



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**PEDRO PAULO RODRIGUES COLARES**

**EFEITO DE MICROPLÁSTICOS DE POLIESTIRENO SOBRE A VIRULÊNCIA DE**  
***Candida albicans* E *Candida parapsilosis* sensu stricto**

**FORTALEZA**

**2025**

PEDRO PAULO RODRIGUES COLARES

**EFEITO DE MICROPLÁSTICOS DE POLIESTIRENO SOBRE A VIRULÊNCIA DE  
*Candida albicans* E *Candida parapsilosis* sensu stricto**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro

FORTALEZA  
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C649e Colares, Pedro Paulo Rodrigues.

Efeito de microplásticos de poliestireno sobre a virulência de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis sensu stricto* / Pedro Paulo Rodrigues Colares. – 2025.  
54 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,  
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro..

1. Biofilmes. 2. Resistência Fúngica a Fármacos. 3. Matriz Extracelular . 4. Parede Celular. I. Título.  
CDD 570

---

PEDRO PAULO RODRIGUES COLARES

**EFEITO DE MICROPLÁSTICOS DE POLIESTIRENO SOBRE A VIRULÊNCIA DE  
*Candida albicans* E *Candida parapsilosis* sensu stricto**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Maria Laína Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Ma. Brendda Miranda Vasconcelos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Ma. Ravena Santiago Alves  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Luciana e Sérgio, por todo o amor, carinho e dedicação na minha formação como pessoa. Serei eternamente grato por todos os esforços dedicados à minha educação.

Às minhas avós, Maria Juraci e Maria Angelita, por serem exemplos de mulheres inabaláveis. A força de vocês sempre me recordará os versos de “Maria, Maria”, de Milton Nascimento. Obrigado por me mostrarem que “é preciso ter sonho sempre”.

Aos meus avôs, Elias e José Paulino, de quem sempre guardarei na memória a força e a simplicidade ao encarar a vida.

À minha tia, Juliana, por sua delicadeza e o amor demonstrado em cada ato.

Ao Sr. Abel, dona Cilene e Dara, por terem me acolhido tão bem.

Ao meu amor, Virna, por todos os momentos que passamos e iremos passar juntos. A vida é bem melhor ao seu lado. Te amo mais.

Ao meu irmão, Guilherme, que me trouxe a experiência de ser irmão mais velho, obrigado por toda a parceria e momentos que tivemos.

Às minhas irmãs, Ana Laura e Maria Louise, que sempre conservem o sorriso e a alegria nas pequenas coisas mesmo quando saírem da infância.

Ao meu amigo Vinícius, a quem conheço há quase uma vida inteira, por cada conversa e experiência que colecionamos desde a infância. Volte logo.

Ao meu amigo Francimi, por sempre encarar a vida com suavidade e pelas conversas sobre assuntos aleatórios nos ônibus voltando para casa.

Aos meus amigos Manoel e Lailton, por sempre estarem presentes em minha vida, mesmo com todas as barreiras que a vida adulta impõe.

Aos meus amigos Thiago, Denilson e Carlos Eduardo por cada comemoração e momentos de agonia que passamos juntos por amor ao Ceará.

Às amigadas que fiz no IF, Tadeu, Eduardo, Davi, Giovanni Matheus, Marlon, Daniel e Giovanni Sousa, por cada momento, sobretudo nas conversas e jogatinas de madrugada durante a pandemia.

Aos meus amigos Venícius e Gustavo, por cada piada e prosa contadas e pelos momentos de apoio necessários durante a graduação. Tudo seria mais difícil sem vocês.

Aos meus amigos Artur, Renato, Patrick e Bruno pelas várias conversas e raros momentos de basquete.

Aos meus amigos do curso, Tiago, Ana, Lua, Sabrina, Artur, Vitinho, Larissa, Miquelvia, Matheus e Heitor, por cada atividade, aventura, estudo em grupo e andanças pelo campus do Pici.

Ao grupo Coitadolândia: Aline, Jonnas, Klebson, Daniel, Ítala, Catarina, Sarah, Karen, Vivian, Pedro e Bianca, pelas brincadeiras fora de hora e por me ajudarem no meu retorno à universidade.

À minha orientadora, Professora Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro, por sua imensa dedicação, amor à ciência e pela atenção prestada em cada etapa do nosso trabalho no laboratório.

À Doutora Maria Láina, por seu profissionalismo e dedicação a tudo que se propõe, além dos momentos de descontração.

À Brendda, por compartilhar seu tempo e contribuir para a realização deste trabalho.

À Doutora Raquel Colares, por sua solicitude e apoio.

Ao Pedro Manzi, pela amizade desenvolvida durante a rotina de laboratório.

Ao Kevin, por sua proatividade e tranquilidade ao encarar os problemas, além das aulas de espanhol gratuitas.

À Benaya, por sempre me auxiliar nos momentos de dificuldade no laboratório, inclusive aos sábados e domingos.

Ao Bruno, Renata, João, Paulo, Edlâny, Rebeca e Eilton, pelas conversas no laboratório e os momentos do café na copa.

Ao Sr. João, por sempre dar suporte ao nosso laboratório e pelo cuidado com nosso espaço de trabalho.

Aos demais colegas do Laboratório de Bioagentes Infecciosos, por todo o auxílio.

A todos os profissionais do Centro de Biomedicina pelo empenho na manutenção do prédio.

À Universidade Federal do Ceará por me proporcionar a base para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional e, em especial, ao corpo docente do curso de Ciências Biológicas, cujos ensinamentos levarei por toda minha vida.

Às integrantes da banca examinadora, Professora Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro, Dra. Maria Láina Silva, Ma. Brendda Miranda Vasconcelos e Ma. Ravena Santiago Alves, meus sinceros agradecimentos por aceitarem o convite e pelo tempo dedicado à leitura deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo fomento que viabilizou este trabalho.

Aos trabalhadores do Brasil, responsáveis pelo financiamento da Ciência e Tecnologia deste país, os meus eternos agradecimentos. Venceremos.

## RESUMO

A contaminação ambiental por microplásticos (MPs) e a alta incidência de infecções fúngicas por espécies do gênero *Candida* representam crescentes desafios à saúde global. A superfície destes materiais, ao formar um nicho ecológico denominado “plastisfera”, pode interagir com patógenos de formas pouco compreendidas. Este estudo investigou a interferência de microplásticos de poliestireno (100 nm) nos fatores de virulência de *Candida albicans* (ATCC 90028) e de um isolado clínico de *Candida parapsilosis sensu stricto* (2-AGM). O objetivo foi avaliar os efeitos dos microplásticos nos fatores de virulência das leveduras, com foco na formação de biofilme. A metodologia consistiu de ensaios *in vitro* para avaliar o efeito dos MPs na biomassa do biofilme, na composição de quitina e  $\beta$ -glucana da matriz extracelular (MEC), na suscetibilidade aos antifúngicos fluconazol, voriconazol, caspofungina e anfotericina B e na atividade de enzimas hidrolíticas. Os resultados revelaram que a exposição aos MPs promoveu um aumento significativo da biomassa do biofilme em ambas as espécies, indicando que as partículas atuam na maturação da estrutura tridimensional. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) de caspofungina e fluconazol aumentou para *C. parapsilosis*. Observou-se um redirecionamento metabólico na MEC, com diminuição nos níveis de quitina e acúmulo expressivo de  $\beta$ -glucana. Essa alteração estrutural da matriz promoveu um aumento significativo na resistência dos biofilmes a todos os antifúngicos testados. A atividade enzimática variou entre os grupos, com destaque para o aumento da produção de proteinase e hemolisina em *C. parapsilosis*. Conclui-se que os microplásticos podem atuar como moduladores da virulência de espécies do gênero *Candida*, potencializando a formação de biofilmes robustos e multirresistentes através da remodelação da matriz extracelular. Este trabalho estabelece uma relação entre a poluição plástica e a virulência fúngica, destacando um fator de risco emergente para a saúde humana.

**Palavras-chave:** Biofilmes, Resistência Fúngica a Fármacos, Matriz Extracelular, Parede Celular.

## RESUMEN

La contaminación ambiental por microplásticos (MPs) y la elevada incidencia de infecciones fúngicas por especies del género *Candida* constituyen desafíos crecientes para la salud global. La superficie de estos materiales, al conformar un nicho ecológico denominado “plastisfera”, puede interactuar con patógenos de maneras aún poco comprendidas. Este estudio investigó la interferencia de microplásticos de poliestireno (100 nm) sobre los factores de virulencia de *Candida albicans* (ATCC 90028) y un aislado clínico de *Candida parapsilosis sensu stricto* (2-AGM). El objetivo fue evaluar los efectos de estos microplásticos en los factores de virulencia de las levaduras, centrándose en la formación de biopelículas. La metodología se basó en ensayos in vitro para analizar el efecto de los MPs sobre la biomasa de la biopelícula, la composición de quitina y  $\beta$ -glucano de la matriz extracelular (MEC), la susceptibilidad a los antifúngicos fluconazol, voriconazol, caspofungina y anfotericina B, así como la actividad de enzimas hidrolíticas. Los resultados revelaron que la exposición a los MPs promovió un aumento significativo de la biomasa de la biopelícula en ambas especies, lo que indica que las partículas influyen en la maduración de la estructura tridimensional. La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de caspofungina y fluconazol aumentó para *C. parapsilosis*. Se observó una redirección metabólica en la MEC, caracterizada por una disminución en los niveles de quitina y una notable acumulación de  $\beta$ -glucano. Dicha alteración estructural de la matriz condujo a un aumento significativo en la resistencia de las biopelículas a todos los antifúngicos evaluados. La actividad enzimática varió entre los grupos, destacando un incremento en la producción de proteinasa y hemolisina en *C. parapsilosis*. Se concluye que los microplásticos pueden actuar como moduladores de la virulencia en especies del género *Candida*, potenciando la formación de biopelículas robustas y multirresistentes mediante la remodelación de la matriz extracelular. Este trabajo establece una conexión entre la contaminación por plásticos y la virulencia fúngica, subrayando un factor de riesgo emergente para la salud humana.

**Palabras clave:** Biopelículas, Resistencia Fúngica a Fármacos, Matriz Extracelular, Pared Celular.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS.....	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1. Microplásticos.....	14
3.1.1. Definição, classificação e fontes.....	14
3.1.2. Microplásticos de poliestireno.....	18
3.2. Plastisfera.....	19
3.3. Microplásticos e saúde humana.....	20
3.4. Gênero <i>Candida</i> .....	21
3.5. <i>Candida albicans</i> .....	23
3.6. <i>Candida parapsilosis</i> .....	24
3.7. Biofilmes de <i>Candida spp.</i> .....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1. Microrganismos e condições de cultivo.....	28
4.2. Preparo e caracterização dos microplásticos de poliestireno.....	28
4.3. Ensaio de formação de biofilme.....	28
4.4. Quantificação da biomassa do biofilme.....	29
4.5. Sensibilidade a antifúngicos.....	29
4.5.1. Concentração Inibitória Mínima.....	29
4.5.2. Atividade antifúngica sobre os biofilmes maduros.....	30
4.6. Determinação do teor de carboidratos no biofilme.....	31
4.7. Ensaio de atividade enzimática.....	31
4.7.1. Preparo do inóculo.....	31
4.7.2. Ensaio de atividade de proteinase.....	32
4.7.3. Ensaio de atividade de fosfolipase.....	32
4.7.4. Ensaio de atividade de hemolisinas.....	33

<b>4.8. Análise estatística.....</b>	<b>33</b>
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
<b>5.1. Quantificação da biomassa do biofilme.....</b>	<b>34</b>
<b>5.2. Sensibilidade a antifúngicos.....</b>	<b>34</b>
<b>5.2.1. Concentração Inibitória Mínima (CIM).....</b>	<b>34</b>
<b>5.2.2. Atividade antifúngica sobre os biofilmes maduros.....</b>	<b>35</b>
<b>5.3. Determinação do teor de carboidratos no biofilme.....</b>	<b>36</b>
<b>5.4. Atividade enzimática.....</b>	<b>37</b>
<b>5.4.1. Ensaio de atividade de proteinase.....</b>	<b>37</b>
<b>5.4.2. Ensaio de atividade de fosfolipase.....</b>	<b>38</b>
<b>5.4.3. Ensaio de atividade de hemolisina.....</b>	<b>39</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>44</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A contaminação por microplásticos (MPs) surge como um dos principais problemas ambientais da atualidade, dada a disseminação global e potencial de interferência desses materiais em diversos processos biológicos. Definidos como fragmentos plásticos com dimensões tipicamente inferiores a 5 mm de diâmetro (Thompson *et al.*, 2009), os microplásticos podem ser de origem primária, quando fabricados intencionalmente em tamanho microscópico, ou de origem secundária, resultantes da degradação de plásticos maiores (Cole *et al.*, 2011).

Dentre os polímeros que contribuem para a poluição por MPs, o poliestireno (PS) figura como um dos mais comuns em amostras de águas residuais (Liu *et al.*, 2021), tornando os microplásticos de poliestireno relevantes para a pesquisa. A pandemia por COVID-19, por exemplo, intensificou o consumo de produtos plásticos fabricados com poliestireno, como embalagens e equipamentos de proteção individual, aumentando a carga de resíduos plásticos no ambiente e, consequentemente, de MPs (Parashar e Hait, 2021).

