



Aceite esencial de clavo de olor (Syzygium aromaticum) como agente antifúngico frente a Candida SPP

Clove essential oil (Syzygium aromaticum) as an antifungal agent against Candida spp

Óleo essencial de cravinho (Syzygium aromaticum) como agente antifúngico contra Candida spp

Ana Paula Molina-López ^I

anapaula1@hotmail.com

<https://orcid.org/0009-0005-9869-2678>

David Guerra-Naranjo ^{II}

davidguerra1@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-6651-9591>

Correspondencia: anapaula1@hotmail.com

Ciencias Técnicas y Aplicadas

Artículo de Investigación

* **Recibido:** 27 de noviembre de 2024 * **Aceptado:** 03 de diciembre de 2024 * **Publicado:** 16 de enero de 2025

- I. Departamento de Biología Molecular y Funcional, Centro de Biociencias Clonallyx Corporation, Ecuador.
- II. Departamento de Biología Molecular y Funcional, Centro de Biociencias Clonallyx Corporation, Ecuador.

Resumen

El aceite esencial de clavo de olor, rico en eugenol, presenta propiedades antifúngicas prometedoras, especialmente contra especies del género *Candida*. Estudios han demostrado que el eugenol altera la membrana celular de estos patógenos, inhibiendo la síntesis de ergosterol y disminuyendo su virulencia. Este efecto se ha comprobado mediante métodos *in vitro*, con resultados positivos en la inhibición de crecimiento y formación de biopelículas, especialmente en *C. tropicalis*. Sin embargo, algunos estudios indican que *C. glabrata* y *C. krusei* presentan mayor resistencia debido a mecanismos como la alteración de dianas farmacológicas y la formación de biofilms robustos. Se han evaluado formulaciones avanzadas, como nanoemulsiones y geles etosomales, para mejorar la biodisponibilidad y estabilidad del aceite esencial, mostrando eficacia en estudios preliminares. A pesar de los resultados prometedores, gran parte de la evidencia proviene de estudios *in vitro*, lo que subraya la necesidad de investigaciones adicionales en modelos animales y ensayos clínicos en humanos para confirmar la seguridad y eficacia del eugenol como tratamiento antifúngico. Es importante explorar combinaciones con antifúngicos convencionales para enfrentar cepas resistentes y garantizar formulaciones seguras y efectivas, considerando posibles interacciones farmacológicas y efectos adversos.

Palabras clave: antifúngico; *Candida* spp.

Abstract

Clove essential oil, rich in eugenol, has promising antifungal properties, especially against *Candida* species. Studies have shown that eugenol alters the cell membrane of these pathogens, inhibiting ergosterol synthesis and decreasing their virulence. This effect has been proven using *in vitro* methods, with positive results in the inhibition of growth and biofilm formation, especially in *C. tropicalis*. However, some studies indicate that *C. glabrata* and *C. krusei* show greater resistance due to mechanisms such as the alteration of pharmacological targets and the formation of robust biofilms. Advanced formulations, such as nanoemulsions and ethosomal gels, have been evaluated to improve the bioavailability and stability of the essential oil, showing efficacy in preliminary studies. Despite the promising results, much of the evidence comes from *in vitro* studies, which underlines the need for further research in animal models and clinical trials in humans to confirm the safety and efficacy of eugenol as an antifungal treatment. It is important to explore

combinations with conventional antifungals to combat resistant strains and ensure safe and effective formulations, considering possible drug interactions and adverse effects.

Keywords: antifungal; *Candida* spp.

