

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

ANA LETÍCIA CAPRONI BONILHA

ANÁLISE COMPARATIVA DA RESPOSTA ANTIFÚNGICA DE *Candida albicans* E ESPÉCIES NÃO-*albicans* DE *Candida* spp. EM PRESENÇA DE *Lactobacillus* spp. E SEUS METABÓLITOS.

ALFENAS/MG

2025

ANA LETÍCIA CAPRONI BONILHA

ANÁLISE COMPARATIVA DA RESPOSTA ANTIFÚNGICA DE *Candida albicans* E
ESPÉCIES NÃO-*albicans* DE *Candida* spp. EM PRESENÇA DE *Lactobacillus* spp. E
SEUS METABÓLITOS.

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do
título de Doutora em Ciências Farmacêuticas, pela
Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração:
Ciências Farmacêuticas – linha 2 (Microbiologia e
Parasitologia aplicadas às Ciências Farmacêuticas)
Orientadora: Prof^a Dra. Amanda Latercia Tranches Dias

ALFENAS/MG

2025

Sistemas de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Biblioteca Central

Caproni Bonilha, Ana Letícia .

Análise comparativa da resposta antifúngica de *Candida albicans* E espécies não-*albicans* de *Candida* spp. em presença de *Lactobacillus* spp. e seus metabólitos: estudo clínico / Ana Letícia Caproni Bonilha. - Alfenas, MG, 2025.

148 f. : il. -

Orientador(a): Amanda Latercia Tranches Dias.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. *Candida* spp.. 2. *Lactobacillus* spp.. 3. Fluconazol. 4. Lactato de sódio. 5. Peróxido de hidrogênio. I. Tranches Dias, Amanda Latercia, orient.
II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

ANA LETÍCIA CAPRONI BONILHA

"ANÁLISE DIFERENCIAL DA RESPOSTA A ANTIFÚNGICOS POR *Candida albicans* E ESPÉCIES NÃO-*albicans* DE *Candida* EM INTERAÇÃO BIOTRÓFICA COM *Lactobacillus* SPP. E SEUS METABÓLITOS"

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas

Aprovada em: 08 de maio de 2025.

Profa. Dra. Amanda Latercia
Tranches Dias Presidente da Banca
Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Masaharu Ikegaki
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Sandra Maria Oliveira
Morais Veiga Instituição:
Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Marcos José Marques
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Maria Rita Rodrigues
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Amanda Latércia Tranches Dias**,
Professor do Magistério Superior, em 09/05/2025, às 23:38, conforme horário
oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º,

§ 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1510357** e o código CRC **AC3811D6**.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Este estudo investiga a interação entre espécies de *Candida* e *Lactobacillus*, com foco na capacidade de formação de biofilmes e na sensibilidade aos antifúngicos. A pesquisa destaca a importância de compreender o papel que as espécies de *Candida*, particularmente *Candida albicans*, desempenham no microbioma humano, onde geralmente atuam como comensais, mas podem se transformar em patógenos em determinadas condições. O trabalho examina, em profundidade, a resposta dos biofilmes de *Candida* spp., tanto recém-formados quanto maduros, quando expostos ao contato com espécies de *Lactobacillus* e seus metabólitos, o lactato de sódio e o peróxido de hidrogênio. Além disso, são avaliadas as interações sinérgicas entre esses metabólitos e o antifúngico amplamente utilizado, fluconazol. Os resultados demonstram que os biofilmes maduros de *Candida* spp. apresentam maior resistência aos tratamentos antifúngicos tradicionais, o que representa um grande desafio em ambientes clínicos, especialmente em infecções hospitalares. No entanto, foi observado que a combinação de metabólitos de *Lactobacillus* spp. (lactato de sódio e peróxido de hidrogênio) com fluconazol tem um efeito sinérgico, levando à evidente redução da atividade metabólica das células fúngicas. Esta combinação foi particularmente eficaz em biofilmes maduros, nos quais a resistência a tratamentos isolados é mais robusta. O estudo sugere que o uso de terapias combinadas, envolvendo antifúngicos e metabólitos de *Lactobacillus*, pode representar uma abordagem inovadora e eficaz para o controle de infecções fúngicas refratárias ao tratamento antifúngico. Esse método pode ter especial relevância no contexto hospitalar, no qual, pacientes imunocomprometidos são particularmente vulneráveis a infecções fúngicas persistentes. O trabalho contribui para a compreensão de estratégias terapêuticas que combinam agentes antifúngicos convencionais com intervenções baseadas no microbioma, abrindo caminhos promissores para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e personalizados.

Palavras-chave: *Candida* spp.; *Lactobacillus* spp; fluconazol; biofilme.

ABSTRACT

This study investigates the interaction between *Candida* and *Lactobacillus* species, focusing on the biofilm-forming capacity and antifungal susceptibility of fungal cells. The research highlights the importance of understanding the role of *Candida* species—particularly *Candida albicans*—in the human microbiome, where they generally act as commensals but can become pathogenic under certain conditions. The work thoroughly examines the response of both early-stage and mature *Candida* spp. biofilms when exposed to *Lactobacillus* species and their metabolites, sodium lactate and hydrogen peroxide. In addition, the synergistic interactions between these metabolites and the widely used antifungal fluconazole are evaluated. The results show that mature *Candida* spp. biofilms exhibit greater resistance to traditional antifungal treatments, which poses a significant challenge in clinical settings, especially in hospital-acquired infections. However, it was observed that the combination of *Lactobacillus* metabolites (sodium lactate and hydrogen peroxide) with fluconazole has a synergistic effect, leading to a marked reduction in the metabolic activity of fungal cells. This combination was particularly effective in mature biofilms, where resistance to isolated treatments tends to be more robust. The study suggests that the use of combined therapies involving antifungal agents and *Lactobacillus* metabolites may represent an innovative and effective approach to managing fungal infections that are refractory to standard antifungal treatment. This method may be particularly relevant in hospital settings, where immunocompromised patients are especially vulnerable to persistent fungal infections. The research contributes to the understanding of therapeutic strategies that combine conventional antifungal agents with microbiome-based interventions, paving the way for the development of more effective and personalized treatments.

Keywords: *Candida* spp.; *Lactobacillus* spp.; fluconazole; biofilm.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	MICROBIOMA HUMANO	14
2.1.1	Fungos no microbioma humano.....	14
2.1.2	Gênero <i>Candida</i> spp.	15
2.1.3	<i>Candida albicans</i>	17
2.2	ESPÉCIES NÃO- <i>albicans</i> DE <i>Candida</i>	18
2.3	DIMORFISMO DE <i>Candida</i> spp.	19
2.3.1	Forma Leveduriforme	20
2.3.2	Forma Filamentosa (Hifas e Pseudohifas).....	20
2.4	BIOFILMES DE <i>Candida</i> spp.	21
2.5	<i>Lactobacillus</i> spp.	23
2.5.1	Benefícios à Saúde	25
2.6	FLUCONAZOL	26
2.7	LACTATO DE SÓDIO	26
2.7.1	Propriedades, Aplicações e Importância	26
2.7.2	Aplicações.....	28
2.7.3	Benefícios e Considerações	29
2.8	PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	29
2.8.1	Usos Comuns.....	29
3	OBJETIVOS	31
3.1	OBJETIVO GERAL	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	LOCAL DE EXECUÇÃO E AMOSTRAS	32
4.2	CONDIÇÕES DE CULTIVO DAS LINHAGENS	34
4.3	DESENVOLVIMENTO DE BIOFILME POR ISOLADOS DE <i>Candida</i> spp.	34
4.4	FORMAÇÃO DE BIOFILME MISTO DE <i>Lactobacillus</i> spp. e <i>Candida</i> spp.	34
4.4.1	Avaliação da atividade metabólica por redução do sal de tetrazólio (XTT)	35
4.4.2	Avaliação da biomassa com cristal violeta 0,4%	35
4.5	TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp. FRENTE AO FLUCONAZOL	36

4.6	TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp. FRENTE AO LACTATO DE SÓDIO	36
4.7	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp.	37
4.8	TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME RECÉM-ADERIDO DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	37
4.9	TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME MADURO DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	37
4.10	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE BIOFILMES RECÉM-FORMADOS DE AMOSTRAS PADRÕES DE <i>Candida</i> spp.	38
4.11	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE BIOFILMES MADUROS DE AMOSTRAS PADRÕES DE <i>Candida</i> spp.	38
4.12	TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp. FRENTE AO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	38
4.13	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS PADRÕES DE <i>Candida</i> spp.	39
4.14	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO/PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL EM DOSAGENS MAIS BAIXAS SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	39
4.15	EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES RECÉM-FORMADOS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	40
4.16	EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES MADUROS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	40
4.17	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	FORMAÇÃO DE BIOFILME MISTO DE <i>Lactobacillus</i> spp. e <i>Candida</i> spp.	42
5.1.1	Avaliação da atividade metabólica por redução do sal de tetrazólio xtt	42
5.2	AVALIAÇÃO DA BIOMASSA COM CRISTAL VIOLETA 0,4%	48
5.3	TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp. FRENTE AO LACTATO DE SÓDIO	60
5.4	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp.	68
5.5	TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME RECÉM-ADERIDOS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	73
5.6	TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME MADURO DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	92
5.7	TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE <i>Candida</i> spp. FRENTE AO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	101
5.8	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS PADRÕES DE <i>Candida</i> spp.	106

5.9	TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO/PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL EM DOSAGENS MAIS BAIXAS SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	112
5.10	EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES RECÉM-FORMADOS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	116
5.11	EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES MADUROS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE <i>Candida</i> spp.	127
6	CONCLUSÕES	137
	REFERÊNCIAS	138

1 INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Candida* spp., consideradas comensais do ser humano podem tornar-se oportunistas quando existe um desequilíbrio na resposta do sistema imunitário, desencadeando infecções superficiais e ou sistêmicas (Vieira, 2016). *Candida* spp. destacam-se como sendo um dos principais microrganismos promotores de infecções fúngicas sistêmicas, sendo, *C. albicans*, a principal espécie do gênero, tanto em comunidade quanto em ambientes hospitalares (Alp *et al.*, 2015). No entanto, concomitantemente, tem sido observado aumento no número de casos de infecção por espécies não-*albicans* de *Candida* spp., as quais têm se apresentado como resistentes à maioria dos antifúngicos disponíveis, levando a dificuldades de tratamento e aumento de morbi-mortalidade nesses pacientes. Apesar de sua importância clínica, *C. albicans* tem sido assunto de extensivas pesquisas que objetivam desvendar os mecanismos que governam a virulência fúngica e a resistência a fármacos (Shapiro; Robbins; Cowen, 2011). Neste cenário, destaca-se a importância da compreensão das interações intra e inter-reinos tais como as descritas para o microbioma humano, sendo o mesmo descrito como composto por aproximadamente 100 trilhões de microrganismos (Cardoso, 2015). O microbioma humano contém mais genes do que o próprio genoma humano. O microbioma atua no controle da resistência a microrganismos patogênicos, no fortalecimento do sistema imunológico e na absorção de nutrientes (Fanning; Mitchell, 2012; Zangl *et al.*, 2020). Alterações na composição do microbioma, denominadas disbioses, podem resultar em desequilíbrios na relação saúde-doença e podem, em algumas situações, serem manipuladas de modo a restaurar a situação de equilíbrio (Parfrey; Knight, 2012).

No microbioma humano, os microrganismos coexistem, seja em interações entre diferentes gêneros e espécies, dentro de um mesmo reino ou entre sua forma livre, denominada planctônica, ou em sua forma sésil, denominada biofilme. E neste sentido, estudar as implicações destas interações em diferentes aspectos faz-se de grande importância em reinos distintos, tais como as interações biotróficas entre fungos e bactérias, assim como interações verificadas entre *Candida* spp. e *Lactobacillus* spp.

Lactobacillus spp. quando utilizados como probióticos, constituem-se em microrganismos vivos que exercem função benéfica sobre os seres humanos, desde que administrados em quantidades adequadas. O gênero apresenta várias espécies e cepas, com grande variação de forma e tamanho, podendo estar na forma de bastonete, na forma cocóide até a forma filamentosa ou espiral (Rajab *et al.*, 2020). Além disso, várias espécies de *Lactobacillus*

spp. são parte da microbiota normal do trato gastrointestinal urogenital dos seres humanos e animais (Åvall-Jääskeläinen *et al.*, 2005).

As espécies do gênero *Candida* spp. também são encontradas em diferentes sítios corporais tais como mucosas e trato gastrointestinal. No entanto, constituem-se nas principais causas de infecções fúngicas, associadas a consideráveis taxas de mortalidade e morbidade no mundo, além de serem capazes de causar candidíase vulvovaginal, candidíase oral, candidíase cutânea, além de infecções sistêmicas. A candidemia é apresentada como a infecção hospitalar mais comum, sendo as espécies de *Candida* spp. os principais agentes causais. A espécie mais isolada é *C. albicans*, porém outras espécies têm sido cada vez mais isoladas, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae* e mais recentemente *C. auris* (de Oliveira Santos *et al.*, 2018). A taxa de infecções por *Candida* spp. vêm aumentando consideravelmente, pois sua patogênese ainda é mal compreendida, além de que ainda existe a resistência aos antifúngicos mais comuns. (Pfaller *et al.*, 2010^a; Pappas *et al.*, 2016). Neste contexto, destaca-se a compreensão dos fatores associados à virulência de *Candida* spp., tais como a capacidade de formação de biofilmes únicos ou multiespécies. Os microrganismos em seus diferentes microbiomas podem estar organizados em comunidades denominadas biofilmes, que geralmente tem alta densidade celular e apresentam matriz extracelular. Os biofilmes são conhecidos devido à sua resistência a tratamentos antimicrobianos e estudos prévios demonstram suposta proteção conferida por *L. casei* contra biofilmes de *C. albicans*; os mecanismos envolvidos nessa interação, entretanto, ainda não foram completamente elucidados (Parolin *et al.*, 2015; Zarnowski, 2018).

Lactobacillus spp., quando administrados por via oral ou vaginal, são capazes de colonizar o ecossistema vaginal. Os estudos dessa intervenção controlada sobre o efeito da candidíase vulvovaginal apresentam-se promissores, mas ainda eram escassos até nos anos 2000, e apresentaram resultados conflitantes. Na falta de pesquisa e investimento, além da regularização governamental, tornou-se difícil a recomendação de produtos apropriados (Jeavons, 2003).

Houve enorme progresso no estudo acerca da microbiota humana nas últimas décadas. Porém, os mecanismos utilizados pelos *Lactobacillus* spp. na prevenção do supercrescimento de *Candida* spp. continuam não tão bem definidos. Inicialmente, foi determinado que *Lactobacillus* secretavam ácido lático para reduzir o pH da mucosa, assim atenuando o supercrescimento de *Candida* spp.. Porém, recentemente, experimentos realizados *in vitro* revelaram que *Lactobacillus* spp. secretam moléculas bioativas contra *C. albicans*, estando

inclusos metabólitos que podem matar o fungo. A identidade destes compostos e seus mecanismos ainda permanecem enigmáticos (Macalpine *et al.*, 2021).

Dentre o microbioma humano, o trato vaginal não é o único colonizado por *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp.. Por exemplo, para colonizar o intestino, as espécies de *Candida* e *Lactobacillus* lidam com diferentes portfólios nutricionais, pH diferenciados e comunidades microbianas co-colonizadoras. Para *Candida* spp., especialmente *C. albicans* e *C. glabrata*, há investigações acerca da contribuição das respostas ao estresse ambiental para a patogênese. Já para a maior parte das espécies de *Lactobacillus* spp. que colonizam o microbioma humano, isso ainda é pouco estudado (Pedro; Mira, 2024). Neste sentido, objetiva-se a avaliação da interação entre *Candida* spp. e *Lactobacillus* spp., além de seus metabólitos, no que se refere à capacidade de formação de biofilme e sensibilidade a antifúngicos por espécies de *Candida*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 MICROBIOMA HUMANO

O microbioma humano refere-se ao vasto e complexo conjunto de microrganismos que residem no corpo humano, principalmente no trato gastrointestinal, mas também na pele, na boca e em outras áreas. Este ecossistema microbiano desempenha papéis essenciais na saúde humana, influenciando desde a digestão e o metabolismo até o desenvolvimento do sistema imunológico (Turnbaugh *et al.* 2017).

Composto por bactérias, vírus, fungos e outros micróbios, o microbioma é único para cada indivíduo e pode variar ao longo da vida, sendo moldado por fatores como dieta, estilo de vida, uso de antibióticos e genética. Estudos têm revelado sua importância na regulação do sistema imunológico, na produção de vitaminas, na metabolização de compostos alimentares e até mesmo na regulação do humor e do comportamento (Cho; Blaser, 2012).

Segundo Underhill e Ilie (2014), os fungos são componentes importantes do microbioma humano, embora muitas vezes sejam menos estudados em comparação às bactérias. Eles podem ser encontrados em diversas partes do corpo, incluindo a pele, o trato gastrointestinal, a boca e os genitais. Enquanto alguns fungos são benignos e desempenham funções importantes, outros podem se tornar patogênicos em certas condições.

2.1.1 Fungos no microbioma humano

Fungos presentes no trato gastrointestinal desempenham um papel importante na digestão de fibras e na metabolização de determinados nutrientes, complementando as funções das bactérias intestinais. Além disso, esses fungos interagem com outras espécies microbianas no microbioma humano, influenciando a dinâmica e o equilíbrio desse ecossistema. Ademais, alguns fungos podem desencadear respostas imunes benéficas, auxiliando na defesa contra patógenos invasores e na modulação do sistema imunológico. (Huffnagle; Noverr, 2013; Chen *et al.* 2011)

De acordo com Iliev e Leonard (2017), os principais fungos presentes no microbioma humano incluem o gênero *Candida*, com espécies como *Candida albicans* que, embora sejam comensais comuns, podem se tornar patogênicas em condições favoráveis. Outro fungo importante é o *Malassezia*, presente na pele humana e envolvido na saúde cutânea, mas que

também pode contribuir para condições como dermatite seborreica. Além disso, o *Saccharomyces*, particularmente *Saccharomyces boulardii*, é utilizado comercialmente como probiótico e pode ajudar a restaurar o equilíbrio intestinal após tratamentos com antibióticos. Além de fungos comensais, existem vários fungos patogênicos que podem causar infecções em humanos, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. Exemplos incluem *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp., entre outros. Essas infecções podem variar de superficiais (como infecções cutâneas) a sistêmicas (como aspergilose invasiva).

Compreender a diversidade fúngica no microbioma humano é crucial para desenvolver novas estratégias de diagnóstico, prevenção e tratamento de infecções fúngicas. A pesquisa atual está explorando como modificações no microbioma podem afetar a saúde humana e como intervenções como probióticos específicos podem ser usadas para restaurar o equilíbrio microbiano (Brown *et al.* 2012).

Desequilíbrios no microbioma, conhecidos como disbiose, têm sido associados a uma série de condições de saúde, incluindo doenças inflamatórias intestinais, obesidade, diabetes e até distúrbios neurológicos. Como resultado, há um interesse crescente em entender melhor como manipular e promover um microbioma saudável através de intervenções dietéticas, probióticos e até mesmo transplantes fecais. (Perfect, 2010).

Em suma, o microbioma humano representa um campo fascinante e em expansão da pesquisa científica, com implicações significativas para a medicina personalizada e para a compreensão da interação entre o corpo humano e os micróbios que o habitam. (Underhill; Iliev, 2014).

2.1.2 Gênero *Candida* spp.

Candida é um gênero de fungos que normalmente faz parte do microbioma humano, coexistindo com milhões de outras bactérias e microorganismos em diversas partes do corpo, como a pele, a boca, o trato gastrointestinal e a genitália. Este equilíbrio delicado é essencial para a saúde humana, pois esses micróbios desempenham papéis cruciais na digestão, no sistema imunológico e na proteção contra patógenos invasores (Cui; Morris, 2019).

No entanto, certas condições podem perturbar esse equilíbrio, favorecendo o crescimento excessivo de *Candida*. Fatores como o uso indiscriminado de antibióticos, que não

apenas eliminam bactérias patogênicas, mas também as bactérias benéficas que controlam o crescimento de fungos, são conhecidos por predispor ao desenvolvimento de infecções por *Candida*. Além disso, condições como diabetes não controlada, estresse crônico, alterações hormonais (como aquelas durante a gravidez), e um sistema imunológico comprometido (como ocorre em pacientes com HIV/AIDS ou após transplantes de órgãos) podem aumentar o risco de candidíase (Gouba; Drancourt, 2015).

As infecções por *Candida* podem variar de leves a severas. A candidíase oral, caracterizada por aftas na boca e na garganta, é comum e geralmente não é grave em indivíduos saudáveis. No entanto, a candidíase vaginal pode ser extremamente desconfortável e recorrente para algumas mulheres. Em casos mais graves, especialmente em pacientes imunocomprometidos, a candidíase pode se disseminar para outras partes do corpo, resultando em infecções sistêmicas potencialmente fatais (Williams; Lewis, 2011).

O tratamento da candidíase geralmente envolve o uso de antifúngicos, que podem ser administrados topicamente (como cremes e supositórios para candidíase vaginal) ou sistemicamente (como comprimidos orais ou intravenosos para infecções mais graves). Além do tratamento direcionado, é crucial abordar os fatores que contribuem para o crescimento excessivo de *Candida*. Isso pode incluir ajustes na dieta para evitar o consumo excessivo de açúcares e carboidratos refinados, que podem alimentar o crescimento de fungos, e promover um microbioma saudável através de probióticos e uma boa higiene pessoal (Sobel; Sobel, 2018).

Enquanto a *Candida* faz parte do microbioma humano normal, o desequilíbrio nesse ecossistema delicado pode levar a infecções que exigem intervenção médica. Compreender os fatores que influenciam o microbioma e promover práticas de vida saudáveis são fundamentais para prevenir e tratar infecções por *Candida* spp. de maneira eficaz.

Como anteriormente citado, as espécies pertencentes ao gênero *Candida* são patógenos que possuem a capacidade de causar infecções superficiais e sistêmicas no hospedeiro humano, patógenos, os quais, podem persistir no interior do hospedeiro devido a sua patogenicidade e resistência a diversos medicamentos, não raro levando ao fracasso de estratégias terapêuticas. A característica específica da patogenicidade de *Candida* spp. é sua capacidade de formar biofilmes, mecanismo que pode protegê-las de fatores como medicamentos antifúngicos e do combate pelo sistema imunológico do hospedeiro (Cavalheiro; Teixeira, 2018).

2.1.3 *Candida albicans*

Candida albicans é uma espécie de fungo que frequentemente faz parte do microbioma humano, especialmente encontrado na boca, no trato gastrointestinal e na genitália. Normalmente, é um comensal, ou seja, coexiste pacificamente com outros microrganismos sem causar doença. No entanto, sob certas condições, pode se tornar patogênico e causar infecções, conhecidas como candidíase.

É um fungo unicelular que pode se transformar em uma forma multicelular, produzindo filamentos conhecidos como hifas e pseudohifas. Essa capacidade de mudança morfológica é importante para sua virulência e capacidade de colonizar e invadir tecidos humanos (Kozak; Mcculloch, 2014).

A transição de *C. albicans* de um comensal para um patógeno geralmente ocorre em condições que favorecem seu crescimento descontrolado. O risco de infecções oportunistas e complicações de saúde pode ser aumentado por diversos fatores que comprometem o equilíbrio do organismo e a resposta imunológica. O uso prolongado de antibióticos, por exemplo, pode levar a alterações no microbioma normal, favorecendo o crescimento descontrolado de microrganismos resistentes e predispondo o paciente a infecções. Além disso, indivíduos com um sistema imunológico enfraquecido, como aqueles que vivem com HIV/AIDS, pacientes em tratamento contra o câncer ou pessoas que passaram por transplantes, apresentam maior vulnerabilidade a agentes infecciosos, pois suas defesas naturais estão comprometidas. Outro fator relevante é a diabetes não controlada, que pode prejudicar a capacidade do organismo de combater infecções devido a níveis elevados de glicose no sangue, favorecendo o crescimento de microrganismos patogênicos. Por fim, o uso prolongado de cateteres ou outros dispositivos médicos invasivos também pode ser uma porta de entrada para infecções, facilitando a colonização de bactérias e fungos no organismo, especialmente em ambientes hospitalares. Esses fatores destacam a importância da prevenção, do acompanhamento médico adequado e do uso criterioso de medicamentos para minimizar riscos e garantir a saúde do paciente (Kullberg; Arendrup, 2015).

As infecções por *C. albicans* podem variar de leves, como candidíase oral (aftas), a infecções mais graves, como candidíase vaginal, candidemia (infecção na corrente sanguínea) e candidíase invasiva, que afeta órgãos internos e pode ser potencialmente fatal em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico de infecções por *C. albicans* geralmente envolve a

observação clínica dos sintomas, seguida de exames laboratoriais para confirmar a presença do fungo. O tratamento depende da gravidade da infecção e pode incluir antifúngicos tópicos (para infecções superficiais) ou sistêmicos (para infecções mais profundas ou disseminadas) (Pappas, 2016).

Medidas para prevenir infecções por *C. albicans* incluem o uso racional de antibióticos, controle adequado do diabetes, higiene pessoal adequada e evitar fatores que possam enfraquecer o sistema imunológico. Manter um microbioma saudável também é fundamental, com dieta equilibrada e, quando necessário, o uso de probióticos para promover o crescimento de bactérias benéficas que competem com *Candida albicans* (Mann; Leung, 2018).

Em resumo, *C. albicans* é um exemplo de como um microrganismo normalmente benigno pode se tornar patogênico sob certas condições. Compreender seus mecanismos de patogenicidade e as condições que favorecem seu crescimento excessivo é crucial para o diagnóstico precoce e tratamento eficaz das infecções associadas.

2.2 ESPÉCIES NÃO-*albicans* DE *Candida*

Além de *Candida albicans*, que é a espécie mais comum e estudada dentro do gênero *Candida*, existem várias outras espécies não-*albicans* que também podem causar infecções em seres humanos. *Candida glabrata* é uma das espécies mais comuns de *Candida* não-*albicans* associadas a infecções humanas, distinguindo-se pela menor formação de hifas e pseudohifas e por sua resistência a certos antifúngicos, o que dificulta o tratamento, especialmente em pacientes imunocomprometidos (Sobel, 2016). *Candida tropicalis*, frequentemente envolvida em infecções do trato urinário e na corrente sanguínea, tem capacidade intermediária de formar biofilmes, aumentando o risco de infecções invasivas em pacientes hospitalizados (Ben-Ami e Tumbarello, 2014). Já *Candida parapsilosis* se destaca pela capacidade de colonizar dispositivos médicos, como cateteres venosos centrais, sendo uma causa comum de candidemia, especialmente em unidades de terapia intensiva neonatal e pediátrica (Pinto; De Oliveira, 2013). *Candida krusei*, embora menos prevalente, é relevante devido à sua resistência intrínseca ao fluconazol, tornando seu tratamento mais complexo, especialmente em pacientes imunocomprometidos expostos a antifúngicos anteriores (Sobel; Fisher, 2012). Por fim, *Candida auris* emergiu como uma preocupação global devido à sua resistência a múltiplos antifúngicos e alta transmissibilidade em ambientes hospitalares, sendo responsável por surtos

de infecções nosocomiais associadas a elevadas taxas de mortalidade em pacientes criticamente doentes (Aziz; Revankar, 2020).

As espécies não-*albicans* de *Candida* estão se tornando cada vez mais reconhecidas por sua capacidade de causar uma variedade de infecções em humanos, com características de virulência e padrões de resistência a antifúngicos variáveis. O diagnóstico preciso e a seleção adequada de tratamentos antifúngicos são essenciais para o manejo eficaz dessas infecções, especialmente em pacientes imunocomprometidos ou aqueles com dispositivos médicos implantados (Sobel, 2016).

2.3 DIMORFISMO DE *Candida* spp.

O dimorfismo de *Candida* refere-se à capacidade deste fungo de alterar sua morfologia entre duas formas principais: a leveduriforme (unicelular) e a filamentosa (hifas ou pseudohifas). Essa característica é fundamental para a virulência e capacidade de invasão de *Candida* em diferentes ambientes e tecidos hospedeiros (Calderone, 2001).

A morfologia leveduriforme é geralmente associada à colonização de superfícies mucosas, onde o fungo pode proliferar de maneira discreta e evitar a detecção pelo sistema imunológico do hospedeiro. Em contraste, a forma filamentosa está relacionada a infecções mais agressivas e invasivas. As hifas e pseudohifas são estruturas alongadas que permitem a penetração do fungo em tecidos mais profundos, facilitando a disseminação da infecção (Sudbery, 2011).

O dimorfismo é regulado por diversos fatores ambientais e moleculares. Entre os ambientais, destacam-se a temperatura, o pH e a disponibilidade de nutrientes que desempenham papel crucial na transição morfológica. Por exemplo, a transição para a forma filamentosa é frequentemente induzida em resposta ao aumento da temperatura corporal do hospedeiro e a variações no pH (Mayer *et al.*, 2013).

Molecularmente, essa transição é controlada por uma complexa rede de sinais que envolve várias vias de sinalização, incluindo as vias MAPK (proteína quinase ativada por mitógeno) e cAMP-PKA (AMP cíclico - proteína quinase A). Essas vias regulam a expressão de genes específicos que são necessários para a formação de hifas e pseudohifas (Liu, 2001).

A capacidade de *Candida* spp. de alternar entre estas formas morfológicas contribui significativamente para a sua patogenicidade, permitindo-lhe adaptar-se a diferentes ambientes

dentro do hospedeiro e escapar das defesas imunológicas. Este dimorfismo também está associado à formação de biofilmes, que são comunidades de células microbianas aderidas a superfícies e envolvidas por uma matriz extracelular. Os biofilmes de *Candida* spp. são particularmente difíceis de tratar devido à sua resistência aumentada a agentes antifúngicos e à proteção proporcionada pela matriz (Biswas *et al.*, 2007).

2.3.1 Forma Leveduriforme

A forma leveduriforme é predominantemente observada em ambientes mais estáveis, como no trato gastrointestinal, onde *Candida* spp. normalmente reside como um comensal benigno. Nesta morfologia, *Candida* spp. pode se reproduzir por brotamento, onde novas células se formam a partir de protuberâncias na célula-mãe, permitindo sua adaptação a diferentes condições ambientais (Calderone, 2001).