A presença de microplásticos no ambiente proporciona a formação de ecossistemas microbianos em suas superfícies, fenômeno denominado “plastisfera” (Zettler *et al.*, 2013). A ingestão dessas partículas pode afetar a microbiota intestinal de animais (Qiu *et al.*, 2021) e, em humanos, a detecção destas partículas no sangue (Leslie *et al.*, 2022) destaca que os microplásticos podem ser translocados para outros tecidos com facilidade, como já detectado no cérebro (Amato-Lourenço *et al.*, 2024), indicando sua capacidade em atravessar barreiras biológicas complexas, como a barreira hematoencefálica (BHE) e acessar tecidos sensíveis.

Considerando a capacidade de *Candida* spp. de causar infecções sanguíneas graves (Salmanton-García *et al.*, 2024), surge a preocupação de que os MPs possam não apenas atingir o sistema circulatório, mas também servir como vetores ou substratos para a adesão e formação de biofilmes por estas leveduras, exacerbando o risco ou a gravidade de tais infecções. Nesse contexto, embora *Candida albicans* seja historicamente a espécie mais prevalente e estudada do gênero (Parambath *et al.*, 2024), *Candida parapsilosis* destaca-se como uma levedura frequente em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), sendo nesse ambiente a segunda ou terceira espécie do gênero mais prevalente no mundo (Asogan *et al.*, 2024). Um dos fatores para sua relevância clínica está na sua elevada capacidade

de formar biofilmes em superfícies abióticas como cateteres e próteses, o que contribui para sua resistência terapêutica e persistência no ambiente hospitalar (Trofa, Gácsér e Nosanchuk, 2008), tornando a investigação da sua interação com os microplásticos especialmente relevante.

Apesar da crescente conscientização sobre os impactos dos microplásticos no ambiente e na saúde humana e do conhecimento acerca da formação de biofilmes por espécies do gênero *Candida* em superfícies abióticas, persistem lacunas no entendimento da interação específica entre microplásticos de poliestireno e a dinâmica de desenvolvimento dos biofilmes dessas importantes espécies fúngicas. Especialmente as consequências dessa interação na modulação de fatores de virulência, como a formação de biofilmes e a produção de enzimas hidrolíticas, e o perfil de suscetibilidade a fármacos antifúngicos são ainda pouco explorados na literatura científica. Dessa forma, a presente pesquisa se justifica pela urgência de elucidar como um problema ambiental onipresente como os microplásticos pode influenciar a patogenicidade de leveduras clinicamente relevantes, contribuindo para uma avaliação mais precisa dos impactos de espécies clinicamente relevantes à saúde humana na era da poluição plástica.

Diante do exposto, e adotando a definição de microplásticos como partículas com diâmetro inferior a 5 mm (Thompson *et al.*, 2009), o objetivo geral deste trabalho foi investigar a interferência de microplásticos de poliestireno na formação do biofilme e em fatores associados à virulência de *C. parapsilosis*, utilizando *C. albicans* como espécie de referência para fins comparativos.

## 2. OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

### 2.1. Objetivo geral

Investigar a interferência de microplásticos de poliestireno na sensibilidade a antifúngicos, formação de biofilme e produção de enzimas hidrolíticas em *C. albicans* ATCC (90028) e em um isolado clínico de *Candida parapsilosis sensu stricto* (2-AGM).

### 2.2. Objetivos específicos

1. Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de *C. albicans* ATCC (90028) e *C. parapsilosis* (2-AGM) aos antifúngicos caspofungina, anfotericina-B, voriconazol e fluconazol.
2. Determinar a interferência dos microplásticos de poliestireno na sensibilidade dos biofilmes de *C. albicans* ATCC (90028) e *C. parapsilosis* (2-AGM) aos antifúngicos caspofungina, anfotericina B, voriconazol e fluconazol.
3. Avaliar o efeito da exposição a microplásticos de poliestireno na produção da biomassa de biofilmes de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*.
4. Verificar a capacidade dos microplásticos em alterar o perfil de carboidratos (quitina e  $\beta$ -glucano) em biofilmes de *C. albicans* e *C. parapsilosis sensu stricto*.
5. Analisar a interferência dos microplásticos de poliestireno na produção de enzimas hidrolíticas: fosfolipase, proteinase e hemolisina em *C. albicans* e *C. parapsilosis*.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Microplásticos

##### 3.1.1. Definição, classificação e fontes

O termo “microplástico” foi introduzido na literatura científica por Thompson et al. (2004) para descrever fragmentos microscópicos de resíduos plásticos, com diâmetros aproximados de 20  $\mu\text{m}$ , observados em sedimentos marinhos. Desde então, a definição de microplásticos evoluiu, e hoje são amplamente reconhecidos como partículas plásticas sólidas formadas por polímeros e outros aditivos, com tamanho igual ou inferior a 5 mm em pelo menos uma dimensão (Thompson *et al.*, 2024). O encontro de especialistas promovido pela *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA) em 2008 (Arthur *et al.*, 2009), não apenas endossou o limite superior de 5 mm para microplásticos, como também debateu limites inferiores, como a sugestão de 333  $\mu\text{m}$  para fins de monitoramento.

Apesar da clareza quanto ao limite superior, a definição de MPs frequentemente engloba partículas de dimensões nanométricas, o que levanta a questão dos nanoplásticos (NPs). Conforme apontado pelo GESAMP (2016), a definição de <5 mm para MPs pode ser confusa por incluir implicitamente partículas em escala nano, cuja própria definição ainda carece de um consenso científico. Na literatura científica, têm sido adotadas diferentes faixas para NPs: alguns estudos consideram partículas menores que 1000 nm (1  $\mu\text{m}$ ), enquanto outros utilizam um limite mais restrito, inferior a 100 nm (GESAMP, 2016; Jiang *et al.*, 2020). Gigault *et al.* (2018) propuseram uma definição mais detalhada para nanoplásticos como partículas na faixa de 1 a 1000 nm, originadas da degradação de objetos plásticos e que podem exibir comportamento coloidal. Assim, enquanto o limite superior de 5 mm para microplásticos e sua natureza química complexa são parâmetros consolidados, a distinção precisa entre os menores microplásticos e os nanoplásticos, bem como uma definição universal para estes últimos, continuam sendo tópicos de discussão e pesquisa na comunidade científica.

Uma das classificações para os microplásticos baseia-se na sua origem, diferenciando-os em primários e secundários. Conforme definido por Cole *et al.* (2011), os MPs primários são aqueles intencionalmente fabricados em dimensões microscópicas para aplicações industriais ou domésticas específicas, enquanto os

secundários são resultantes da decomposição e fragmentação gradual de itens plásticos maiores.

Os microplásticos primários, como também detalhado por *Auta et al.* (2017), abrangem uma diversidade de produtos, desde partículas utilizadas em cosméticos, como esfoliantes faciais, pastas de dente e géis de banho, até pellets de resina plástica empregados como matéria-prima na indústria, ou mesmo como vetores para fármacos. Uma vez introduzidos no ambiente, esses MPs primários são suscetíveis a processos de transporte, tendendo a migrar para sistemas de drenagem e, conseqüentemente, para estações de tratamento de águas residuais, que, mesmo aquelas com tratamentos avançados, frequentemente liberam os MPs no lodo ou nos efluentes tratados, especialmente em países desenvolvidos com intensa atividade industrial (*Kumar et al.*, 2025).

Por outro lado, os microplásticos secundários são predominantes no ambiente, originando-se da lenta degradação de resíduos plásticos maiores (mesoplásticos e macropelásticos) quando expostos às condições ambientais (*Auta et al.*, 2017; *Jolaosho et al.*, 2025). Esse processo de fragmentação, conforme detalhado por *Kumar et al.* (2025), é multifatorial, envolvendo uma complexa interação de mecanismos químicos, físicos e biológicos, que levam a alterações visíveis no material, como descoloração, erosão, delaminação e o desenvolvimento de rachaduras. A radiação ultravioleta (UV) proveniente da luz solar é um dos principais agentes degradativos, provocando a oxidação da matriz polimérica pela absorção de calor e a quebra das ligações C-H (*Kumar et al.*, 2025), um processo que também pode resultar na lixiviação de aditivos químicos incorporados ao plástico (*Cole et al.*, 2011). Fungos, algas e outros microrganismos também podem contribuir para a biodegradação parcial dos plásticos (*Kumar et al.*, 2025). Ademais, atividades humanas, como processos de reciclagem que envolvem etapas mecânicas também foram identificadas como fontes de MPs secundários. A combinação de intemperismo ambiental, ações mecânicas (*Issac e Kandasubramanian*, 2024) e a gestão inadequada de resíduos, particularmente em países em desenvolvimento, exacerbam a formação e a abundância destas partículas nos ecossistemas (*Kumar et al.*, 2025).

Ambos os tipos de microplásticos, primários e secundários, são encontrados em altas concentrações nos diversos ecossistemas, e a contínua

fragmentação em partículas menores amplia o espectro de organismos capazes de ingeri-las e interagir com elas (Auta *et al.*, 2017).

Além da origem, os microplásticos (MPs) são diversos em sua composição química, derivando de uma ampla gama de polímeros sintéticos ou semi-sintéticos. Essa diversidade é importante para entender as propriedades de cada tipo de plástico, como densidade, hidrofobicidade e presença de grupos funcionais, que determinam seu comportamento no ambiente. Os principais tipos de polímeros plásticos e suas aplicações comuns, conforme apresentado por Bajt (2021), estão no Quadro 1.

**Quadro 1** - Principais tipos de polímeros plásticos, suas siglas e aplicações comuns.

Nome do Polímero	Sigla	Aplicações comuns
Polietileno Tereftalato	PET	Recipientes para bebidas, detergentes e manteiga, filmes plásticos, embalagens para micro-ondas.
Polietileno de Alta Densidade	PEAD/HDPE	Recipientes opacos para bebidas e detergente, sacos de lixo, potes de iogurte e margarina, caixas plásticas.
Polietileno de Baixa Densidade	PEBD/LDPE	Sacos para alimentos, filmes plásticos, frascos flexíveis, móveis, pisos, cortinas de chuveiro.
Polipropileno	PP	Tampas de garrafa, frascos de ketchup, potes de iogurte e margarina, frascos de remédios, canudos, recipientes plásticos opacos.
Policloreto de Vinila	PVC	Brinquedos, embalagens transparentes, tubos médicos, materiais de construção, recipientes para óleo, detergente e xampu.
Poliestireno	PS	Recipientes para alimentos, caixas de ovos, copos/pratos/talheres descartáveis, caixas de CDs.
Poliamida	PA	Fibras, linhas de pesca, cerdas de

		escovas, tubulações.
Policarbonato	PC	CDs, óculos, janelas de segurança, semáforos e lentes.

Fonte: Adaptado de Bajt (2021).

A prevalência desses diferentes tipos de polímeros como MPs tem sido investigada em diversos compartimentos ambientais. As fontes terrestres são reconhecidas como os principais pontos de entrada dessas partículas no ambiente (Kushwaha *et al.*, 2024). Em lixiviados de aterros sanitários, por exemplo, a composição dos MPs é largamente atribuída à produção local de resíduos plásticos e às práticas de gestão de resíduos sólidos. Embora mais de 28 tipos de polímeros tenham sido identificados nesses ambientes, estudos indicam que polietileno (PEBD e PEAD), poliestireno (PS), polipropileno (PP), PVC e PET são os mais abundantes (Kabir *et al.*, 2023). De forma similar, em amostras de Estações de Tratamento de Águas Residuais, os polímeros mais frequentemente detectados incluem polietileno, polipropileno e poliestireno, seguidos por acrílicos, PVC, PET e outros em menores proporções (Yaseen *et al.*, 2022).

A caracterização de microplásticos em ecossistemas marinhos, de água doce e estuarinos mostram a prevalência de certos polímeros como PE, PP, PS, PET, PVC, nylon (PA) e poliuretano (PU) (Kushwaha *et al.*, 2024; Ajith *et al.*, 2020).

No solo, partículas plásticas que atingem a superfície podem ser incorporadas para o interior do solo. O manejo agrícola, a ação de animais como minhocas, que ingerem e transportam essas partículas, e a infiltração de água são exemplos de como essas partículas podem chegar a camadas mais profundas do solo (Dissanayake *et al.*, 2022). Os tipos de polímeros comumente encontrados no solo são PE e PP, seguidos por PA, PS, PVC e poliéster (PET), sendo o polietileno o mais predominante em solos agrícolas globalmente, muitas vezes associado ao uso de filmes plásticos na agricultura, acompanhado por PP, PET, PVC e PA, refletindo o amplo uso de materiais sintéticos nessas práticas e no descarte de resíduos (Yang *et al.*, 2021).

Conseqüentemente, os ambientes aquáticos frequentemente funcionam como o destino final para uma grande quantidade de microplásticos. A caracterização de MPs em ecossistemas marinhos, de água doce e estuarinos

consistentemente mostra a prevalência de polímeros como PE, PP, PS, PET, PVC, nylon (PA) e poliuretano (PU) (Kushwaha *et al.*, 2024; Ajith *et al.*, 2020)

A contaminação atmosférica por MPs também é uma realidade, embora suas fontes permaneçam, em grande parte, desconhecidas. Segundo O'Brien *et al.* (2023), as principais vias incluem a interface ar/água, desgaste de pneus, a abrasão pelo vento e a fragmentação de tecidos sintéticos. No ar de ambiente externo, os MPs mais predominantes são os de PET e PE, seguidos por PS, PP, PA, PVC e outros em menor número. Acima dos oceanos, os plásticos identificados incluem uma gama similar, como PET, PE, PP, PS e PVC (O'Brien *et al.*, 2023).