Resumo

O óleo essencial de cravinho, rico em eugenol, possui propriedades antifúngicas promissoras, especialmente contra espécies do género *Candida*. Estudos mostram que o eugenol altera a membrana celular destes agentes patogénicos, inibindo a síntese de ergosterol e diminuindo a sua virulência. Este efeito foi verificado por métodos *in vitro*, com resultados positivos na inibição do crescimento e formação de biofilme, especialmente em *C. tropicalis*. No entanto, alguns estudos indicam que *C. glabrata* e *C. krusei* apresentam maior resistência devido a mecanismos como a alteração de alvos farmacológicos e a formação de biofilmes robustos. Formulações avançadas, como nanoemulsões e géis etossómicos, foram avaliadas para melhorar a biodisponibilidade e estabilidade do óleo essencial, mostrando eficácia em estudos preliminares. Apesar dos resultados promissores, muitas das evidências provêm de estudos *in vitro*, sublinhando a necessidade de mais investigação em modelos animais e ensaios clínicos em humanos para confirmar a segurança e eficácia do eugenol como tratamento antifúngico. É importante explorar as combinações com antifúngicos convencionais para combater as estirpes resistentes e garantir formulações seguras e eficazes, considerando as possíveis interações medicamentosas e efeitos adversos.

Palavras-chave: antifúngico; *Cândida* spp.

Introducción

Los aceites esenciales (AE) son sustancias que contienen compuestos orgánicos volátiles y se extraen de plantas, algunas de las cuales poseen componentes con propiedades terapéuticas conocidas. Gracias a estas propiedades, los AE se pueden utilizar como alternativas o complementos que potencian ciertos medicamentos convencionales (Chávez-González et al., 2016).

En particular, el aceite esencial procedente del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) contiene eugenol, un compuesto bioactivo con propiedades bien documentadas en relación con su actividad antifúngica (Didehdar et al., 2022). Varios estudios han evidenciado que el eugenol es efectivo

contra ciertos patógenos fúngicos, incluyendo *Aspergillus* y *Cándida* spp., principalmente alterando su membrana celular y desestabilizando la estructura celular de las especies de estos géneros (Pinto et al., 2009). Además, de estas propiedades antimicrobianas, el eugenol también presenta efectos anestésicos, insecticidas y analgésicos y antiinflamatorios (Haro-González et al., 2021).

Estas características hacen del aceite esencial proveniente del clavo de olor un candidato prometedor para el desarrollo de nuevos tratamientos antifúngicos, especialmente en un contexto clínico donde las infecciones por *Cándida* spp. Representan un desafío a la creciente resistencia de microorganismos patógenos a los tratamientos convencionales (Talapko et al., 2021).

El género *Cándida* spp. está compuesto de levaduras que forman parte de la microbiota normal, principalmente en las mucosas de los humanos. Aunque generalmente se consideran inofensivas, pueden convertirse en patógenos oportunistas, especialmente en personas inmunocomprometidas o en individuos cuya microbiota ha sido alterada por el uso de antimicrobianos o dispositivos médicos invasivos (Panizo & Reviákina, 2001). La severidad de las infecciones puede variar desde manifestaciones mucocutáneas superficiales hasta infecciones como la candidemia, condición que presenta una alta tasa de mortalidad, principalmente en pacientes hospitalizados y sometidos a tratamientos prolongados con antibióticos de amplio espectro (Díaz et al., 2020). Esta patogenicidad está relacionada con la capacidad de este género de adherirse a las células del huésped, la formación de biopelículas y la secreción de enzimas capaces de degradar tejidos y moléculas como lípidos y proteínas. Adicionalmente, poseen la capacidad de producir toxinas que contribuyen a la inflamación crónica y a la resistencia a tratamientos antifúngicos (Talapko et al., 2021). En concreto, *C.albicans* es responsable de aproximadamente el 80% de las infecciones causadas por este género. Sin embargo, las infecciones por especies no albicans, como *C. glabrata*, *C.tropicalis*, entre otras, están en aumento debido a la resistencia a múltiples fármacos y a su capacidad para persistir en entornos hospitalarios (Ngamchokwathana et al., 2021).