2.3.2 Forma Filamentosa (Hifas e Pseudohifas)

As hifas são estruturas alongadas e ramificadas, enquanto as pseudohifas são estruturas semelhantes a hifas, mas com características de divisão celular diferente. Ambas as formas são mais invasivas e associadas a infecções patogênicas. Essas morfologias permitem a penetração e a colonização de tecidos hospedeiros, facilitando a disseminação de *Candida* spp. no corpo humano. Elas também são mais resistentes aos mecanismos de defesa do hospedeiro e aos tratamentos antifúngicos (Noble, 2004).

O dimorfismo de *Candida* spp. desempenha um papel crucial na patogênese das infecções fúngicas. Quando o equilíbrio natural do microbioma é perturbado, como por uso prolongado de antibióticos, imunossupressão, ou alterações hormonais, *Candida* spp. pode transicionar de sua forma leveduriforme benigna para formas mais invasivas e patogênicas. Isso pode resultar em candidíase mucocutânea (como candidíase oral e vaginal) ou infecções sistêmicas graves, como candidemia (Lo, 1997).

Estudos continuam a investigar os mecanismos moleculares que regulam o dimorfismo de *Candida*, buscando entender como fatores ambientais e genéticos influenciam essa transição. Essa compreensão é essencial para o desenvolvimento de novos tratamentos antifúngicos e estratégias de controle de infecções por *Candida* spp. (Pappas, 2018).

2.4 BIOFILMES DE *Candida* spp.

Em muitos ambientes, principalmente os hospitalares, *Candida* spp. existe em formato de biofilmes, que consistem em comunidades de organismos ligados a superfícies. Um biofilme maduro se dá por uma comunidade irreversivelmente ligada a uma superfície, apresentando matriz exopolimérica. A característica fenotípica mais evidente em um biofilme é a alta resistência a agentes antimicrobianos. Infecções associadas a biofilmes formados em materiais médicos são muito difíceis de tratar, por conta da resistência aos antimicrobianos, tendo, muitas vezes, que remover o dispositivo do paciente (Lupetti *et. al*, 2002).

Frequentemente encontra-se espécies de *Candida* na microbiota humana, o que facilita sua chegada aos biomateriais implantados em ambiente hospitalar. Materiais como próteses, implantes, cateteres, tubos endotraqueais, são facilmente colonizados por biofilmes de *Candida* (Kojic, 2004).

Candida albicans é a espécie mais facilmente encontrada em biofilmes, sendo, principalmente, a terceira causa de infecções ligadas à cateteres, também sendo a segunda maior taxa de colonização em infecções e a maior causa de mortalidade geral bruta (Crump; Collignon, 2000).

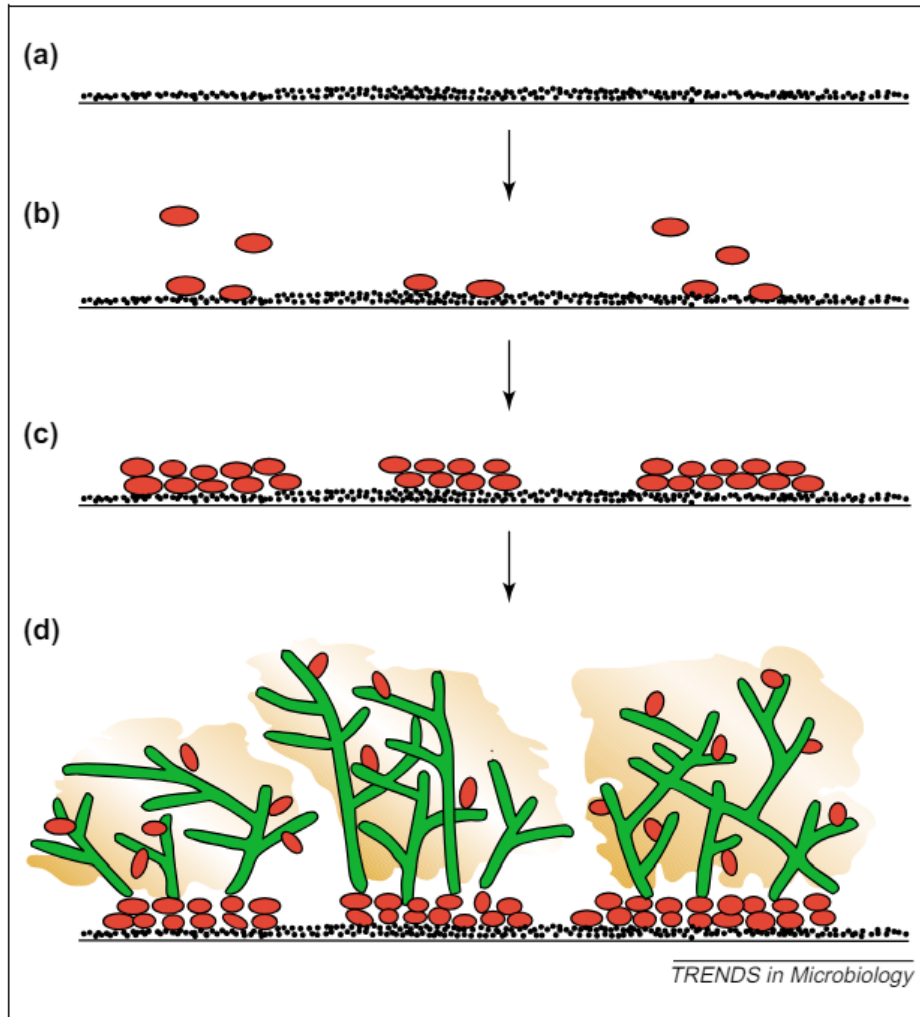
A formação de biofilmes de *Candida* gera repercussão clínica devido à sua resistência a antifúngicos e à capacidade das células no interior dos biofilmes serem refratárias ao sistema imunológico do hospedeiro. Além do mais, a formação de biofilmes em dispositivos médicos pode causar falhas dos mesmos, e servir de reservatório para futuras infecções (Adam *et. al*, 2002).

Em sua maioria, as informações sobre características estruturais dos biofilmes de *Candida* provém de experimentos *in vitro*, onde vários modelos de biofilme foram gerados por diferentes grupos de pesquisadores (Chandra, 2001).

Para colonizar as superfícies, as células fúngicas devem, primeiro, aderir às superfícies. A ligação de células de *Candida* é guiada por fatores inespecíficos, como a hidrofobicidade da célula, quanto por adesinas presentes na superfície do fungo que reconhecem ligantes como fibrinogênio e fibronectina. Alguns estudos sugerem que a adesão também pode ser mediada por proteínas da superfície celular (Li; Palecek, 2003). A ligação inicial das células ao substrato é seguida pela divisão celular, proliferação e desenvolvimento do biofilme, que, quando maduros, exibem uma estrutura tridimensional complexa, a qual acredita-se que facilita a

penetração de nutrientes e eliminação de resíduos. Diferentes cepas de *Candida* apresentam diferenças na capacidade de formação de biofilmes (Ramage *et. al*, 2001).

Figura 1 - Estágios na formação do biofilme de *Candida albicans* na superfície do cateter.



Fonte: Ramage, 2001

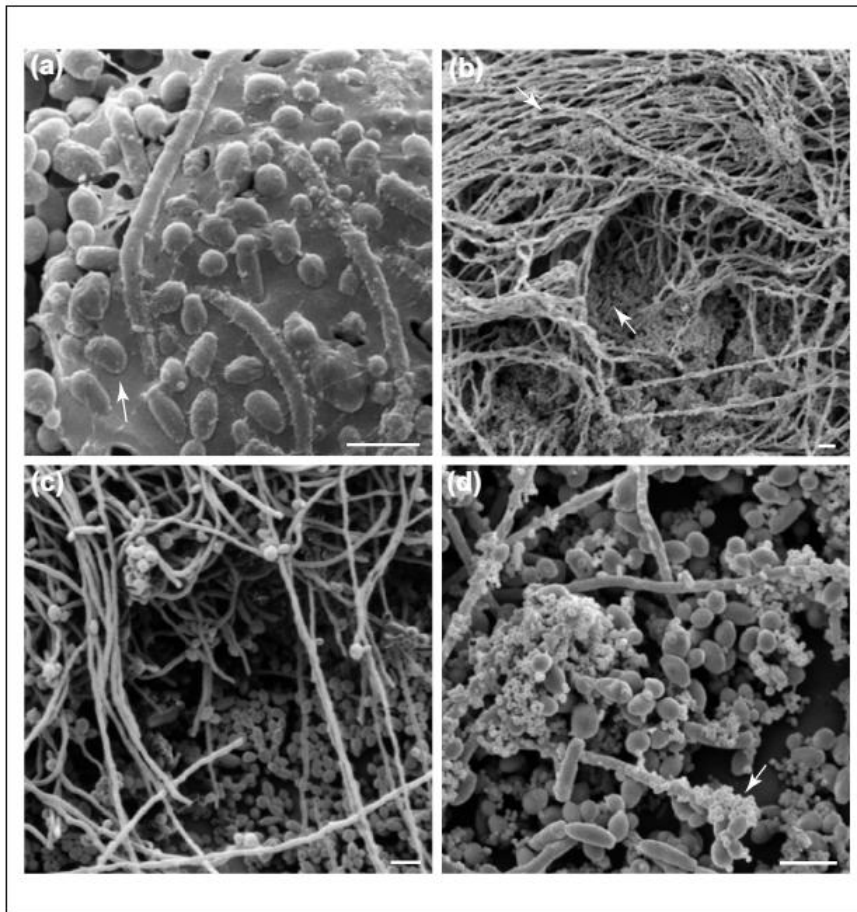
Legenda: (a) Superfície do cateter;

(b) Adesão inicial da levedura (vermelha) à superfície;

(c) Formação das camadas basais de levedura;

(d) Conclusão da formação de microcolônias pela adição da parte superior, principalmente camada hifal e material de matriz (amarelo) que envolve ambas as leveduras (vermelho) e hifas (verde).

Figura 2 - Microscopia de varredura de biofilme de *Candida albicans*



Fonte: Douglas, 2003.

Legenda: (a) Indicado pela seta, está um extenso material de matriz;
 (b) Biofilme formado em cateter de PVC. A camada basal de levedura e a camada superior (predominantemente hifal) estão indicadas por setas;
 (c) Biofilme formado em cateter de PVC mostrando estrutura de bicamada em maior ampliação;
 (d) Biofilme misto de *Candida albicans* e *Staphylococcus epidermidis* formado em cateter de PVC. A seta indica células bacterianas ligadas a leveduras e hifas.

2.5 *Lactobacillus* spp.

Lactobacillus é um gênero de bactérias Gram-positivas, não formadoras de esporos, geralmente encontradas em ambientes ricos em nutrientes, como o trato gastrointestinal de humanos e animais, produtos fermentados e diversos nichos ecológicos. Essas bactérias são amplamente estudadas devido aos seus benefícios à saúde humana e animal, sua aplicação na indústria alimentícia e seu papel em processos fermentativos. Elas desempenham um papel crucial na manutenção da saúde intestinal ao competir com patógenos, produzir substâncias antimicrobianas e modular o sistema imunológico (Ouwehand *et al.*, 2002).

Além disso, espécies de *Lactobacillus* são fundamentais na produção de alimentos fermentados, como iogurte, queijo, chucrute e kimchi, contribuindo para a textura, sabor e preservação desses produtos (Tamang *et al.*, 2016). Sua capacidade de produzir ácido lático, a partir da fermentação de carboidratos, é um dos aspectos que tornam essas bactérias valiosas na indústria alimentícia, pois o ácido lático atua como conservante natural, inibindo o crescimento de microrganismos indesejados (Axelsson, 2004).

Estudos também demonstram que algumas cepas de *Lactobacillus* possuem propriedades probióticas, promovendo a saúde do hospedeiro ao melhorar a digestão, reforçar a barreira intestinal e equilibrar a microbiota intestinal (Hill *et al.*, 2014). Essas propriedades fazem de *Lactobacillus* um gênero de grande interesse tanto para a pesquisa científica quanto para aplicações industriais e médicas.

As bactérias do gênero *Lactobacillus* spp. apresentam-se, predominantemente, como bacilos (bactérias em forma de bastonete) que variam em tamanho e forma, mas são tipicamente de 0,5-0,8 μm de largura por 2,0-9,0 μm de comprimento. Elas são aerotolerantes ou anaeróbicas facultativas e geralmente apresentam fermentação homolática, produzindo ácido lático, como principal produto metabólico, a partir da fermentação de açúcares (Leeber *et al.*, 2008).

Essas características permitem que *Lactobacillus* desempenhe um papel significativo em diversos ecossistemas, especialmente no trato gastrointestinal de humanos e animais, onde contribuem para a saúde intestinal ao equilibrar a microbiota e inibir patógenos por meio da produção de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas e ácido lático (Ouwehand *et al.*, 2002). A produção de ácido lático não só acidifica o ambiente, dificultando a sobrevivência de microrganismos prejudiciais, mas também é crucial na indústria alimentícia para a fermentação de produtos como iogurte, queijo, chucrute e pickles, melhorando a textura, sabor e a conservação desses alimentos (Axelsson, 2004).

Lactobacillus spp. são encontradas em uma variedade de habitats. No trato gastrointestinal humano e animal, elas desempenham um papel crucial na manutenção da homeostase intestinal e na prevenção de infecções patogênicas. Essas bactérias ajudam a equilibrar a microbiota intestinal, competindo com patógenos por nutrientes e locais de adesão, além de produzir substâncias antimicrobianas, como ácido lático e bacteriocinas, que inibem o crescimento de microrganismos prejudiciais (Ouwehand *et al.*, 2002).

Além disso, a presença de *Lactobacillus* spp. em alimentos fermentados está associada a benefícios à saúde, como a promoção da saúde intestinal, a modulação do sistema imunológico e a possível redução do risco de certas doenças. Esses benefícios têm sido explorados na formulação de produtos probióticos, que contêm cepas específicas de *Lactobacillus* com propriedades benéficas comprovadas (Hill *et al.*, 2014).

2.5.1 Benefícios à Saúde

Como anteriormente citado, os *Lactobacillus* spp. são um grupo de bactérias amplamente reconhecidas por seus benefícios à saúde, especialmente no contexto da microbiota intestinal. Dentre suas principais características, destacam-se suas propriedades probióticas, sua capacidade de modulação do sistema imunológico e seu potencial terapêutico no tratamento de doenças gastrointestinais. As propriedades probióticas de diversas espécies de *Lactobacillus* fazem delas importantes aliados da saúde. Quando administradas em quantidades adequadas, essas bactérias vivas promovem o equilíbrio da microbiota intestinal, auxiliam na digestão, reforçam o sistema imunológico e impedem a colonização do intestino por patógenos, contribuindo para a prevenção de infecções.

Destaca-se que os *Lactobacillus* spp. possuem papel fundamental na modulação do sistema imunológico. Essas bactérias probióticas estimulam a produção de citocinas anti-inflamatórias, ajudando a equilibrar a resposta imune do organismo. Também atuam na ativação de células de defesa, como macrófagos e células dendríticas, promovendo uma resposta mais eficiente contra agentes infecciosos. Outro aspecto relevante é sua eficácia no tratamento de doenças gastrointestinais. Espécies específicas, como *Lactobacillus rhamnosus*, têm demonstrado benefícios clínicos significativos no manejo de condições como diarreia, síndrome do intestino irritável (SII) e doença inflamatória intestinal (DII). Seu uso pode contribuir para a redução da inflamação intestinal, melhora dos sintomas digestivos e fortalecimento da barreira intestinal (Bron *et al.*, 2017).

Os avanços na genética molecular permitiram o sequenciamento do genoma de várias espécies de *Lactobacillus*, fornecendo insights sobre sua capacidade de fermentação, resistência a antibióticos e interação com o hospedeiro. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de cepas probióticas (McFarland, 2010). A análise genômica revelou genes específicos que conferem a essas bactérias a capacidade de sobreviver em diferentes ambientes,

adaptar-se a diversas condições e desempenhar funções metabólicas complexas, incluindo a fermentação de carboidratos e a produção de compostos bioativos (Makarova *et al.*, 2006).

À medida que a pesquisa avança, espera-se que novas aplicações e benefícios dessas bactérias sejam descobertos, contribuindo ainda mais para a saúde humana e animal. O conhecimento crescente sobre a genética e a biologia de *Lactobacillus* abrirá caminho para a engenharia de cepas com características específicas desejadas, potencializando seu uso em terapias probióticas e na produção de alimentos funcionais (Sanders *et al.*, 2018).

2.6 FLUCONAZOL

O fluconazol é um antifúngico pertencente à classe dos triazóis, amplamente utilizado no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas e superficiais. Ele atua inibindo a enzima fúngica lanosterol 14 α -desmetilase, essencial para a síntese do ergosterol, um componente fundamental da membrana celular dos fungos. Ao interferir nessa via biossintética, o fluconazol compromete a integridade da membrana fúngica, levando à morte ou inibição do crescimento do microrganismo. Por sua boa absorção oral, baixa toxicidade e ampla distribuição nos tecidos, o fluconazol é frequentemente escolhido no tratamento de micoses em pacientes imunocomprometidos, como os com HIV/AIDS ou submetidos a quimioterapia (Feng, 2023).

Especificamente contra o gênero *Candida*, o fluconazol tem se mostrado eficaz, sobretudo nas espécies mais comuns como *Candida albicans*. Ele é amplamente utilizado no tratamento de candidíase oral, esofágica, vaginal e também em infecções sistêmicas por *Candida*. No entanto, a exposição prolongada ou inadequada ao fluconazol tem contribuído para o surgimento de cepas resistentes, como *Candida glabrata* e *Candida auris*, que podem apresentar mecanismos de resistência como a alteração da enzima alvo, o aumento da bomba de efluxo ou a redução da afinidade do fármaco. Por isso, a escolha e o uso do fluconazol devem ser feitos com base em critérios clínicos e laboratoriais, considerando a espécie envolvida e a susceptibilidade do fungo (Lu, 2021).

2.7 LACTATO DE SÓDIO

2.7.1 Propriedades, Aplicações e Importância

O lactato de sódio é o sal de sódio do ácido láctico, uma substância natural encontrada em muitos alimentos fermentados e também produzida pelo corpo humano durante o metabolismo anaeróbico. Este composto é amplamente utilizado em diversas indústrias,

incluindo a alimentícia, farmacêutica, cosmética e médica, devido às suas propriedades conservantes, umectantes e reguladoras de pH (Gänzle, 2015).

Na indústria alimentícia, o lactato de sódio é frequentemente utilizado como conservante, pois inibe o crescimento de bactérias patogênicas e de deterioração, prolongando a vida útil dos produtos. Ele é especialmente eficaz em produtos cárneos, onde também pode atuar como agente flavorizante e de controle de textura, melhorando a suculência e a firmeza dos produtos (Mckee, 2009).

Na indústria farmacêutica e médica, o lactato de sódio é usado em soluções intravenosas para corrigir desequilíbrios eletrolíticos e acidose metabólica. Ele também é um componente importante em produtos para cuidados com a pele, devido às suas propriedades umectantes, que ajudam a manter a hidratação e a elasticidade da pele (Smith *et al.*, 2014).

No setor cosmético, o lactato de sódio é utilizado em loções, cremes e produtos de higiene pessoal, onde funciona como umectante e agente de ajuste de pH, ajudando a estabilizar formulações e melhorar a sensação tátil dos produtos na pele (Draelos, 2012).

O lactato de sódio é um composto cristalino, higroscópico e incolor, com a fórmula química $C_3H_5NaO_3$. Possui um sabor levemente salgado e é altamente solúvel em água. Este composto é produzido pela neutralização do ácido láctico com hidróxido de sódio, resultando em um líquido ou pó que é estável sob condições normais de armazenamento.

A produção de lactato de sódio geralmente envolve a fermentação de carboidratos por bactérias do ácido láctico (LAB), como *Lactobacillus* spp.. O ácido láctico resultante é então neutralizado com uma base, tipicamente hidróxido de sódio, para formar o lactato de sódio. Este processo pode ser ajustado para produzir lactato de sódio em diferentes formas e concentrações, dependendo das necessidades específicas de aplicação (Gänzle, 2015).

A escolha do substrato para a fermentação pode variar, incluindo glicose, sacarose e outros açúcares simples derivados de fontes vegetais como milho ou beterraba. As condições de fermentação, como temperatura, pH e concentração de nutrientes, são otimizadas para maximizar a produção de ácido láctico pelas bactérias (Wee *et al.*, 2006). Uma vez produzido o ácido láctico, a neutralização com hidróxido de sódio é realizada para obter lactato de sódio,

um processo que pode ser controlado para garantir a pureza e a concentração desejadas do produto final (Datta; Henry, 2006).

O lactato de sódio produzido tem amplas aplicações industriais. Na indústria alimentícia, é usado para melhorar a conservação e a segurança dos alimentos, além de atuar como regulador de acidez e agente flavorizante. Na indústria farmacêutica, o lactato de sódio é um componente chave em soluções intravenosas para reidratação e correção de desequilíbrios eletrolíticos (Smith *et al.*, 2014). No setor cosmético, ele é valorizado por suas propriedades umectantes, que ajudam a manter a hidratação da pele e a estabilizar formulações de produtos (Draelos, 2012).

2.7.2 Aplicações

O lactato de sódio desempenha um papel essencial em diversas indústrias devido às suas propriedades conservantes, umectantes e estabilizantes. Na indústria alimentícia, é amplamente utilizado para prolongar a vida útil de carnes, aves e produtos de panificação, inibindo o crescimento de patógenos como *Listeria monocytogenes* e *Clostridium perfringens*, além de melhorar a textura e o sabor dos alimentos, tornando-os mais suculentos e palatáveis (Bodie *et al.*, 2022). No setor cosmético, sua ação umectante é valorizada em loções, cremes e produtos capilares, contribuindo para a hidratação da pele e dos cabelos, proporcionando uma melhor sensação e aparência (Cosmile Europe, 2024). Na indústria farmacêutica, o lactato de sódio é utilizado como estabilizante e agente tamponante em formulações intravenosas para correção de desequilíbrios eletrolíticos e acidose metabólica, além de atuar como excipiente em medicamentos orais e tópicos, garantindo a estabilidade e eficácia dos produtos (Braun, 2020). Na área médica, encontra aplicação em soluções de reidratação oral e intravenosa, sendo eficaz na correção de desequilíbrios eletrolíticos e na prevenção de acidose láctica em pacientes críticos, além de ser empregado em soluções para diálise peritoneal, auxiliando na remoção de resíduos e excesso de líquidos do corpo (Luckow; Delahunty, 2004).

O lactato de sódio é considerado seguro para consumo humano pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos e pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA). No entanto, como qualquer aditivo alimentar, deve ser utilizado dentro dos limites estabelecidos pelas regulamentações de segurança alimentar para evitar efeitos adversos (Schobitz *et al.*, 2020).

2.7.3 Benefícios e Considerações

Como anteriormente exposto, além de suas propriedades conservantes e umectantes, o lactato de sódio pode contribuir para a saúde ao equilibrar os níveis de eletrólitos no corpo e prevenir a acidose metabólica. Sua presença em soluções de reidratação e medicamentos intravenosos é crucial em tratamentos médicos emergenciais. A produção de lactato de sódio a partir de fontes renováveis, como a fermentação de carboidratos, torna-o um aditivo sustentável e ecologicamente correto. No entanto, é importante garantir práticas de produção responsáveis para minimizar o impacto ambiental (NCBI).

Pesquisas têm investigado o efeito do lactato de sódio sobre o crescimento e a virulência de *Candida*, com o objetivo de desenvolver novas abordagens terapêuticas e de conservação de alimentos (Tsang e Lee, 2020).

2.8 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um composto químico amplamente utilizado devido às suas propriedades oxidantes, desinfetantes e branqueadoras. Sua estrutura consiste em duas moléculas de hidrogênio ligadas a duas moléculas de oxigênio (H-O-O-H), e ele é conhecido por ser uma solução aquosa comumente encontrada em concentrações de 3% para uso doméstico. O H_2O_2 é instável e se decompõe rapidamente em água (H_2O) e oxigênio (O_2) quando exposto à luz, calor ou metais de transição, motivo pelo qual é armazenado em frascos opacos. (Finnegan *et al.*, 2010).

O peróxido de hidrogênio é um agente oxidante poderoso, capaz de aceitar elétrons de outras substâncias e promover sua oxidação. Essa característica o torna um desinfetante e antisséptico eficaz contra uma ampla gama de microrganismos, incluindo bactérias, vírus, esporos e fungos, pois destrói suas membranas celulares. Além disso, sua propriedade oxidante também é explorada na indústria têxtil e de papel, onde é amplamente utilizado como agente de branqueamento, garantindo a remoção de impurezas e o clareamento dos materiais.

2.8.1 Usos Comuns

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) possui diversas aplicações devido às suas propriedades oxidantes e desinfetantes. No uso médico, é amplamente empregado para a limpeza de feridas, desinfecção de superfícies e esterilização de equipamentos, garantindo um ambiente seguro e livre de microrganismos. No âmbito doméstico, é utilizado na limpeza e desinfecção de

superfícies, além de ser um agente eficaz no clareamento de roupas e remoção de manchas. Na indústria alimentícia, desempenha um papel essencial na desinfecção de embalagens e superfícies utilizadas no processamento de alimentos, contribuindo para a segurança e higiene dos produtos. Além disso, no tratamento de água, o peróxido de hidrogênio é empregado na purificação, devido à sua capacidade de oxidar contaminantes, tornando a água mais segura para consumo e utilização.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) tem se destacado como um agente promissor no combate a infecções fúngicas causadas por *Candida*. Estudos demonstram que o H_2O_2 exerce um potente efeito antifúngico ao inibir o crescimento e a viabilidade de *Candida* através da geração de radicais livres, que provocam danos oxidativos às células fúngicas. Além de sua ação direta contra as células, o peróxido de hidrogênio também desempenha um papel crucial na desestabilização de biofilmes de *Candida*. Esses biofilmes são estruturas complexas e altamente resistentes que protegem as células fúngicas contra tratamentos antifúngicos e o sistema imunológico do hospedeiro, tornando a infecção mais difícil de tratar (Mendoza; Schiller, 2015; Ghosh, 2023).

Apesar de seu potencial, a utilização do peróxido de hidrogênio deve ser cuidadosamente gerenciada para evitar efeitos adversos e garantir a administração adequada, a fim de maximizar sua eficácia e minimizar a toxicidade (Orlandin, 2022).

A combinação do H_2O_2 com outras abordagens terapêuticas e estratégias de desinfecção pode representar uma abordagem inovadora para o controle de infecções por *Candida*, especialmente em ambientes hospitalares e em pacientes com condições imunocomprometedoras.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Análise diferencial da capacidade de formação de biofilmes de *Candida* spp. e sensibilidade antifúngica de células planctônicas e biofilmes de *Candida albicans* e espécies não-*albicans* de *Candida* spp. em interação biotrófica com *Lactobacillus* spp. e seus metabólitos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Com o intuito de alcançar o objetivo geral deste estudo, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- a) avaliar o perfil de sensibilidade antifúngica de células planctônicas de *Candida albicans* e de espécies não-*albicans* de *Candida* spp.;
- b) avaliar a capacidade de formação de biofilmes por células planctônicas de *Candida albicans* e de espécies não-*albicans* de *Candida* spp.;
- c) avaliar o perfil de sensibilidade antifúngica de biofilmes de *Candida albicans* e das espécies não-*albicans* de *Candida* spp. quando em contato com biofilmes de *Lactobacillus* spp.;
- d) avaliar o perfil de sensibilidade antifúngica de células planctônicas de *Candida albicans* e das espécies não-*albicans* de *Candida* spp. quando em contato com metabólitos de *Lactobacillus* spp.;
- e) avaliar a capacidade de formação de biofilmes por células planctônicas de *Candida albicans* e de espécies não-*albicans* de *Candida* spp. quando em contato com *Lactobacillus* spp.;
- f) avaliar a capacidade de formação de biofilmes por células planctônicas de *Candida albicans* e de espécies não-*albicans* de *Candida* spp. quando em contato com metabólitos de *Lactobacillus* spp.;
- g) avaliar o perfil de sensibilidade antifúngica dos biofilmes formados por *Candida albicans* e de espécies não-*albicans* de *Candida* spp. quando em contato com metabólitos de *Lactobacillus* spp.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE EXECUÇÃO E AMOSTRAS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Imunologia Básicas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Foram eleitos para o estudo em questão, os seguintes isolados padrões de *Candida* spp.: *C. albicans* SC5314, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019, além de 20 isolados de *Candida* spp. de origem clínica (hospitalar), os quais encontram-se armazenados a -80°C na coleção de Microrganismos do referido laboratório. As espécies de *Lactobacillus* spp. a saber: *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri* também estão armazenadas na referida coleção de culturas, a -80°C.

Este projeto faz parte da proposta apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFAL-MG e aprovada sob o número de protocolo 077685/2020.

Quadro 1 - Isolados hospitalares de *Candida* spp. obtidos e seus sítios de isolamento, eleitos para a pesquisa

Nº DA AMOSTRA	ESPÉCIE DE <i>Candida</i>	SÍTIO DE ISOLAMENTO
1	<i>C. albicans</i>	Hemocultura
3	<i>C. tropicalis</i>	Urina
4	<i>C. parapsilosis</i>	Hemocultura
5	<i>C. glablatra</i>	Urina
6	<i>C. glablatra</i>	Urina
9	<i>C. albicans</i>	Urina
10	<i>C. albicans</i>	Urina
11	<i>C. albicans</i>	AEQ
15	<i>C. albicans</i>	AEQ
17	<i>C. parapsilosis</i>	URO (SVD)
19	<i>C. glablatra</i>	URO
20	<i>C. glablatra</i>	URO (SVD)
22	<i>C. albicans</i>	URO (SVD)
23	<i>C. tropicalis</i>	HEMO (CVC DISTAL)
25	<i>C. glablatra</i>	URO (SVD)
27	<i>C. albicans</i>	URO (SVD)
29	<i>C. albicans</i>	AEQ
30	<i>C. glablatra</i>	URO (SVD)
33	<i>C. albicans</i>	URO (SVD)
41	<i>C. albicans</i>	URO (SVD)
42	<i>C. albicans</i>	Hemocultura
44	<i>C. albicans</i>	URO (SVD)
48	<i>C. albicans</i>	Não especificado

Fonte: da autora.

Nota: AEQ: Aspirado endotraqueal; SVD: sonda vesical de demora; HEMO: hemocultura.