### **3.1.2. Microplásticos de poliestireno**

O PS é um polímero sintético aromático, derivado do monômero estireno (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>, caracterizado por sua alta massa molecular (Ho *et al.*, 2017; Abnisa e Alaba, 2021). Em sua forma pura, é um plástico rígido, incolor, com flexibilidade limitada e certa fragilidade, apresentando baixa resistência ao vapor de água e oxigênio (McKeen, 2014; Abnisa e Alaba, 2021). Contudo, suas propriedades como brilho, rigidez, transparência e resistência a arranhões o tornam um material de escolha para muitas aplicações (Gausepohl e Niessner, 2001).

Comercialmente, o poliestireno é encontrado em diferentes tipos, como o poliestireno de uso geral (GPPS), poliestireno de alto impacto (HIPS), e espuma de poliestireno, incluindo o poliestireno expandido (EPS) (Ho *et al.*, 2017). Essa versatilidade se reflete em sua vasta gama de aplicações. No setor de embalagens, o PS é amplamente utilizado para produtos alimentícios e não-alimentícios, como copos e talheres descartáveis, caixas de ovos, potes de cosméticos e capas de CDs (Gausepohl e Niessner, 2001; McKeen, 2014). Na indústria, é empregado como isolante em construções e em revestimentos para refrigeração, além de ser usado em carcaças para equipamentos elétricos e eletrônicos (Gausepohl e Niessner, 2001).

Um outro campo de aplicação do poliestireno é na área da saúde, onde é utilizado na fabricação de uma variedade de materiais descartáveis de laboratório, como placas de Petri, componentes para cultura de tecidos, frascos e pipetas, além de instrumentos de diagnóstico e outros dispositivos médicos devido ao seu baixo custo, rigidez e transparência (Gausepohl e Niessner, 2001; McKeen, 2014).

O uso massivo do poliestireno, especialmente em produtos descartáveis para os setores alimentício e médico, resulta em sua alta prevalência como componente do lixo plástico. A sua fragilidade pode facilitar sua fragmentação em microplásticos secundários no ambiente. Ademais, as suas características o tornam um substrato de grande interesse para a investigação de interações com sistemas biológicos, como a adesão microbiana e a formação de biofilmes fúngicos.

### **3.2. Microplásticos e saúde humana**

A exposição humana a microplásticos é uma realidade inevitável, ocorrendo por três vias principais: ingestão, inalação e contato dérmico (Pironti *et al.*, 2021). A ingestão pode ocorrer pelo consumo de alimentos e bebidas armazenados em recipientes plásticos, como os de polipropileno (PP), poliestireno (PS) e polietileno (PE), enquanto a inalação se dá pela presença de partículas e fibras de MPs suspensas no ar, originadas principalmente do desgaste de pneus (Li *et al.*, 2023). Embora a pele intacta seja considerada uma barreira eficaz, o contato dérmico através de cosméticos que contêm MPs, como cremes e esfoliantes aumenta o risco de exposição (Li *et al.*, 2023). Além dessas rotas comuns, procedimentos médicos invasivos também podem representar uma via de acesso direto dos MPs à corrente sanguínea e aos tecidos (Enyoh *et al.*, 2020).

Uma vez no organismo, as partículas menores de microplásticos têm a capacidade de serem absorvidas e translocadas para outras partes do corpo através do sistema circulatório (Ramsperger *et al.*, 2023; Prata, 2023). A evidência dessa bioacumulação é vasta, com a detecção de MPs em diversos tecidos, órgãos e fluidos humanos, incluindo vasos sanguíneos, coração, fígado, baço, rins, pulmões, cérebro, placenta, leite materno, sêmen e fezes (Roslan *et al.*, 2024; Prata, 2023).

Os efeitos toxicológicos decorrentes dessa exposição são variados. Os MPs podem induzir toxicidade, causando estresse oxidativo, lesões inflamatórias, distúrbios metabólicos e neurotoxicidade, além de estarem associados a um risco aumentado de câncer (Rahman *et al.*, 2021; Prata *et al.*, 2020). Em experimentos com modelos animais, a exposição oral a MPs demonstrou ser capaz de alterar a composição do microbioma intestinal, levando a um quadro de disbiose (Ramsperger *et al.*, 2023).

Além da sua toxicidade intrínseca, os microplásticos podem atuar como vetores para contaminantes químicos e biológicos. Eles podem adsorver proteínas e oligoelementos nocivos, como metais pesados, do ambiente e transportá-los para dentro do corpo (Prata, 2023; Khan *et al.*, 2024). Mais preocupante ainda é a sua capacidade de servir como nicho ecológico para a colonização de microrganismos, formando biofilmes que constituem a “plastisfera” (Zettler *et al.*, 2013). Esse microecossistema pode abrigar e transportar patógenos para humanos como *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* e espécies de *Cryptococcus* (Khan *et al.*, 2024; Gkoutselis *et al.*, 2021). Também foi demonstrado que esses biofilmes em MPs podem servir como reservatórios e vetores para a disseminação de genes de resistência a antibióticos, apresentando um grave risco à saúde pública global (Wu *et al.*, 2019).

### 3.3. Plastisfera

A superfície dos microplásticos no ambiente aquático oferece um nicho ecológico único para a colonização microbiana. Essa colonização foi denominada “Plastisfera” por Zettler *et al.* (2013), que, ao analisarem detritos plásticos marinhos, revelaram uma comunidade diversa composta por heterótrofos, autótrofos, predadores e simbiontes. A atratividade dos MPs como substrato para esses microrganismos se deve a várias características, como o fornecimento de uma superfície estável e com grande área de superfície, tornando-se um ambiente propício para o crescimento e as atividades metabólicas dos microrganismos (Wang *et al.*, 2022).

A comunidade da plastisfera é funcionalmente distinta daquela de vida livre na coluna d’água, exibindo, por exemplo, maior atividade heterotrófica e abrigando produtores primários, o que resulta em uma respiração microbiana mais elevada à medida que o biofilme se desenvolve (Arias-Andrés *et al.*, 2018). A formação desse biofilme é uma estratégia importante, pois não apenas proporciona proteção aos microrganismos, mas também facilita sua dispersão, transformando a superfície plástica em um microambiente com alta diversidade, competição, especialização e transferência genética (Oberbeckmann *et al.*, 2015). Observa-se, dentro desta comunidade, a dominância de fungos do filo Ascomycota (Gkoutselis, 2021), ao qual o gênero *Candida* pertence.

Uma das implicações mais preocupantes da plastisfera é seu papel como vetor de patógenos, o que pode ser exacerbado por processos como a Transferência Horizontal de Genes e a conjugação (Junaid *et al.*, 2022). Conseqüentemente, vários gêneros bacterianos contendo espécies patogênicas para humanos, peixes e plantas têm sido frequentemente encontrados em MPs aquáticos, incluindo espécies dos gêneros *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas* e *Arcobacter* (Junaid *et al.*, 2022; Amaral-Zettler *et al.*, 2020).

Essa capacidade dos microplásticos de abrigar e transportar microrganismos patogênicos levanta questões importantes sobre o potencial de patógenos fúngicos oportunistas, como as leveduras do gênero *Candida*, também utilizarem essas partículas como substrato. Isso estabelece a base para investigar se os MPs podem influenciar o desenvolvimento de biofilmes de *Candida* e, conseqüentemente, sua patogenicidade, que é o foco central desta pesquisa.

### 3.4. Gênero *Candida*

O gênero *Candida* pertence ao filo Ascomycota e é representado por leveduras unicelulares ou bicelulares, de formato oval, elíptico ou cilíndrico, medindo de 3 a 5  $\mu\text{m}$ , e são capazes de desenvolver hifas verdadeiras ou pseudo-hifas ramificadas (López-Martínez, 2010). Em indivíduos saudáveis, as espécies de *Candida* são membros inofensivos da microbiota, residindo no trato gastrointestinal, na cavidade oral e no trato vaginal (Maccallum, 2012). Estima-se que praticamente todos os indivíduos carreguem *Candida* em seu trato gastrointestinal, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente identificada, seguida por *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e outras (Maccallum, 2012). No entanto, essa relação de comensalismo pode ser rompida, e essas leveduras podem atuar como patógenos oportunistas que causam infecções em hospedeiros com respostas fisiológicas ou imunológicas alteradas (Maccallum, 2012).

As infecções causadas por *Candida*, conhecidas como candidíase, abrangem um espectro que vai desde infecções superficiais em mucosas até infecções sistêmicas graves, podendo ocorrer tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em imunocompetentes (de Barros *et al.*, 2020). A relevância clínica do gênero é enorme; as espécies de *Candida* são classificadas como o quarto principal agente de infecções associadas aos cuidados de saúde em

todo o mundo e apresentam a maior taxa de mortalidade bruta entre todas as infecções nosocomiais da corrente sanguínea (de Barros *et al.*, 2020).

Embora *C. albicans* seja a espécie patogênica mais prevalente, estudos recentes têm demonstrado uma frequência crescente de infecções causadas por espécies de *Candida não-albicans* (NAC), como *C. auris*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (Huang *et al.*, 2025). Essa mudança epidemiológica é preocupante, uma vez que as espécies NAC estão frequentemente associadas a taxas de mortalidade mais elevadas em comparação com *C. albicans* e, muitas vezes, exibem resistência aos antifúngicos comumente utilizados (Huang *et al.*, 2025).

A capacidade patogênica do gênero *Candida* é sustentada por uma série de fatores de virulência, como a transição morfológica entre as formas de levedura e hifa (dimorfismo), a capacidade de alternância fenotípica, a expressão de adesinas e invasinas na superfície celular que facilitam a adesão e invasão tecidual, a secreção de enzimas hidrolíticas e a superexpressão de bombas de efluxo, que contribuem para a resistência a fármacos (Junior *et al.*, 2023). Geneticamente, o genoma de *Candida* contém famílias de genes associadas à patogenicidade, como a família ALS (adesinas) e a família SAP (proteases aspartil secretadas) (Huang *et al.*, 2025).

Dentre todos os fatores de virulência, a formação de biofilme é fundamental, pois potencializa o estabelecimento de infecções persistentes e de difícil tratamento no hospedeiro humano (Cavalheiro e Teixeira, 2018). Os biofilmes de *Candida*, frequentemente envolvidos em infecções de mucosas e sistêmicas, são notoriamente resistentes aos antifúngicos e às defesas do hospedeiro, tornando o tratamento um grande desafio (Cavalheiro e Teixeira, 2018). O tratamento da candidíase baseia-se em fármacos antifúngicos que podem ser fungistáticos (inibem o crescimento) ou fungicidas (matam o fungo), e que atuam em diferentes processos celulares, como a biossíntese da parede celular, da membrana celular ou do RNA (Bhattacharya *et al.*, 2020). A eficácia das abordagens terapêuticas, no entanto, é drasticamente reduzida pela formação de biofilmes (Cavalheiro e Teixeira, 2018), consolidando essas estruturas como um alvo de estudo indispensável na patogênese fúngica.

### 3.5. *Candida albicans*

*Candida albicans* é a espécie fúngica mais frequentemente isolada na cavidade oral, sendo responsável pela maioria dos casos de candidíase e compondo a microbiota oral e gastrointestinal de indivíduos saudáveis (Talapko *et al.*, 2021). Em situações normais, *C. albicans* pode conferir benefícios ao hospedeiro, como o treinamento do sistema imune inato e o estímulo de respostas Th17, que podem oferecer proteção a outros patógenos (Kumamoto *et al.*, 2020). Essa relação, contudo, pode ser alterada em algumas situações. Fatores como o uso de antibióticos de amplo espectro que desequilibram a microbiota intestinal, danos à mucosa intestinal ou um comprometimento da resposta imune, como a neutropenia, são gatilhos para a transição de *C. albicans* de um estado comensal para uma forma patogênica (Lim *et al.*, 2021). Em pacientes severamente imunodeprimidos, a infecção pode evoluir de superficial para invasiva, resultando em infiltração tecidual profunda e evolução para candidíase sistêmica, frequentemente caracterizada pela presença do fungo na corrente sanguínea (candidemia) (Talapko *et al.*, 2021).

Uma das características mais notáveis de *C. albicans* é o seu polimorfismo, ou seja, a capacidade de alternar entre diferentes formas celulares, incluindo leveduras, pseudo-hifas, hifas e clamidósporos (Noble *et al.*, 2016). A forma de levedura, considerada padrão em muitas condições, é unicelular, de formato redondo a oval, e está associada tanto à manutenção da simbiose na pele, vagina e cavidade oral, quanto à formação de biofilmes (Chen *et al.*, 2020; Noble *et al.*, 2016). Em contraste, as formas filamentosas estão diretamente relacionadas à virulência. As hifas são estruturas tubulares e multicelulares, com cerca de 2 µm de largura, cuja transição é um passo essencial para a patogênese, sendo induzidas por condições como a temperatura corporal (37°C) e pH alcalino (Chen *et al.*, 2020). Já as pseudo-hifas, embora também alongadas, são morfologicamente distintas por apresentarem uma constrição nos pontos de junção celular e por serem, em média, mais largas que as hifas (Chen *et al.*, 2020). Por fim, sob condições ambientais adversas como hipóxia ou baixa disponibilidade de nutrientes, *C. albicans* pode desenvolver clamidósporos, que são células de resistência grandes, esféricas e de paredes espessas (Noble *et al.*, 2016).

Para que a colonização e invasão ocorram, as células de levedura primeiro aderem a tecidos do hospedeiro, como células epiteliais ou endoteliais. Essa

adesão é mediada por proteínas da família Als (Agglutinin-like sequence) e Hwp1 (Hyphal wall protein 1) (Lopes e Lionakis, 2021). Após a adesão, o fungo forma hifas que penetram ativamente nas células hospedeiras. Esse processo pode ocorrer por meio da endocitose induzida, onde proteínas como a Als3 e Ssa1 se ligam a caderinas na superfície da célula hospedeira e interagem com receptores como EGFR e Her2, ou pela penetração ativa, facilitada pela secreção de enzimas hidrolíticas como proteases, fosfolipases e lipases, que degradam os tecidos (Lopes e Lionakis, 2021).