C.glabrata, a pesar de conformar la microbiota normal, puede convertirse en patógena, principalmente en pacientes con VIH, cáncer o receptores de trasplantes, debido a su inmunodepresión sistémica. Esta especie presenta una alta resistencia a antifúngicos azólicos, debido a mecanismos como la alteración de las dianas farmacológicas y la formación de biopelículas robustas. Poseen una resistencia cruzada a varios triazoles que dificulta aún más el manejo clínico de estas infecciones (Obili G. Sékangué et al., 2022).

Entre una de las especies comunes en países tropicales está *C.tropicalis*, que muestra una resistencia notable al fluconazol (superando incluso a *C.albicans*). Adicionalmente existen especies como *C.parapsilosis*, que se asocian con frecuencias a infecciones nosocomiales, particularmente en neonatos prematuros y pacientes con catéteres o en hiperalimentación intravenosa. A diferencia de otras especies, sus biopelículas son menos robustas, pero su capacidad de transmisión al personal sanitario sigue siendo un riesgo significativo (de J. Treviño-Rangel et al., 2012).

Finalmente, especies como *C.krusei*, poseen resistencia intrínseca al fluconazol. Se ha evaluado el uso de este antifúngico, donde previamente se estableció un MIC de 2 mg/L para algunas especies. Es importante recalcar que existe resistencia si esta concentración supera los 4 mg/L (EUCAST, 2023). En el caso de *C. krusei*, se ha observado resistencia mediante mecanismos como la alteración de la enzima diana (ERG11), sobreexpresión de esta enzima y la reducción de la concentración intracelular del fármaco debido a la acción de bombas de flujo (Jamiu et al., 2021). Además, se ha documentado que el uso prolongado de azoles puede inducir resistencia en otras especies de *Cándida*, como *C.glabrata*, *C.tropicalis* y *C.parapsilosis*.

Ante el creciente problema de la resistencia antifúngica y los efectos adversos asociados a los tratamientos convencionales, existe un interés creciente en explorar alternativas naturales que puedan actuar como antifúngicos efectivos. Los aceites esenciales se presentan como candidatos prometedores debido a su naturaleza compleja, lo que reduce la probabilidad de que los microorganismos desarrollen resistencia rápidamente (El-Tarabily et al., 2021).

En este contexto, el presente artículo tiene como objetivo revisar de manera exhaustiva la literatura científica disponible sobre el efecto antifúngico del aceite esencial de clavo de olor frente a *Cándida spp.* Se explorarán estudios *in vitro* e *in vivo*, comparando su eficacia contra los antifúngicos convencionales y discutiendo los posibles mecanismos de acción implicados. Se analizaron estudios recientes y revisiones sistemáticas publicados en bases de datos como PubMed, Scopus y Web of Science, enfocándose en investigaciones de los últimos años para asegurar la relevancia y actualidad de la información. Además, se analizaron las limitaciones actuales de la investigación y se discutieron las implicaciones clínicas y las futuras líneas de investigación sobre el uso de este aceite esencial como tratamiento antifúngico.

Resultados y discusión

Al generalizar la búsqueda del clavo de olor y su efecto antifúngico, se encontraron evaluaciones *in vitro* de este potencial usando varios extractos de *S.aromaticum* frente a *C.albicans*, *C.tropicalis* y *C.glabrata*, aisladas de muestras clínicas del hospital King Khalid en Riyadh, Saudi Arabia (Yassin et al., 2020). La actividad antifúngica se determinó mediante el método de difusión en disco, revelando zonas de inhibición de 20.9 mm para *C.albicans*, 14.9 mm para *C.glabrata* y 30.7 mm para *C.tropicalis*. Estos resultados indican que *C.tropicalis* es la más susceptible a los extractos, mostrando la mayor zona de inhibición. Las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) fueron de 0.25 mg/ml para *C. tropicalis* y 0.5 mg/ml tanto para *C. albicans* como para *C. glabrata*, sugiriendo que esta última presenta mayor resistencia a los compuestos probados, lo cual concuerda con estudios previos que han destacado su capacidad adaptativa y resistencia a tratamientos antifúngicos convencionales (Yassin et al., 2020). Estos resultados iniciales muestran el potencial de los extractos de esta especie como antifúngico y adicionalmente, la variabilidad en las zonas de inhibición y MIC refuerza la necesidad de ajustar las concentraciones y explorar combinaciones con otros agentes para optimizar la efectividad del tratamiento.