4.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO DAS LINHAGENS

Os isolados de *Candida* spp. foram cultivados em caldo Sabouraud Dextrose. Posteriormente, os isolados foram subcultivados em caldo RPMI 1640 por 18-24h a 37°C, 180 rpm. As células microbianas dos isolados em questão, cultivados em estado planctônico, foram colhidas em fase exponencial de crescimento, lavadas duas vezes com tampão fosfato-salina (PBS) pH 7,2 e ajustadas por espectrofotometria, a 490nm, para uma densidade celular de $1-5 \times 10^7$ células mL⁻¹ em caldo RPMI 1640 para utilização em ensaios posteriores (Melo *et al.*, 2011).

4.3 DESENVOLVIMENTO DE BIOFILME POR ISOLADOS DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram formados de acordo como descrito inicialmente por Ramage e colaboradores (2001), com algumas modificações sugeridas por Melo e colaboradores (2011). Realizou-se subcultivo das linhagens de *Candida* spp. em caldo RPMI 1640 e estes foram incubado por 18 horas em estufa de agitação orbital com programação de 180rpm, a 35°C. As células foram colhidas e lavadas duas vezes com tampão fosfato-salina (PBS) pH 7,2 e ajustadas a uma densidade óptica de 0,4 a 530nm, equivalente a $1-5 \times 10^7$ células/mL em caldo RPMI 1640, para utilização logo após o preparo. Foram utilizadas placas de poliestireno não tratado e, as cargas, foram estabilizadas pela umidificação de sua base externa, facilitando o processo de adesão. Em cada poço preestabelecido da microplaca de 96 poços foram adicionados 100µL da ressuspensão celular e esta foi incubada em estufa de agitação orbital por 1,5h, a 37°C e 75rpm.

4.4 FORMAÇÃO DE BIOFILME MISTO DE *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp.

Posteriormente ao cultivo em ágar Saboraud, os cinco isolados padrões de *Candida* spp. foram subcultivados em caldo RPMI 1640 por 18-24h a 37°C e 180 rpm em estufa de agitação orbital. As células microbianas dos isolados em questão, cultivados em estado planctônico, foram colhidas em fase exponencial, lavadas duas vezes com tampão fosfato-salina (PBS) pH 7,2 e ajustadas por espectrofotometria para uma densidade celular de $1-5 \times 10^7$ células mL⁻¹ em caldo RPMI 1640 (Melo *et al.*, 2011).

Os três isolados de *Lactobacillus* spp. foram subcultivados em caldo TYE (Tryptone Yeast Extrat), nas mesmas condições de agitação e temperatura, porém em jarra de microaerofilia.

Os biofilmes foram formados como descrito inicialmente por Ramage *et al.* (2001), com algumas modificações. A metodologia seguida para o biofilme misto foi a mesma do biofilme isolado.

As células cultivadas em caldo TYE foram colhidas e lavadas duas vezes com tampão fosfato-salina (PBS) e ajustadas, após leitura em espectrofotômetro (ELISA), à densidade óptica de 0,4, equivalente a $1,5 \times 10^7$ células/mL.

Microplacas de poliestireno de 96 poços com fundo chato foram utilizadas para a formação do biofilme misto. As placas foram incubadas em jarra de microaerofilia sobre uma superfície umidificada e a jarra levada à estufa de agitação orbital, a 75 rpm, por 1,5 hora, a 37°C. Posteriormente, todos os poços que continham a ressuspensão foram lavados com tampão PBS, a fim de remover as células não aderidas e, posteriormente, receberam caldo TYE. As placas foram novamente incubadas por 24h em agitador orbital a 75rpm e 37°C, em jarra de microaerofilia. Após as 24h foram realizados os testes de atividade metabólica e avaliação do teor de biomassa.

4.4.1 Avaliação da atividade metabólica por redução do sal de tetrazólio (XTT)

A análise se fundamenta na redução da solução de XTT à composto de formazan pela enzima mitocondrial desidrogenase de *Candida spp.*. O ensaio quantifica a capacidade da enzima desidrogenase, presente na mitocôndria, em converter o sal de tetrazólio hidrossolúvel XTT, de cor amarela, em compostos de formazan, de cor laranja. Portanto, o resultado mede a atividade celular, ou seja, células metabolicamente ativas no biofilme.

Cada poço foi lavado duas vezes com tampão PBS. Em seguida preparou-se a solução do XTT com adição de menadiona (2-metil-1,4-naftoquinona) a 0,4M. Foi adicionada a solução em cada poço, e a placa foi incubada em estufa a 37°C por 1,5 hora, protegida da incidência luminosa por papel alumínio. Por fim, transferiu-se 100µL de cada poço para uma nova placa de poliestireno de 96 poços e realizou-se a leitura espectrofotométrica a 490 nm.

Após a leitura espectrofotométrica, foi possível analisar a quantidade percentual de células metabolicamente ativas no biofilme, pois na microplaca foram respeitados os controles de crescimento microbiano individual e controle de esterilidade do meio. Pôde-se, então, fazer a comparação e determinar a porcentagem de crescimento do fungo.

4.4.2 Avaliação da biomassa com cristal violeta 0,4%

Para avaliar a capacidade de formação dos biofilmes, no que se refere ao teor de

biomassa, foi realizada coloração com solução aquosa de Cristal Violeta 0.4%, na qual, após a lavagem com água MiliQ estéril, foi adicionado álcool 95%. O álcool 95% retira o cristal da célula, permitindo a quantificação em espectrofotômetro a 595 nm. Os valores de absorvância obtidos para os poços controle foram então subtraídos dos valores dos poços teste, para eliminar resultados incorretos devido à interferência de fundo. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp. FRENTE AO FLUCONAZOL

Após o cultivo prévio de cinco isolados padrões e 20 isolados hospitalares de *Candida* spp. em ágar Saboraud Dextrose, foram preparadas ressuspensões em solução salina estéril 0,9%, de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Placas de poliestireno de 96 poços foram preparadas com as diluições seriadas de Fluconazol em caldo RPMI, começando com a concentração de 128ug/mL. As ressuspensões de *Candida* spp. foram adicionadas aos poços contendo o medicamento, respeitando os controles de crescimento isolado do microrganismo e de esterilidade do meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após a incubação, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 530nm.

Após a leitura espectrofotométrica, pôde-se determinar a porcentagem de crescimento dos fungos de acordo com os controles de crescimento de microrganismo e de esterilidade do meio de cultura, que foram respeitados na microplaca.

4.6 TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp. FRENTE AO LACTATO DE SÓDIO

Após o cultivo prévio de isolados padrões e isolados hospitalares de *Candida* spp. em ágar Saboraud Dextrose, foram preparadas ressuspensões em solução salina estéril a 0,9%, de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Placas de poliestireno de 96 poços e fundo chato foram preparadas com as diluições seriadas de Lactato de sódio em caldo RPMI, começando com a concentração de 28,5%., totalizando dez diluições, na razão de 2:1. As ressuspensões de *Candida* spp. foram adicionadas aos poços contendo o metabólito, respeitando os controles de crescimento isolado do microrganismo e de esterilidade do meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após este tempo, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 530nm.

Após a leitura espectrofotométrica, pôde-se determinar a porcentagem de crescimento dos fungos de acordo com os controles de crescimento de microrganismo e de esterilidade do meio de cultura, que foram respeitados na microplaca.

4.7 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp.

Após o cultivo prévio de cinco isolados padrões de *Candida* spp. em ágar Sabouraud Dextrose, foram preparadas ressuspensões em solução salina estéril 0,9%, de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Placas de poliestireno de 96 poços foram preparadas com as seis diluições seriadas de Fluconazol em caldo RPMI intercaladas com nove diluições de Lactato de sódio, como descrito em protocolo prévio. As ressuspensões de *Candida* spp. foram adicionadas aos poços contendo o medicamento e o metabólito, respeitando os controles de crescimento isolado do microrganismo e de esterilidade do meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C e, posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 530nm, para a determinação da porcentagem de crescimento dos fungos de acordo com os controles de crescimento de microrganismo isolado, controle de crescimento de microrganismo com cada substância e de esterilidade do meio de cultura, que foram respeitados na microplaca.

4.8 TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME RECÉM-ADERIDO DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram desenvolvidos conforme o item 4.4. Após 1,5 horas em agitador orbital, foi aplicado o tratamento com lactato de sódio, nas concentrações de 2500µg/mL a 4,85 µg/mL Foi realizado o ensaio de MTT para avaliar a atividade metabólica das células, de acordo com o 4.4.1.

4.9 TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME MADURO DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram desenvolvidos conforme o item 4.4. Após 1,5h em agitador orbital, os poços foram lavados com tampão PBS para retirar as células não aderidas, e foi colocado meio de cultura nos poços. Após 24 horas em agitador orbital, com o biofilme já maduro, foi aplicado o tratamento com lactato de sódio, nas concentrações de 2500µg/mL a 4,85 µg/mL Foi realizado o ensaio de MTT para avaliar a atividade metabólica das células, de acordo com o 4.4.1.

4.10 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE BIOFILMES RECÉM-FORMADOS DE AMOSTRAS PADRÕES DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram obtidos conforme o item 4.4. Após 1,5h em agitador orbital, os poços foram lavados com tampão PBS para retirar as células não aderidas, e foi aplicado o tratamento com lactato de sódio, nas concentrações de 625µg/mL a 9,75µg/mL, concomitantemente com fluconazol nas concentrações de 64µg/mL a 2µg/mL, seguindo o design da placa presente no protocolo. Foi realizado o ensaio de MTT para avaliar a atividade metabólica das células, de acordo com o item 4.4.1, e o cálculo do teor de biomassa com cristal violeta 0,4%, de acordo com o item 4.5.2.

4.11 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE BIOFILMES MADUROS DE AMOSTRAS PADRÕES DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram desenvolvidos conforme o item 4.4. Após 1,5h em agitador orbital, os poços foram lavados com tampão PBS para retirar as células não aderidas, e foi adicionado meio de cultura, levando as placas para incubação em agitador orbital por mais 24 horas a 37°C. Após 24h, os poços foram lavados com PBS e logo após foi aplicado o tratamento com lactato de sódio, nas concentrações de 625µg/mL a 9,75µg/mL, concomitantemente com fluconazol nas concentrações de 64µg/mL a 2µg/mL, seguindo o design da placa presente no protocolo. Foi realizado o ensaio de MTT para avaliar a atividade metabólica das células, de acordo com o item 4.4.1, e o cálculo do teor de biomassa com cristal violeta 0,4%, de acordo com o item 4.4.2.

4.12 TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp. FRENTE AO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

Após o cultivo prévio de isolados padrões e isolados hospitalares de *Candida* spp. em ágar Sabouraud Dextrose, foram preparadas ressuspensões em solução salina estéril a 0,9%, de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Placas de poliestireno de 96 poços e fundo chato foram preparadas com as diluições seriadas de peróxido de hidrogênio em caldo RPMI, começando com a concentração de 17,5%, totalizando dez diluições, na razão de 2:1. As ressuspensões de *Candida* spp. foram adicionadas aos poços contendo o metabólito, respeitando os controles de crescimento isolado do microrganismo e de esterilidade do meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após a incubação, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 530nm. Após a leitura espectrofotométrica a 570nm, pôde-se determinar a porcentagem de crescimento dos fungos de acordo com os controles de crescimento de microrganismo e de

esterilidade do meio de cultura, em poços reservados para tal finalidade.

4.13 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS PADRÕES DE *Candida* spp.

Após o cultivo prévio de cinco isolados padrões de *Candida* spp. em ágar Saboraud Dextrose, foram preparadas ressuspensões em solução salina estéril 0,9%, de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Placas de poliestireno de 96 poços foram preparadas com as seis diluições seriadas de Fluconazol em caldo RPMI intercaladas com nove diluições de peróxido de hidrogênio, como descrito em protocolo prévio. As ressuspensões de *Candida* spp. foram adicionadas aos poços contendo o fármaco e o metabólito, respeitando os controles de crescimento isolado do microrganismo e de esterilidade do meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após a incubação, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 530nm. Após a leitura espectrofotométrica, pôde-se determinar a porcentagem de crescimento dos fungos de acordo com os controles de crescimento de microrganismo isolado, controle de crescimento de microrganismo com cada substância e de esterilidade do meio de cultura, que foram reservados para tal finalidade.

4.14 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO/PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL EM DOSAGENS MAIS BAIXAS SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Após o cultivo prévio dos isolados hospitalares de *Candida* spp. em ágar Saboraud Dextrose, foram preparadas ressuspensões em solução salina estéril 0,9%, de acordo com a escala 0,5 de MacFarland. Placas de poliestireno de 96 poços foram preparadas com as quatro diluições mais baixas de Fluconazol em caldo RPMI intercaladas com as quatro diluições mais baixas de Lactato de sódio e peróxido de hidrogênio, como descrito em protocolo prévio. A placa foi dividida ao meio, de forma que, em cada placa, houvesse as análises de fluconazol e peróxido e fluconazol e lactato. As ressuspensões de *Candida* spp. foram adicionadas aos poços contendo o medicamento e os metabólitos, respeitando os controles de crescimento isolado do microrganismo e de esterilidade do meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após a incubação, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 530nm.

Após a leitura espectrofotométrica, pôde-se determinar a porcentagem de crescimento dos fungos de acordo com os controles de crescimento de microrganismo isolado, controle de crescimento de microrganismo com cada substância e de esterilidade do meio de cultura, que foram respeitados na microplaca.

4.15 EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES RECÉM-FORMADOS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram formados conforme o item 4.4. Após 1,5 horas em agitador orbital, foi aplicado o tratamento com peróxido de hidrogênio, nas concentrações de 1750µg/mL a 3,4µg/mL. Foi realizado o ensaio de MTT e ensaio de biomassa para avaliar a atividade metabólica das células, de acordo com os itens 4.4.1 e 4.4.2.

4.16 EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES MADUROS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Os biofilmes foram formados conforme o item 4.4. Após 1,5h em agitador orbital, os poços foram lavados com tampão PBS para retirar as células não aderidas, e foi colocado meio de cultura nos poços. Após 24 horas em agitador orbital, com o biofilme já maduro, foi aplicado o tratamento com lactato de sódio, nas concentrações de 1750µg/mL a 3,4µg/mL. Foi realizado o ensaio de MTT para avaliar a atividade metabólica das células, de acordo com o item 4.4.1 e verificação da biomassa, de acordo com o item 4.4.2.

4.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização das análises estatísticas e a geração dos gráficos experimentais, foram empregados dois recursos computacionais distintos. O software GraphPad Prism (versão 9.5.1) foi utilizado para a elaboração dos gráficos e a aplicação do teste de ANOVA One-Way, apropriado para a comparação de médias entre três ou mais grupos experimentais quando os dados seguem distribuição normal.

Paralelamente, adotou-se a linguagem de programação Python, amplamente reconhecida no meio científico por sua flexibilidade, sintaxe acessível e ampla gama de bibliotecas voltadas à análise de dados. Essa linguagem foi empregada para a realização dos testes de normalidade (como o teste de Shapiro-Wilk) e, nos casos em que os pressupostos paramétricos foram violados, aplicaram-se os testes não paramétricos Kruskal-Wallis seguidos do pós-teste de Dunn, permitindo comparações múltiplas entre grupos de forma robusta.

A escolha pela utilização de Python justifica-se por sua leveza computacional, excelente desempenho na execução de análises estatísticas complexas e pela reprodutibilidade dos resultados, atributos fundamentais para a confiabilidade e transparência de estudos científicos.

A análise seguiu os seguintes passos:

- **Teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados:** O teste de Shapiro-Wilk é um teste estatístico utilizado para avaliar se um conjunto de dados segue uma distribuição normal. Ele é amplamente aplicado em análises estatísticas para determinar se testes paramétricos (como ANOVA ou teste t) podem ser usados ou se é necessário recorrer a testes não paramétricos (como Kruskal-Wallis ou teste de Mann-Whitney). O teste de Shapiro-Wilk verifica a normalidade dos dados ao comparar a distribuição observada com a distribuição normal teórica. Ele calcula um coeficiente (W) que mede o quão próximo os dados estão de uma distribuição normal.

O teste de Shapiro-Wilk gera um p-valor que deve ser interpretado da seguinte forma:

- $p > 0.05$ → Aceita-se a hipótese nula → Os dados seguem uma distribuição normal.
- $p \leq 0.05$ → Rejeita-se a hipótese nula → Os dados não seguem uma distribuição normal.

Se o teste indicar normalidade ($p > 0.05$), pode-se utilizar testes paramétricos como ANOVA e teste t. Caso contrário, é necessário recorrer a testes não paramétricos como Kruskal-Wallis ou Mann-Whitney.

- **Aplicação de ANOVA One-Way + Tukey (se normal) ou Kruskal-Wallis + Dunn (se não normal):** a aplicação depende da normalidade dos dados. Se os dados seguem uma distribuição normal (confirmado pelo teste de Shapiro-Wilk), utiliza-se ANOVA One-Way, que compara as médias de três ou mais grupos e verifica se há diferenças estatisticamente significativas entre eles. Caso o resultado da ANOVA seja significativo ($p < 0.05$), realiza-se o teste de Tukey como um post-hoc para identificar quais grupos diferem entre si. Se os dados não seguem uma distribuição normal, aplica-se o teste de Kruskal-Wallis, uma alternativa não paramétrica que avalia se há diferenças entre os grupos com base nas medianas. Se Kruskal-Wallis for significativo, o teste de Dunn é usado como post-hoc para determinar quais grupos apresentam diferenças estatisticamente significativas. Essa abordagem garante uma análise estatística robusta e adequada à distribuição dos dados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FORMAÇÃO DE BIOFILME MISTO DE *Lactobacillus* spp. e *Candida* spp.

5.1.1 Avaliação da atividade metabólica por redução do sal de tetrazólio xtt

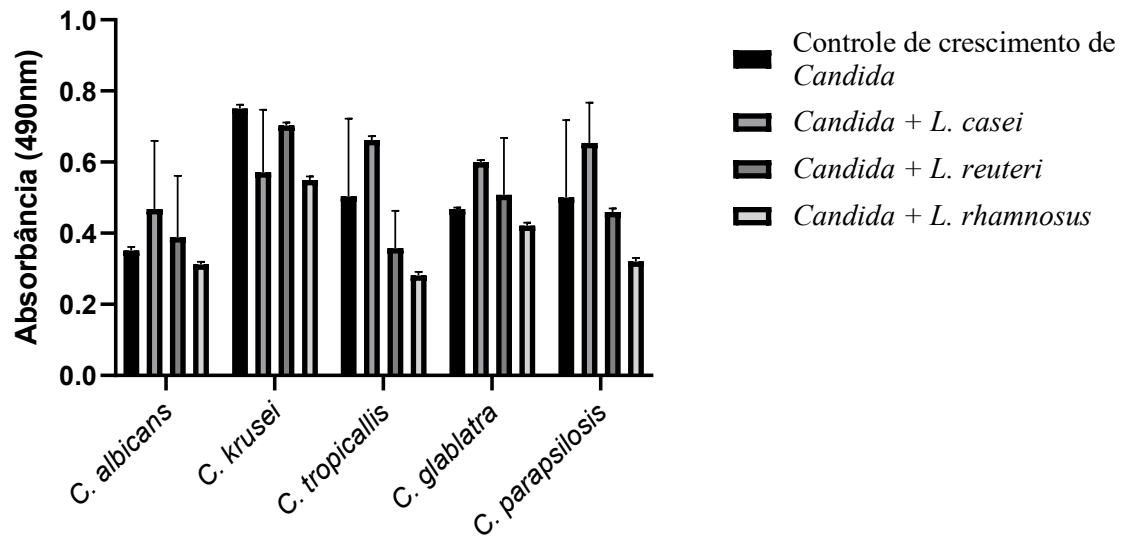
Nos gráficos de número 1 a 5 de análise de atividade metabólica das amostras padrão e hospitalares, representadas, são comparadas as absorvâncias medidas a 490 nm para diferentes espécies de *Candida* (como *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, e *C. parapsilosis*), sob as condições descritas a seguir:

- **Controle de Crescimento de *Candida*:** Refere-se à atividade metabólica sem intervenção, ou seja, relacionada à capacidade natural de crescimento de *Candida* spp.
- ***Candida* spp.+ *L. casei*:** Exibe o efeito de *Lactobacillus casei* na atividade metabólica e formação de biofilme de *Candida* spp.;
- ***Candida* spp.+ *L. reuteri*:** Avalia o impacto de *L. reuteri* na atividade metabólica antifúngica de *Candida* spp.;
- ***Candida* spp.+ *L. rhamnosus*:** Analisa o efeito de redução de *Candida* spp. de *L. rhamnosus*

Padrões observáveis no gráfico:

- **Controle de crescimento:** A absorvância mais alta indica o crescimento máximo sem interferência. A absorvância mais alta indica maior atividade metabólica ou atividade metabólica que será considerada como máxima.

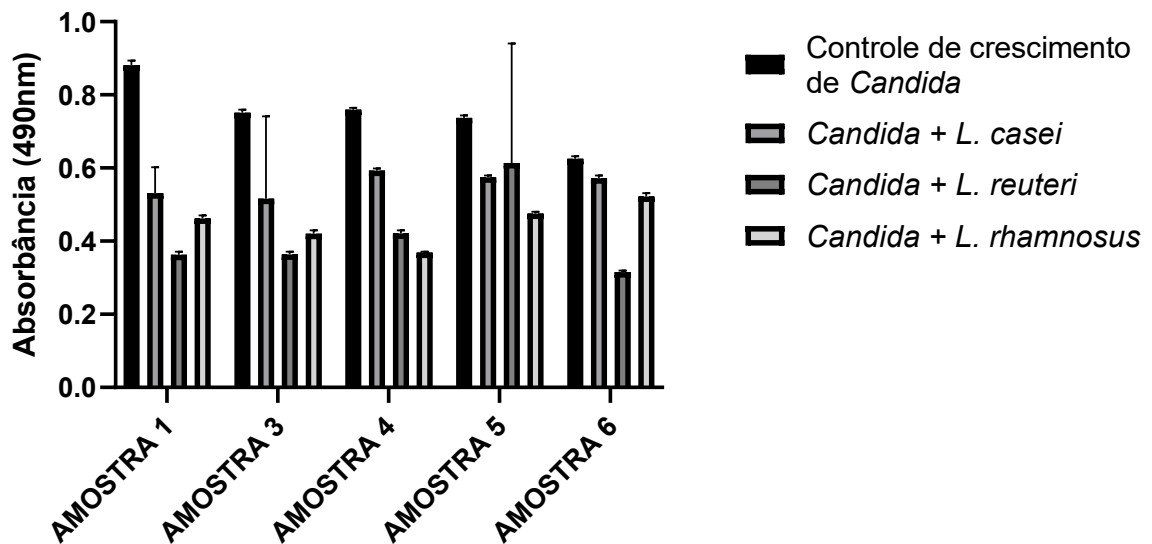
- **Efeito de *Lactobacillus* spp.:** As amostras com *Lactobacillus* spp. apresentam uma redução na absorvância, ou seja, redução na atividade metabólica em comparação com o controle, sugerindo que os diferentes probióticos diminuem a atividade metabólica de *Candida* de forma variada. Diversas espécies de *Lactobacillus* demonstram atividade antifúngica contra *Candida* spp., principalmente *C. albicans*, por meio de múltiplos mecanismos, como a produção de ácido láctico, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e outras substâncias antimicrobianas que inibem a adesão, a formação de biofilmes e a morfogênese fúngica. Além disso, esses probióticos modulam o pH e a resposta imune do hospedeiro, criando um ambiente desfavorável ao crescimento fúngico. Tais evidências sustentam o uso terapêutico de *Lactobacillus* na prevenção e controle de candidíase, especialmente em casos recorrentes (KLINKERBERG *et al.*, 2016).

Gráfico 1 - Análise da atividade metabólica em amostras Padrão de *Candida* spp.

Fonte: da autora.

Para as espécies *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, enquanto para *C. tropicalis* não houve variações relevantes. O valor de p foi menor do que 0,005 para as quatro primeiras, calculado pelo Phyton. Os biofilmes de todas as amostras padrões apresentaram atividade metabólica reduzida na presença de *L. rhamnosus*. Esses resultados indicam que diferentes espécies de *Lactobacillus* podem interferir, de modo distinto, na atividade metabólica de *Candida* spp. de formas variadas, sendo que algumas espécies fúngicas são mais sensíveis a determinadas cepas de *Lactobacillus*. Isso sugere um potencial uso de probióticos no controle de infecções fúngicas.

Gráfico 2 - Análise da atividade metabólica em amostras clínicas 1 a 6 de *Candida* spp. em interação com diferentes espécies de *Lactobacillus* spp., sendo: 1 – *Candida albicans*, 3- *Candida* não-*albicans* (*tropicalis*), 4- *Candida* não-*albicans* (*parapsilosis*), 5- *Candida* não-*albicans* (*glabratra*), 6 – *Candida* não-*albicans* (*glablatra*).



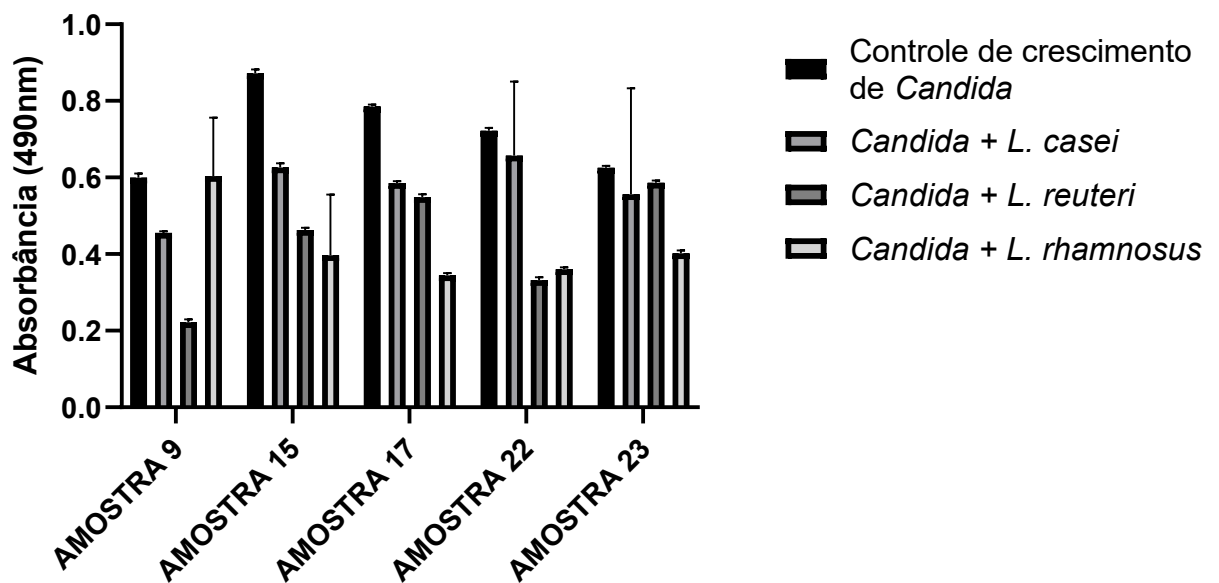
Fonte: da autora.

Para todas as amostras clínicas de *Candida* spp. observaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,005$) entre os grupos. Quando houve diferenças, *L. reuteri* foi o grupo mais frequentemente envolvido nas comparações significativas, pois apresentou picos mais baixos de que o controle. Esses resultados sugerem que diferentes espécies de *Lactobacillus* afetam de maneira distinta a atividade metabólica de *Candida*. No entanto, nem todas as amostras responderam da mesma forma, o que pode indicar uma variação entre cepas. Na presença de *L. rhamnosus*, os biofilmes de todas as amostras de *C. albicans* e espécies não-*albicans* de *Candida* spp. apresentaram redução em suas atividades metabólicas. Todas as linhagens de *Lactobacillus* spp. (*L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus*) foram capazes de reduzir a atividade metabólica dos biofilmes das linhagens clínicas de *C. albicans* e *C. parapsilosis*.

Cada cepa pode modular o metabolismo de forma distinta, influenciando a produção de ácidos orgânicos, como o ácido lático, ou de outros compostos antimicrobianos, o que pode afetar sutilmente o crescimento e a viabilidade de *Candida* no microambiente. As cepas de *Lactobacillus* também podem interferir na viabilidade de *Candida* por meio da competição por nutrientes ou pela alteração do pH local, criando ambientes microecológicos distintos. Outro

fator a ser considerado é a modulação imunológica: determinadas cepas têm potencial de influenciar a resposta imune do hospedeiro, o que poderia contribuir para a contenção da *Candida spp.*, mesmo que tal efeito não tenha sido captado pela análise laboratorial utilizada. Além disso, interações sinérgicas ou competitivas com outros microrganismos da microbiota, bem como a resiliência diferencial ao estresse ambiental (como variações de temperatura, pH ou presença de antimicrobianos), podem alterar significativamente o comportamento dessas cepas em contextos mais complexos, como o intestinal ou o vaginal, sem necessariamente se refletir nas medidas diretas de atividade metabólica avaliadas neste estudo (Slover e Danziger (2008); Risso e Malcata (2017); Noverr e Huffnagle (2004)).

Gráfico 3 - Análise da atividade metabólica em amostras 9, 15, 17, 22 e 23 de *Candida spp.*, sendo 9 – *Candida albicans*, 15 – *Candida albicans*, 17- *Candida não-albicans (parapsilosis)*, 22- *Candida albicans*, 25- *Candida não-albicans (glablatra)*.

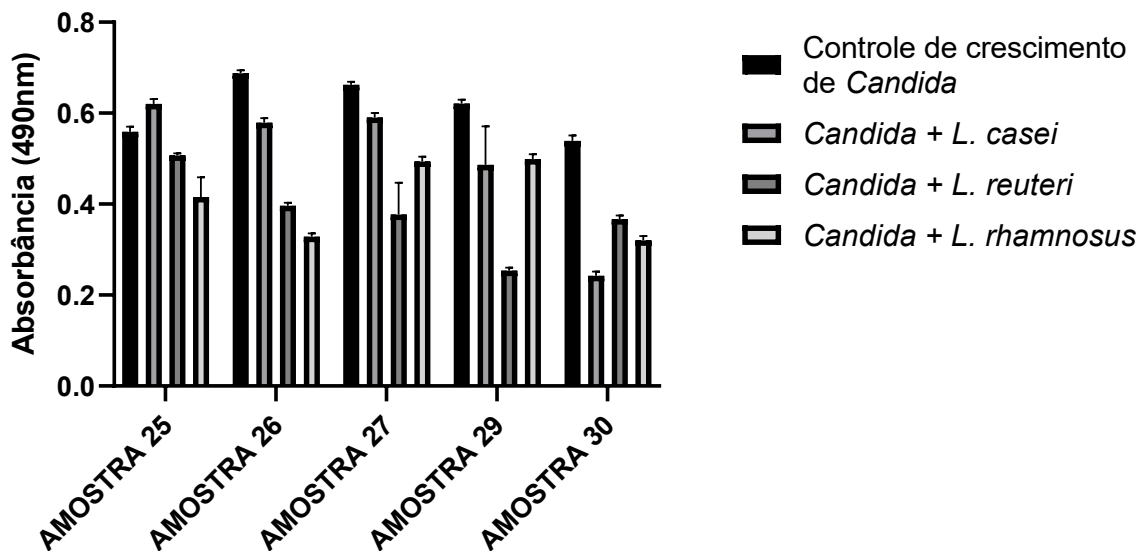


Fonte: da autora.

