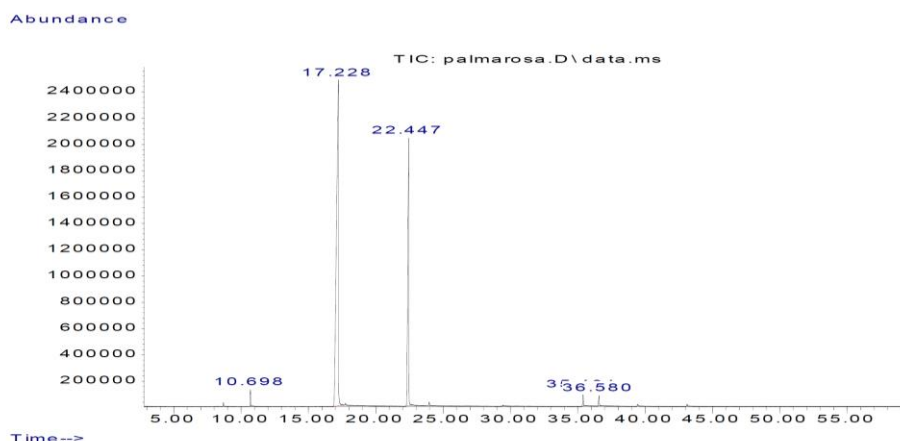
As análises foram realizadas em um Cromatógrafo a gás (Hewlett-Packard 5890, Série II) acoplado a detector seletivo de massas (Hewlett40 Packard 5971), conforme as condições descritas a seguir:

- Coluna capilar HP-5MS (25 m x 0,20 mm x 0,33 μ m), Volume injetado: 1,0 μ L, Vazão do gás de arraste (He super seco): 1,0 mL/min⁻¹.

Temperaturas:

- Injetor split/splitness: 220°C; Detector: 280°C; Coluna: 60°C (1 min); Rampa de aquecimento: 3°C/min⁻¹, Temperatura final: 240°C (7 min); Sistema de ionização de elétrons: 70 eV.

Cromatograma do extrato de *Cymbopogon martinii*



Analitos identificados no extrato de *Cymbopogon martinii*

tr (min)	IR	Identificação	% rel.
10,698	1092	Óxido de Linalol	0,885
17,228	1252	Geraniol	68,925
22,447	1386	Acetato de Geranila	0,975
35,401	1581	Óxido de Cariofileno	0,975
36,580	1419	Trans-Cariofileno	0,699

tr: tempo de retenção em minutos; IR: índice de retenção; % rel.: fração em porcentagem da área total integrada para o cromatograma.

Anexo 4 – VERIFICAÇÃO DE ORIGINALIDADE E PREVENÇÃO DE PLÁGIO

Óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Will. Watson como alternativa antifúngica contra *Candida* spp.: efeitos na transição morfológica e na formação de biofilme de *Candida albicans*

TESE - Pós-graduação em Biologia Buco-Dental (Doutorado)

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

0%	0%	0%	%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS

FONTES PRIMÁRIAS

Excluir citações	Desligado	Excluir correspondências	< 5%
Excluir bibliografia	Desligado		