Basándonos en estos descubrimientos se procedió a realizar búsquedas de la actividad del eugenol (componente principal de los aceites esenciales de esta especie). Este compuesto funciona inhibiendo la biosíntesis de ergosterol, un componente clave de las membranas celulares microbianas, lo que provoca una alteración en la permeabilidad de la membrana celular y conduce a la muerte celular (Yassin et al., 2020). En los estudios de Pinto et al. donde se pone a prueba esta teoría contra especies como: *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis* y *C.krusei* obteniendo resultados MIC de 0.32-0.64 mg/ml. La inhibición de la síntesis de ergosterol y el análisis por citometría de flujo realizado a las células con el fin de evaluar el efecto del compuesto revelaron que este aceite esencial causa daño en la membrana celular de todas las especies de *Cándida* evaluadas, mediante una disminución significativa en la cantidad de ergosterol y la formación de tubos germinales (Pinto et al., 2009).

Ante esto cabe recalcar que, el ergosterol es un componente específico de la membrana celular fúngica, y la formación de tubos germinales (uno de los mecanismos de patogenicidad más importantes de *C. albicans*) (Pinto et al., 2008). Por consiguiente, la interacción del eugenol con el ergosterol y su capacidad para inhibir la formación de tubos germinales podrían ser efectivas en la prevención de infecciones causadas por *Cándida spp.* Además, se evidencia que, en *C.krusei*, el

compuesto antifúngico derivado del clavo de olor se une a la enzima lanosterol-14- α -demethylase. Esta enzima es crucial para la biosíntesis de ergosterol. Los resultados del MIC₅₀ (0.031 μ g/ml) indican una alta efectividad a baja concentración, lo que podría ofrecer una alternativa viable en casos de resistencia a tratamientos antifúngicos convencionales.

Por otro lado, Hekmatpanah y colaboradores (2022) prueban el aceite esencial del clavo de olor en *C. albicans*, analizando la interacción a nivel enzimático de fosfolipasa, proteinasa y hemolisina que tienen un papel clave en la adhesión a las células del huésped, la nutrición y la destrucción de tejidos, lo que lleva a la diseminación del patógeno. Se evidenció una reducción de la capacidad enzimática resultando en una disminución de la virulencia de la especie en estudio. En cuanto al MIC se encontró en el rango de 0.625 a 1.25 mg/ml, siendo más elevada en comparación con otros estudios debido a las variaciones en las condiciones experimentales y al enfoque en la inhibición enzimática específica. Este hallazgo sugiere que, aunque se requieren concentraciones más altas para lograr la inhibición en comparación con otros mecanismos, el aceite esencial sigue siendo una opción prometedora para limitar la virulencia y diseminación de *C. albicans* en situaciones clínicas específicas.

Se conoce que la capacidad de *Candida* para formar biofilms dificulta la acción de los agentes antifúngicos, especialmente durante las fases de maduración y degradación del biofilm. En la fase de maduración, se forman tejidos complejos encerrados en la matriz, lo cual dificulta la penetración de los antifúngicos (El-Baz et al., 2021). De manera similar, durante la fase de degradación, el biofilm se fortalece mediante la formación de defensas complejas reguladas por la comunicación quorum sensing (Hertiani et al., 2019). Hamzah y colaboradores (2021), determinaron la concentración mínima de un agente necesario para inhibir el crecimiento de biofilms (MBIC) en *C. tropicalis*. El aceite de clavo mostró una inhibición del 65.21% a una concentración de 0.25% v/v durante la fase intermedia, una etapa de crecimiento activo y formación de microcolonias en el desarrollo del biofilm. En la fase de maduración, el aceite de clavo mostró una actividad inhibidora significativa a una concentración de 0.5% v/v, inhibiendo el 56.11% del biofilm. Finalmente, en la fase de degradación una concentración de 1% v/v logró reducir el biofilm en un 41.87%. Estos resultados sugieren que el aceite de clavo es más efectivo durante las etapas tempranas e intermedias del desarrollo del biofilm, cuando las estructuras celulares son más vulnerables, pero aun así demuestra actividad inhibitoria durante las fases más avanzadas.