A formação de hifas também está associada à secreção de candidalísina, uma potente citotoxina que induz a necrose das células epiteliais, permitindo que o fungo atravesse mucosas, como a do trato gastrointestinal e alcance a corrente sanguínea (Lim *et al.*, 2021). Além da candidalísina, derivada da proteína Ece1, outros fatores de virulência associados às hifas incluem as proteases aspárticas secretadas Sap4, Sap5 e Sap6, que são essenciais para a interação com o hospedeiro e a destruição tecidual (Höfs *et al.*, 2016). As consequências de uma infecção invasiva por *C. albicans* vão além da candidíase sistêmica, estando também associada a um aumento na suscetibilidade ao câncer por mecanismos que induzem o dano crônico ao epitélio das mucosas, a produção de carcinógenos e a indução de inflamação crônica (Yu e Liu, 2022).

### **3.6. *Candida parapsilosis***

Dentro do grupo das espécies de *Candida* não-*albicans*, *Candida parapsilosis* se destaca como a segunda ou terceira espécie mais prevalente em quadros de candidíase, ocupando a segunda posição nos isolamentos de casos invasivos no sul da Europa, em partes da Ásia e na América Latina, enquanto *C. albicans* permanece como a principal causa de candidíase invasiva no mundo (Tóth *et al.*, 2019). Sua ameaça é particularmente grave para recém-nascidos, principalmente prematuros e de baixo peso, representando uma proporção significativa dos casos de candidíase neonatal e pediátrica (Govrins e Lass-Flörl, 2024; Tóth *et al.*, 2019).

Morfologicamente, *C. parapsilosis* é caracterizada por células que podem ser ovais, redondas ou cilíndricas, e suas colônias têm aparência branca, com aspecto cremoso e brilhante, quando cultivada em ágar Sabouraud Dextrose (Trofa

*et al.*, 2008). Sua principal diferença em relação à *C. albicans* é a ausência de hifas verdadeiras, existindo apenas como levedura ou na forma de pseudo-hifas (Amann *et al.*, 2025).

A virulência de *C. parapsilosis* se dá especialmente pela sua capacidade de adesão, tanto a superfícies bióticas, como o epitélio mucoso do hospedeiro, quanto a superfícies abióticas, como materiais de dispositivos médicos (Amann *et al.*, 2025; Branco *et al.*, 2023), sendo esta habilidade a base para a formação de biofilmes. O biofilme de *C. parapsilosis* é composto por um agregado de blastoconídios e pseudo-hifas, com uma matriz extracelular rica em carboidratos e pobre em proteínas (Branco *et al.*, 2023). Essa capacidade de persistir em superfícies inertes explica o elevado risco de infecções relacionadas a cateteres em pacientes debilitados e sua persistência no ambiente nosocomial (Martin-Gomez e Puig-Asensio, 2023).

Por ser comumente encontrada na pele, *C. parapsilosis* é facilmente transmitida de forma cruzada, seja pelas mãos de profissionais de saúde ou por materiais contaminados (Martin-Gomez e Puig-Asensio, 2023). Sua adesão a materiais como o acrílico é potencializada na presença de glicose e soluções de nutrição parenteral, o que a torna um patógeno frequente em infecções hospitalares que acometem neonatos (Junior *et al.*, 2023). Todos esses fatores favorecem o cenário de surtos hospitalares de difícil controle (Martin-Gomez e Puig-Asensio, 2023).

Além da adesão e do biofilme, a patogenicidade de *C. parapsilosis* é reforçada pela secreção de enzimas hidrolíticas como lipases, fosfolipases e proteases aspárticas secretadas (SAPs), que contribuem para o dano celular e a invasão tecidual (Amann *et al.*, 2025). Embora existam sequências para até 14 proteases aspárticas, apenas os genes *SAPP1*, *SAPP2* e *SAPP3* foram descritos. As enzimas *Sapp1* e *Sapp2*, por exemplo, demonstraram a capacidade de clivar componentes do sistema complemento do hospedeiro (C3b e C4b), auxiliando na evasão da resposta imune, enquanto lipases como a *Lip1* e *Lip 2* também se destacam como importantes fatores de patogenicidade (Gaffar *et al.*, 2025).

### 3.7. Biofilmes de *Candida spp.*

O desenvolvimento de biofilmes é um dos principais atributos de virulência do gênero *Candida*, estando envolvido na maioria das infecções associadas a estas leveduras (Mba e Nweze, 2020). Um biofilme é definido como uma comunidade microbiana complexa e organizada, na qual as células estão aderidas a uma superfície, que pode ser biótica ou abiótica, e se encontram envoltas por uma matriz extracelular (MEC) polimérica (Mba e Nweze, 2020; Eix e Nett, 2020). Essa matriz atua como um material protetor para as células de *Candida*, potencializando sua capacidade de colonização, adesão, formação de hifas e penetração nos tecidos do hospedeiro (Mba e Nweze, 2020).

A formação do biofilme de *Candida* é um processo dinâmico que ocorre em etapas sequenciais. A primeira fase é a adesão, na qual as células planctônicas aderem a uma superfície adequada, agregam-se em microcolônias e, subsequentemente, formam uma monocamada basal, um processo que pode levar cerca de 11 horas *in vitro* (Malinovská *et al.*, 2023). A seguir, ocorre a fase de proliferação, que dura de 12 a 30 horas, caracterizada por um aumento no número de células e pelo início da filamentação (Malinovská *et al.*, 2023). Finalmente, na fase de maturação, que se completa em aproximadamente 72 horas, o biofilme atinge sua arquitetura tridimensional que consiste em uma rede complexa com múltiplas camadas de células polimórficas, que pode incluir leveduras, hifas e pseudo-hifas, encapsuladas pela matriz extracelular (Malinovská *et al.*, 2023).

A estrutura do biofilme e a composição da matriz extracelular podem variar entre as espécies do gênero *Candida*. O biofilme de *C. albicans*, por exemplo, está associado à sua capacidade de transição morfológica e tipicamente apresenta duas camadas distintas: uma camada basal fina, composta por leveduras, e uma camada superior espessa e compacta, rica em hifas (Silva *et al.*, 2017). Em contraste, o biofilme de *C. parapsilosis*, por não formar hifas verdadeiras, tende a ser mais fino, menos organizado e composto quase exclusivamente por agregados de leveduras e pseudo-hifas (Silva *et al.*, 2017). A matriz de *C. albicans* é rica em carboidratos, proteínas, hexosamina, fósforo e ácido urônico, enquanto a de *C. parapsilosis* contém grandes quantidades de carboidratos, mas é pobre em proteínas (Silva *et al.*, 2017).

Os mecanismos de construção da matriz extracelular ainda estão sendo elucidados. Foi demonstrado que espécies do gênero *Candida* liberam vesículas extracelulares durante a formação do biofilme, as quais transportam componentes essenciais da matriz, como os polissacarídeos glucana e manana, distribuindo-os por toda a estrutura (Kaub e Nobile, 2023). Uma correspondência significativa entre o proteoma das vesículas extracelulares e da matriz indica que as vesículas funcionam como transportadores ativos para a deposição dos componentes da matriz extracelular (Massey *et al.*, 2023). As vesículas extracelulares também contribuem para a resistência a fármacos, pois certas proteínas desempenham um papel no sequestro de antifúngicos dentro do complexo de glucana-manana, que compõe a matriz (Kaub e Nobile, 2023).

As implicações clínicas de um biofilme maduro se dão principalmente pela capacidade de resistir tanto às defesas do hospedeiro quanto à terapia antifúngica. A matriz extracelular funciona como um escudo que protege as células encapsuladas do ataque imunológico, ocultando componentes da parede celular que normalmente seriam reconhecidos por células imunes como os neutrófilos e impedindo a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Eix e Nett, 2020; Mba e Nweze, 2020). A disrupção dessa matriz demonstrou ser capaz de restaurar a atividade dos neutrófilos contra o biofilme (Eix e Nett, 2020). A resistência dos biofilmes a antifúngicos, por sua vez, é um processo complexo e multifatorial que vai além da barreira física imposta pela MEC. Ele envolve também modificações no microambiente interno do biofilme, que podem antagonizar a ação farmacológica, e modificações fisiológicas nas próprias células, que as tornam intrinsecamente menos suscetíveis ao tratamento (Mba e Nweze, 2020). A resistência também é ativamente promovida pela superexpressão de genes de bombas de efluxo, como CDR1, CDR2 e MDR1, por alterações nos genes da via de biossíntese do ergosterol e da síntese de beta-glucana, como SKN1 e KRE1 (Czajka *et al.*, 2023).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Microrganismos e condições de cultivo

Para a realização dos ensaios, foram utilizadas duas cepas de leveduras do gênero *Candida*: uma cepa de referência de *Candida albicans* (ATCC 90028) e um isolado clínico de *Candida parapsilosis* (código 2-AGM). O isolado clínico foi obtido do Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), em Fortaleza-CE, e sua utilização foi aprovada pelo Comitê de Ética da instituição, sob o número 4.207.133. As cepas foram mantidas em meio Ágar Batata Dextrose (PDA) e, antes de cada experimento, incubadas em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas para garantir a viabilidade celular.

### 4.2. Preparo e caracterização dos microplásticos de poliestireno

Foram utilizadas partículas de poliestireno obtidas comercialmente (número de catálogo 43302; Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). As partículas se apresentam em suspensão aquosa a uma concentração de 10% de sólidos, com densidade de 1,05 g/cm<sup>3</sup> e tamanho médio de 100 nm (desvio padrão ≤ 0.01 μm).

Para a execução dos ensaios, a suspensão comercial foi diluída em solução de tampão fosfato-salino (PBS) estéril para atingir uma concentração de trabalho de 2% (m/v). Essa suspensão foi previamente esterilizada por exposição à luz ultravioleta em uma cabine de fluxo laminar por um período de 30 minutos antes de cada experimento. O preparo da solução de 2% teve como objetivo obter uma concentração final de 1% no ensaio, ao se misturar volumes iguais da suspensão de microplásticos de poliestireno e da suspensão de leveduras em meio RPMI-1640 com concentração dobrada (x2).

### 4.3. Ensaio de formação de biofilme

As suspensões de leveduras foram preparadas a partir das culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis*, cultivadas em meio PDA. O inóculo foi preparado em meio RPMI-1640 (x2) e a turbidez foi ajustada para o padrão 1,0 na escala McFarland, aproximadamente 3x10<sup>7</sup> células/mL.

O ensaio foi conduzido em placas de microtitulação de 96 poços com fundo chato. Para os grupos de teste, cada poço foi preenchido com 100 μL da suspensão de cada levedura e 100 μL da suspensão de microplásticos a 2%, totalizando um volume final de 200 μL, seguindo um protocolo adaptado de Freire et

*al.* (2017). Desta forma, a concentração final do ensaio foi de 1% para os microplásticos e 1X para o meio RPMI.

Além dos grupos de teste, foram introduzidos os seguintes grupos controle:

- Controle Positivo: 100 µL da suspensão fúngica + 100 µL de PBS estéril;
- Controle Negativo: 200 µL de meio RPMI-1640 estéril;
- Controle dos Microplásticos: 100 µL da suspensão de microplásticos + 100 µL de meio RPMI.

As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas, sob agitação orbital constante a 150 RPM, para promover o contato entre as células e as partículas e permitir a formação do biofilme.

#### **4.4. Quantificação da biomassa do biofilme**

Após o período de incubação, a biomassa total do biofilme foi quantificada pelo método de coloração com cristal violeta (CV), conforme descrito por Cordeiro *et al.* (2014). Primeiramente, o conteúdo dos poços foi removido por pipetagem e cada poço foi lavado duas vezes com 200 µL de PBS estéril para remover células planctônicas e os microplásticos em suspensão. Em seguida, a placa foi seca à temperatura ambiente, e os biofilmes foram fixados com 200 µL de metanol absoluto por 10 minutos.

Após a remoção do metanol e secagem completa, foram adicionados 200 µL de uma solução de cristal violeta 0,3% por 10 minutos. O excesso de corante foi descartado e os poços foram lavados três vezes com 200 µL de PBS estéril e a placa foi novamente submetida a secagem. Por fim, o corante incorporado à biomassa foi solubilizado com 200 µL de ácido acético 33% adicionado em cada poço. A intensidade da cor foi medida por espectrofotometria em um leitor de microplacas, determinando-se a absorvância a um comprimento de onda de 590 nm.

#### **4.5. Sensibilidade a antifúngicos**

##### **4.5.1. Concentração Inibitória Mínima**

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo, conforme as diretrizes do documento M60 (2020) do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Foram testados quatro antifúngicos obtidos comercialmente: fluconazol (cód: PHR1160-1G; Merck KGaA®, Darmstadt, Alemanha), voriconazol (cód: Y0001395; European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, Estrasburgo, França), caspofungina (cód: SML0425-25MG; MilliporeSigma®, Burlington, EUA) e anfotericina B (cód: A2942-20ML; Sigma-Aldrich®, St. Louis EUA). O inóculo foi preparado em meio RPMI-1640 a partir de uma suspensão inicial padronizada para a concentração de 0,5 na escala de McFarland, aproximadamente  $3 \times 10^6$  células/mL. Essa suspensão foi subsequentemente diluída para se atingir uma concentração final de 0,5 a  $2,5 \times 10^3$  células/mL.