Todas as amostras apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. É possível observar através das barras de desvio padrão que estão nas imagens. *L. reuteri* foi a espécie que mais influenciou a atividade metabólica de *Candida*, segundo as análises estatísticas, sendo responsável por diferenças entre as amostras. Além disso, *L. rhamnosus* afetou significativamente as amostras 17 e 22. Esses resultados sugerem que diferentes espécies de *Lactobacillus* reduzem a atividade metabólica de *Candida* de maneiras distintas. As variações entre amostras podem estar relacionadas a diferenças genéticas entre as

cepas ou a fatores ambientais. No geral, os achados reforçam o potencial uso de probióticos no controle de infecções fúngicas (Xiao *et al.*, 2020)

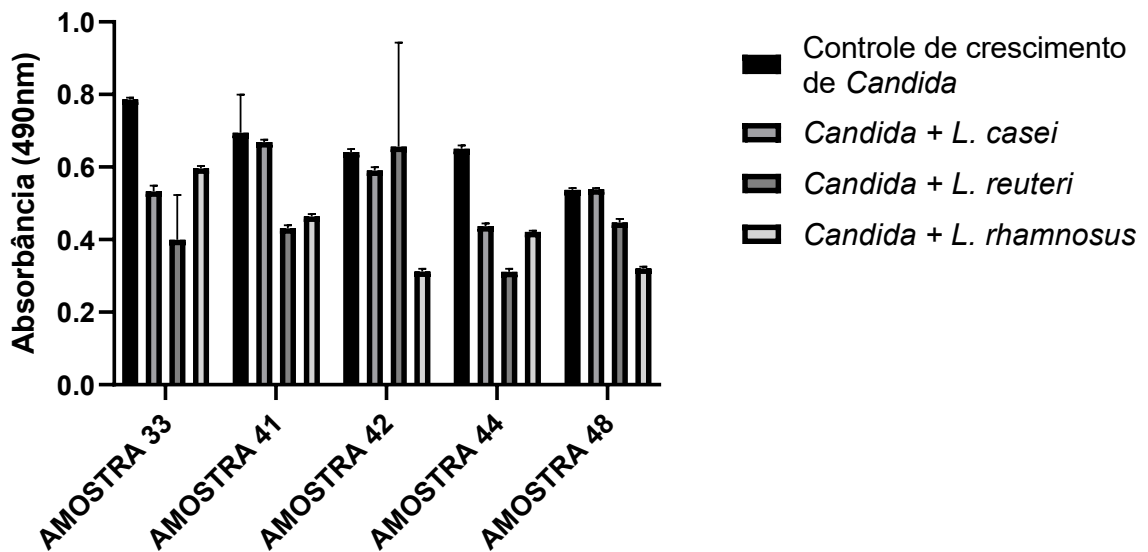
Gráfico 4 - Análise da atividade metabólica em amostras 25 a 30 de *Candida* spp., sendo 25- *Candida* não-*albicans* (*glabratra*), 26- espécie indeterminada, 27- *Candida albicans*, 29- *Candida albicans*, 30- *Candida* não-*albicans* (*glabratra*).



Fonte: da autora.

Todas as amostras apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. *L. casei* foi o grupo que mais influenciou a atividade metabólica de *Candida* spp., segundo as análises estatísticas, sendo responsável por diferenças significativas nas amostras 25, 26, 29 e 30. Além disso, *L. rhamnosus* teve efeito significativo na amostra 29, e *L. reuteri* apresentou diferenças quando comparado a *L. casei* nas amostras 26 e 30. Esses resultados indicam que diferentes espécies de *Lactobacillus* reduzem a atividade metabólica de *Candida* spp. de formas variadas, com algumas amostras sendo mais sensíveis a *L. casei*, enquanto outras responderam mais a *L. reuteri* ou *L. rhamnosus*. As variações entre amostras podem estar associadas a diferenças genéticas entre as cepas ou a fatores ambientais.

Gráfico 5 - Análise da atividade metabólica em amostras 33, 41, 42, 44 e 48 sendo todas *Candida albicans*.



Fonte: da autora.

Todas as amostras apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. *L. reuteri* foi o grupo que mais influenciou a atividade metabólica de *Candida* spp.. Além disso, *L. rhamnosus* teve efeito significativo na amostra 44, e *L. reuteri* apresentou diferenças quando comparado a *L. casei* nas amostras 41 e 48. As variações entre amostras podem estar associadas a diferenças genéticas entre as cepas ou a fatores ambientais. No geral, os achados reforçam o potencial uso de probióticos no controle de infecções fúngicas (Hojjati *et al.*, 2020).

A análise da atividade metabólica de *Candida* na presença de diferentes espécies de *Lactobacillus* revelou padrões distintos entre as amostras. De modo geral, observou-se que a presença de *L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus* resultou em uma redução significativa da atividade metabólica de *Candida* em comparação com o controle. No entanto, o grau dessa inibição variou entre as amostras, sugerindo que diferentes fatores podem influenciar a resposta das cepas de *Candida* à co-cultura com *Lactobacillus*. No entanto, o fato de que o grau de inibição variou entre as amostras indica a complexidade dessa interação e aponta para fatores adicionais que podem modular a resposta fúngica. Tais fatores podem incluir a variabilidade genética entre cepas de *Candida*, a densidade celular das culturas, o perfil metabólico individual dos *Lactobacillus*, além de características microambientais como pH, disponibilidade de substratos e presença de outros metabólitos secundários. Além disso, esse comportamento

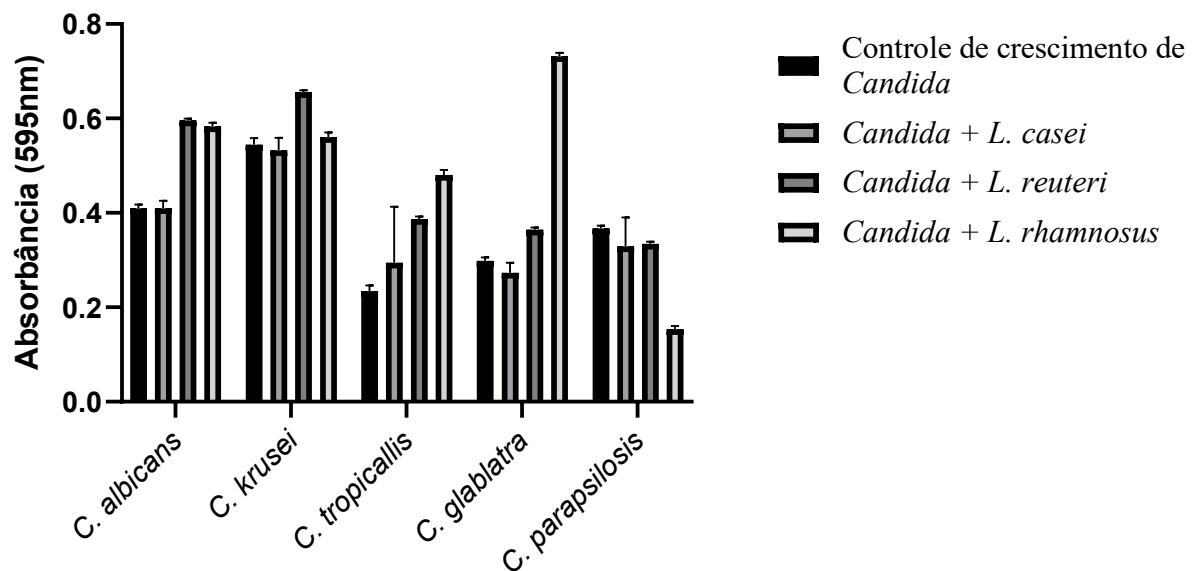
diferencial pode também refletir aspectos fisiológicos das próprias cepas de *Lactobacillus*, como sua capacidade de aderência, biofilme, produção de compostos antimicrobianos, ou sua resiliência ao estresse oxidativo.

A observação é consistente com estudos prévios que demonstram que o efeito probiótico de *Lactobacillus spp.* sobre *Candida spp.* pode ser cepa-específico (Matsubara *et al.*, 2022; de Barros *et al.*, 2020), o que reforça a importância de análises fenotípicas individualizadas em estudos de co-cultura. Dessa forma, a variação na resposta de *Candida* sugere que a eficácia de intervenções com *Lactobacillus* como agentes coadjuvantes no controle de infecções fúngicas pode depender da combinação específica de cepas utilizadas, sendo fundamental caracterizar melhor os mecanismos subjacentes a essa modulação para aplicações clínicas mais eficazes. Além disso, o trabalho de Nakatsuji *et al.* (2018) aponta que interações simbióticas entre micro-organismos, como *Lactobacillus spp.* e *Candida spp.*, podem ocorrer em formas mais sutis e dependentes do contexto experimental. Esses achados estão em consonância com as observações de Morita *et al.* (2014), que documentam uma resposta consistente em *Candida* mesmo diante de mudanças no ambiente microbiano, sugerindo uma plasticidade metabólica que pode neutralizar diferenças em condições controladas.

Essas observações sugerem que estudos futuros com maior poder estatístico ou métodos complementares, como análises proteômicas e metabolômicas, poderiam revelar efeitos biológicos mais sutis entre as amostras, possibilitando uma compreensão mais profunda da interação entre *Lactobacillus* e *Candida*.

5.2 AVALIAÇÃO DA BIOMASSA COM CRISTAL VIOLETA 0,4%

Gráfico 6 - Análise da biomassa em amostras Padrão de *Candida* spp. (*C. albicans* SC5314, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019).



Fonte: da autora.

Ao contrário do esperado para um efeito antifúngico uniforme, observa-se que os resultados variam de forma significativa entre as diferentes interações. Em *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, a biomassa nas condições com *Lactobacillus* spp. foi semelhante ou até maior do que no controle de crescimento, indicando estímulo parcial ou ausência de inibição da formação de biofilme por algumas cepas probióticas.

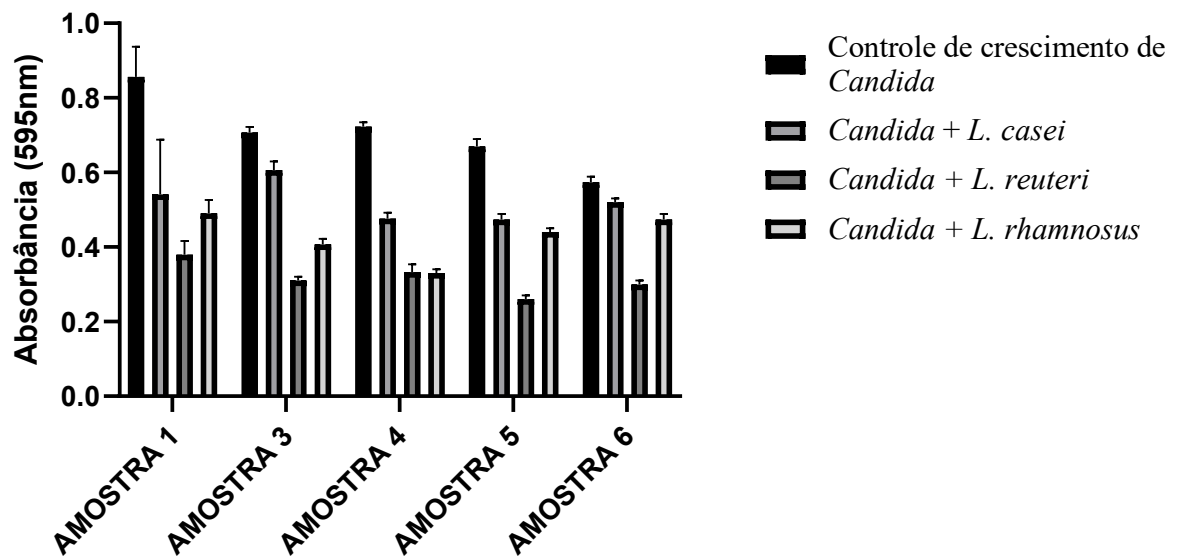
Em contraste, para *C. glabrata* e especialmente *C. parapsilosis*, algumas cepas de *Lactobacillus* — notadamente *L. rhamnosus* — promoveram uma redução expressiva da biomassa, sugerindo um efeito inibitório mais pronunciado e dependente da espécie fúngica.

Esses achados sugerem que o impacto de *Lactobacillus* sobre a formação de biofilmes de *Candida* spp. é altamente variável, podendo ser inibitório, neutro ou até estimulador, dependendo tanto da cepa de *Candida* quanto da espécie de *Lactobacillus* envolvida. A modulação da biomassa pode estar relacionada a mecanismos como produção de ácido láctico, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas ou ainda interações competitivas que, em alguns casos, favorecem a adesão fúngica (via alterações do microambiente, pH ou sinalização).

Esses resultados reforçam a importância da escolha criteriosa da cepa probiótica, uma vez que efeitos pró-fúngicos podem ser indesejáveis em contextos terapêuticos. Estudos

adicionais, com base molecular e funcional, são essenciais para esclarecer os mecanismos envolvidos e direcionar o uso clínico seguro e eficaz de probióticos no combate à candidíase.

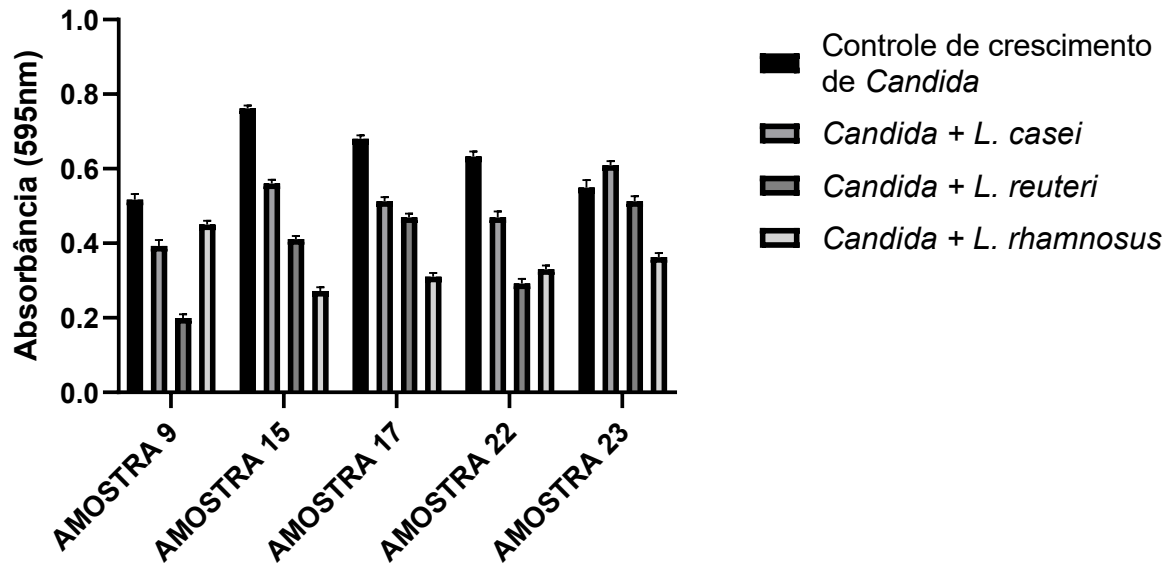
Gráfico 7 - Análise da biomassa em amostras 1, 3, 4, 5 e 6 de *Candida*, sendo: 1- *Candida albicans*, 3- *Candida* não-*albicans* (*tropicalis*), 4- *Candida* não-*albicans* (*parapsilosis*), 5- *Candida* não-*albicans* (*glabratra*), 6 - *Candida* não-*albicans* (*glablatra*).



Fonte: da autora.

As amostras 1, 3, 5 e 6 apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, enquanto a amostra 4 não mostrou variações relevantes. *L. casei* foi o grupo que mais influenciou a biomassa de *Candida* spp., sendo responsável por diferenças significativas nas amostras 1, 3, 5 e 6. Além disso, *L. rhamnosus* teve efeito significativo na amostra 5, e *L. reuteri* apresentou diferenças quando comparado a *L. casei* nas amostras 3 e 6. Esses resultados indicam que diferentes espécies de *Lactobacillus* reduzem a biomassa de *Candida* spp. de formas variadas, com algumas amostras sendo mais sensíveis a *L. casei*, enquanto outras responderam mais a *L. reuteri* ou *L. rhamnosus*. As variações podem estar associadas a diferenças genéticas entre as cepas ou a fatores ambientais.

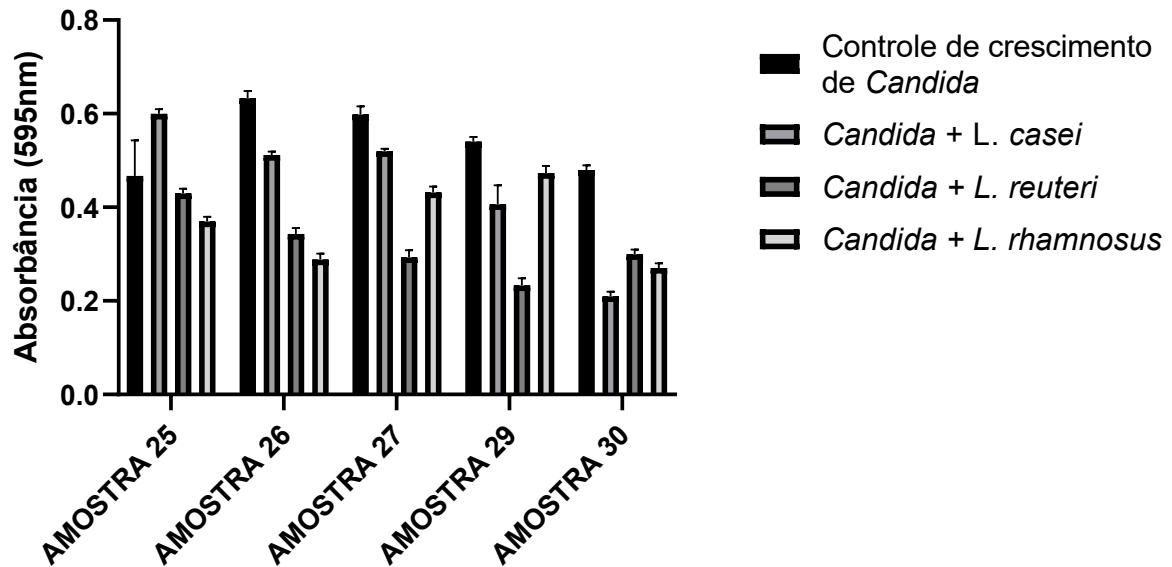
Gráfico 8 - Análise da biomassa em amostras 9, 15, 17, 22 e 23 de *Candida*, sendo 9 – *Candida albicans*, 15 – *Candida albicans*, 17- *Candida* não-*albicans* (*parapsilosis*), 22- *Candida albicans*, 25- *Candida* não-*albicans* (*glablatra*).



Fonte: da autora.

De maneira geral, todas as cepas de *Lactobacillus* promoveram redução da biomassa fúngica em comparação ao controle, embora com diferentes níveis de intensidade. As amostras 9, 15 e 23 apresentaram reduções mais acentuadas na presença de *L. casei*, sugerindo um efeito antibiofilme mais expressivo dessa cepa sobre essas linhagens clínicas de *Candida*. A amostra 22 demonstrou maior sensibilidade ao tratamento com *L. rhamnosus*, indicando uma ação específica dessa espécie probiótica, enquanto a amostra 17 exibiu as menores variações entre os grupos, com reduções sutis em todos os tratamentos, o que pode refletir menor eficácia dos probióticos testados ou resistência relativa da cepa fúngica à interferência bacteriana. Esses achados indicam que a atividade antibiofilme de *Lactobacillus spp.* sobre *Candida spp.* é dependente do perfil da amostra clínica, possivelmente devido à variabilidade genômica das leveduras, diferenças fenotípicas relacionadas à adesão e produção de matriz extracelular, ou ainda à presença de mecanismos adaptativos frente aos metabólitos antimicrobianos liberados pelos probióticos. Além disso, observa-se que *L. reuteri* apresentou efeito moderado, porém consistente entre as amostras, embora menos acentuado do que o observado para *L. casei* e *L. rhamnosus* em determinadas condições, o que reforça a ideia de que cada espécie de *Lactobacillus* atua por vias distintas, como a produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas ou competição por sítios de adesão (De Barros *et al.*, 2018).

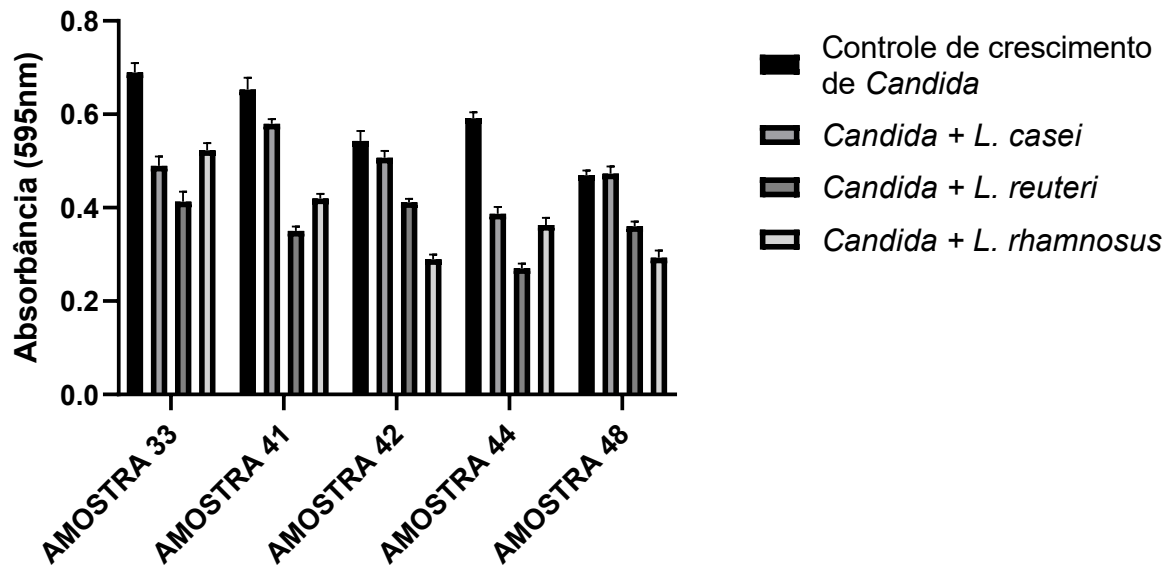
Gráfico 9 - Análise da biomassa em amostras 25, 26, 27, 29 e 30 de *Candida*, sendo 25- *Candida* não-*albicans* (*glablatra*), 26- (indeterminado), 27- *Candida albicans*, 29- *Candida albicans*, 30- *Candida* não-*albicans* (*glablatra*).



Fonte: da autora.

De modo geral, observa-se que todas as cepas probióticas promoveram redução da biomassa em relação ao controle, com destaque para *L. rhamnosus*, que apresentou efeito mais acentuado em todas as amostras, especialmente nas amostras 25, 27 e 30. *L. casei* também se mostrou eficaz, embora com variações entre as amostras, enquanto *L. reuteri* teve efeito intermediário e mais consistente. A amostra 26 exibiu um padrão de maior resistência relativa, com menor redução da biomassa nos tratamentos testados. Esses resultados reforçam a ação antibiofilme de *Lactobacillus* spp., mas também evidenciam que sua eficácia depende da cepa probiótica utilizada e do perfil da amostra de *Candida* spp., o que pode estar relacionado a fatores genéticos e fenotípicos das leveduras, bem como à diversidade dos mecanismos antimicrobianos exercidos pelos probióticos (Jun *et al.*, 2013).

Gráfico 10: Análise da biomassa em amostras 33, 41, 42, 44 e 48, sendo todas *Candida albicans*.



Fonte: da autora.

O gráfico apresenta a análise da biomassa de biofilmes formados por *Candida* spp. nas amostras clínicas 33, 41, 42, 44 e 48, após tratamento com diferentes cepas de *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus*), em comparação ao controle de crescimento fúngico. De maneira geral, observa-se que todas as cepas probióticas promoveram algum grau de redução na biomassa, embora com intensidade variável entre as amostras. *L. casei* foi a cepa que mais se destacou, com efeito inibitório expressivo nas amostras 33, 41, 44 e 48, enquanto *L. rhamnosus* mostrou eficácia significativa na amostra 44. Já *L. reuteri* apresentou efeito mais moderado, porém com destaque nas amostras 41 e 48, quando comparado a *L. casei*. A amostra 42, por outro lado, mostrou menor sensibilidade aos tratamentos, com diferenças mais discretas entre os grupos. Esses resultados demonstram que a ação antibiofilme de *Lactobacillus* spp. sobre *Candida* spp. é altamente dependente da interação específica entre as cepas, podendo variar de acordo com características genéticas e fenotípicas das amostras clínicas fúngicas. A variabilidade na resposta sugere ainda a existência de mecanismos específicos de resistência ou tolerância por parte de certas cepas de *Candida*, além de reforçar que a escolha da espécie probiótica adequada pode ser crucial na formulação de estratégias antifúngicas alternativas (Jun *et al.*, 2013).

A análise da biomassa de *Candida* na presença de diferentes espécies de *Lactobacillus* revelou um efeito significativo na redução do crescimento fúngico em várias amostras. De maneira geral, a co-cultura com *L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus*, principalmente *L. reuteri*,

resultou em uma diminuição significativa na biomassa de *Candida* spp. quando comparada ao controle. No entanto, essa inibição variou entre as amostras, sugerindo que a interação entre *Candida* e *Lactobacillus* pode ser influenciada por fatores específicos da cepa fúngica e das condições ambientais (Patterson, 2019).

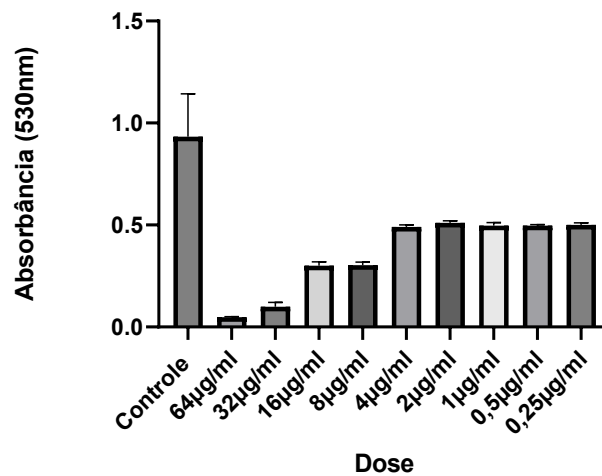
A literatura indica que espécies de *Candida* apresentam mecanismos robustos de adesão e formação de biofilme que aumentam sua resistência a influências externas (Verdenelli *et al.*, 2016; Strus *et al.*, 2005). Esse comportamento sugere que, mesmo na presença de agentes probióticos como *L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus*, as células de *Candida* podem manter uma resposta homogênea em termos de biomassa, uma característica que Verdenelli *et al.* (2016) associam a uma alta resiliência celular em ambientes *in vitro*.

Além disso, Strus *et al.* (2005) argumentam que, embora algumas interações entre *Lactobacillus* e *Candida* possam reduzir a aderência ou o crescimento das células de *Candida*, essas mudanças são frequentemente sutis e dependem de condições específicas do meio experimental. Rodrigues *et al.* (2017) reforçam que, para se observar uma resposta clara de *Candida* à presença de probióticos, fatores como concentração dos microrganismos e tempo de incubação podem ser cruciais.

4.3 TESTE DE SENSIBILIDADE SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp. FRENTE AO FLUCONAZOL

Nota-se o chamado efeito “Trailing”, que pode ocorrer na presença de antifúngicos azólicos, na amostra de *C. albicans* e *C. tropicalis*, ou seja, a inibição total do crescimento fúngico não é notavelmente alcançada sendo adicionadas as concentrações crescentes de antifúngicos azólicos; sabe-se muito pouco sobre os mecanismos responsáveis pelo efeito Trailing, porém estudos apontam para alterações celulares (NOEL MARTELI, 2017). Na amostra de *C. krusei*, nota-se o aumento gradual da turvação fúngica nos poços, de acordo com a diminuição das concentrações de Fluconazol. Esse efeito é mais acentuadamente notado na amostra de *C. glabratra*. Isso mostra que as amostras responderam ao antifúngico, sendo Dose-Dependente. Já a amostra de *C. parapsilosis*, mostra-se mais resistente ao medicamento, pois em sua dose mais alta (128 µg/mL), há diminuição de 59% do fungo.

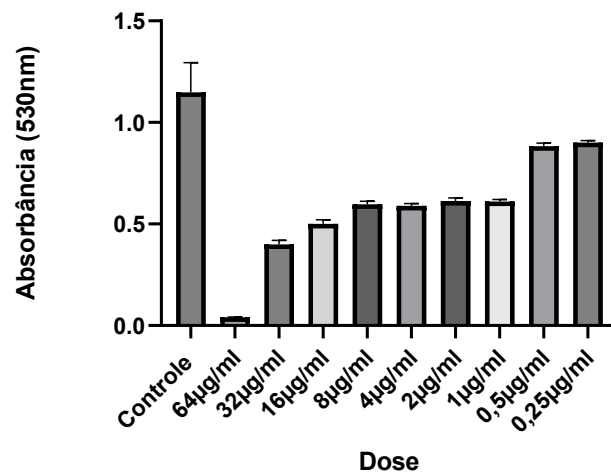
Gráfico 11 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao fluconazol em *Candida albicans* SC5314.



Fonte: da autora.