En base al estudio de Yassin et al. (2020), se comparó la eficacia del derivado del aceite esencial de clavo de olor con la terbinafina, un antifúngico comúnmente utilizado a una concentración de 5 mg. Los resultados indicaron que el compuesto derivado del clavo mostró una mayor efectividad. Cabe destacar que, aunque la terbinafina es efectiva en muchos casos, su uso ha generado preocupaciones debido a la toxicidad hepática asociada (Barnette et al., 2018). Modelos computacionales y experimentales han investigado las rutas de activación de terbinafina para explicar los efectos tóxicos observados. No obstante, aún no se ha llevado a cabo un análisis similar en profundidad para el aceite de clavo de olor (Aisy et al., 2023). Este último estudio predice las interacciones entre el compuesto y su diana en *Candida*, centrándose en la farmacodinámica y su eficacia, abriendo así nuevas oportunidades para su investigación.

Una vez establecido el efecto comprobado del aceite esencial de clavo de olor como agente antifúngico, se reconoce la necesidad de desarrollar formulaciones que maximicen su efectividad y disponibilidad como tratamiento. En esta revisión, se evaluó el uso de nanoemulsiones, sistemas de dos fases (aceite y agua) con un tamaño de partícula entre 20 y 200 nm, diseñadas para mejorar la estabilidad, penetración y biodisponibilidad del compuesto activo. La literatura demuestra que se desarrolló una nanoemulsión con un 5% de aceite de clavo de olor, con un tamaño aproximado de 30 nm, la cual mostró una estabilidad a largo plazo y una actividad antifúngica superior en comparación con el aceite puro. Las pruebas realizadas en *C. albicans* y *C. glabrata* revelaron que una concentración de 327 µg/mL fue suficiente para inhibir el 50% de las células de *C. albicans*, mientras que el MIC₅₀ para *C. glabrata* fue de 408.75 µg/mL. Comparativamente, el aceite de clavo puro presentó un MIC₅₀ de 2180 µg/mL para *C. albicans*, demostrando que la nanoemulsión es significativamente más efectiva para esta especie. Sin embargo, para *C. glabrata*, la inhibición fue similar en ambas formulaciones (Betzler de Oliveira de Siqueira et al., 2019). La ventaja del uso de nanoemulsiones radica en su aplicación tópica, ya que mejoran la experiencia sensorial y permiten un control preciso de la dosis, siendo menos irritantes para la piel o las mucosas en comparación con el aceite puro.

Se han encontrado poco estudio *ex vivo*, en uno de ellos se evaluó un gel ethosomal de aceite de clavo de olor para tratar candidiasis. Los ethosomas, que son portadores lipídicos modificados compuestos por etanol, fosfolípidos y agua, han demostrado mejorar la penetración cutánea y las propiedades vesiculares del compuesto. La capacidad antifúngica del gel ethosomal, que contenía 0.024 ml de aceite de clavo, fue evaluada en piel de rata, mostrando una zona de inhibición efectiva

contra *C. albicans*. Esta tecnología se presenta como una formulación prometedora para la administración tópica de antifúngicos, proporcionando una mejor penetración, liberación controlada y menor frecuencia de aplicación (Chauhan et al., 2022; Shetty et al., 2019)