Para a determinação da CIM, foi realizada a diluição seriada dos antifúngicos em placas de microtitulação de 96 poços com fundo em “U”, com todas as concentrações testadas em duplicata. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, e a leitura foi realizada visualmente. Para o fluconazol, o voriconazol e a caspofungina, a CIM foi definida como a menor concentração do fármaco capaz de promover uma redução de 50% na turbidez do crescimento, em comparação com o controle sem antifúngico. Para a anfotericina B, a CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento visível.

Este ensaio foi realizado tanto na ausência de microplásticos, a fim de determinar o perfil de suscetibilidade das células planctônicas, cujos valores de CIM foram utilizados como referência para o ensaio descrito na seção 4.5.2, quanto na presença de microplásticos.

#### **4.5.2. Atividade antifúngica sobre os biofilmes maduros**

Para avaliar a atividade dos fármacos sobre os biofilmes, primeiramente os biofilmes foram formados em placas de 96 poços, conforme descrito na seção 4.3, por um período de 48 horas.

Após a formação do biofilme, o meio de cultura foi cuidadosamente removido, e os poços foram lavados com PBS estéril para remover as células planctônicas e os microplásticos (Pierce *et al.*, 2008). Em seguida, 200 µL de meio RPMI-1640 estéril, contendo antifúngico em uma concentração correspondente a dez vezes o valor da CIM planctônica de cada cepa, foram adicionados aos poços contendo o biofilme maduro. As placas foram novamente incubadas a 37°C por 24

horas. Ao final desse período, a biomassa do biofilme de cada poço foi quantificada pelo método de coloração com cristal violeta, como descrito na seção 4.4.

#### **4.6. Determinação do teor de carboidratos no biofilme**

Para a determinação de carboidratos, os biofilmes foram previamente formados em placas de 96 poços por um período de 48 horas, conforme descrito na seção 4.3. Após este período, os biofilmes foram lavados duas vezes com solução de PBS estéril para remoção das células não-aderidas. Em seguida, seguindo o protocolo de Cordeiro *et al.* (2019), foram adicionados em poços diferentes 100 µL de Calcofluor White a 1% e 100 µL de Vermelho do Congo a 0,1%. A incubação com os corantes ocorreu por 10 minutos, ao abrigo da luz. Para remover o excesso de corante, os poços foram novamente lavados com água ultra-pura.

A leitura da fluorescência para o Calcofluor White foi realizada em leitor de placas Cytation 3 (Biotek, Vermont, EUA), utilizando comprimentos de onda de excitação de 430 nm e de emissão de 510 nm. Para o Vermelho do Congo, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 590 nm.

#### **4.7. Ensaios de atividade enzimática**

##### **4.7.1. Preparo do inóculo**

O inóculo foi preparado a partir das culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis*, conforme a seção 4.1.

Primeiramente, uma suspensão inicial foi preparada em meio RPMI 1640 e padronizada para a escala de 0,5 McFarland. Essa suspensão foi usada para inocular os poços da placa de microtitulação de 96 com fundo “U” para a etapa de pré-exposição aos microplásticos. No grupo teste, 200 µl das suspensões foram incubados na presença de microplásticos na concentração de 1%. Já para o grupo controle, as suspensões foram incubadas sob as mesmas condições, mas na ausência de microplásticos.

As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas sob agitação orbital de 150 RPM. Após este período, as células foram coletadas por meio de centrifugação a 10000 RPM por 5 minutos. O *pellet* obtido foi lavado com solução salina estéril, ressuspenso e, novamente submetido à centrifugação nas mesmas condições. Por

fim, o *pellet* foi lavado e suspenso em solução salina para o ajuste de turbidez ao padrão de 0,5 McFarland, sendo então utilizado nos ensaios de atividade enzimática.

#### 4.7.2. Ensaio de atividade de proteinase

A atividade de proteinase foi determinada por meio do ensaio em placa com albumina sérica bovina, com base no protocolo descrito por Silva *et al.* (2023). O meio de cultura foi preparado em duas partes: a primeira consistiu em uma base de ágar em 900 mL de água destilada, e a segunda, em uma solução com 2,5 g de complexo vitamínico líquido (PROTOVIT), 11,5 g de caldo sabouraud dextrose e 2g de BSA em 100 mL de água destilada. Após esterilizadas separadamente, as duas partes foram misturadas e transferidas para placas de petri.

Alíquotas de 10 µL do inóculo foram inoculadas na superfície do meio. As placas foram incubadas a 37°C por 5 dias. A produção de proteinase foi verificada pela observação de um halo de precipitação ao redor da colônia, e a atividade proteinásica ( $Z_p$ ) foi determinada pela razão entre o diâmetro da colônia e o diâmetro total da zona de precipitação.

$$Z_p = \text{Diâmetro Colônia} / \text{Diâmetro Colônia} + \text{Precipitação}$$

#### 4.7.3. Ensaio de atividade de fosfolipase

A atividade de fosfolipase foi determinada em um meio de Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) suplementado com gema de ovo, seguindo o procedimento descrito por Silva *et al.* (2023). O meio de cultura foi preparado a partir da dissolução de 65 g de pó de SDA, 58,5 g de cloreto de sódio (NaCl) e 0,55 g de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) em 900 mL de água destilada e, em seguida, foi esterilizado em autoclave. Após o resfriamento a aproximadamente 50°C, foram adicionados assepticamente 100 mL de emulsão da gema de ovo. A solução final foi homogeneizada e distribuída em placas de petri.

Alíquotas de 10 µL do inóculo preparado a partir dos biofilmes foram inoculadas na superfície do meio. As placas foram incubadas a 37°C por 5 dias, e a atividade fosfolipásica ( $Z_p$ ) foi determinada de forma análoga ao ensaio de atividade de proteinase (seção 4.6.2).

#### 4.7.4. Ensaio de atividade de hemolisinas

A produção de hemolisinas das cepas foi avaliada por ensaio em placa (Silva *et al.*, 2023) utilizando placas de ágar sangue preparadas comercialmente (cód. 540159; Laborclin®, São Paulo, Brasil). O meio é constituído por Ágar Triptona de Soja (TSA), suplementado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado.

Alíquotas de 10 µL do inóculo previamente preparado foram adicionadas à superfície das placas de ágar sangue. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação, a atividade hemolítica foi avaliada pela observação de um halo ao redor da colônia. A atividade hemolítica ( $Z_p$ ) foi determinada pela razão entre o diâmetro da colônia e o diâmetro total da zona de precipitação.

#### 4.8. Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em, no mínimo, quadruplicata. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism, versão 8.0.1 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA).

As comparações entre as médias dos grupos foram realizadas por meio da Análise de Variância de duas vias (ANOVA *Two-way*), seguida pelo pós-teste de Bonferroni. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,01$ .

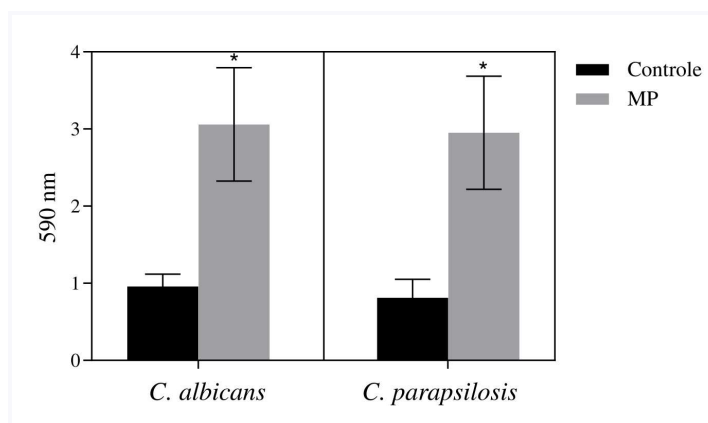
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Quantificação da biomassa do biofilme

A interferência dos microplásticos de poliestireno na capacidade de formação de biofilme por *C. albicans* e *C. parapsilosis* foi avaliada pelo método de cristal violeta após 48 horas de incubação. Os resultados estão apresentados na Figura 1.

A exposição aos MPs de poliestireno resultou em um aumento significativo ( $p < 0,01$ ) na biomassa do biofilme tanto para *C. albicans* quanto para *C. parapsilosis*, quando comparadas aos seus respectivos grupos controle.

**Figura 1** - Quantificação da biomassa do biofilme de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* após exposição aos microplásticos de poliestireno. A biomassa foi quantificada pela absorbância a 590 nm do cristal violeta após 48 horas de incubação. “Controle” refere-se ao biofilme que cresceu sem a presença de microplásticos, enquanto “MP” refere-se ao biofilme exposto aos microplásticos. Os asteriscos (\*) indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre o grupo Controle e MP para cada espécie.



Fonte: Elaborado pelo Autor.

### 5.2. Sensibilidade a antifúngicos

#### 5.2.1. Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O perfil de sensibilidade das cepas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* aos quatro antifúngicos testados foi determinado pelo método de microdiluição. Os valores da CIM estão apresentados na Tabela 2.

Ambas as cepas demonstraram sensibilidade aos antifúngicos nas concentrações testadas. A cepa de *C. albicans* ATCC mostrou-se sensível à caspofungina e ao voriconazol, enquanto que a cepa de *C. parapsilosis* 2-AGM apresentou valores de CIM mais elevados para a caspofungina em comparação com a cepa de *C. albicans*.

Os valores de CIM após a exposição aos microplásticos estão apresentados na Tabela 2. Nessa situação, o perfil de sensibilidade foi parecido, havendo um aumento na CIM de caspofungina e na CIM<sub>50</sub> de fluconazol para *C. parapsilosis*. Além disso, houve uma redução na CIM de anfotericina B para *C. albicans*.

**Tabela 1** - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antifúngicos para as cepas de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*. CAS: Caspofungina; AMB: Anfotericina B; VORI: Voriconazol; FLZ: Fluconazol.

Cepa	CIM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )			
	CAS	AMB	VORI <sub>50</sub>	FLZ <sub>50</sub>
<i>C. albicans</i> ATCC	0,25	1	0,031	1
<i>C. parapsilosis</i> 2-AGM	0,25	0,5	<0,031	0,5

Fonte: Elaborado pelo Autor.

**Tabela 2** - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antifúngicos para as cepas de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* após exposição aos microplásticos. CAS: Caspofungina; AMB: Anfotericina B; VORI: Voriconazol; FLZ: Fluconazol.

Cepa	CIM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )			
	CAS	AMB	VORI <sub>50</sub>	FLZ <sub>50</sub>
<i>C. albicans</i> ATCC + MP	0,25	0,25	0,031	1
<i>C. parapsilosis</i> 2-AGM + MP	0,5	0,5	<0,031	1

Fonte: Elaborado pelo Autor.

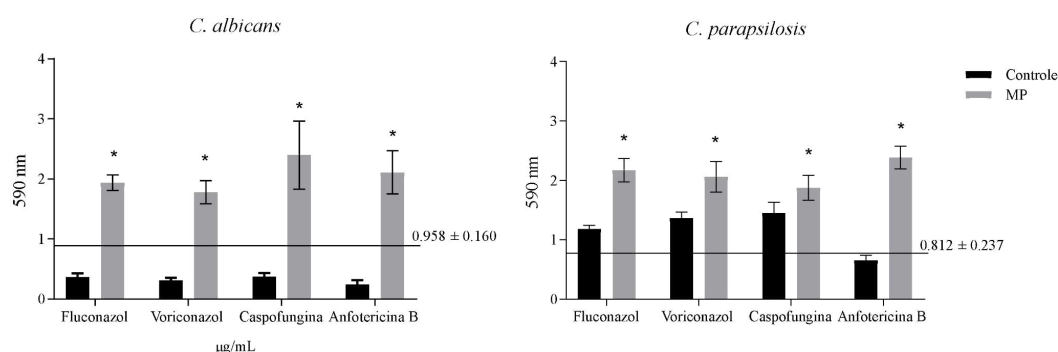
### 5.2.2. Atividade antifúngica sobre os biofilmes maduros

A atividade antifúngica dos fármacos foi avaliada contra biofilmes maduros em concentrações correspondentes a dez vezes a CIM. Para os ensaios, as

seguintes concentrações foram utilizadas: 2,5 µg/mL de caspofungina e 0,31 µg/mL de voriconazol para ambas as cepas; para *C. albicans*, foram utilizadas 10 µg/mL de anfotericina B e 10 µg/mL de fluconazol, enquanto para *C. parapsilosis* as concentrações foram de 5 µg/mL para ambos os fármacos. A biomassa após 24 horas de tratamento foi quantificada pelo método de cristal violeta, e os resultados estão apresentados na Figura 2.

Observou-se que os biofilmes de *C. albicans* e *C. parapsilosis* formados na presença de microplásticos tiveram um aumento significativo na resistência a todos os antifúngicos testados.

**Figura 2** - Biomassa dos biofilmes maduros de *C. albicans* e *C. parapsilosis* formados na presença de microplásticos de poliestireno após ação antifúngica (10x CIM) por 24 horas. A linha horizontal indica a biomassa do biofilme sem tratamento.



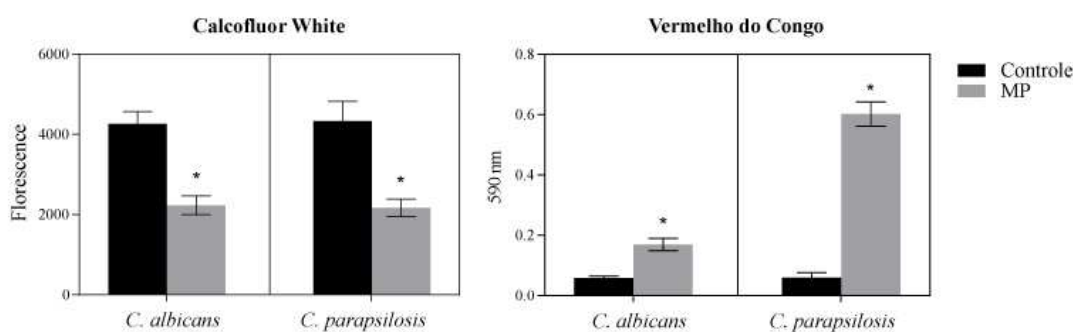
Fonte: Elaborado pelo Autor.