Os resultados indicaram diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, confirmando a eficácia do fluconazol na inibição do crescimento de *Candida albicans*. O fluconazol reduziu significativamente a atividade metabólica de *Candida albicans* de maneira dose-dependente. As concentrações de 64 e 32 µg/mL resultaram na maior inibição, com absorbância próxima a zero, sugerindo morte celular significativa. A partir de 16 µg/mL, houve um aumento gradual da absorbância, indicando uma recuperação parcial do crescimento fúngico. Em concentrações mais baixas (≤ 4 µg/mL), os valores de absorbância foram próximos ao controle, sugerindo que o efeito inibitório é reduzido em doses menores. O teste de Kruskal-Wallis confirmou que há diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando a eficácia do fluconazol. Esses achados destacam a importância do uso adequado de doses antifúngicas para evitar falhas terapêuticas e reduzir o risco de resistência. Além disso, os resultados indicam que a concentração inibitória mínima (CIM) para a cepa testada está em torno de 32 µg/mL, sendo essa informação essencial para guiar o tratamento da candidíase oral, vaginal e sistêmica. Estudos futuros podem avaliar o comportamento de cepas resistentes e explorar estratégias para potencializar a eficácia antifúngica (Pfaller, 2012).

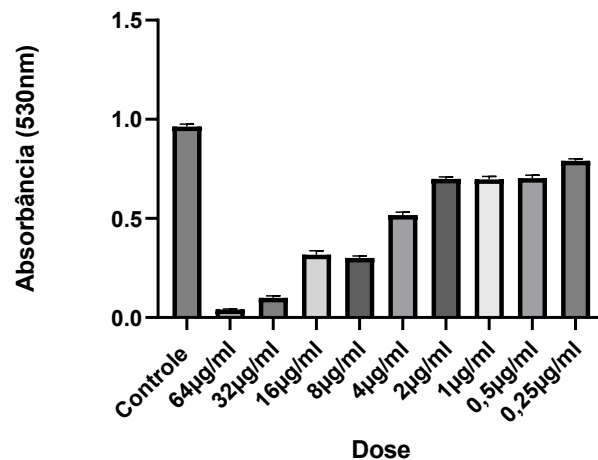
Gráfico 12 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao fluconazol em *Candida krusei* ATCC 6258.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que *Candida krusei* apresenta um perfil de sensibilidade reduzida ao fluconazol, com inibição significativa apenas em 64 µg/mL, enquanto concentrações menores permitiram a recuperação parcial do crescimento fúngico. Diferente de *C. albicans*, cuja CIM foi próxima de 32 µg/ml, que a considera sensível, de acordo com os documentos padrões, *C. krusei* manteve crescimento considerável mesmo em 16 µg/mL e doses menores, sugerindo resistência intrínseca ao fluconazol. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que doses convencionais desse antifúngico podem ser ineficazes contra essa espécie. Essa resistência intrínseca já é bem documentada na literatura e destaca a necessidade de alternativas terapêuticas como voriconazol, equinocandinas ou anfotericina B para infecções por *C. krusei*. Além disso, os achados ressaltam a importância de testes de sensibilidade antifúngica antes da prescrição de fluconazol, especialmente em pacientes imunocomprometidos.

Gráfico 13 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao fluconazol em *Candida tropicalis* ATCC 750.

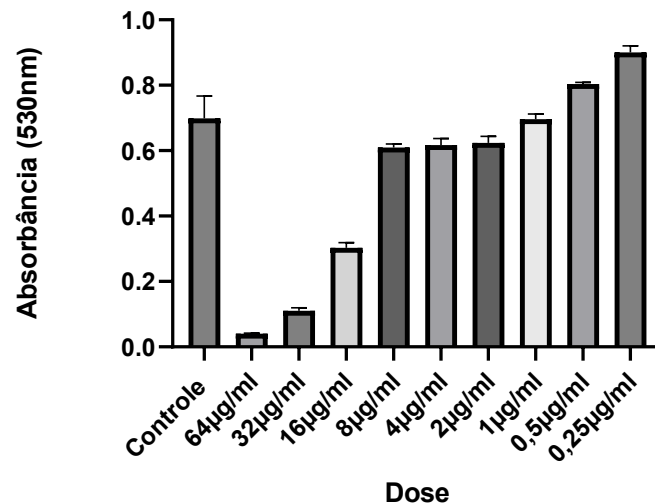


Fonte: da autora.

Os resultados indicaram diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, confirmando a eficácia do fluconazol na inibição do crescimento de *Candida tropicalis*, porém com um padrão semelhante ao observado para *C. albicans*.

Os resultados indicam que *Candida tropicalis* apresenta um perfil de sensibilidade dose-dependente ao fluconazol, com inibição significativa do crescimento em concentrações a partir de 64 µg/mL e 32 µg/mL, enquanto doses menores permitiram uma recuperação progressiva da biomassa fúngica. A partir de 16 µg/mL, observa-se um aumento gradual da absorbância, sugerindo uma redução na eficácia antifúngica. Em concentrações abaixo de 8 µg/mL, os valores de absorbância são próximos ao controle, indicando que o fluconazol não exerce efeito significativo em doses mais baixas. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando a eficácia antifúngica do fluconazol em doses adequadas. No entanto, a recuperação do crescimento em concentrações menores sugere que a CIM (Concentração Inibitória Mínima) para *C. tropicalis* pode ser superior a 16 µg/mL, tornando essencial a definição da dose correta para evitar falhas terapêuticas. Esses achados reforçam a necessidade do uso adequado do fluconazol, garantindo que a dose seja suficiente para eliminar a infecção e reduzir o risco de resistência antifúngica.

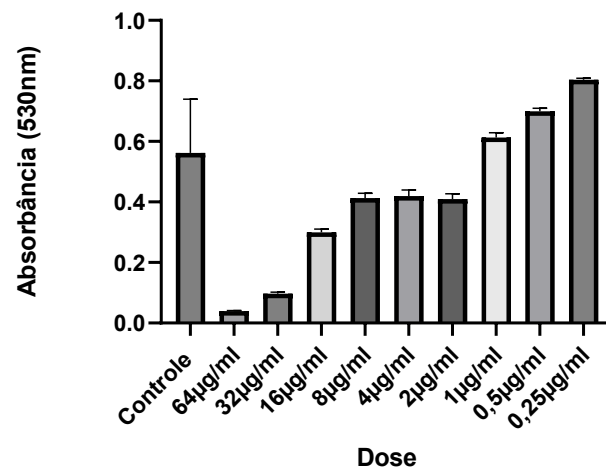
Gráfico 14 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao fluconazol em *Candida glabrata* ATCC 90030.



Fonte: da autora.

Os resultados indicaram diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, confirmando a eficácia do fluconazol na inibição do crescimento de *Candida glabrata*, mas com um padrão que sugere resistência parcial ao antifúngico. Os resultados demonstram que *Candida glabrata* apresenta resistência parcial ao fluconazol, com inibição significativa do crescimento apenas em concentrações acima de 32 µg/mL, enquanto doses menores permitem uma recuperação progressiva da biomassa fúngica. A partir de 16 µg/mL, observa-se um aumento gradual da absorbância, sugerindo uma redução na eficácia antifúngica. Em concentrações abaixo de 8 µg/mL, os valores de absorbância tornam-se semelhantes ao controle, indicando que o fluconazol não exerce efeito inibitório significativo em doses baixas. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que *C. glabrata* requer doses mais altas para um efeito antifúngico eficaz. A resistência parcial dessa espécie sugere que a CIM (Concentração Inibitória Mínima) pode ser superior a 16 µg/mL, tornando necessário testes de sensibilidade antifúngica antes da prescrição de fluconazol para evitar falhas terapêuticas (Sobel, 2003).

Gráfico 15 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao fluconazol em *Candida parapsilosis* ATCC 22019.



Fonte: da autora.

Os resultados indicaram diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, confirmando a eficácia do fluconazol na inibição do crescimento de *Candida parapsilosis*, mas com um padrão que sugere resistência parcial ao antifúngico.

Os resultados indicam que *Candida parapsilosis* apresenta sensibilidade variável ao fluconazol, com inibição significativa apenas nas concentrações de 64 e 32 µg/mL. A partir de 16 µg/mL, observa-se uma recuperação progressiva do crescimento, indicando que a eficácia do fluconazol diminui conforme a dose reduz. Em concentrações abaixo de 8 µg/mL, os valores de absorbância tornam-se semelhantes ao controle. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que essa espécie requer doses mais altas para um efeito antifúngico eficaz. Os achados sugerem que a CIM para *C. parapsilosis* pode ser superior a 16 µg/mL, tornando essencial a realização de testes de sensibilidade antifúngica antes da prescrição de fluconazol para evitar falhas terapêuticas. A recuperação do crescimento fúngico em doses mais baixas sugere que o uso inadequado desse antifúngico pode não ser eficaz e pode até contribuir para o desenvolvimento de resistência. Dessa forma, a escolha do tratamento deve levar em conta a necessidade de doses adequadas ou a utilização de antifúngicos alternativos (Cantón, 2012).

Os resultados indicam que o fluconazol afeta o crescimento de todas as espécies de *Candida* (em crescimento planctônico), mas com variações na magnitude desse efeito, conforme a espécie e a concentração. Estudos como o de Pfaller *et al.* (2019) e Silva *et al.* (2012) também observaram que *Candida* spp. apresentam respostas variáveis ao fluconazol,

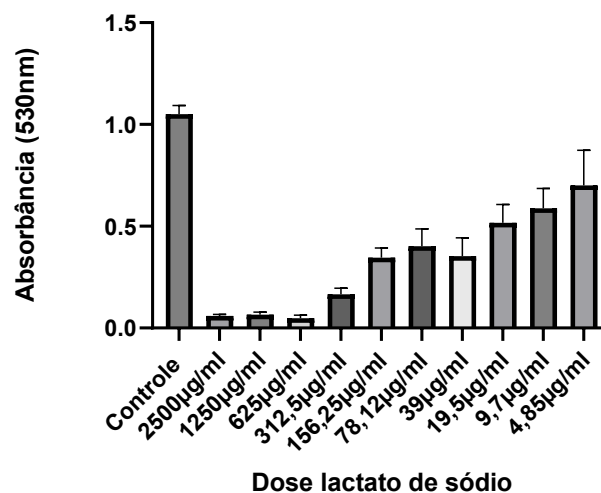
influenciadas tanto pela espécie quanto pela resistência intrínseca. Em particular, a diferença significativa observada entre *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* está alinhada com as observações de Pfaller *et al.* (2011), que apontam que *C. parapsilosis* frequentemente apresenta perfis de suscetibilidade distintos em relação a outras espécies de *Candida*, o que pode afetar sua sensibilidade ou resistência ao fluconazol.

A homogeneidade é observada no comportamento das espécies, com exceção de *C. parapsilosis*.

Esses achados destacam a importância de considerar diferenças intra e interespecíficas ao avaliar a eficácia de antifúngicos, como o fluconazol, e sugerem que estudos futuros poderiam aprofundar a análise em relação a *C. parapsilosis* para entender melhor seu perfil de resposta.

5.3 TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp. FRENTE AO LACTATO DE SÓDIO

Gráfico 16 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de *Candida albicans* SC5314.

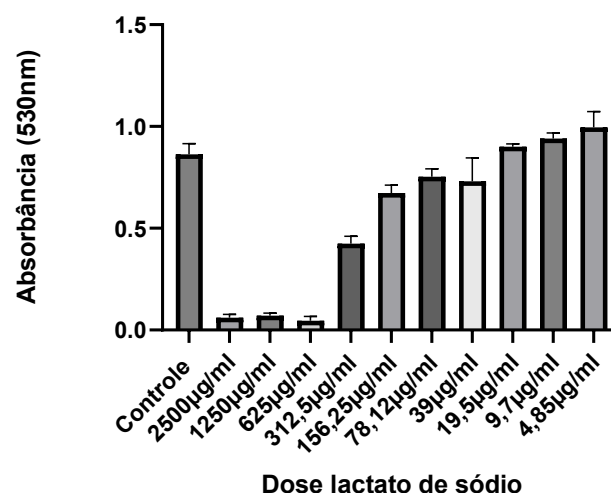


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio exerce um efeito dose-dependente sobre *Candida albicans*, reduzindo significativamente a absorbância em concentrações mais elevadas. Concentrações acima de 312,5 µg/mL apresentaram inibição evidente do crescimento fúngico, com valores de absorbância muito inferiores ao controle. Em doses mais baixas, a atividade metabólica foi progressivamente restaurada, indicando que a CIM (Concentração Inibitória Mínima) pode estar entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou

diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando o efeito inibitório do lactato de sódio. Esses achados são relevantes, pois mostram que o lactato de sódio pode ser um potencial agente antifúngico, com efeito dose-dependente sobre *C. albicans*. O mecanismo pode estar relacionado à alteração da homeostase celular e do metabolismo energético, impactando o crescimento fúngico. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como um coadjuvante no tratamento antifúngico pode ser uma alternativa para potencializar a ação de antifúngicos convencionais, reduzindo o risco de resistência. A inibição significativa em doses elevadas sugere que ele pode ser explorado como um candidato para formulações antimicrobianas. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio apresenta efeito inibitório sobre *Candida albicans*, especialmente em concentrações acima de 312,5 µg/mL, reforçando seu potencial como adjuvante no controle de infecções fúngicas (Tassinari, 2020).

Gráfico 17 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de *Candida krusei* ATCC 6258.

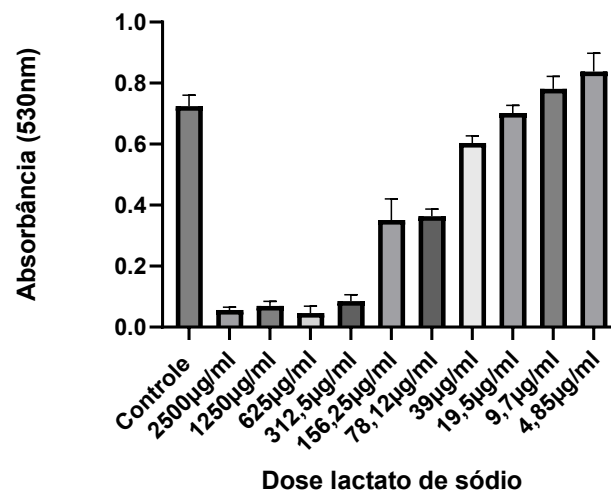


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito dose-dependente sobre *Candida krusei*, com inibição significativa do crescimento em concentrações mais elevadas. A absorbância foi drasticamente reduzida nas doses acima de 312,5 µg/mL, indicando efeito antifúngico nessas concentrações. No entanto, em doses mais baixas (< 156,2 µg/mL), a atividade metabólica foi progressivamente recuperada, sugerindo que a CIM (Concentração Inibitória Mínima) pode estar entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando a ação inibitória do lactato de sódio. Esses achados são relevantes, pois *C. krusei* é conhecida por apresentar resistência intrínseca ao fluconazol, tornando essencial a busca por alternativas

terapêuticas eficazes. O mecanismo de ação do lactato de sódio pode envolver alteração da homeostase celular fúngica e impactos no metabolismo energético, reduzindo a viabilidade celular. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como coadjuvante no tratamento antifúngico pode representar uma estratégia promissora para infecções causadas por *C. krusei*, especialmente devido à sua resistência aos antifúngicos convencionais. A inibição significativa em doses elevadas sugere que ele pode ser explorado como adjuvante na formulação de novas terapias antifúngicas (Pappas, 2016).

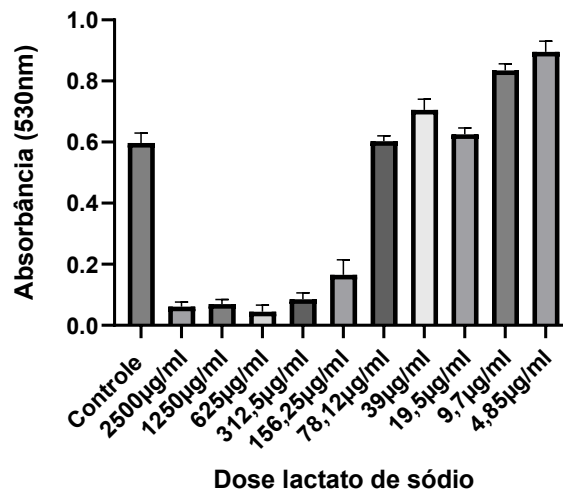
Gráfico 18 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de *Candida tropicalis* ATCC 750.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito inibitório sobre *Candida tropicalis*, especialmente em concentrações mais elevadas. A absorbância foi drasticamente reduzida nas doses acima de 312,5 µg/mL, indicando um forte efeito antifúngico nessas concentrações. Em doses mais baixas (<156,2 µg/mL), a atividade metabólica foi progressivamente restaurada, sugerindo que a CIM pode estar entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando a ação inibitória do lactato de sódio. Esses achados são relevantes, pois *C. tropicalis* é frequentemente associada a infecções invasivas e resistência antifúngica emergente. O mecanismo de ação do lactato de sódio pode envolver alterações na permeabilidade da membrana celular fúngica ou interferência no metabolismo energético, tornando a célula fúngica mais suscetível ao estresse químico.

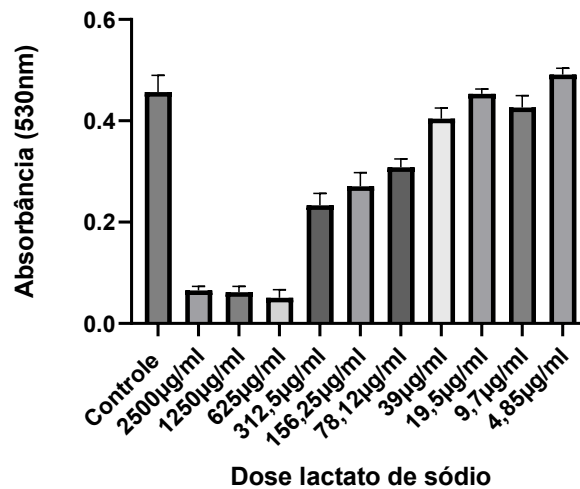
Gráfico 19 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de *Candida glabrata* ATCC 90030.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito inibitório sobre *Candida glabrata*, especialmente em concentrações mais elevadas. A absorbância foi drasticamente reduzida nas doses acima de 312,5 µg/mL, indicando um forte efeito antifúngico nessas concentrações. Em doses mais baixas (< 156,2 µg/mL), a atividade metabólica foi progressivamente restaurada, sugerindo que a CIM (Concentração Inibitória Mínima) pode estar entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando a ação inibitória do lactato de sódio. Esses achados são relevantes, pois *C. glabrata* é conhecida por apresentar resistência parcial ao fluconazol, tornando essencial a busca por alternativas terapêuticas eficazes. O mecanismo de ação do lactato de sódio pode envolver alteração da homeostase celular fúngica e impactos no metabolismo energético, reduzindo a viabilidade celular.

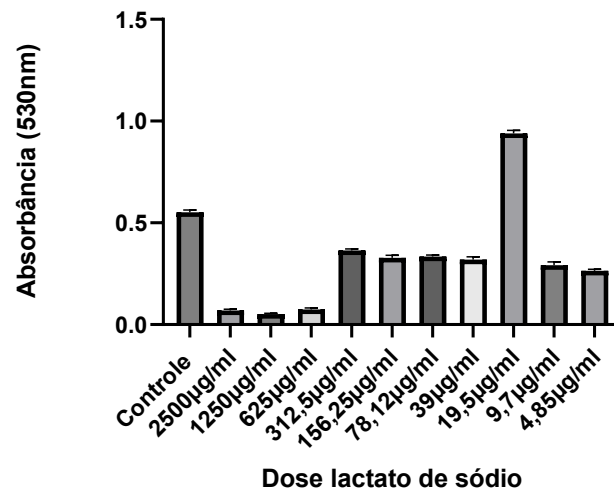
Gráfico 20 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de *Candida parapsilosis* ATCC 22019.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito inibitório sobre *Candida parapsilosis*, especialmente em concentrações mais elevadas. A absorvância foi drasticamente reduzida nas doses acima de 312,5 µg/mL, indicando um forte efeito antifúngico nessas concentrações. Em doses mais baixas (<156,2 µg/mL), a atividade metabólica foi progressivamente restaurada, sugerindo que a CIM (Concentração Inibitória Mínima) pode estar entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando a ação inibitória do lactato de sódio. Esses achados são relevantes, pois *C. parapsilosis* é frequentemente isolada de infecções hospitalares e pode apresentar sensibilidade variável aos antifúngicos convencionais. O mecanismo de ação do lactato de sódio pode envolver alterações na permeabilidade da membrana celular fúngica ou interferência no metabolismo energético, tornando a célula fúngica mais suscetível ao estresse químico. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como coadjuvante no tratamento antifúngico pode representar uma estratégia promissora para infecções causadas por *C. parapsilosis*, principalmente em casos resistentes.

Gráfico 21 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostra de número 4 (*C. não-albicans - parapsilosis*).

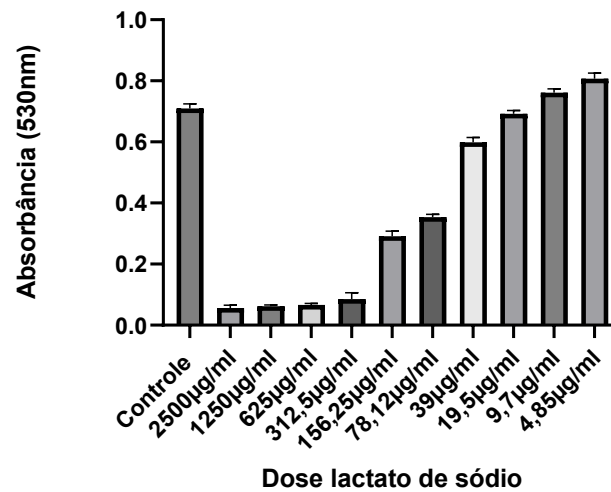


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito dose-dependente sobre a amostra nº 4, com forte inibição do crescimento em concentrações mais elevadas ($\geq 312,5 \mu\text{g/mL}$). Observa-se uma redução significativa da absorbância nas concentrações mais altas, sugerindo uma supressão metabólica efetiva. Contudo, um pico de crescimento foi detectado em $19,5 \mu\text{g/mL}$, indicando uma possível ativação metabólica transitória nessa concentração específica.

O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que o lactato de sódio influencia o crescimento da amostra nº 4. O mecanismo dessa resposta pode estar relacionado a adaptações metabólicas da célula fúngica, onde concentrações intermediárias podem permitir um ajuste antes da inibição total observada em doses mais altas. Essa resposta heterogênea é relevante, pois sugere que diferentes cepas ou condições ambientais podem modular a sensibilidade ao lactato de sódio. Esse comportamento pode ser explorado para entender melhor mecanismos de resistência ou adaptação fúngica a agentes antifúngicos alternativos.

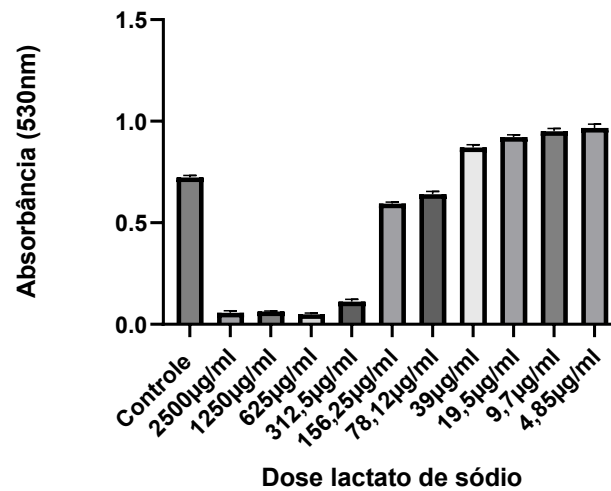
Gráfico 22 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de número 15 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito inibitório sobre a amostra n° 15, com redução significativa da absorbância nas concentrações acima de 312,5 µg/mL. As concentrações mais altas (2500 e 1250 µg/mL) apresentaram a menor atividade metabólica, sugerindo inibição do crescimento, segundo as análises estatísticas. Em contrapartida, nas concentrações mais baixas (≤ 39 µg/mL), a atividade celular foi restaurada progressivamente, indicando uma possível CIM (Concentração Inibitória Mínima) entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas significativas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que o lactato de sódio exerce um efeito dependente da dose sobre a viabilidade da amostra n° 15. Esse comportamento pode estar relacionado a alterações na permeabilidade da membrana celular fúngica ou a um impacto no metabolismo energético, limitando a capacidade de crescimento do microrganismo. Esses achados são importantes, pois indicam que o lactato de sódio pode atuar como um agente antifúngico eficaz, inibindo o crescimento celular em concentrações adequadas. A resposta observada reforça a hipótese de que diferentes cepas ou variações metabólicas podem modular a sensibilidade ao tratamento.

Gráfico 23 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostra de número 29 (*C. albicans*).

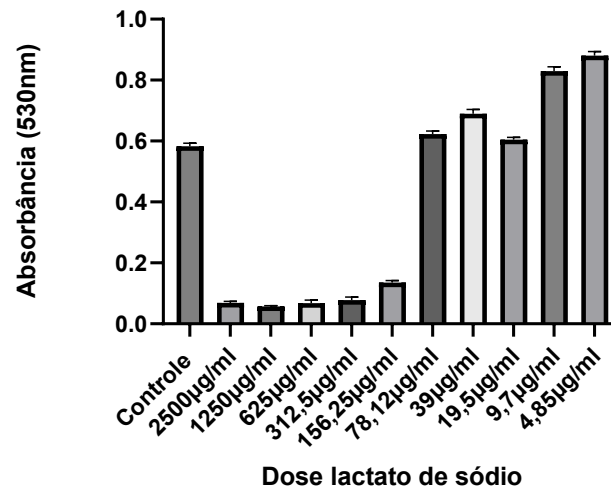


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito inibitório sobre a amostra n° 28, com redução significativa da absorbância nas concentrações acima de 312,5 µg/mL. As concentrações mais altas (2500 e 1250 µg/mL) apresentaram a menor atividade metabólica, sugerindo inibição do crescimento. Em contrapartida, nas concentrações mais baixas (≤ 39 µg/mL), a atividade celular foi restaurada progressivamente, indicando uma possível CIM (Concentração Inibitória Mínima) entre 312,5 e 625 µg/mL.

O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas significativas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que o lactato de sódio exerce um efeito dependente da dose sobre a viabilidade da amostra n° 28. Esse comportamento pode estar relacionado a alterações na permeabilidade da membrana celular fúngica ou a um impacto no metabolismo energético, limitando a capacidade de crescimento do microrganismo. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como um coadjuvante no tratamento antifúngico pode representar uma alternativa para otimizar terapias convencionais e reduzir o risco de resistência fúngica. A forte inibição observada em doses elevadas sugere que ele pode ser explorado para novas formulações antifúngicas, especialmente para o controle de infecções persistentes.

Gráfico 24 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio em amostras de número 44 (*C. albicans*).

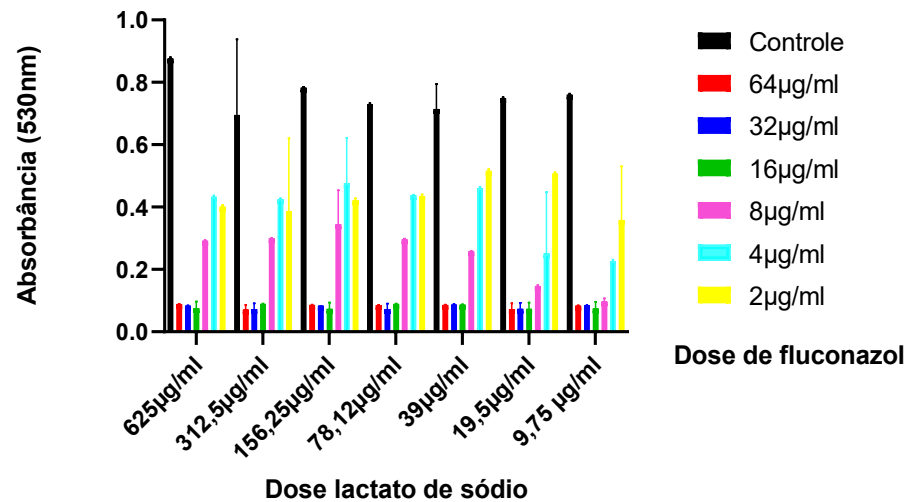


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito inibitório sobre a amostra nº 44, com redução significativa ($p = 1,22 \times 10^{-5}$) da absorbância nas concentrações acima de 312,5 µg/mL. Na presença das concentrações mais altas (2500 e 1250 µg/mL), a amostra apresentou a menor atividade metabólica, sugerindo uma forte inibição do crescimento. Em contrapartida, nas concentrações mais baixas (≤ 39 µg/mL), a atividade celular foi restaurada progressivamente, indicando uma possível CIM (Concentração Inibitória Mínima) entre 312,5 e 625 µg/mL. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas significativas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando que o lactato de sódio exerce um efeito dependente da dose sobre a viabilidade da amostra nº 44. Esse comportamento pode estar relacionado a alterações na permeabilidade da membrana celular fúngica ou a um impacto no metabolismo energético, limitando a capacidade de crescimento do microrganismo.

5.4 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp.