Aunque gran parte de la evidencia actual sobre el efecto antifúngico del aceite esencial de clavo de olor se basa en estudios *in vitro*, esto presenta una limitación significativa, ya que los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio no siempre reflejan la respuesta en organismos vivos. Es crucial realizar ensayos clínicos en humanos para confirmar tanto la seguridad como la eficacia de estas formulaciones en un entorno clínico real. Además, se deben considerar los posibles efectos adversos de los aceites esenciales, como reacciones alérgicas o irritaciones, que podrían variar dependiendo de la sensibilidad individual y la dosis administrada. La interacción con otros tratamientos farmacológicos, especialmente los antibióticos comúnmente administrados en entornos hospitalarios, es otro factor que requiere un análisis cuidadoso, ya que las interacciones medicamentosas podrían alterar la efectividad o aumentar el riesgo de efectos secundarios. Por lo tanto, futuras investigaciones deben incluir estudios *in vivo* y evaluaciones de interacción farmacológica para fortalecer la evidencia y garantizar la seguridad de estas alternativas terapéuticas.

Conclusiones

El aceite esencial de clavo de olor, gracias a su principal compuesto activo, el eugenol, muestra un potencial prometedor en el tratamiento clínico de la candidiasis, dada su capacidad para inhibir el crecimiento de *Cándida* spp. Diversos estudios han evaluado su efecto antibiofilm, sugiriendo que en el futuro podría utilizarse para recubrir dispositivos médicos y prevenir la formación de biofilms asociados a infecciones persistentes.

Además, es esencial investigar cómo actúa el eugenol en combinación con medicamentos antifúngicos convencionales como el fluconazol, especialmente en cepas de *Cándida* resistentes a estos tratamientos. Para validar completamente su potencial terapéutico, es necesario realizar estudios adicionales *in vitro*, en modelos animales y ensayos clínicos en humanos, con el fin de evaluar tanto su eficacia como su citotoxicidad a largo plazo.

Finalmente, es crucial determinar cuál es el método más efectivo para la administración de fármacos que incorporen eugenol, explorando formulaciones avanzadas como nanoemulsiones o

geles ethosomales que mejoren su biodisponibilidad y estabilidad, garantizando así un tratamiento seguro y efectivo contra infecciones fúngicas resistentes.

Referencias

1. Aisy, D. U. R., Adawiyah, R., Rozaliyani, A., Estuningtyas, A., & Fadilah, F. (2023). The Antifungal Activities of *Syzygium aromaticum* and *Alpinia purpurata* Extracts Against *Candida krusei*: Bioactivity Tests, Molecular Modeling, and Toxicity Tests. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 24(10), 3403-3409. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2023.24.10.3403>
2. Barnette, D. A., Davis, M. A., Dang, N. L., Pidugu, A. S., Hughes, T., Swamidass, S. J., Boysen, G., & Miller, G. P. (2018). Lamisil (terbinafine) toxicity: Determining pathways to bioactivation through computational and experimental approaches. *Biochemical Pharmacology*, 156, 10-21. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.07.043>
3. Betzler de Oliveira de Siqueira, L., Matos, A. P. D. S., Cardoso, V. da S., Villanova, J. C. O., Guimarães, B. da C. L. R., Dos Santos, E. P., Beatriz Vermelho, A., Santos-Oliveira, R., & Ricci Junior, E. (2019). Clove oil nanoemulsion showed potent inhibitory effect against *Candida* spp. *Nanotechnology*, 30(42), 425101. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab30c1>
4. Chauhan, N., Vasava, P., Khan, S. L., Siddiqui, F. A., Islam, F., Chopra, H., & Emran, T. B. (2022). Ethosomes: A novel drug carrier. *Annals of Medicine and Surgery* (2012), 82, 104595. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104595>
5. Chávez-González, M. L., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2016). Chapter 11—Essential Oils: A Natural Alternative to Combat Antibiotics Resistance. En K. Kon & M. Rai (Eds.), *Antibiotic Resistance* (pp. 227-237). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00011-3>
6. de J. Treviño-Rangel, R., González-González, J. G., Garza-González, E., & González, G. M. (2012). *Candida* parapsilosis, una amenaza desafiante. *Medicina Universitaria*, 14(56), 157-165.
7. Díaz, N. A., Farina, J., Herrera, J., & Ezcurra, M. C. (2020). Candidemia: Características en los adultos mayores. *Revista chilena de infectología*, 37, 288-294.