### 5.3. Determinação do teor de carboidratos no biofilme

A influência dos microplásticos no teor de carboidratos da matriz extracelular dos biofilmes foi investigada utilizando os corantes Calcofluor White, que se liga preferencialmente à quitina, e Vermelho do Congo, que possui afinidade por β-glucanas. Os resultados estão compilados na Figura 3.

A análise com Calcofluor White demonstrou que a exposição aos microplásticos promoveu uma redução estatisticamente significativa no conteúdo de quitina da matriz para ambas as espécies, em comparação ao grupo controle. Em contrapartida, a quantificação realizada com Vermelho do Congo apontou que o tratamento com microplásticos induziu um aumento significativo no teor de β-glucanas na matriz.

**Figura 3** - Efeito dos microplásticos (MPs) na quantificação de carboidratos de matriz extracelular de biofilmes de *C. albicans* e *C. parapsilosis*. “Controle” refere-se ao biofilme que cresceu sem a presença de microplásticos, enquanto “MP” refere-se ao biofilme exposto aos microplásticos. Os asteriscos (\*) indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre o grupo Controle e MP para cada espécie.



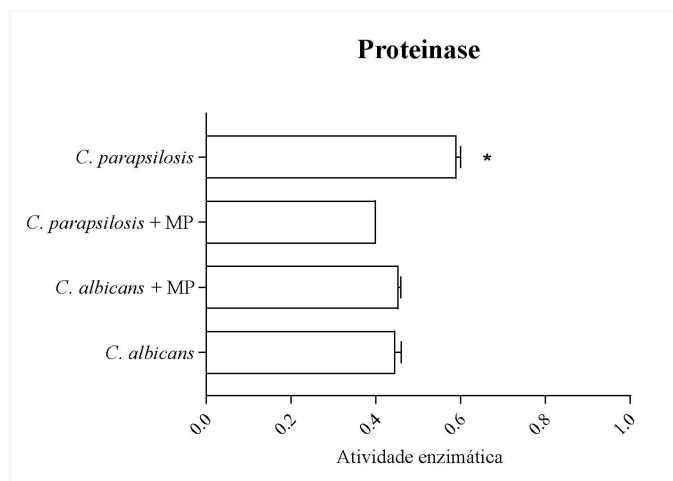
Fonte: Elaborado pelo Autor.

## 5.4. Atividade enzimática

### 5.4.1. Ensaio de atividade de proteinase

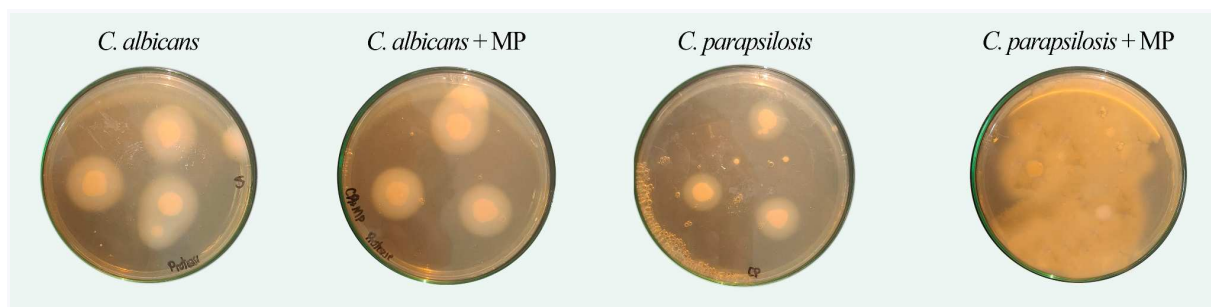
A avaliação da atividade de proteinases extracelulares (Figura 4) apontou que a exposição aos microplásticos (MPs) não resultou em alteração estatisticamente significativa na secreção desta enzima por *C. albicans*. Em contraste, para *C. parapsilosis*, foi observado um aumento significativo na atividade enzimática na presença dos MPs quando comparada ao grupo controle.

**Figura 4** - Atividade da enzima proteinase em culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na ausência e na presença de microplásticos (+MP). O asterisco indica diferença estatisticamente significativa.



Fonte: Elaborado pelo Autor.

**Figura 5** - Fotografias de placas com meio ágar Sabouraud Dextrose suplementado com BSA após o ensaio de atividade de proteinase em culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na ausência e na presença de microplásticos (+MP). O halo indica formação da enzima hidrolítica.

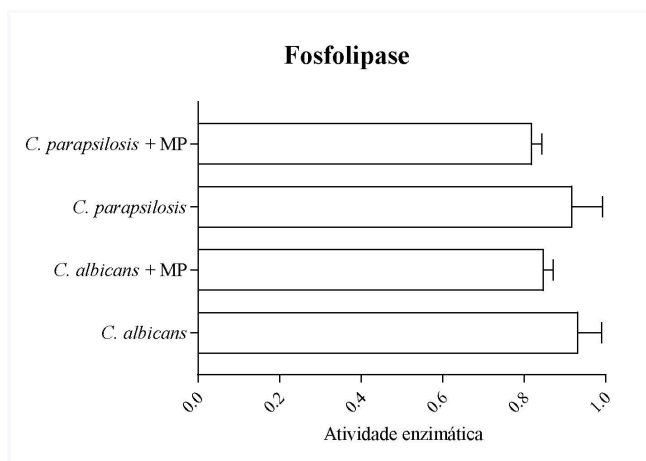


Fonte: Elaborado pelo Autor.

#### 5.4.2. Ensaio de atividade de fosfolipase

No ensaio para a atividade de fosfolipases, a presença de microplásticos não induziu mudanças estatisticamente significativas na produção desta enzima para nenhuma das espécies testadas (Figura 5). A atividade enzimática nos grupos expostos aos MPs permaneceram semelhantes aos dos respectivos grupos controle.

**Figura 6** - Atividade da enzima fosfolipase em culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na ausência e na presença de microplásticos (+MP).



Fonte: Elaborado pelo Autor.

**Figura 7** - Fotografias de placas com meio ágar batata suplementado com gema de ovo após o ensaio de atividade de fosfolipase em culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na ausência e na presença de microplásticos (+MP). O halo indica formação da enzima hidrolítica.

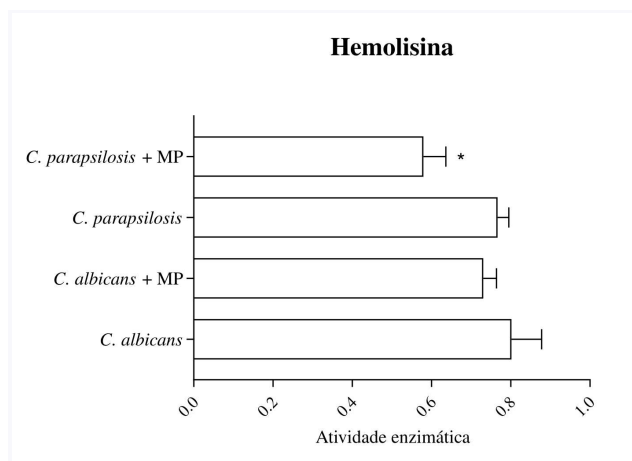


Fonte: Elaborado pelo Autor.

#### 5.4.3. Ensaio de atividade de hemolisina

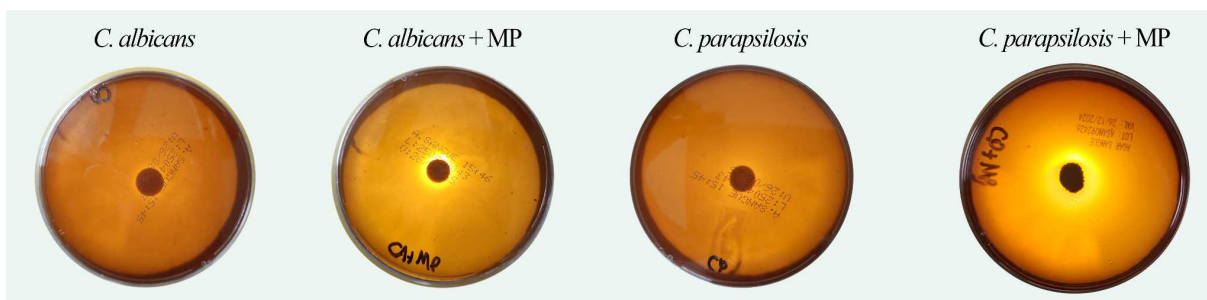
A análise da atividade hemolítica (Figura 6) apontou que, para *C. albicans*, não foi detectada diferença significativa entre os grupos controle e teste. Entretanto, para *C. parapsilosis*, a exposição aos MPs provocou um aumento estatisticamente significativo na atividade desta enzima.

**Figura 8** - Atividade de hemolisina em culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na ausência e na presença de microplásticos (+MP). O asterisco indica diferença estatística significativa.



Fonte: Elaborado pelo Autor.

**Figura 9** - Fotografias de placas com meio ágar sangue após o ensaio de atividade de hemolisina em culturas de *C. albicans* e *C. parapsilosis* na ausência e na presença de microplásticos (+MP). O halo indica formação da enzima hidrolítica.



Fonte: Elaborado pelo Autor.

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que os microplásticos de poliestireno não são um substrato inerte, mas sim um provável modulador da virulência de *C. albicans* e *C. parapsilosis*. Os resultados apresentados indicam que a exposição a essas partículas promove um aumento significativo na biomassa do biofilme, altera a composição da matriz extracelular e, como consequência, eleva a resistência aos antifúngicos. Este trabalho, portanto, estabelece uma preocupante conexão entre a poluição plástica e a virulência de fungos clinicamente relevantes.

O aumento expressivo da biomassa em ambas as espécies durante as 48 horas de crescimento (Figura 1) indica que os microplásticos interferem diretamente na fase de desenvolvimento do biofilme. O estudo de Maione *et al.*, 2023 indicou que os microplásticos não alteram a adesão inicial, mas sim a fase de maturação do biofilme. Este achado reforça a hipótese de que os microplásticos podem funcionar menos como facilitadores da adesão inicial e mais como uma estrutura de sustentação, promovendo uma arquitetura tridimensional mais complexa. Além disso, considerando que os ensaios foram realizados sob condições de agitação constante, é plausível que a integridade do biofilme tenha sido influenciada por um mecanismo conhecido como “ligações de captura”. Neste fenômeno, forças de tração fortalecem as ligações de adesinas na superfície celular, podendo resultar em interações mais fortes entre as células e o substrato plástico (Chan e Lipke, 2014). Outrossim, a presença dessas partículas pode atuar como um estressor, estimulando a superprodução de matriz extracelular como componente estrutural e mecanismo de defesa.

A modificação do biofilme parece ser uma resposta adaptativa a estímulos físicos e químicos promovidos pelos microplásticos. O estudo de Jasinska *et al.*, 2022 demonstrou que a exposição a microplásticos induziu a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) em *Trichoderma harzianum*, caracterizando um estresse oxidativo. O contato com superfícies também pode ativar vias de mecanotransdução e a via de integridade da parede celular (CWI), que regulam a reorganização da matriz (Mishra, Minc e Peter, 2022; Banda-Flores *et al.*, 2025). Nesse sentido, foi demonstrado que estressores de superfície em *C. albicans* ativam a quinase Mkc1, o principal regulador da via CWI (Heilmann *et al.*, 2013). Os dados apresentados sobre a composição da MEC (Figura 3) sugerem que a resposta

celular se altera com o tempo. Kollu e Lajeunesse (2021) observaram que nas primeiras horas de contato com superfícies nanoestruturadas, a quitina é superexpressada em células de *C. albicans*, apresentando uma queda a níveis próximos do controle em seguida. Assim, a diminuição da quitina e o aumento expressivo de  $\beta$ -glucana visualizados no biofilme maduro (Figura 3) podem estar associados a um redirecionamento metabólico, de modo que a célula priorizaria a fortificação da MEC com  $\beta$ -glucana como uma estratégia de maturação do biofilme. Este achado, no entanto, contrasta com a resposta de reforço clássica de outros estressores de parede, como o calor, que normalmente induzem um aumento nos níveis de quitina para fortalecer a parede celular (Heilmann *et al.*, 2013). Isso sugere que, no contexto da exposição aos microplásticos, as células do biofilme priorizam a fortificação da matriz extracelular com  $\beta$ -glucana por ser mais vantajosa como um todo para a comunidade.

A modulação da expressão de enzimas hidrossolúveis, contudo, variou entre as espécies (Figuras 4-9). O aumento da atividade de proteinase em *C. parapsilosis* é consistente com sua conhecida afinidade por superfícies abióticas, como catéteres (Trofa, Gácsér e Nosanchuk, 2008), sugerindo que essa espécie apresenta mecanismos adaptativos para interagir e obter nutrientes do hospedeiro após se estabelecerem em materiais sintéticos. Em contrapartida, a ausência de resposta enzimática significativa em *C. albicans* sugere que sua principal estratégia adaptativa aos MPs pode estar voltada para a transição morfológica para hifas, um dos seus principais fatores de virulência (Chen *et al.*, 2020), em vez da secreção de enzimas hidrolíticas.