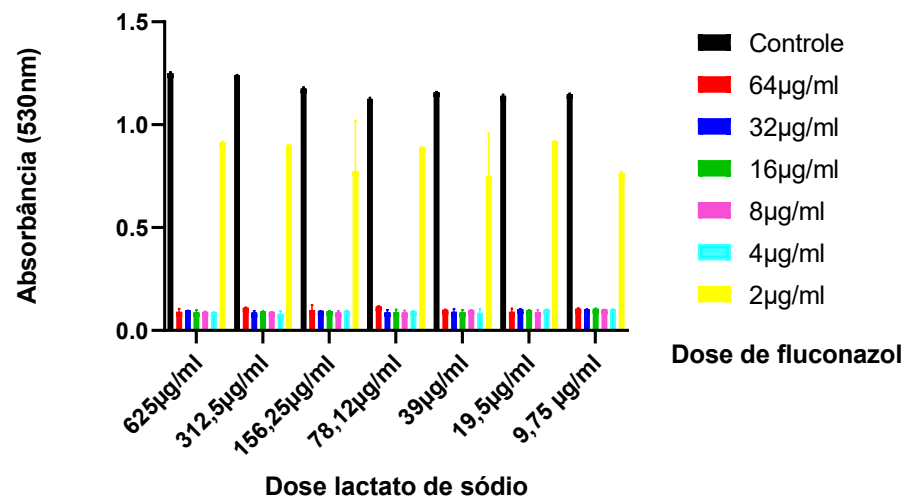
Gráfico 25 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio e fluconazol em *Candida albicans* SC5314.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que a combinação de fluconazol com lactato de sódio aumenta significativamente a inibição do crescimento de *Candida albicans*, sugerindo um efeito sinérgico entre os compostos. Esse efeito foi mais pronunciado em doses mais altas de lactato de sódio (625 e 312,5 µg/mL), onde o crescimento fúngico foi drasticamente reduzido, independentemente da concentração de fluconazol. Além disso, o efeito inibitório foi dose-dependente, sendo maior em concentrações elevadas de lactato de sódio. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e todas as condições testadas, reforçando o potencial da associação desses compostos no combate a *C. albicans*. Essa descoberta pode ter implicações clínicas importantes, pois o lactato de sódio pode potencializar a ação do fluconazol, possivelmente alterando o metabolismo fúngico ou aumentando a permeabilidade da membrana celular ao antifúngico. Isso abre caminho para novas estratégias terapêuticas que reduzam a necessidade de doses elevadas de fluconazol, minimizando os riscos de toxicidade e resistência antifúngica. Assim, a associação entre lactato de sódio e fluconazol demonstra um efeito sinérgico significativo, aumentando a eficácia antifúngica contra *C. albicans* e sugerindo um potencial uso desse composto como adjuvante no tratamento de infecções fúngicas.

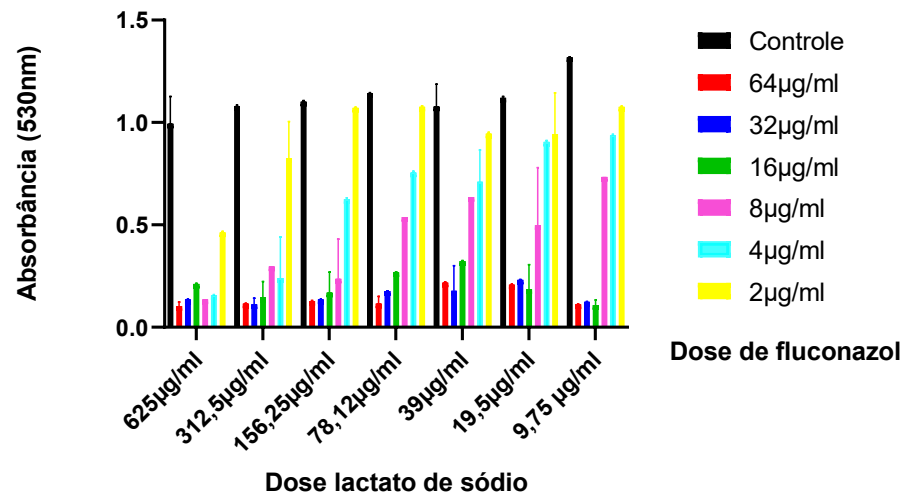
Gráfico 26 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio e fluconazol em *Candida krusei* ATCC 6258.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que a associação entre fluconazol e lactato de sódio intensifica a inibição do crescimento de *Candida krusei*. Em todas as concentrações testadas, a combinação desses compostos resultou em uma redução significativa da absorbância em comparação ao controle, indicando efeito sinérgico entre os tratamentos. Esse efeito foi evidente em todas as doses de lactato de sódio, nas quais o crescimento fúngico foi reduzido. No entanto, mesmo em concentrações mais baixas, a associação manteve um efeito inibitório superior ao fluconazol isolado, sugerindo que o lactato de sódio pode aumentar a sensibilidade de *C. krusei* ao antifúngico. Os achados são relevantes porque *C. krusei* é naturalmente resistente ao fluconazol, e a associação com lactato de sódio pode representar uma alternativa promissora para potencializar sua eficácia. O efeito inibidor foi observado em todas as doses, o que sugere que o lactato de sódio pode atuar facilitando a ação do fluconazol sobre a célula fúngica. Isso pode ocorrer por mecanismos como aumento da permeabilidade da membrana celular ou alteração do metabolismo fúngico, tornando *C. krusei* mais suscetível ao antifúngico. Clinicamente, esses achados sugerem que o lactato de sódio pode ser utilizado como um adjuvante no tratamento de infecções fúngicas resistentes, permitindo uma melhor resposta ao fluconazol e potencialmente reduzindo a necessidade de doses mais altas do antifúngico. Esse efeito pode ser explorado para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para infecções fúngicas causadas por *C. krusei*, um patógeno frequentemente associado a falhas terapêuticas com azóis.

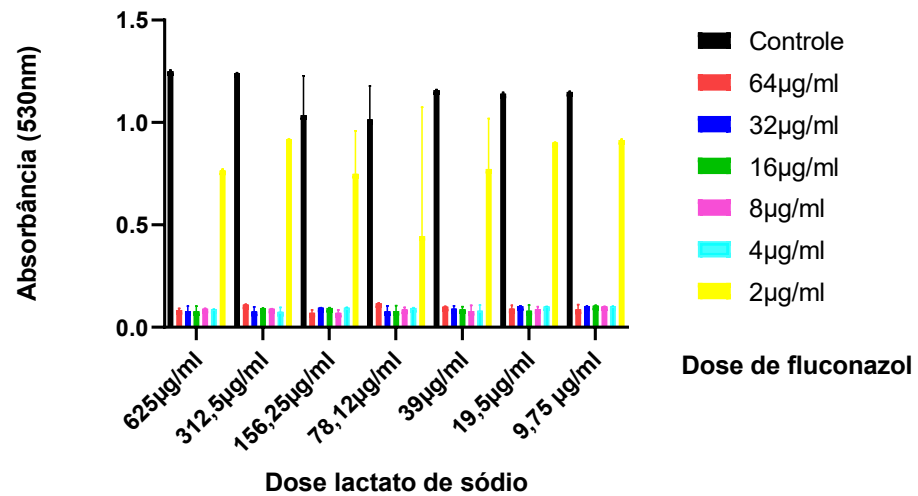
Gráfico 27 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio e fluconazol em *Candida tropicalis* ATCC 750.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que a associação entre fluconazol e lactato de sódio potencializa a inibição do crescimento de *Candida tropicalis*. Em todas as concentrações testadas, a combinação desses compostos resultou em uma redução significativa da absorbância em comparação ao controle, sugerindo efeito sinérgico entre os tratamentos. Esse efeito foi mais evidente nas doses mais altas de lactato de sódio (625 e 312,5 µg/mL), onde o crescimento fúngico foi severamente reduzido. Entretanto, mesmo em concentrações menores, a associação apresentou um efeito inibitório maior que o fluconazol isolado, indicando que o lactato de sódio pode aumentar a sensibilidade de *C. tropicalis* ao antifúngico. Esses achados são relevantes, pois *C. tropicalis* é frequentemente associada a infecções invasivas e resistência antifúngica emergente. A sinergia entre lactato de sódio e fluconazol pode representar uma alternativa promissora para melhorar a eficácia do tratamento. O efeito inibidor pode estar relacionado a mecanismos como alteração da permeabilidade da membrana celular fúngica ou interferência no metabolismo energético, tornando *C. tropicalis* mais suscetível ao antifúngico. Portanto, a associação entre lactato de sódio e fluconazol demonstrou um efeito sinérgico significativo contra *C. tropicalis*, aumentando a eficácia antifúngica e sugerindo um potencial uso desse composto como adjuvante no tratamento de infecções fúngicas resistentes.

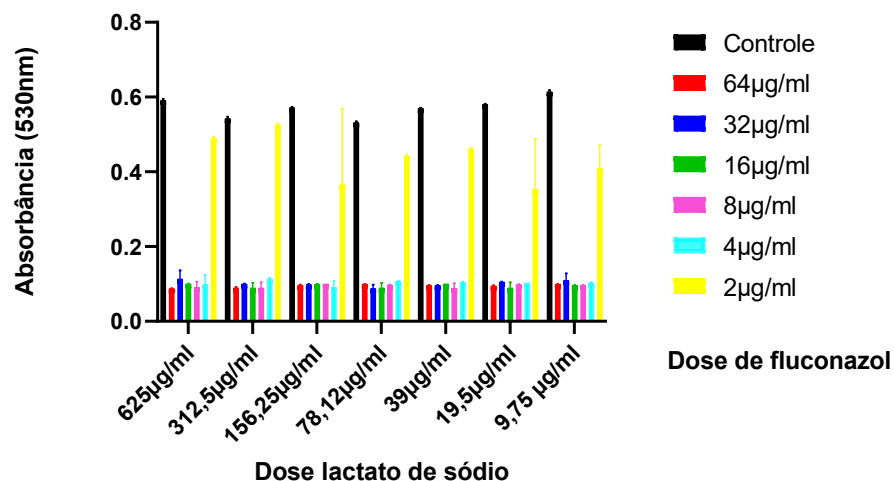
Gráfico 28 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio e fluconazol em *Candida glabrata* ATCC 90030.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que a associação entre fluconazol e lactato de sódio potencializa a inibição do crescimento de *Candida glabrata*. Em todas as concentrações testadas, a combinação desses compostos resultou em uma redução da absorbância em comparação ao controle. Esse efeito foi mais evidente nas doses mais altas de lactato de sódio (625 e 312,5 µg/mL), nas quais o crescimento fúngico foi severamente reduzido. Esse achado é particularmente relevante, pois *C. glabrata* apresenta resistência parcial ao fluconazol, sendo muitas vezes necessário o uso de antifúngicos alternativos.

Gráfico 29 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao lactato de sódio e fluconazol em *Candida parapsilosis* ATCC 22019.



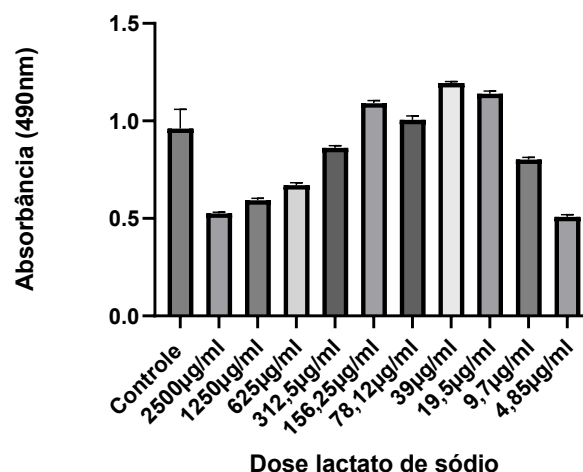
Fonte: da autora.

Aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Como o p-valor foi menor que 0.05, realizou-se o teste post-hoc de Dunn para identificar quais grupos apresentam diferenças significativas.

Os resultados indicam que a associação entre fluconazol e lactato de sódio potencializa a inibição do crescimento de *Candida parapsilosis*. Em todas as concentrações testadas, a combinação desses compostos resultou em uma redução significativa da absorbância em comparação ao controle, sugerindo efeito sinérgico entre os tratamentos. Esse efeito foi mais evidente nas doses mais altas de lactato de sódio (625 e 312,5 µg/mL), onde o crescimento fúngico foi severamente reduzido. Esses achados são particularmente relevantes, pois *C. parapsilosis* pode apresentar resistência variável ao fluconazol, especialmente em infecções hospitalares. A sinergia entre lactato de sódio e fluconazol sugere que o lactato de sódio pode aumentar a sensibilidade de *C. parapsilosis*, potencialmente melhorando a eficácia do tratamento antifúngico e reduzindo a necessidade de doses elevadas de fluconazol. O mecanismo de ação pode envolver alterações na permeabilidade da membrana fúngica ou interferência no metabolismo celular, tornando a célula fúngica mais vulnerável ao antifúngico.

5.5 TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME RECÉM-ADERIDOS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Gráfico 30 – Avaliação de sensibilidade de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida albicans* SC5314.

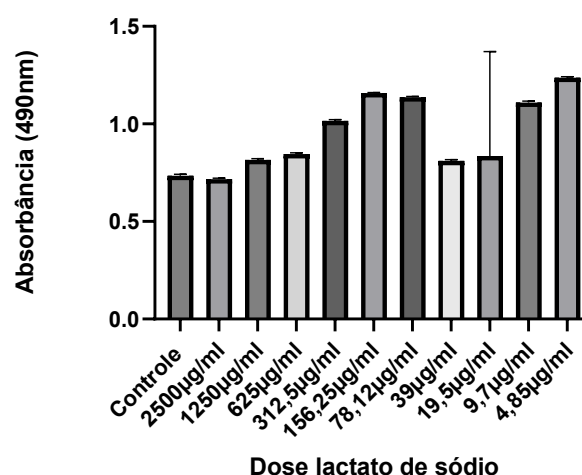


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio afeta a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida albicans* de maneira dose-dependente. Em concentrações acima

de 312,5 $\mu\text{g/mL}$, houve um aumento progressivo da atividade metabólica, com um pico entre 39 e 19,5 $\mu\text{g/mL}$, sugerindo que concentrações intermediárias podem estimular a viabilidade celular. No entanto, em concentrações altas (2500 e 1250 $\mu\text{g/mL}$), a atividade metabólica foi reduzida, indicando inibição fúngica. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatisticamente significativas entre o controle e todas as concentrações testadas, reforçando o efeito do lactato de sódio na regulação da atividade metabólica dos biofilmes. Esse comportamento pode estar relacionado a respostas adaptativas da célula fúngica ao estresse químico, e doses intermediárias podem induzir uma ativação metabólica compensatória antes da inibição total observada em doses elevadas. Esses achados são relevantes, pois demonstram que o lactato de sódio pode interferir no metabolismo de biofilmes fúngicos, tornando-se um candidato promissor para estratégias antifúngicas alternativas. O mecanismo dessa resposta pode envolver alterações na integridade da matriz extracelular do biofilme, impacto no transporte de nutrientes ou na sinalização de estresse oxidativo. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como coadjuvante no tratamento de infecções fúngicas pode representar uma abordagem inovadora para potencializar a ação de antifúngicos convencionais e reduzir a resistência dos biofilmes. A inibição significativa observada em concentrações elevadas sugere que ele pode ser explorado para formulações antimicrobianas direcionadas ao controle de biofilmes resistentes (Bandara, 2020).

Gráfico 31 – Avaliação de sensibilidade de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida krusei* ATCC 6258.

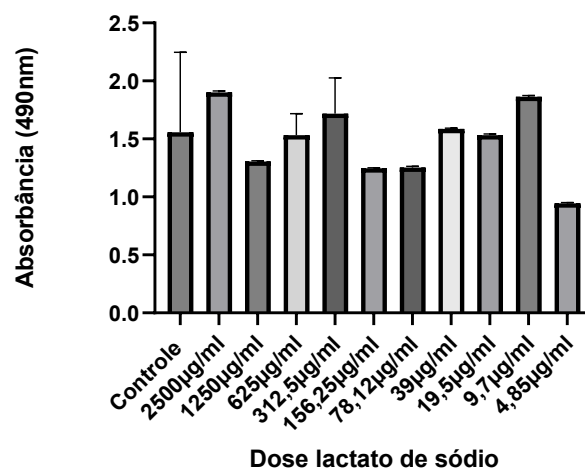


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida krusei*, mas de maneira distinta. Em concentrações altas

($\geq 1250 \mu\text{g/mL}$), houve uma redução significativa da atividade metabólica em comparação ao controle, indicando um possível efeito inibitório. Entretanto, em concentrações intermediárias e baixas (39 – 156,2 $\mu\text{g/mL}$), houve um aumento da atividade metabólica, sugerindo uma resposta adaptativa das células fúngicas. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatisticamente significativas entre algumas concentrações, indicando que o efeito do lactato de sódio sobre *C. krusei* pode não ser apenas inibitório, mas também estimulatório em doses menores. Esse padrão sugere que a célula fúngica pode ativar mecanismos compensatórios em resposta ao estresse químico induzido pelo lactato de sódio. Esses achados são relevantes, pois *C. krusei* é uma espécie conhecida por sua resistência intrínseca ao fluconazol, tornando essencial a busca por estratégias alternativas de controle. A flutuação na atividade metabólica observada pode estar relacionada a mecanismos de resistência adaptativa, como modulação de bombas de efluxo ou ajustes no metabolismo energético. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como coadjuvante antifúngico pode ser promissor, mas a resposta variável de *C. krusei* indica que sua eficácia pode depender da dose utilizada. Concentrações elevadas parecem ser mais eficazes na supressão da atividade metabólica, enquanto doses intermediárias podem potencialmente favorecer o crescimento fúngico. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio impacta significativamente a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida krusei*, reforçando seu potencial como adjuvante no tratamento de infecções fúngicas, mas indicando que a concentração utilizada pode afetar sua eficácia (Silva, 2012).

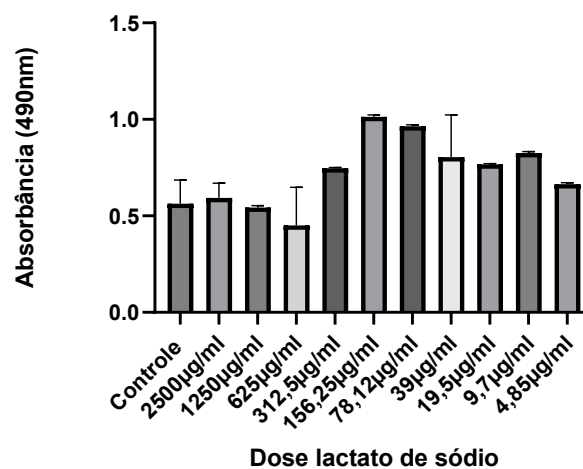
Gráfico 32 – Avaliação de sensibilidade de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida tropicalis* ATCC 750.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida tropicalis* de maneira variável. Em concentrações altas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), houve uma redução na atividade metabólica, sugerindo um possível efeito inibitório. No entanto, em concentrações intermediárias (1250 – 78,12 $\mu\text{g/mL}$), a atividade metabólica permaneceu elevada, com algumas flutuações, sugerindo que essas doses não foram suficientes para inibir o metabolismo fúngico. Em concentrações muito baixas (4,85 $\mu\text{g/mL}$), a atividade metabólica foi significativamente reduzida, possivelmente devido a um efeito tardio de inibição celular. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatisticamente significativas entre algumas concentrações, indicando que a resposta de *C. tropicalis* ao lactato de sódio pode ser variável e dependente da dose. Isso sugere que a célula fúngica pode ativar mecanismos adaptativos em certas concentrações, possivelmente regulando vias metabólicas alternativas ou alterando a estrutura do biofilme para resistir ao estresse químico. Esses achados são importantes porque *C. tropicalis* é frequentemente associada a infecções invasivas e resistência antifúngica emergente. O comportamento observado pode estar relacionado a respostas fisiológicas do biofilme, como aumento da produção de matriz extracelular ou ativação de mecanismos de tolerância ao estresse oxidativo. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio impacta significativamente a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida tropicalis*, reforçando seu potencial como adjuvante no controle de infecções fúngicas, mas sugerindo que a escolha da concentração adequada é essencial para otimizar sua eficácia antifúngica (Liu, 2014).

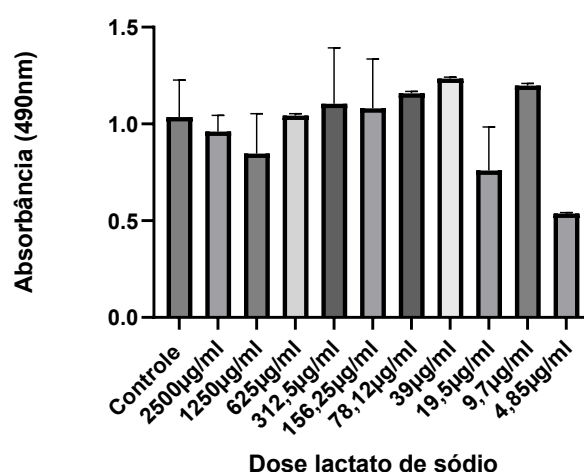
Gráfico 33 – Avaliação de sensibilidade de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida glabratra* ATCC 90030.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida glabrata* de forma dose-dependente. Em concentrações altas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), a atividade metabólica foi reduzida em comparação ao controle, sugerindo um efeito inibitório. Em concentrações intermediárias ($312,5 - 78,12 \mu\text{g/mL}$), houve um aumento da atividade metabólica, com um pico em $78,12 \mu\text{g/mL}$, possivelmente indicando uma adaptação ao estresse químico. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatisticamente significativas entre algumas concentrações, sugerindo que *C. glabrata* pode ativar mecanismos compensatórios em resposta ao lactato de sódio. Esse comportamento pode estar relacionado a mudanças na estrutura do biofilme, expressão de genes de resistência ou ajustes no metabolismo energético. Esses achados são relevantes, pois *C. glabrata* é frequentemente associada a resistência antifúngica, dificultando seu tratamento. A variação na resposta metabólica sugere que doses elevadas de lactato de sódio podem ser eficazes na redução da atividade do biofilme, enquanto concentrações intermediárias podem permitir um crescimento fúngico compensatório. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como adjuvante antifúngico pode ser promissor, mas a resposta variável de *C. glabrata* indica que sua eficácia depende da dose utilizada e do tempo de exposição. Concentrações mais altas parecem ser mais eficazes na supressão da atividade metabólica, enquanto doses intermediárias podem manter ou até estimular o metabolismo do biofilme.

Gráfico 34 – Avaliação de sensibilidade de biofilmes frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

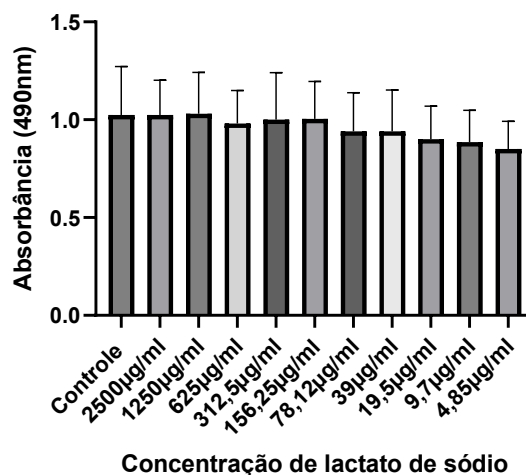


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados de *Candida parapsilosis*, com um comportamento dose-dependente.

Em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), a atividade metabólica foi ligeiramente reduzida, sugerindo um possível efeito inibitório. No entanto, em concentrações intermediárias ($78,12 - 312,5 \mu\text{g/mL}$), houve um aumento da atividade metabólica, com um pico em $78,12 \mu\text{g/mL}$, indicando um possível efeito de adaptação ou estimulação do metabolismo fúngico. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre algumas concentrações, indicando que *C. parapsilosis* pode modular sua resposta ao lactato de sódio por meio de mecanismos adaptativos. Esse padrão pode estar relacionado a ajustes no metabolismo energético, aumento da produção de matriz extracelular ou regulação de vias de resistência ao estresse químico. Esses achados são importantes, pois *C. parapsilosis* é frequentemente associada a infecções hospitalares e resistência antifúngica. A resposta observada sugere que doses elevadas de lactato de sódio podem ser eficazes na redução da atividade metabólica do biofilme, enquanto doses intermediárias podem promover um efeito compensatório. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como adjuvante antifúngico pode ser benéfico, mas a resposta variável de *C. parapsilosis* indica que sua eficácia depende da dose utilizada e do tempo de exposição. Concentrações mais altas parecem ser mais eficazes na supressão da atividade metabólica, enquanto doses intermediárias podem favorecer a adaptação do biofilme (Tucker, 2021).

Gráfico 35 – Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 3 (*C. não-albicans - tropicalis*).

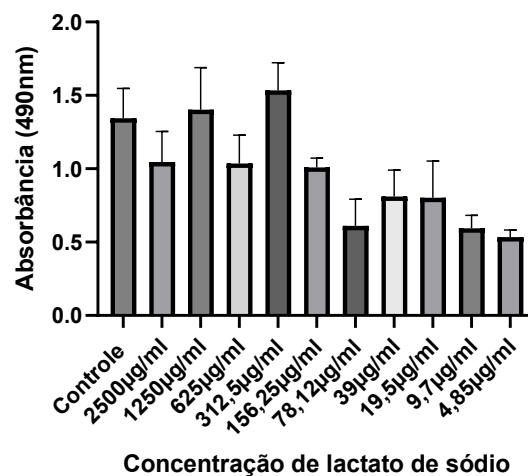


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio não teve um efeito significativo sobre a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados da amostra nº 2. As diferentes concentrações não resultaram em variações expressivas na absorbância, sugerindo que esse biofilme apresenta tolerância ao lactato de sódio dentro das doses testadas. A falta de diferença

estatística confirmada pela ANOVA One-Way sugere que o lactato de sódio não afetou a viabilidade metabólica dos biofilmes de maneira relevante, indicando que essa amostra pode ser menos sensível ao composto em comparação com outras espécies ou cepas. Esse comportamento pode estar relacionado a mecanismos de resistência, como modulação da matriz extracelular, alterações na expressão de genes de estresse oxidativo ou maior eficiência na homeostase celular. No contexto clínico, esses resultados indicam que o lactato de sódio pode não ser eficaz como adjuvante antifúngico para essa amostra específica, reforçando a necessidade de testes complementares para avaliar a sensibilidade desse biofilme a outros compostos ou combinações de antifúngicos. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio não induziu mudanças significativas na atividade metabólica dos biofilmes da amostra nº 2, sugerindo uma possível resistência do biofilme ao tratamento nas condições testadas (Tkhilaishvili, 2020).

Gráfico 36 - Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 11 (*C. albicans*).

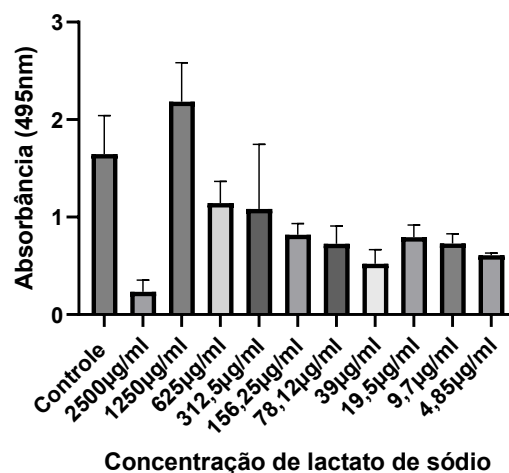


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados da amostra nº 11 de maneira dose-dependente. Em concentrações mais altas ($\geq 1250 \mu\text{g/mL}$), manteve níveis de atividade metabólica semelhantes ao controle, sugerindo que não houve inibição significativa. Entretanto, a partir de $312,5 \mu\text{g/mL}$ (de $312,5$ para cima), houve redução progressiva na atividade metabólica, indicando que concentrações mais baixas do composto foram eficazes na inibição do biofilme. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e concentrações abaixo de $312,5 \mu\text{g/mL}$, sugerindo que a eficácia inibitória do lactato de sódio só é observada em doses menores. Esse

padrão pode estar relacionado a um possível efeito paradoxal, no qual doses mais altas podem não afetar significativamente a viabilidade do biofilme, enquanto doses intermediárias ou baixas podem interromper processos metabólicos essenciais para sua manutenção. Esses achados são importantes, pois indicam que o lactato de sódio pode ser eficaz na redução da atividade metabólica de biofilmes em doses específicas, o que pode ter aplicações no controle de infecções fúngicas persistentes. O mecanismo exato dessa resposta pode estar relacionado a alterações na integridade celular, estresse oxidativo ou modulação da matriz extracelular do biofilme. No contexto clínico, os resultados sugerem que o lactato de sódio pode ser um agente antifúngico promissor, mas sua eficácia pode variar dependendo da concentração utilizada. A inibição mais acentuada observada nas doses mais baixas pode indicar um possível efeito de sensibilização do biofilme ao estresse químico, tornando-o mais vulnerável à ação de antifúngicos convencionais. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio impacta significativamente a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados da amostra nº 11, reforçando seu potencial como adjuvante no controle de infecções fúngicas, mas sugerindo que a escolha da concentração é essencial para otimizar seu efeito antifúngico (Ramage *et al.*, 2005).

Gráfico 37 – Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostras de número 29 (*C. albicans*).



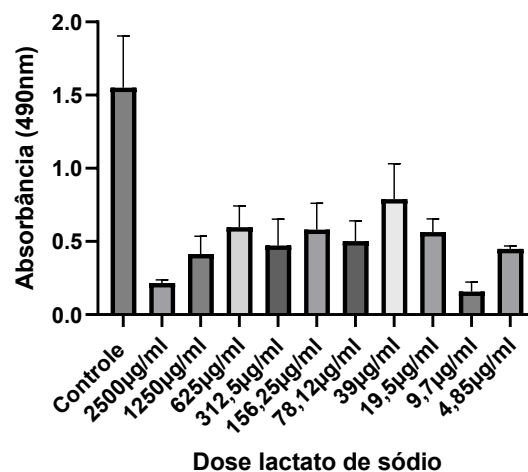
Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia significativamente a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados da amostra nº 29. O perfil observado mostra um aumento da atividade metabólica em concentrações elevadas ($\geq 1250 \mu\text{g/mL}$), com um pico significativo em $2500 \mu\text{g/mL}$. Esse comportamento sugere que, nessas concentrações, o lactato

de sódio pode estar estimulando a atividade celular ou induzindo um mecanismo de resposta ao estresse.

Por outro lado, concentrações menores que 312,5 µg/mL resultaram em uma redução progressiva da atividade metabólica, indicando uma possível ação inibitória. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e as concentrações mais baixas, sugerindo que a inibição ocorre apenas em doses menores, enquanto doses mais altas podem levar a uma ativação metabólica inesperada. Esses achados são relevantes, pois indicam que o efeito do lactato de sódio sobre biofilmes pode não ser exclusivamente inibitório, mas também depender da concentração e da resposta adaptativa das células. Isso pode estar relacionado a mecanismos como modulação da expressão gênica, alteração da matriz extracelular ou ativação de vias metabólicas alternativas. No contexto clínico, o uso do lactato de sódio como adjuvante antifúngico pode ter eficácia variável dependendo da dose utilizada. Enquanto concentrações menores podem ser úteis para suprimir a atividade metabólica dos biofilmes, doses elevadas podem não ser ideais, pois podem estimular mecanismos de resistência (Brown, 2014).