8. Didehdar, M., Chegini, Z., & Shariati, A. (2022). Eugenol: A novel therapeutic agent for the inhibition of *Candida* species infection. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.872127>
9. El-Baz, A. M., Mosbah, R. A., Goda, R. M., Mansour, B., Sultana, T., Dahms, T. E. S., & El-Ganiny, A. M. (2021). Back to Nature: Combating *Candida albicans* Biofilm, Phospholipase and Hemolysin Using Plant Essential Oils. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 10(1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010081>
10. El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Elwan, H. A. M., Elnesr, S. S., & E Abd El-Hack, M. (2021). Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5145-5156. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.033>
11. Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(21). <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>
12. Hertiani, T., Pratiwi, S., & Hamzah, H. (2019). The Inhibition Activity of Tannin on the Formation of Mono-Species and Polymicrobial Biofilm *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. *Majalah Obat Tradisional*, 24, 2019. <https://doi.org/10.22146/mot.44532>
13. Jamiu, A. T., Albertyn, J., Sebolai, O. M., & Pohl, C. H. (2021). Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Medical Mycology*, 59(1), 14-30. <https://doi.org/10.1093/mmy/myaa031>
14. Ngamchokwathana, C., Chongtrakool, P., Waesamaae, A., & Chayakulkeeree, M. (2021). Risk Factors and Outcomes of Non-*albicans* *Candida* Bloodstream Infection in Patients with Candidemia at Siriraj Hospital-Thailand's Largest National Tertiary Referral Hospital. *Journal of Fungi* (Basel, Switzerland), 7(4). <https://doi.org/10.3390/jof7040269>
15. Obili G. Sékangué, Ossibi Ibara BR, Potokoué Mpia NSB, Adoua Doukaga T, & Itoua C. (2022). Vaginal Candidiasis Caused by *Candida Non Albicans*: Epidemiological and Mycological Aspects at the University Hospital Center of Brazzaville. *Journal of Internal Medicine Research & Reports*. [https://doi.org/doi.org/10.47363/JIMRR/2022\(1\)111](https://doi.org/doi.org/10.47363/JIMRR/2022(1)111)

16. Panizo, M. M., & Reviákina, V. (2001). *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 21, 38-45.
17. Pinto, E., Ribeiro, I. C., Ferreira, N. J., Fortes, C. E., Fonseca, P. A., & Figueiral, M. H. (2008). Correlation between enzyme production, germ tube formation and susceptibility to fluconazole in *Candida* species isolated from patients with denture-related stomatitis and control individuals. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 37(10), 587-592. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2008.00687.x>
18. Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C., & Salgueiro, L. (2009). Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 58(Pt 11), 1454-1462. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.010538-0>
19. Shetty, S., Jose, J., Kumar, L., & Charyulu, R. N. (2019). Novel ethosomal gel of clove oil for the treatment of cutaneous candidiasis. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 18(3), 862-869. <https://doi.org/10.1111/jocd.12765>
20. Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, 7(2). <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
21. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2023). Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes using the EUCAST E.Def 7.4, E.Def 9.4 and E.Def 11.0 procedures (Version 4.0). <http://www.eucast.org>
22. Yassin, M. T., Mostafa, A. A.-F., & Al-Askar, A. A. (2020). In vitro anticandidal potency of *Syzygium aromaticum* (clove) extracts against vaginal candidiasis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2818-8>