O aumento significativo da atividade hemolítica em *C. parapsilosis* após exposição aos microplásticos é um resultado de grande interesse, visto que esta atividade é geralmente relatada como baixa ou ausente na maioria dos isolados clínicos (Chow, Linden e Bliss, 2012; Ziccardi *et al.*, 2015). Uma possível explicação para essa indução pode estar na resposta de colonização de superfícies abióticas. A relevância deste achado reside no fato de que as hemolisinas têm como função principal a aquisição de ferro para o metabolismo fúngico, sendo um importante fator de virulência (Ziccardi *et al.*, 2015).

A implicação clínica mais relevante deste trabalho, apresentada na Figura 2, é o aumento expressivo da resistência do biofilme a todos os antifúngicos testados. A evidência de um acúmulo significativo de  $\beta$ -glucana na matriz

extracelular (Figura 3) pode explicar este fenômeno. A literatura confirma que a MEC rica neste polissacarídeo atua como uma barreira que sequestra os fármacos, impedindo que atinjam as células-alvo (Pierce *et al.*, 2017). Embora este mecanismo possa ser o principal responsável, a resistência em biofilmes é multifatorial. É provável que a matriz do biofilme atue em sinergia com outros mecanismos, como a superexpressão de bombas de efluxo (Czajka *et al.*, 2023), criando um microambiente eficaz à terapia antifúngica.

Por fim, os achados deste estudo expandem o conceito de “plastisfera” (Zettler *et al.*, 2013), apresentando implicações relevantes para a saúde humana. Este microecossistema não deve ser visto apenas como um vetor passivo de microrganismos, mas como um ambiente capaz de modular a virulência de leveduras. Considerando a detecção de microplásticos na corrente sanguínea humana (Leslie *et al.*, 2022) e a capacidade de *Candida spp.* de causar infecções sanguíneas graves (Salmanton-García *et al.*, 2024), os resultados levantam a hipótese de que a interação entre MPs e fungos do gênero *Candida* possa ocorrer *in vivo*. A contaminação plástica por seres humanos pode representar um fator de risco até então negligenciado, capaz de agravar a severidade de infecções fúngicas sistêmicas e impor barreiras nas terapias convencionais.

Apesar da clareza dos resultados, este estudo possui limitações que oferecem direcionamentos para pesquisas futuras. Primeiramente, o modelo *in vitro* não replica a complexidade do hospedeiro; trabalhos futuros devem incorporar modelos com células do sistema imunológico para investigar se a interação com microplásticos também confere proteção contra a resposta imune. Em segundo lugar, a utilização de uma única cepa clínica e uma cepa de referência destaca a necessidade de analisar um número maior de isolados clínicos para verificar se o efeito observado é consistente entre as populações das espécies testadas. Por fim, o foco exclusivo nos microplásticos de poliestireno de 100 nm pode exigir investigações com outros polímeros e tamanhos de microplásticos, que podem modular os fatores de virulência de maneiras distintas. A elucidação desses pontos será fundamental para compreender o impacto da poluição plástica nas doenças infecciosas.

## 7. CONCLUSÃO

O presente estudo investigou a interferência de microplásticos de poliestireno sobre fatores de virulência de *C. albicans* e *C. parapsilosis*, concluindo que estas partículas podem modular estes fatores. Foi demonstrado que a exposição aos microplásticos promove um aumento significativo da biomassa do biofilme, onde as partículas podem atuar na maturação da estrutura tridimensional. Os resultados apontam que essa interação pode desencadear um redirecionamento metabólico na célula fúngica, resultando na diminuição da quitina e no acúmulo expressivo de  $\beta$ -glucana na matriz extracelular. Essa alteração na composição da MEC pode ser a principal responsável pelo aumento significativo da resistência dos biofilmes às diferentes classes de antifúngicos testadas.

Em conjunto, os achados deste trabalho estabelecem uma ligação preocupante entre a contaminação plástica e a virulência de patógenos fúngicos, destacando um fator de risco emergente e, até o momento, negligenciado para a saúde humana, com potencial de agravar infecções e comprometer as terapias convencionais.

## 8. REFERÊNCIAS

ABNISA, Faisal; ALABA, Peter Adeniyi. Recovery of liquid fuel from fossil-based solid wastes via pyrolysis technique: a review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 6, p. 106593, out. 2021. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343721015700#bib22>>. Acesso em: 8 jun. 2025.

AJITH, Nithin et al. Global distribution of microplastics and its impact on marine environment—a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 21, p. 25970–25986, 7 maio 2020. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-020-09015-5>>. Acesso em: 5 jun. 2025.

AMANN, Valerie et al. Biofilm-Associated Candidiasis: Pathogenesis, Prevalence, Challenges and Therapeutic Options. **Pharmaceuticals**, v. 18, n. 4, p. 460–460, 25 mar. 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1424-8247/18/4/460>>. Acesso em: 13 jun. 2025.

AMARAL-ZETTLER, Linda A.; ZETTLER, Erik R.; MINCER, Tracy J. Ecology of the plastisphere. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 139–151, 14 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41579-019-0308-0>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

AMATO-LOURENÇO, Luís Fernando et al. Microplastics in the Olfactory Bulb of the Human Brain. **JAMA Network Open**, v. 7, n. 9, p. e2440018–e2440018, 3 set. 2024. Disponível em:

<[https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2823787?guestAccessKey=c7ff20a1-e12a-48d5-88e9-8a57ae084c10&utm\\_source=for\\_the\\_media&utm\\_medium=referral&utm\\_campaign=ftm\\_links&utm\\_content=tf&utm\\_term=091624](https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2823787?guestAccessKey=c7ff20a1-e12a-48d5-88e9-8a57ae084c10&utm_source=for_the_media&utm_medium=referral&utm_campaign=ftm_links&utm_content=tf&utm_term=091624)>. Acesso em: 5 jun. 2025.

ARIAS-ANDRES, Maria et al. Microplastics: New substrates for heterotrophic activity contribute to altering organic matter cycles in aquatic ecosystems. **Science of The Total Environment**, v. 635, p. 1152–1159, set. 2018. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718313743?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

ARTHUR, Courtney; BAKER, Joel; BAMFORD, Holly. **Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris**. [S.l.]: NOAA Marine Debris Division, 2009. Disponível em:

<<https://marinedebris.noaa.gov/microplastics/proceedings-international-research-workshop-microplastic-marine-debris>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

ASOGAN, Mrudhula et al. *Candida parapsilosis*: A systematic review to inform the World Health Organization fungal priority pathogens list. **Medical Mycology**, v. 62, n. 6, 27 jun. 2024. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/mmy/article/62/6/myad131/7700352>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

- AUTA, H.S.; EMENIKE, C.U; FAUZIAH, S.H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. **Environment International**, v. 102, p. 165–176, maio 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016041201631011X?via%3Dihub#bb0130>>. Acesso em: 4 jun. 2025.
- BAJT, Oliver. From plastics to microplastics and organisms. **FEBS Open Bio**, v. 11, n. 4, 17 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8016121/>>. Acesso em: 4 jun. 2025.
- BANDA-FLORES, Iván A. et al. Resilience in Resistance: The Role of Cell Wall Integrity in Multidrug-Resistant Candida. **Journal of Fungi**, v. 11, n. 4, p. 271, 1 abr. 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/11/4/271>>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- BHATTACHARYA, Somanon; SAE-TIA, Sutthichai; FRIES, Bettina C. Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 312, 9 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/9/6/312#B29-antibiotics-09-00312>>. Acesso em: 9 jun. 2025.
- BRANCO, Joana; MIRANDA, Isabel M.; RODRIGUES, Acácio G. Candida parapsilosis Virulence and Antifungal Resistance Mechanisms: A Comprehensive Review of Key Determinants. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 80, 1 jan. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/9/1/80>>. Acesso em: 14 jun. 2025.
- BROWN, Alistair J. P. et al. Stress adaptation in a pathogenic fungus. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, n. 1, p. 144–155, 1 jan. 2014. Disponível em: <<https://journals.biologists.com/jeb/article/217/1/144/11995/Stress-adaptation-in-a-pathogenic-fungus>>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- CAVALHEIRO, Mafalda; TEIXEIRA, Miguel Cacho. Candida Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. **Frontiers in Medicine**, v. 5, 13 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2018.00028/full#B1>>. Acesso em: 9 jun. 2025.
- CHAN, Cho; LIPKE, Peter N. Role of Force-Sensitive Amyloid-Like Interactions in Fungal Catch Bonding and Biofilms. **Eukaryotic Cell**, v. 13, n. 9, p. 1136–1142, 29 mar. 2014. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4187618/>>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- CHEN, Hui et al. The regulation of hyphae growth in Candida albicans. **Virulence**, v. 11, n. 1, p. 337–348, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7161696/>>. Acesso em: 10 jun. 2025.
- CHOW, Brian DW; LINDEN, Jennifer R; BLISS, Joseph M. *Candida parapsilosis* and the neonate: epidemiology, virulence and host defense in a unique patient setting.

**Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 10, n. 8, p. 935–946, 1 ago. 2012. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3498909/>>. Acesso em: 24 jul. 2025.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd ed. CLSI standard M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

COLE, Matthew et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588–2597, dez. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X11005133>>. Acesso em: 29 maio 2025.

CORDEIRO, R. d. A. et al. Candida tropicalis isolates obtained from veterinary sources show resistance to azoles and produce virulence factors. **Medical Mycology**, v. 53, n. 2, p. 145–152, 30 dez. 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article/53/2/145/2812401>>. Acesso em: 15 jul. 2025.

CORDEIRO, Rossana de Aguiar et al. Cefepime and Amoxicillin Increase Metabolism and Enhance Caspofungin Tolerance of Candida albicans Biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 28 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.01337/full>>. Acesso em: 25 jul. 2025.

CZAJKA, Karolina et al. Molecular Mechanisms Associated with Antifungal Resistance in Pathogenic Candida Species. **Cells**, v. 12, n. 22, p. 2655–2655, 19 nov. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4409/12/22/2655>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

DE BARROS, Patrícia Pimentel et al. Candida Biofilms: An Update on Developmental Mechanisms and Therapeutic Challenges. **Mycopathologia**, v. 185, n. 3, p. 415–424, 10 abr. 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-020-00445-w>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

DISSANAYAKE, Pavani Dulanja et al. Effects of microplastics on the terrestrial environment: A critical review. **Environmental Research**, v. 209, p. 112734, jun. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935122000615?via%3Dihub>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

EIX, Emily F.; NETT, Jeniel E. How Biofilm Growth Affects Candida-Host Interactions. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 25 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.01437/full>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

ENYOH, Christian Ebere et al. The Plastic Within: Microplastics Invading Human Organs and Bodily Fluids Systems. **Environments**, v. 10, n. 11, p. 194, 1 nov. 2023. Disponível em:

<<https://www.mdpi.com/2076-3298/10/11/194#B19-environments-10-00194>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

FREIRE, Julliana Cariry Palhano et al. Antifungal Activity of Essential Oils against *Candida albicans* Strains Isolated from Users of Dental Prostheses. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1–9, 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/7158756/>>. Acesso em: 24 jul. 2025.

GAFFAR, Nidaa Riaz; VALAND, Nisha; VENKATRAMAN GIRIJA, Umakhanth. Candidiasis: Insights into Virulence Factors, Complement Evasion and Antifungal Drug Resistance. **Microorganisms**, v. 13, n. 2, p. 272, 25 jan. 2025. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/13/2/272>>. Acesso em: 13 jun. 2025.

GAUSEPOHL, H.; NIESSNER, N. **Polystyrene and Styrene Copolymers**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B0080431526013899>>. Acesso em: 8 jun. 2025.

GIGAULT, Julien et al. Current opinion: What is a nanoplastic? **Environmental Pollution**, v. 235, p. 1030–1034, abr. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749117337247?via%3Dihub>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

GKOUTSELIS, Gerasimos et al. Microplastics accumulate fungal pathogens in terrestrial ecosystems. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 15 jul. 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-021-92405-7>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

GOVRINS, Miriam; LASS-FLÖRL, Cornelia. *Candida parapsilosis* complex in the clinical setting. **Nature Reviews Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 46–59, 1 jan. 2024. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41579-023-00961-8>>. Acesso em: 12 jun. 2025.

HEILMANN, Clemens J. et al. Surface stress induces a conserved cell wall stress response in the pathogenic fungus *Candida albicans*. **Eukaryotic Cell**, v. 12, n. 2, p. 254–264, 1 fev. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23243062/>>. Acesso em: 21 jul. 2025.

HO, Ba Thanh; ROBERTS, Timothy K.; LUCAS, Steven. An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 2, p. 308–320, 1 ago. 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07388551.2017.1355293>>. Acesso em: 8 jun. 2025.

HÖFS, Sarah; MOGAVERO, Selene; HUBE, Bernhard. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. **Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 149–169, 27 fev. 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12275-016-5514-0>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

HUANG, Xin et al. Genomics insights of candidiasis: mechanisms of pathogenicity and drug resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, 27 fev. 2025. Disponível em:

<<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2025.1531543/full>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

ISSAC, Merlin N; KANDASUBRAMANIAN, Balasubramanian. Effect of microplastics in water and aquatic systems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 16, 2 mar. 2021. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-021-13184-2>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

JASIŃSKA, Anna et al. Microplastic-Induced Oxidative Stress in Metolachlor-Degrading Filamentous Fungus *Trichoderma harzianum*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 12978, 26 out. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36361770/>>. Acesso em: 21 jul. 2025.