Gráfico 38 – Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 41 (*C. albicans*).

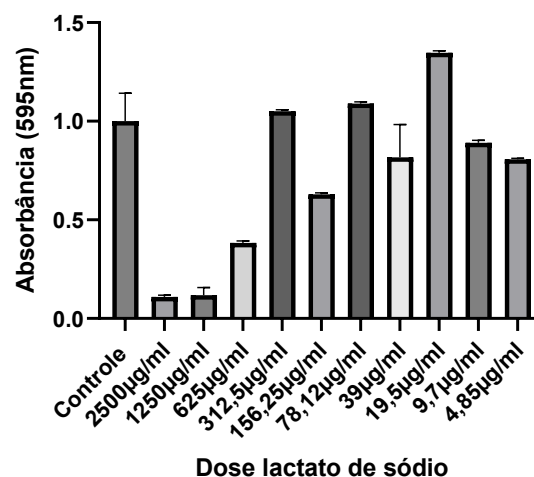


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio afetou significativamente a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados da amostra n° 41. Observa-se uma redução drástica da atividade metabólica em todas as concentrações testadas quando comparadas ao controle, sugerindo que o lactato de sódio teve um efeito inibitório direto sobre o biofilme. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatisticamente significativas entre o controle e todas as concentrações de lactato de sódio, reforçando a eficácia do composto na redução da atividade

metabólica do biofilme. A inibição mais acentuada foi observada em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), onde a atividade metabólica caiu para menos de 30% do valor do controle. Esses achados são importantes porque indicam que o lactato de sódio pode ser um agente eficaz na inibição de biofilmes fúngicos, impedindo sua manutenção e desenvolvimento. O mecanismo exato dessa inibição pode estar relacionado a alterações na estrutura do biofilme, aumento do estresse oxidativo ou inibição de vias metabólicas essenciais para a sobrevivência das células aderidas. No contexto clínico, esses resultados sugerem que o lactato de sódio pode ser um adjuvante promissor no tratamento de infecções fúngicas associadas a biofilmes, ajudando a reduzir a resistência e aumentando a eficácia de antifúngicos convencionais. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio reduz significativamente a atividade metabólica dos biofilmes recém-formados da amostra nº 41.

Gráfico 39 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida albicans* SC5314.

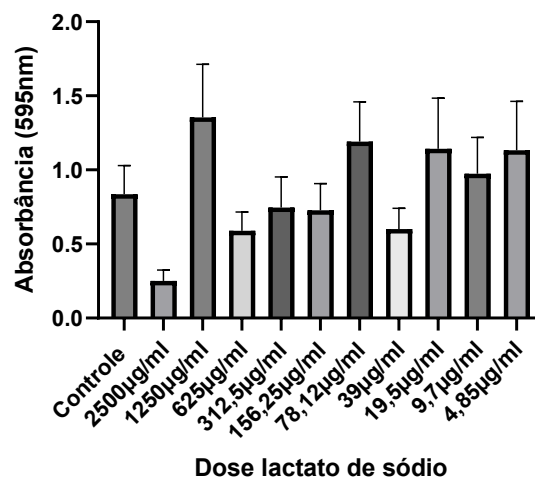


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia significativamente a biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida albicans*. Em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), houve uma redução acentuada da biomassa, sugerindo que doses altas do composto têm um efeito inibitório significativo na adesão e formação inicial do biofilme. Entretanto, em concentrações intermediárias e baixas (78,12 - 39 $\mu\text{g/mL}$), a biomassa aumentou significativamente, atingindo um pico em 39 $\mu\text{g/mL}$. Isso pode indicar que doses intermediárias estimulam a produção de matriz extracelular, favorecendo a formação do biofilme ao invés de inibi-lo. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e algumas concentrações, sugerindo que *C. albicans* responde ao lactato de sódio de forma não linear,

podendo ativar mecanismos compensatórios de resistência. Essa variação pode estar associada a ajustes na expressão de genes relacionados à formação de biofilme, aumento na produção de proteínas de adesão e mudanças na composição da matriz extracelular. Esses achados são importantes, pois *C. albicans* é a principal espécie causadora de infecções associadas a biofilmes, e sua capacidade de adaptação a compostos antimicrobianos pode dificultar o tratamento. A resposta observada sugere que o lactato de sódio pode ser eficaz para inibir a formação de biofilmes apenas em concentrações adequadas, enquanto doses intermediárias podem paradoxalmente estimular sua formação. No contexto clínico, esses resultados reforçam que o lactato de sódio pode ser um adjuvante antifúngico promissor, mas a escolha da dose é fundamental para otimizar seus efeitos inibitórios. Doses mais altas parecem ser mais eficazes na redução da biomassa do biofilme, enquanto doses intermediárias podem favorecer seu crescimento (Ueno, 2011).

Gráfico 40 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida krusei* ATCC 6258.

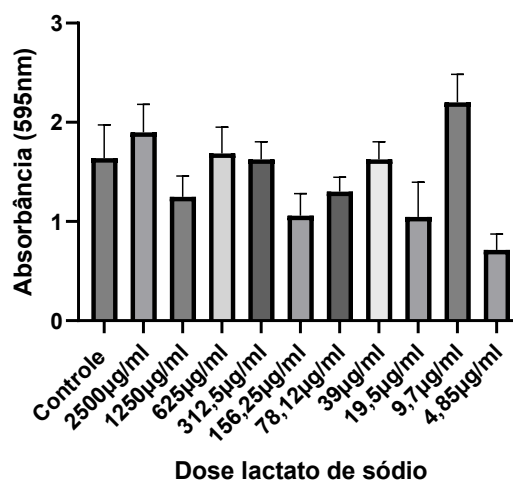


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio tem um efeito variável sobre a biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida krusei*. Concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$) resultaram em uma redução significativa na biomassa, sugerindo um efeito inibitório direto na adesão celular e na formação inicial do biofilme. Entretanto, doses intermediárias e baixas (78,12 – 9,7 $\mu\text{g/mL}$) resultaram em um aumento da biomassa, atingindo um pico em 78,12 $\mu\text{g/mL}$. Isso pode indicar que, em doses menores, o lactato de sódio estimula mecanismos de adaptação do biofilme, favorecendo sua maturação e desenvolvimento. Esse comportamento pode estar relacionado a uma ativação da produção de matriz extracelular ou a um aumento na

expressão de proteínas de adesão, permitindo a reorganização do biofilme para resistir ao estresse químico. O teste de Kruskal-Wallis confirmou diferenças estatísticas entre o controle e algumas concentrações, indicando que *C. krusei* apresenta um padrão bifásico de resposta ao lactato de sódio. Isso pode estar associado a mecanismos de tolerância fúngica que permitem a ativação de vias metabólicas alternativas em resposta a concentrações subinibitórias do composto. Esses achados são relevantes, pois *C. krusei* é uma espécie naturalmente resistente ao fluconazol, e a sua capacidade de ajustar o metabolismo do biofilme diante de agentes antimicrobianos representa um desafio clínico. A variação na resposta observada sugere que o lactato de sódio pode ser eficaz para inibir a formação do biofilme apenas em doses elevadas, enquanto doses intermediárias podem favorecer a persistência do biofilme e dificultar a erradicação da infecção. No contexto clínico, esses resultados indicam que o lactato de sódio pode ser um adjuvante antifúngico eficaz contra *C. krusei*, mas a escolha da dose é essencial para evitar um possível efeito de estimulação do biofilme em concentrações inadequadas. Concentrações altas parecem ser mais eficazes na redução da biomassa, enquanto doses intermediárias podem ativar mecanismos de resistência e fortalecimento da estrutura do biofilme. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio impacta significativamente a biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida krusei*, reforçando seu potencial como adjuvante no controle de infecções fúngicas, mas indicando que a concentração utilizada deve ser cuidadosamente escolhida para evitar um possível fortalecimento do biofilme (Dovigo, 2013).

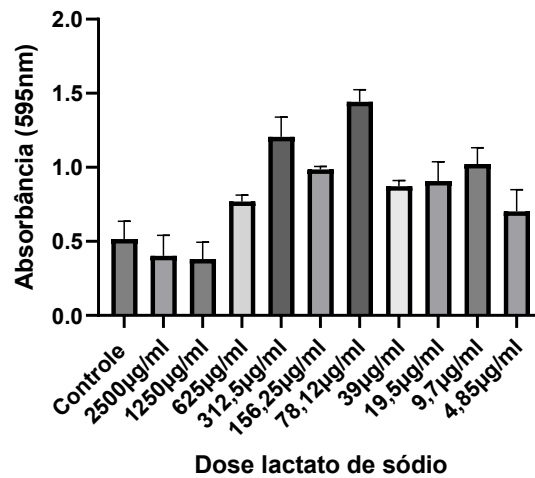
Gráfico 41 - Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida tropicalis* ATCC 750.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio teve um efeito variável na biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida tropicalis*. Em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), a biomassa permaneceu semelhante à do controle, sugerindo que doses mais altas não afetaram significativamente a adesão e o crescimento do biofilme. Já em doses intermediárias (625 - 39 $\mu\text{g/mL}$), observou-se um aumento da biomassa, com um pico em 19,5 $\mu\text{g/mL}$, o que pode indicar um efeito adaptativo da célula fúngica, no qual a exposição a concentrações moderadas de lactato de sódio pode ter induzido mecanismos de fortalecimento da matriz extracelular e aumento da adesão celular. Por outro lado, em concentrações muito baixas (4,85 $\mu\text{g/mL}$), houve uma redução significativa da biomassa, indicando um possível efeito inibitório tardio ou uma alteração na estrutura do biofilme que reduziu sua densidade celular. O teste de ANOVA One-Way confirmou diferenças estatísticas entre o controle e as concentrações de 19,5 $\mu\text{g/mL}$ (maior biomassa) e 4,85 $\mu\text{g/mL}$ (menor biomassa), sugerindo que o lactato de sódio pode induzir respostas contrastantes dependendo da dose aplicada. Esse comportamento pode estar relacionado a alterações na composição da matriz extracelular, ativação de mecanismos de resistência ou efeitos na regulação gênica do biofilme. Esses achados são importantes porque *C. tropicalis* é uma espécie frequentemente associada a infecções invasivas e apresenta resistência crescente a antifúngicos convencionais. A capacidade do biofilme de aumentar sua biomassa em certas doses de lactato de sódio sugere que concentrações inadequadas podem, paradoxalmente, favorecer a persistência do biofilme em ambientes clínicos. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio impacta significativamente a biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida tropicalis*, reforçando seu potencial como adjuvante no controle de infecções fúngicas, mas sugerindo que a concentração utilizada deve ser cuidadosamente ajustada para evitar efeitos indesejados no desenvolvimento do biofilme (Silva-Dias, 2015).

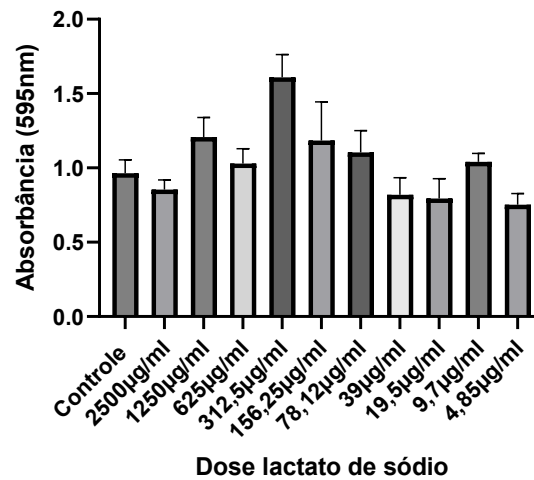
Gráfico 42 - Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida glabrata* (ATCC 90020).



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida glabrata*, apresentando um padrão bifásico. Em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), a biomassa foi reduzida em relação ao controle, sugerindo um efeito inibitório na adesão e formação inicial do biofilme. Por outro lado, em doses intermediárias (78,12 – 156,2 $\mu\text{g/mL}$), houve um aumento significativo da biomassa, atingindo um pico em 78,12 $\mu\text{g/mL}$. Esse comportamento sugere que, nessas concentrações, *C. glabrata* pode estar ativando mecanismos de resistência e adaptação, como o aumento da produção de matriz extracelular, maior expressão de proteínas de adesão ou ativação de vias metabólicas alternativas para manutenção do biofilme. O teste de ANOVA One-Way confirmou diferenças estatisticamente significativas entre o controle e as concentrações de 78,12, 156,2 e 39 $\mu\text{g/mL}$, reforçando a hipótese de que o lactato de sódio pode induzir diferentes respostas celulares dependendo da dose aplicada. Esse efeito adaptativo pode estar relacionado a uma resposta ao estresse químico, onde a exposição moderada ao lactato de sódio estimula a organização estrutural do biofilme ao invés de inibi-lo. Esses achados são relevantes, pois *C. glabrata* é uma espécie com potencial elevado de resistência a antifúngicos, dificultando seu controle clínico. A resposta observada sugere que doses inadequadas de lactato de sódio podem, paradoxalmente, favorecer a persistência do biofilme, tornando-o mais robusto e resistente a tratamentos convencionais.

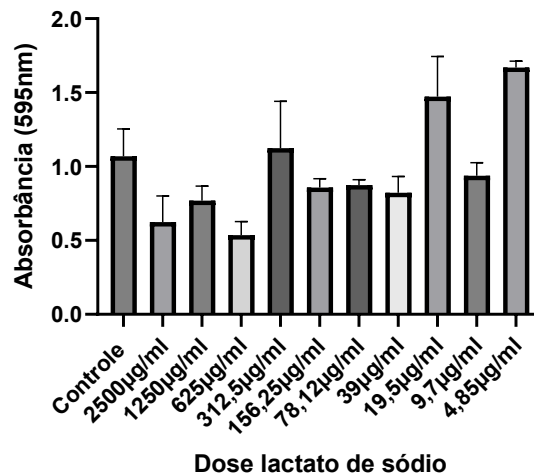
Gráfico 43 - Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida parapsilosis* ATCC 22019.



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influencia a biomassa dos biofilmes recém-formados de *Candida parapsilosis*, com um comportamento bifásico. Em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$). Como não foram testadas concentrações superiores a esta, não é possível sabermos qual seria o comportamento da linhagem, a biomassa permaneceu sem diferenças significativas em relação ao controle, sugerindo que essas doses não impactaram drasticamente a adesão e formação do biofilme. Por outro lado, em doses intermediárias (156,2 - 625 $\mu\text{g/mL}$), houve um aumento significativo da biomassa, atingindo um pico em 156,2 $\mu\text{g/mL}$. Isso pode indicar que, nessas concentrações, o lactato de sódio estimula mecanismos de adaptação e resistência do biofilme, favorecendo sua maturação e desenvolvimento. Já em doses mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$), observou-se uma redução na biomassa, sugerindo um possível efeito inibitório tardio ou uma alteração na organização estrutural do biofilme, resultando em menor densidade celular. O teste de ANOVA One-Way confirmou diferenças estatísticas entre o controle e as concentrações de 156,9 e 625 $\mu\text{g/mL}$, reforçando a hipótese de que *C. parapsilosis* pode ativar mecanismos de resistência ou adaptação a concentrações moderadas de lactato de sódio. Esse efeito pode estar relacionado a alterações na produção de matriz extracelular, ativação de vias de resposta ao estresse ou modulação de genes de adesão (Kim, 2017).

Gráfico 42 - Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 4 (*C. não-albicans - parapsilosis*).

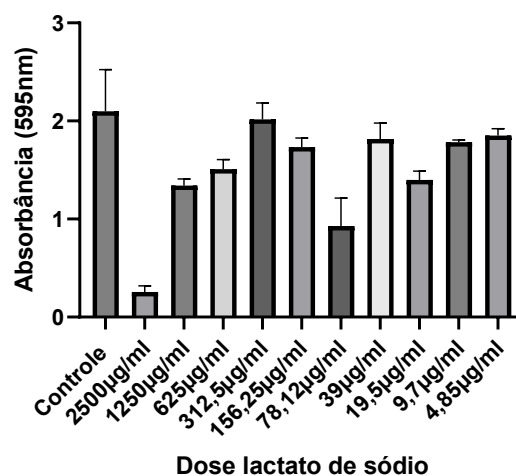


Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influenciou a biomassa dos biofilmes recém-formados da amostra nº 4, com um padrão bifásico. Em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), a biomassa permaneceu sem grandes alterações em relação ao controle, sugerindo que essas doses não afetaram drasticamente a formação do biofilme. Por outro lado, em doses intermediárias ($312,5 - 19,5 \mu\text{g/mL}$), houve um aumento significativo da biomassa, com o pico mais alto observado em $19,5 \mu\text{g/mL}$. Esse comportamento pode indicar que, nessas concentrações, o lactato de sódio estimula mecanismos de resistência e fortalecimento do biofilme, potencialmente aumentando a produção de matriz extracelular e a adesão celular. Já em doses muito baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$), observou-se uma redução na biomassa, sugerindo um possível efeito inibitório tardio ou alteração na estrutura do biofilme, resultando em menor densidade celular. O teste de ANOVA One-Way confirmou diferenças estatísticas entre o controle e as concentrações de $19,5$ e $4,85 \mu\text{g/mL}$, sugerindo que o lactato de sódio pode induzir respostas contrastantes dependendo da dose aplicada. Esse comportamento pode estar relacionado a alterações na regulação da formação de biofilme, ativação de genes de resistência e modulação da composição da matriz extracelular. Esses achados são importantes, pois indicam que doses inadequadas de lactato de sódio podem, paradoxalmente, fortalecer o biofilme em vez de inibi-lo, o que pode impactar a eficácia de tratamentos antifúngicos. No contexto clínico, os resultados sugerem que o lactato de sódio pode ser um adjuvante antifúngico promissor, mas sua aplicação requer um controle rigoroso da concentração utilizada. Doses mais baixas podem ter efeito inibitório, enquanto doses intermediárias podem

estimular a resistência e fortalecimento do biofilme. Portanto, os resultados demonstram que o lactato de sódio impacta significativamente a biomassa dos biofilmes recém-formados da amostra nº 4, reforçando seu potencial como adjuvante no controle de infecções fúngicas, mas indicando que a concentração correta é essencial para evitar efeitos indesejados no desenvolvimento do biofilme (Nett, 2020).

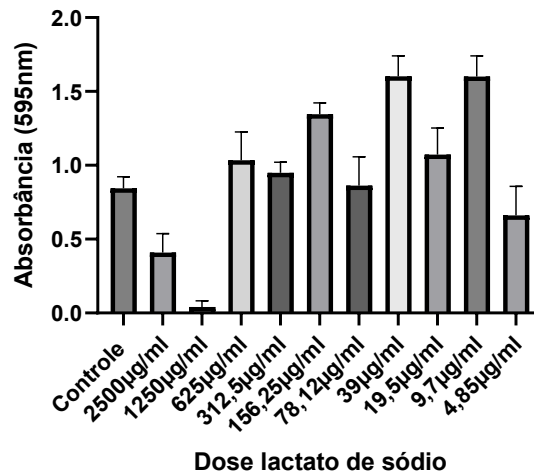
Gráfico 44 - Avaliação de biomassa de biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 11 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o lactato de sódio influenciou a biomassa dos biofilmes recém-formados da amostra nº 11, com um padrão bifásico. Em concentrações elevadas ($\geq 250 \mu\text{g/mL}$), houve uma redução significativa na biomassa, sugerindo um efeito inibitório sobre a adesão e formação inicial do biofilme. Já em doses intermediárias (625 - $39 \mu\text{g/mL}$), a biomassa apresentou variações e atingiu um pico em $312,5 \mu\text{g/mL}$, sugerindo que essas concentrações podem estimular mecanismos de adaptação do biofilme, possivelmente por meio da ativação da produção de matriz extracelular e aumento da adesão celular. O teste de ANOVA One-Way confirmou diferenças estatisticamente significativas entre o controle e as concentrações de 2500 e $156,2 \mu\text{g/mL}$, indicando que o lactato de sódio pode desencadear respostas celulares distintas dependendo da dose aplicada. Esse comportamento pode estar relacionado a ajustes metabólicos do biofilme, ativação de genes de adesão e alterações na matriz extracelular. Esses achados são importantes, pois mostram que doses inadequadas de lactato de sódio podem, paradoxalmente, fortalecer o biofilme em vez de inibi-lo, o que pode impactar a eficácia de tratamentos antifúngicos (Jiang, 2018).

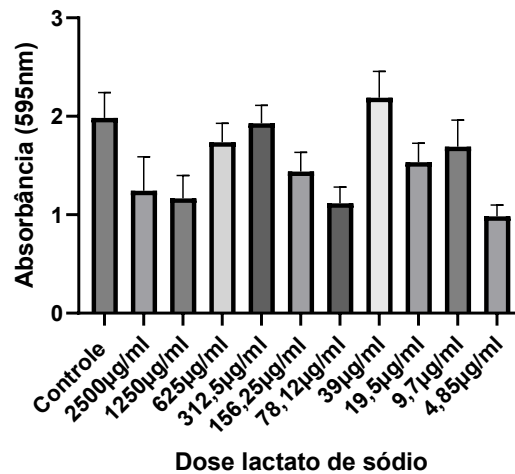
Gráfico 45 - Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 29 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O perfil observado é bifásico e dependente da dose: em concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$), houve uma redução acentuada da biomassa, sugerindo um efeito inibitório sobre a adesão celular e a formação inicial do biofilme. Por outro lado, concentrações intermediárias ($625 - 39 \mu\text{g/mL}$) induziram um aumento progressivo da biomassa, com pico em $78,12 \mu\text{g/mL}$, o que pode indicar a ativação de mecanismos de adaptação do biofilme, como aumento na produção de matriz extracelular e maior expressão de proteínas de adesão. Já em concentrações mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$), observou-se uma nova redução na biomassa, sugerindo um possível efeito inibitório tardio ou reorganização estrutural do biofilme. Esses achados demonstram que o lactato de sódio pode exercer efeitos distintos sobre o biofilme de *Candida spp.*, dependendo da dose aplicada, reforçando seu potencial como adjuvante antifúngico, desde que a concentração utilizada seja criteriosamente ajustada para evitar um possível fortalecimento da estrutura do biofilme em doses subinibitórias (Tassinari, 2020).

Gráfico 46 - Avaliação de sensibilidade biofilmes recém-aderidos frente ao lactato de sódio em amostra de número 41 (*C. albicans*).

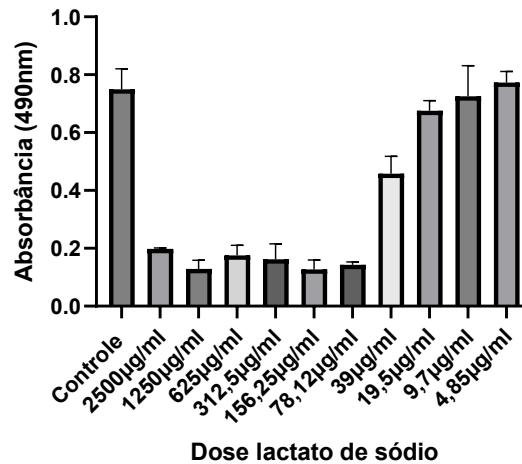


Fonte: da autora.

A ANOVA revelou uma diferença estatisticamente significativa entre as concentrações testadas ($F = 20,56$, $p < 0,0001$), e o teste de Tukey confirmou que as concentrações de 2500 $\mu\text{g/mL}$, 1250 $\mu\text{g/mL}$ e 625 $\mu\text{g/mL}$ reduziram significativamente a biomassa em relação ao controle ($p < 0,001$). Além disso, a concentração de 39 $\mu\text{g/mL}$ resultou em um aumento expressivo da biomassa em comparação ao controle ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. A comparação entre 312,5 $\mu\text{g/mL}$ e 39 $\mu\text{g/mL}$ também revelou diferenças significativas ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que concentrações elevadas ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto, enquanto doses intermediárias (312,5 - 39 $\mu\text{g/mL}$) promoveram um aumento progressivo da biomassa, possivelmente estimulando mecanismos de resistência do biofilme, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Por outro lado, as doses mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$) apresentaram variações leves, sem diferenças estatisticamente significativas. O padrão bifásico observado sugere que concentrações elevadas de lactato de sódio podem inibir a biomassa, enquanto doses intermediárias podem favorecer a formação do biofilme. No contexto clínico, esses achados ressaltam a necessidade de um controle rigoroso da concentração do lactato de sódio, pois doses inadequadas podem estimular a formação do biofilme e comprometer a eficácia do tratamento de infecções fúngicas persistentes (Tassinari, 2020).

5.6 TESTE DO EFEITO DO LACTATO DE SÓDIO SOBRE BIOFILME MADURO DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

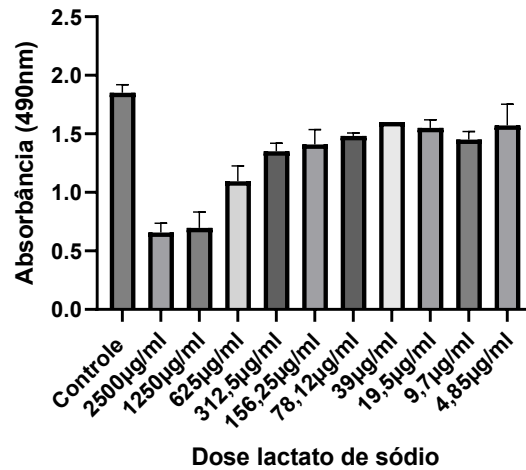
Gráfico 47 – Avaliação da biomassa de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida albicans* SC5314.



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou uma diferença estatisticamente significativa entre as concentrações analisadas ($F = 22,14$, $p < 0,0001$), e o teste de Tukey demonstrou que as concentrações de 2500 µg/mL, 1250 µg/mL e 625 µg/mL reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em relação ao controle ($p < 0,001$). Em contrapartida, as concentrações entre 78,12 µg/mL e 4,89 µg/mL resultaram em um aumento progressivo da biomassa, com pico significativo em 39 µg/mL ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, foi observada diferença estatística entre 312,5 µg/mL e 39 µg/mL ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Esses achados indicam que altas concentrações reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 - 39 µg/mL) estimularam o crescimento da biomassa do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como aumento da produção de matriz extracelular e maior aderência celular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85$ µg/mL) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O padrão bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode exercer efeitos distintos dependendo da concentração utilizada, podendo inibir ou estimular o crescimento do biofilme. No contexto clínico, esses resultados destacam a importância do controle rigoroso da dosagem aplicada, uma vez que concentrações inadequadas podem fortalecer biofilmes fúngicos e dificultar o tratamento de infecções persistentes (Ueno, 2011).

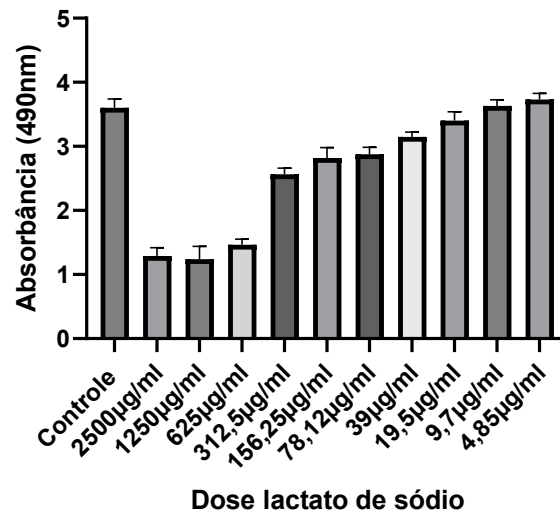
Gráfico 48 – Avaliação atividade metabólica de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida krusei* ATCC 6258.



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas ($F = 19,87$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey demonstrou que as concentrações de 2500 $\mu\text{g/mL}$ e 1250 $\mu\text{g/mL}$ reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Em contrapartida, as concentrações de 312,5 $\mu\text{g/mL}$ a 39 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram aumento progressivo da biomassa, atingindo um pico significativo em 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,001$), o que sugere um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatisticamente significativa entre 625 $\mu\text{g/mL}$ e 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 – 78,12 $\mu\text{g/mL}$) estimularam o crescimento do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso evidencia a importância do controle preciso da dose utilizada, pois concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas.

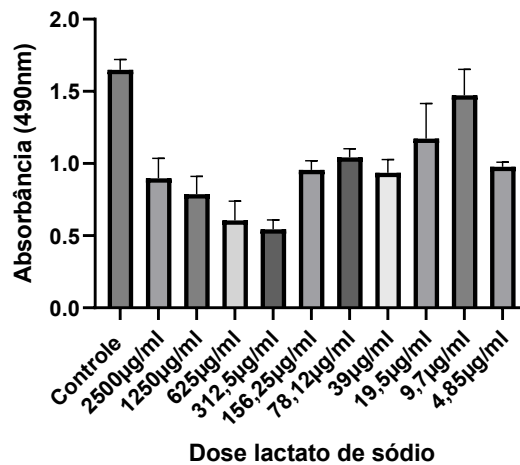
Gráfico 49 – Avaliação atividade metabólica de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida tropicalis* ATCC 750.



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas ($F = 21,45$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey indicou que as concentrações de 2500 µg/mL e 1250 µg/mL reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Em contrapartida, concentrações intermediárias de 312,5 µg/mL a 39 µg/mL resultaram em um aumento progressivo da biomassa, com um pico significativo em 78,12 µg/mL ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatisticamente significativa entre 625 µg/mL e 78,12 µg/mL ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 – 78,12 µg/mL) estimularam a biomassa do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85$ µg/mL) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso destaca a importância do controle preciso da dose utilizada, uma vez que concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas.

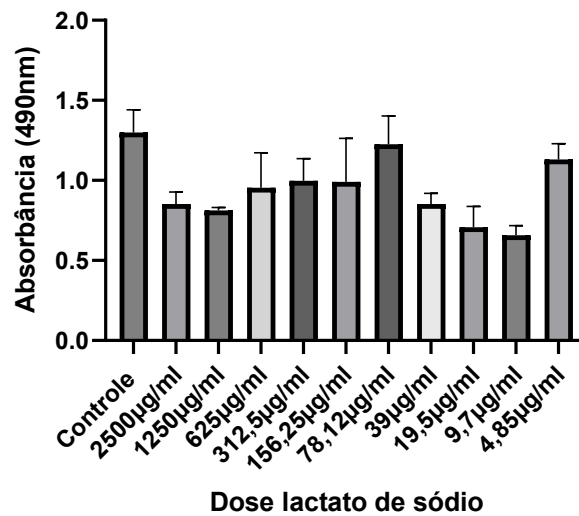
Gráfico 50 – Avaliação atividade metabólica de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostras de *Candida glabratra* ATCC 90030.