JIANG, Baorong et al. Health impacts of environmental contamination of micro- and nanoplastics: a review. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 25, n. 1, 14 jul. 2020. Disponível em:

<<https://environhealthprevmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12199-020-00870-9>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

JOLAOSHO, Toheeb Lekan et al. Microplastics in freshwater and marine ecosystems: Occurrence, characterization, sources, distribution dynamics, fate, transport processes, potential mitigation strategies, and policy interventions.

**Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 294, p. 118036, 18 mar. 2025.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651325003720>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

JUNAID, Muhammad et al. Enrichment and dissemination of bacterial pathogens by microplastics in the aquatic environment. **Science of The Total Environment**, v. 830, p. 154720, mar. 2022. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722018137?via%3Dihub#s0080>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

JUNIOR, Diniz Pereira Leite et al. The *Candida* Genus Complex: Biology, Evolution, Pathogenicity Virulence and One Health Aspects, Beyond the *Candida albicans* Paradigm. A Comprehensive Review. **Virology & Immunology Journal**, v. 7, n. 4, p. 1–38, 8 nov. 2023. Disponível em:

<<https://medwinpublishers.com/VIJ/the-candida-genus-complex-biology-evolution-pathogenicity-virulence-and-one-health-aspects-beyond-the-candida-albicans-paradigm-a-comprehensive-review.pdf>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

KABIR, Mosarrat Samiha et al. Microplastics in landfill leachate: Sources, detection, occurrence, and removal. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 16, p. 100256, fev. 2023. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666498423000212?via%3Dihub#bib11>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

KAUR, Jaspreet; NOBILE, Clarissa J. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. **Current Opinion in Microbiology**, v. 71, p. 102237, fev. 2023. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527422001217?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

KHAN, Saimah et al. Reviewing the role of microplastics as carriers for microorganisms in absorbing toxic trace elements. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 34, p. 46806–46819, 8 jul. 2024. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-024-34070-7>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

KOLLU, Naga Venkatesh; LAJEUNESSE, Dennis R. Cell Rupture and Morphogenesis Control of the Dimorphic Yeast *Candida albicans* by Nanostructured Surfaces. **ACS Omega**, v. 6, n. 2, p. 1361–1369, 4 jan. 2021. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.0c04980>>. Acesso em: 21 jul. 2025.

KUMAMOTO, Carol A; GRESNIGT, Mark S; HUBE, Bernhard. The gut, the bad and the harmless: *Candida albicans* as a commensal and opportunistic pathogen in the intestine. **Current Opinion in Microbiology**, v. 56, p. 7–15, ago. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527420300667?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

KUMAR, Pawan et al. Microplastics influencing aquatic environment and human health: A review of source, determination, distribution, removal, degradation, management strategy and future perspective. **Journal of Environmental Management**, v. 375, p. 124249, fev. 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479725002257?via%3Dihub>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

KUSHWAHA, Manzari et al. Microplastics pollution in the marine environment: A review of sources, impacts and mitigation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 209, p. 117109, dez. 2024. Disponível em: <[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X24010865?ref=pdf\\_download&fr=RR-2&rr=94b4f0be08f4f61b](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X24010865?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=94b4f0be08f4f61b)>. Acesso em: 6 jun. 2025.

LESLIE, Heather A. et al. Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. **Environment International**, v. 163, n. 107199, p. 107199, 24 mar. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412022001258>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

LI, Yue et al. Potential Health Impact of Microplastics: A Review of Environmental Distribution, Human Exposure, and Toxic Effects. **Environment & Health**, v. 1, n. 4, 10 ago. 2023. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/envhealth.3c00052>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

LIM, Si Jie et al. Opportunistic yeast pathogen *Candida* spp.: Secreted and membrane-bound virulence factors. **Medical Mycology**, v. 59, n. 12, p. 1127–1144, 3 dez. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34506621/>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

LIU, Weiyi et al. A review of the removal of microplastics in global wastewater treatment plants: Characteristics and mechanisms. **Environment International**, v. 146, p. 106277, jan. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412020322327?via%3Dihub#b0590>>. Acesso em: 28 maio 2025.

LOPES, José Pedro; LIONAKIS, Michail S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 89–121, 29 dez. 2021. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2021.2019950#d1e788>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

LÓPEZ-MARTÍNEZ, Rubén. Candidosis, a new challenge. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 2, p. 178–184, mar. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X09002569?via%3Dihub#bib3>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

MACCALLUM, Donna M. Hosting Infection: Experimental Models to Assay *Candida* Virulence. **International Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 1–12, 2012. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2012/363764>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

MAIONE, Angela et al. Polystyrene Microplastics Exacerbate *Candida albicans* Infection Ability In Vitro and In Vivo. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 1, p. 12–12, 19 dez. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/1/12>>. Acesso em: 21 jul. 2025.

MALINOVSKÁ, Zuzana; ČONKOVÁ, Eva; VÁCZI, Peter. Biofilm Formation in Medically Important *Candida* Species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 10, p. 955, 1 out. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/9/10/955>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

MARTÍN-GÓMEZ, María Teresa; PUIG-ASENSIO, Mireia. *C. parapsilosis*: The importance of an emerging pathogen. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 41, n. 2, p. 67–69, fev. 2023. Disponível em: <<https://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-c-parapsilosis-the-importance-an-S0213005X22001884>>. Acesso em: 13 jun. 2025.

MASSEY, Justin; ZARNOWSKI, Robert; ANDES, David. Role of the extracellular matrix in *Candida* biofilm antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 47, n. 6, 10 out. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/femsre/fuad059>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

MBA, Ifeanyi Elibe; NWEZE, Emeka Innocent. Mechanism of *Candida* pathogenesis: revisiting the vital drivers. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, n. 10, p. 1797–1819, 6 maio 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-020-03912-w>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

MCKEEN, Laurence W. Plastics Used in Medical Devices. **Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices**, p. 21–53, 2014. Disponível em:

<<http://www.pentasil.eu/images/Plastics%20Used%20in%20Medical%20Devices.pdf>>. Acesso em: 8 jun. 2025.

MISHRA, Ranjan; MINC, Nicolas; PETER, Matthias. Cells under pressure: how yeast cells respond to mechanical forces. **Trends in Microbiology**, v. 30, n. 5, p. 495–510, maio 2022. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X21002729#s0060>>.

Acesso em: 21 jul. 2025.

NOBLE, Suzanne M.; GIANETTI, Brittany A.; WITCHLEY, Jessica N. Candida albicans cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 96–108, 21 nov. 2016. Disponível em:

<<https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.157>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

O'BRIEN, Stacey et al. There's something in the air: A review of sources, prevalence and behaviour of microplastics in the atmosphere. **Science of The Total Environment**, v. 874, p. 162193, 20 maio 2023. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969723008094?via%3Dihub#s0030>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

OBERBECKMANN, Sonja; LÖDER, Martin G. J.; LABRENZ, Matthias. Marine microplastic-associated biofilms – a review. **Environmental Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 551, 2015. Disponível em: <<https://www.publish.csiro.au/en/EN15069>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

PARAMBATH, Sarika et al. Candida albicans—A systematic review to inform the World Health Organization Fungal Priority Pathogens List. **Medical Mycology**, v. 62, n. 6, 27 jun. 2024. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/mmy/article/62/6/myae045/7700346?login=false>>.

Acesso em: 2 jun. 2025.

PARASHAR, Neha; HAIT, Subrata. Plastics in the time of COVID-19 pandemic: Protector or polluter? **Science of The Total Environment**, v. 759, p. 144274, 10 mar. 2021. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720378050>>. Acesso em: 29 maio 2025.

PIERCE, Christopher et al. The Candida albicans Biofilm Matrix: Composition, Structure and Function. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p. 14, 8 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/3/1/14>>. Acesso em: 21 jul. 2025.

PIERCE, Christopher G et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. **Nature Protocols**, v. 3, n. 9, p. 1494–1500, 28 ago. 2008. Disponível em:

<<http://nature.com/articles/nprot.2008.141>>. Acesso em: 24 jul. 2025.

PIRONTI, Concetta et al. Microplastics in the Environment: Intake through the Food Web, Human Exposure and Toxicological Effects. **Toxics**, v. 9, n. 9, p. 224, 1 set. 2021. Disponível em:

<<https://www.mdpi.com/2305-6304/9/9/224/htm#B265-toxics-09-00224>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

PRATA, Joana C. Microplastics and human health: Integrating pharmacokinetics. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 53, n. 16, p. 1–23, 8 abr. 2023. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10643389.2023.2195798#d1e1079>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

PRATA, Joana Correia et al. Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. **Science of The Total Environment**, v. 702, n. 134455, 1 fev. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719344468>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

QIANG, Liyuan; CHENG, Jinping. Exposure to polystyrene microplastics impairs gonads of zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, v. 263, p. 128161, jan. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653520323560#bib36>>. Acesso em: 6 jun. 2025.

RAHMAN, Arifur et al. Potential human health risks due to environmental exposure to nano- and microplastics and knowledge gaps: A scoping review. **Science of The Total Environment**, v. 757, n. 143872, p. 143872, 25 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720374039?via%3Dihub>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

RAMSPERGER, Anja F.R.M. et al. Nano- and microplastics: a comprehensive review on their exposure routes, translocation, and fate in humans. **NanoImpact**, v. 29, p. 100441, jan. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452074822000635?via%3Dihub#s0040>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

ROSLAN, Nur Sakinah et al. Detection of microplastics in human tissues and organs: A scoping review. **Journal of Global Health**, v. 14, 23 ago. 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11342020/>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

SALMANTON-GARCÍA, Jon et al. Attributable mortality of candidemia – Results from the ECMM Candida III multinational European Observational Cohort Study. **Journal of Infection**, v. 89, n. 3, p. 106229–106229, 1 set. 2024. Disponível em: <[https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(24\)00163-4/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(24)00163-4/fulltext)>. Acesso em: 2 jun. 2025.

SIDDIQUI, Shahida Anusha et al. Polystyrene microplastic particles in the food chain: Characteristics and toxicity - A review. **Science of The Total Environment**, v. 892, p. 164531, 20 set. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969723031522#:~:text=2.1.->>. Acesso em: 6 jun. 2025.

SILVA, Maria Láina et al. K-aurein: A notable aurein 1.2-derived peptide that modulates *Candida albicans* filamentation and reduces biofilm biomass. **Amino Acids**, v. 55, n. 8, p. 1003–1012, 13 jul. 2023. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s00726-023-03288-z>>. Acesso em: 27 jun. 2025.

SILVA, Sónia et al. Candida Species Biofilms' Antifungal Resistance. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p. 8, 21 fev. 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/3/1/8>>. Acesso em: 18 jun. 2025.

TALAPKO, Jasminka et al. Candida albicans—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 79, 22 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7912069/>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

THOMPSON, R. C. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? **Science**, v. 304, n. 5672, p. 838–838, 7 maio 2004. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/10.1126/science.1094559>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

\_\_\_\_\_. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2153–2166, 14 jun. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2873021/>>. Acesso em: 28 maio 2025.

THOMPSON, Richard C. et al. Twenty years of microplastics pollution research—what have we learned? **Science**, v. 386, n. 6720, 19 set. 2024. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39298564/>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

TÓTH, Renáta et al. Candida parapsilosis: from Genes to the Bedside. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, 20 mar. 2019. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00111-18>>. Acesso em: 12 jun. 2025.

TROFA, D.; GACSER, A.; NOSANCHUK, J. D. Candida parapsilosis, an Emerging Fungal Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 4, p. 606–625, 1 out. 2008. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00013-08>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

VIRŠEK, Manca Kovač et al. Microplastics as a vector for the transport of the bacterial fish pathogen species Aeromonas salmonicida. **Marine Pollution Bulletin**, v. 125, n. 1-2, p. 301–309, dez. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X1730694X?via%3Dihub>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

WAN, Zhiqin et al. Effects of polystyrene microplastics on the composition of the microbiome and metabolism in larval zebrafish. **Chemosphere**, v. 217, p. 646–658, fev. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653518321775#bib95>>. Acesso em: 6 jun. 2025.

WANG, Yan et al. Distribution, biological effects and biofilms of microplastics in freshwater systems - A review. **Chemosphere**, v. 299, p. 134370, jul. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653522008633?via%3Dihub#bib159>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

WU, Xiaojian et al. Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm. **Water Research**, v. 165, p. 114979, nov. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135419307535?via%3Dihub#sec4>>. Acesso em: 14 jun. 2025.

YANG, Ling et al. Microplastics in soil: A review on methods, occurrence, sources, and potential risk. **Science of The Total Environment**, v. 780, p. 146546, 1 ago. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969721016144?via%3Dihub#f0020>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

YASEEN, Aarif et al. A global review of microplastics in wastewater treatment plants: Understanding their occurrence, fate and impact. **Environmental Research**, v. 212b, p. 113258, abr. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935122005850?via%3Dihub#bib5>>. Acesso em: 4 jun. 2025.

YU, Dalang; LIU, Zhiping. The research progress in the interaction between *Candida albicans* and cancers. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 28 set. 2022. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.988734/full>>. Acesso em: 10 jun. 2025.

ZETTLER, Erik R.; MINCER, Tracy J.; AMARAL-ZETTLER, Linda A. Life in the “Plastisphere”: Microbial Communities on Plastic Marine Debris. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 13, p. 7137–7146, 19 jun. 2013. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es401288x>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

ZICCARDI, Mariangela et al. *Candida parapsilosis* (sensu lato) isolated from hospitals located in the Southeast of Brazil: Species distribution, antifungal susceptibility and virulence attributes. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 305, n. 8, p. 848–859, dez. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422115300023?via%3Dihub>>. Acesso em: 24 jul. 2025.