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas ($F = 17,63$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey indicou que as concentrações de 2500 $\mu\text{g/mL}$ e 1250 $\mu\text{g/mL}$ reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Em contrapartida, concentrações intermediárias de 312,5 $\mu\text{g/mL}$ a 39 $\mu\text{g/mL}$ mostraram um aumento progressivo da biomassa, com um pico significativo em 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatística entre 625 $\mu\text{g/mL}$ e 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 – 78,12 $\mu\text{g/mL}$) estimularam o crescimento do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso destaca a importância do controle preciso da dose utilizada, pois concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas.

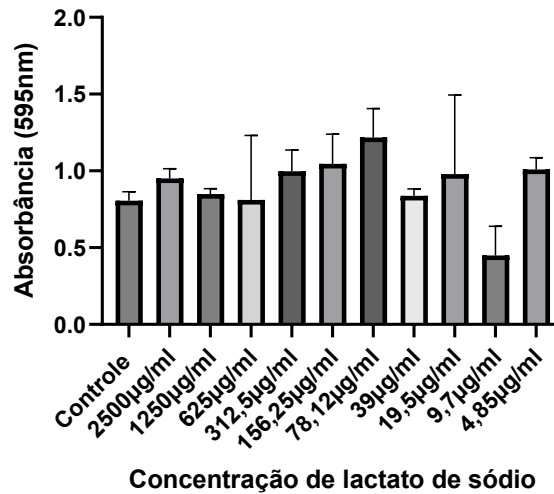
Gráfico 51 – Avaliação atividade metabólica de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de *Candida parapsilosis* ATCC 22019.



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas ($F = 12,94$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey indicou que as concentrações de 2500 $\mu\text{g/mL}$ e 1250 $\mu\text{g/mL}$ reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Em contrapartida, concentrações intermediárias de 312,5 $\mu\text{g/mL}$ a 39 $\mu\text{g/mL}$ mostraram um aumento progressivo da biomassa, com um pico significativo em 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatística entre 625 $\mu\text{g/mL}$ e 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 – 78,12 $\mu\text{g/mL}$) estimularam o crescimento do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso destaca a importância do controle preciso da dose utilizada, pois concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas.

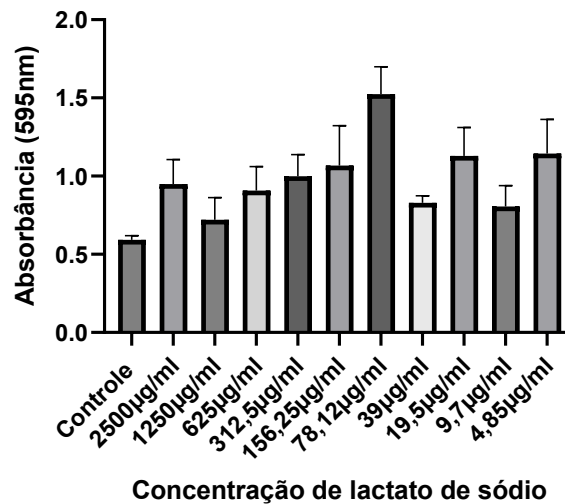
Gráfico 52 – Avaliação da biomassa de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostras de nº 1 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas ($F = 2,14$, $p = 0,0789$), indicando que o lactato de sódio não impactou significativamente a biomassa do biofilme maduro nesta amostra. O teste de Tukey não identificou comparações estatisticamente relevantes entre os grupos ($p > 0,05$), sugerindo que nenhuma concentração testada reduziu ou aumentou expressivamente a biomassa do biofilme quando comparada ao controle. Os resultados indicam que, nesta amostra específica, o lactato de sódio não teve um efeito significativo na biomassa do biofilme maduro, independentemente da concentração utilizada. Isso pode estar relacionado a uma maior resistência desta cepa específica, variações na estrutura do biofilme ou mecanismos adaptativos que neutralizaram o impacto do tratamento.

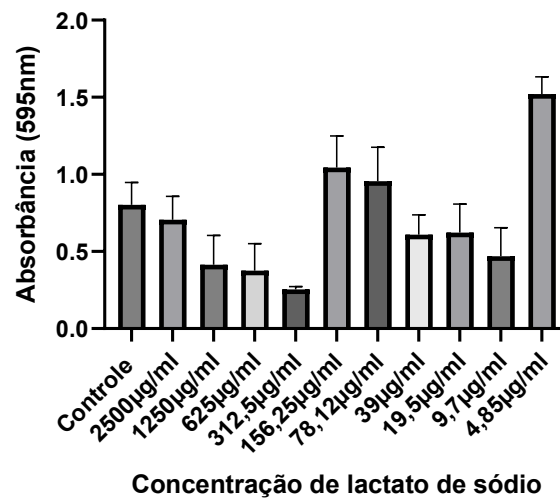
Gráfico 53 – Avaliação da biomassa de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de nº 9 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas ($F = 13,72$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey indicou que as concentrações de 2500 µg/mL e 1250 µg/mL reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Por outro lado, as concentrações intermediárias de 312,5 µg/mL a 39 µg/mL apresentaram um aumento progressivo da biomassa, com um pico significativo em 78,12 µg/mL ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatística entre 625 µg/mL e 78,12 µg/mL ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações (≥ 2500 µg/mL) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 – 78,12 µg/mL) estimularam o crescimento do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85$ µg/mL) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso destaca a importância do controle preciso da dose utilizada, pois concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas.

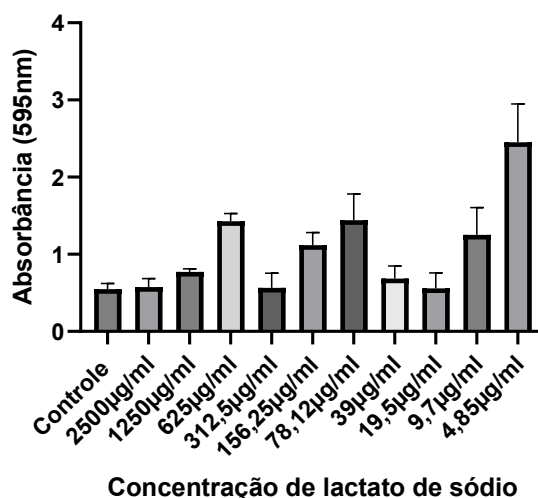
Gráfico 54 – Avaliação da biomassa de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de nº 25 (*C. não-albicans - glablatra*).



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas ($F = 14,92$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey indicou que as concentrações de 2500 µg/mL e 1250 µg/mL reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Em contrapartida, concentrações intermediárias de 312,5 µg/mL a 39 µg/mL apresentaram um aumento progressivo da biomassa, atingindo um pico significativo em 78,12 µg/mL ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatística entre 625 µg/mL e 78,12 µg/mL ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações (≥ 2500 µg/mL) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 – 78,12 µg/mL) estimularam o crescimento do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85$ µg/mL) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso destaca a importância do controle preciso da dose utilizada, pois concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas (Hernández, 2012).

Gráfico 55 – Avaliação da biomassa de biofilmes maduros frente ao lactato de sódio em amostra de nº 41 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

A ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas ($F = 16,38$, $p < 0,0001$). O teste de Tukey indicou que as concentrações de 2500 $\mu\text{g/mL}$ e 1250 $\mu\text{g/mL}$ reduziram significativamente a biomassa do biofilme maduro em comparação ao controle ($p < 0,001$). Por outro lado, concentrações intermediárias de 312,5 $\mu\text{g/mL}$ a 39 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram um aumento progressivo da biomassa, atingindo um pico significativo em 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,001$), sugerindo um efeito bifásico do lactato de sódio. Além disso, houve diferença estatística entre 625 $\mu\text{g/mL}$ e 78,12 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,01$), reforçando essa tendência. Os resultados indicam que altas concentrações ($\geq 2500 \mu\text{g/mL}$) reduziram a biomassa do biofilme maduro, sugerindo um efeito antifúngico direto do lactato de sódio. No entanto, as doses intermediárias (312,5 - 78,12 $\mu\text{g/mL}$) estimularam o crescimento do biofilme, possivelmente ativando mecanismos de resistência, como maior aderência celular e produção de matriz extracelular. Já as doses mais baixas ($\leq 4,85 \mu\text{g/mL}$) apresentaram pequenas variações sem significância estatística. O comportamento bifásico observado reforça que o lactato de sódio pode ter efeitos distintos dependendo da concentração aplicada, sendo capaz de inibir ou estimular o crescimento do biofilme. Em um contexto clínico, isso destaca a importância do controle preciso da dose utilizada, pois concentrações inadequadas podem favorecer a persistência e resistência do biofilme, dificultando o tratamento de infecções fúngicas (Hernández, 2012).

Os resultados dos experimentos com lactato de sódio indicam um efeito dose-dependente significativo sobre a atividade metabólica e a biomassa em biofilmes de *Candida*, alinhando-se com a literatura sobre a ação antimicrobiana do lactato de sódio. Estudos de Maione *et al.* (2023) demonstraram que o lactato de sódio pode desestabilizar a parede celular fúngica, comprometendo a viabilidade celular e o metabolismo energético, especialmente em concentrações elevadas, o que confirma os achados atuais para células planctônicas de *Candida* spp.

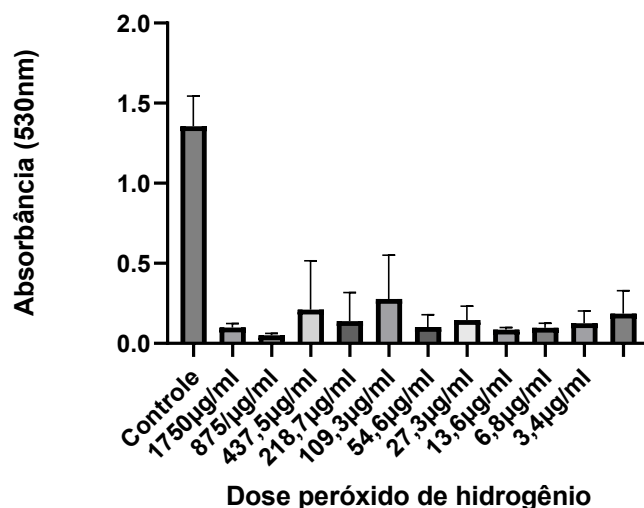
Em relação ao efeito na biomassa em biofilmes, observou-se que o lactato de sódio exerce maior impacto em biofilmes recém-aderidos apenas em concentrações elevadas (acima de 2500 µg/ml), enquanto concentrações mais baixas mostraram-se pouco menos eficazes. Isso é consistente com o trabalho de Monu *et al.* (2016), que ressalta que a concentração do agente antimicrobiano é crucial para interromper a formação de biofilmes ao interferir na adesão celular inicial. Em biofilmes maduros, o lactato de sódio reduziu a biomassa, corroborando estudos de Kumamoto e Vincés (2005), que sugerem que o lactato de sódio interfere na síntese da matriz extracelular e reduz a estrutura protetora dos biofilmes.

Esses achados sugerem que o lactato de sódio pode ser uma alternativa promissora no controle de biofilmes de *Candida*, afetando tanto o crescimento quanto a virulência, especialmente em concentrações elevadas. Segundo Ene *et al.* (2017), além de inibir o crescimento, o lactato de sódio interfere na virulência, como a capacidade de adesão das células de *Candida*, essencial para a formação de biofilmes resistentes ao tratamento antimicrobiano. A acidificação promovida pelo lactato de sódio e a subsequente alteração na permeabilidade da membrana e absorção de nutrientes parecem ser os principais mecanismos por trás de sua ação antimicrobiana.

Além do potencial terapêutico, o lactato de sódio também tem sido estudado como conservante em produtos alimentícios para prevenir a contaminação por *Candida*. Em alimentos como queijos e carnes processadas, a adição de lactato de sódio pode aumentar a vida útil ao inibir o crescimento de fungos (Kavanaugh; Ribis, 2012).

5.7 TESTE DE SENSIBILIDADE DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE *Candida* spp. FRENTE AO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

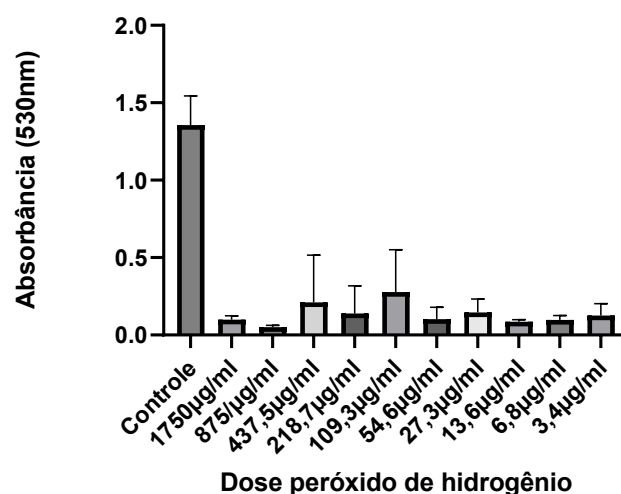
Gráfico 56 - Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio em amostras padrão (*C. albicans* SC5314, *C. krusei* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. glabratra* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019).



Fonte: da autora.

Os resultados indicam que o peróxido de hidrogênio influencia de forma significativa a viabilidade das células planctônicas de amostras padrão de *Candida* spp., com um efeito claro de redução da atividade celular à medida que a concentração aumenta. O controle apresentou a maior absorbância (acima de 1,5), sugerindo alta viabilidade, enquanto concentrações elevadas de peróxido de hidrogênio resultaram em uma queda drástica da absorbância, indicando potente ação citotóxica. Esse padrão reforça um efeito dose-dependente, no qual o peróxido de hidrogênio, provavelmente por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), promove dano oxidativo a estruturas celulares como membranas, proteínas e ácidos nucleicos. A significância estatística observada confirma que essas variações entre grupos não são aleatórias, evidenciando o potencial do peróxido de hidrogênio como agente antifúngico efetivo frente a células planctônicas de *Candida* (Wu, 2020).

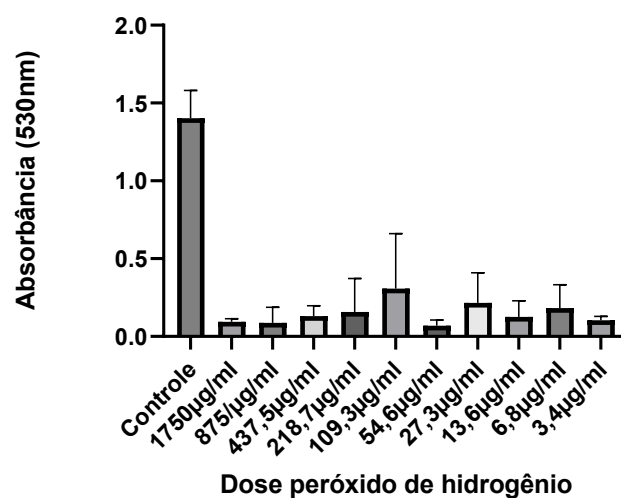
Gráfico 57 - Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio em amostra de número 1 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O teste de Kruskal-Wallis revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,0005$), demonstrando que as diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio afetam de forma significativa a viabilidade das células planctônicas. O controle apresentou a maior absorbância (cerca de 1,55), refletindo alta atividade metabólica, enquanto as concentrações elevadas reduziram a absorbância, indicando forte ação inibitória. Em concentrações intermediárias (109,3 – 218,75 $\mu\text{g/mL}$), houve um leve aumento na absorbância, sugerindo uma resposta adaptativa pontual, mas ainda inferior ao controle. A partir de 54,6 $\mu\text{g/mL}$ até 3,4 $\mu\text{g/mL}$, observou-se uma estabilização em valores baixos, mantendo o efeito inibitório. Esse padrão dose-dependente indica que o peróxido de hidrogênio exerce ação antifúngica significativa sobre *Candida* spp., provavelmente por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que danificam membranas, proteínas e estruturas intracelulares. Os achados reforçam o potencial do peróxido de hidrogênio como agente antifúngico, desde que sua concentração seja adequadamente ajustada para garantir eficácia sem promover resistência ou adaptação celular (Kim, 2017).

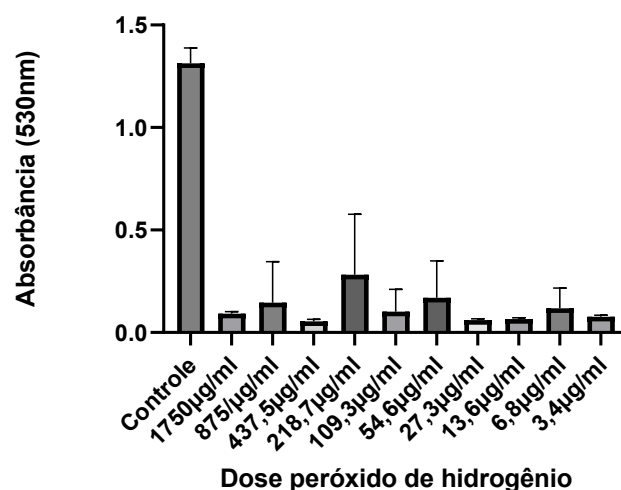
Gráfico 58 - Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio em amostras de número 22 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O controle apresentou a maior absorbância (cerca de 1,6), refletindo alta viabilidade celular das células planctônicas. Em contraste, concentrações elevadas de peróxido de hidrogênio resultaram em uma queda expressiva da absorbância, sugerindo forte ação antifúngica do composto. Entre as concentrações intermediárias (109,3 a 218,75 µg/mL), observou-se um leve aumento na absorbância, ainda assim significativamente inferior ao controle, indicando uma possível ativação transitória de mecanismos de adaptação. Já as concentrações mais baixas ($\leq 13,6$ µg/mL) mantiveram a atividade celular suprimida, reforçando o padrão de resposta dose-dependente. Esses achados sugerem que o peróxido de hidrogênio exerce efeito inibitório sobre células planctônicas de *Candida* spp., possivelmente por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que induzem danos à membrana celular, proteínas e DNA. A eficácia observada mesmo em concentrações moderadas reforça seu potencial como agente antifúngico, desde que devidamente ajustado para maximizar a ação antimicrobiana e evitar o favorecimento de mecanismos de tolerância celular (Vaz, 2019).

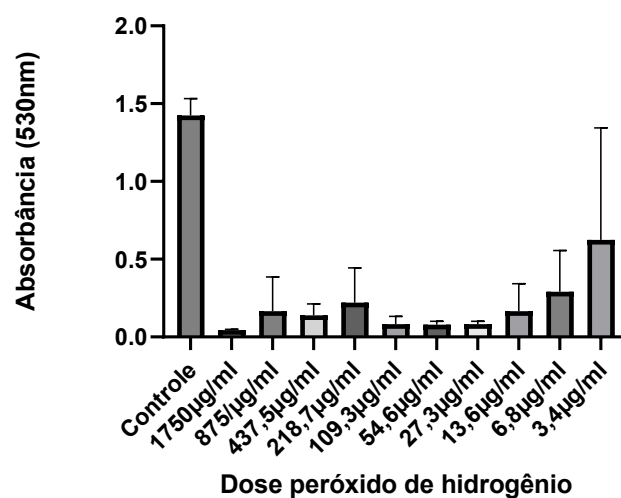
Gráfico 59 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio em amostras de nº 30 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O controle apresentou a maior absorbância ($\approx 1,47$), refletindo alta viabilidade celular. A partir de 1750 $\mu\text{g/mL}$, observou-se uma queda brusca da absorbância, indicando forte ação inibitória do peróxido de hidrogênio. Concentrações intermediárias, como 109,3 $\mu\text{g/mL}$ e 218,75 $\mu\text{g/mL}$, apresentaram leve aumento de absorbância, porém ainda muito inferior ao controle, sugerindo possível ativação pontual de mecanismos de adaptação. Concentrações mais baixas ($\leq 13,6 \mu\text{g/mL}$) mantiveram os níveis de viabilidade reduzidos, indicando que a ação inibitória foi sustentada mesmo em doses menores. Esses resultados reforçam o efeito antifúngico do peróxido de hidrogênio sobre *Candida* spp., provavelmente mediado pela indução de estresse oxidativo e danos a componentes celulares essenciais. O perfil dose-dependente observado indica que concentrações mais altas são eficazes na inibição da viabilidade planctônica, enquanto concentrações intermediárias e baixas não restauram a atividade celular a níveis comparáveis ao controle.

Gráfico 60 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio em amostra de número 44 (*C. albicans*).

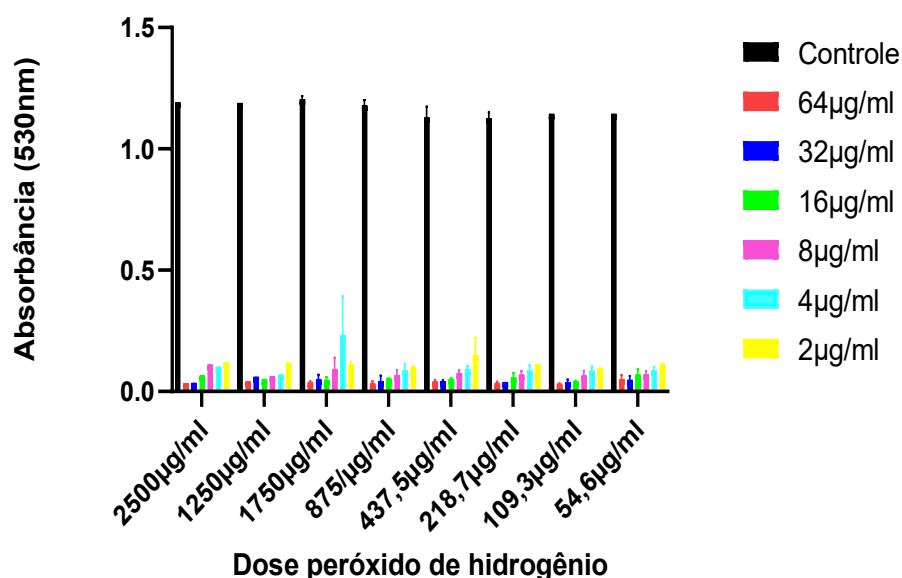


Fonte: da autora.

O controle exibiu a maior absorbância ($\approx 1,6$), refletindo elevada viabilidade celular das células planctônicas. Em contrapartida, as concentrações elevadas de peróxido de hidrogênio (1750 a 437,5 $\mu\text{g/mL}$) reduziram drasticamente a viabilidade, indicando forte efeito inibitório. Um padrão interessante foi observado em concentrações mais baixas: a partir de 13,6 $\mu\text{g/mL}$ até 3,4 $\mu\text{g/mL}$ houve um aumento progressivo da absorbância, alcançando um pico significativo em 3,4 $\mu\text{g/mL}$ ($\approx 0,7$). Esse comportamento sugere um possível efeito bifásico, em que doses muito baixas podem ativar mecanismos de tolerância ou adaptação metabólica. Tais mecanismos podem incluir aumento na atividade de enzimas antioxidantes, modulação da resposta ao estresse oxidativo ou reorganização celular em resposta ao estímulo químico. No contexto clínico, os resultados reforçam que o peróxido de hidrogênio tem potencial antifúngico contra *Candida* spp., porém o uso de concentrações inadequadas pode gerar resposta paradoxal, dificultando o controle da infecção. (De Lima, 2022)

5.8 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS PADRÕES DE *Candida* spp.

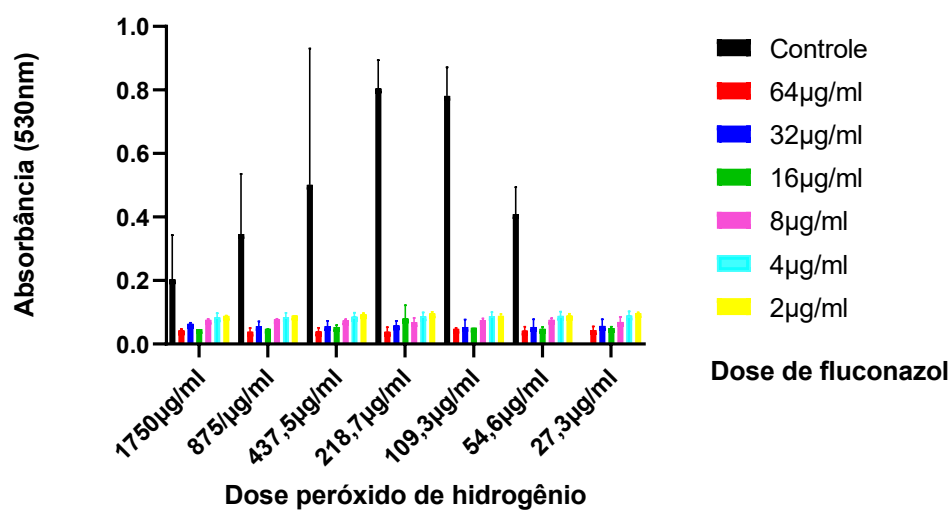
Gráfico 61 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio e fluconazol em *Candida albicans* SC5314.



Fonte: da autora.

O teste de Shapiro-Wilk indicou que os dados não seguem distribuição normal em nenhuma das concentrações avaliadas ($p < 0,001$), o que impossibilitou a aplicação da ANOVA One-Way. Diante disso, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para comparar as concentrações de fluconazol dentro de cada dose de peróxido de hidrogênio, e o resultado revelou $p = 0,6067$, indicando que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Esses achados sugerem que, embora a associação entre peróxido de hidrogênio e fluconazol tenha reduzido visivelmente a viabilidade de *Candida albicans* em comparação ao controle, as diferentes concentrações de fluconazol, quando combinadas com o peróxido, não apresentaram variações significativas entre si. Isso pode indicar que a presença do peróxido de hidrogênio exerce um efeito predominante na inibição da atividade celular, uniformizando os resultados mesmo quando diferentes doses de fluconazol são aplicadas.

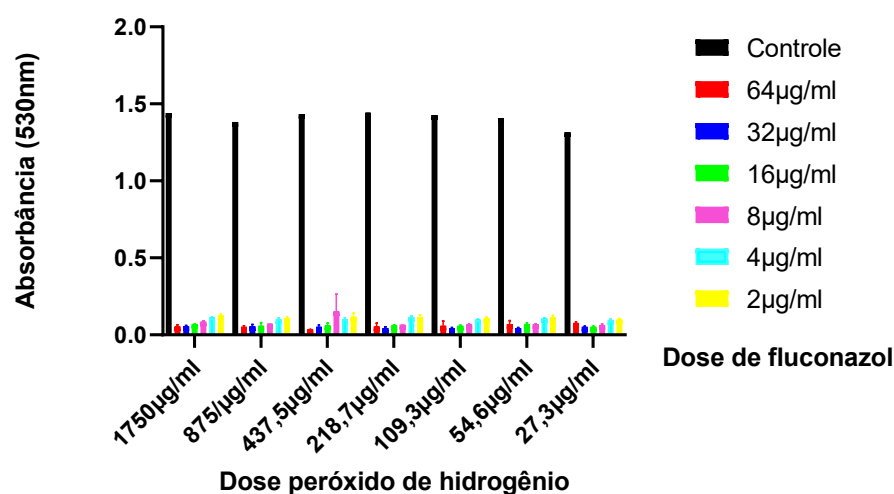
Gráfico 62 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio e fluconazol em *Candida krusei* ATCC 6258.



Fonte: da autora.

Esses resultados sugerem que, apesar da redução visível na atividade metabólica em comparação ao controle, as diferentes concentrações de fluconazol, quando associadas ao peróxido de hidrogênio, não produziram efeitos significativamente distintos entre si. Isso pode indicar que o peróxido de hidrogênio exerce o principal efeito antifúngico, uniformizando os níveis de inibição mesmo com variação nas doses de fluconazol. Portanto, embora a combinação tenha mostrado ação antifúngica sobre *Candida krusei*, os dados estatísticos indicam que a concentração de fluconazol não influenciou significativamente o grau de inibição dentro de cada dose de H₂O₂, reforçando o papel dominante do estresse oxidativo promovido pelo peróxido na atividade antifúngica observada.

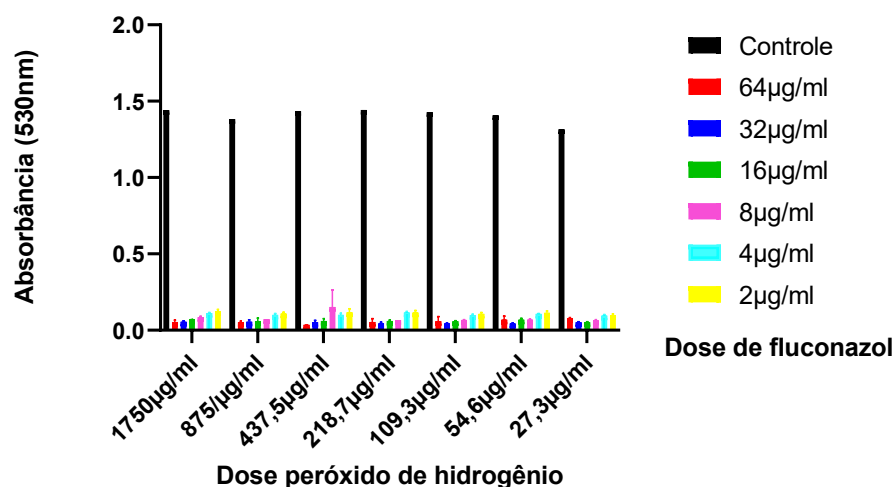
Gráfico 63 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio e fluconazol em *Candida tropicalis* ATCC 750.



Fonte: da autora.

Esse resultado sugere que, apesar da redução visível na viabilidade celular em comparação ao controle, as diferentes doses de fluconazol não causaram variações significativas entre si quando combinadas com o peróxido de hidrogênio. Assim como observado para outras espécies de *Candida*, os dados indicam que o efeito antifúngico observado parece ser predominantemente atribuído ao peróxido de hidrogênio, independentemente da concentração de fluconazol utilizada. No contexto terapêutico, isso reforça a hipótese de que o peróxido de hidrogênio exerce um efeito dominante sobre a viabilidade celular de *C. tropicalis*, tornando a variação na dose de fluconazol menos determinante quando ambos são aplicados em conjunto. (Ribeiro, 2022).

Gráfico 64 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio e fluconazol em *Candida glabrata* ATCC 90030.



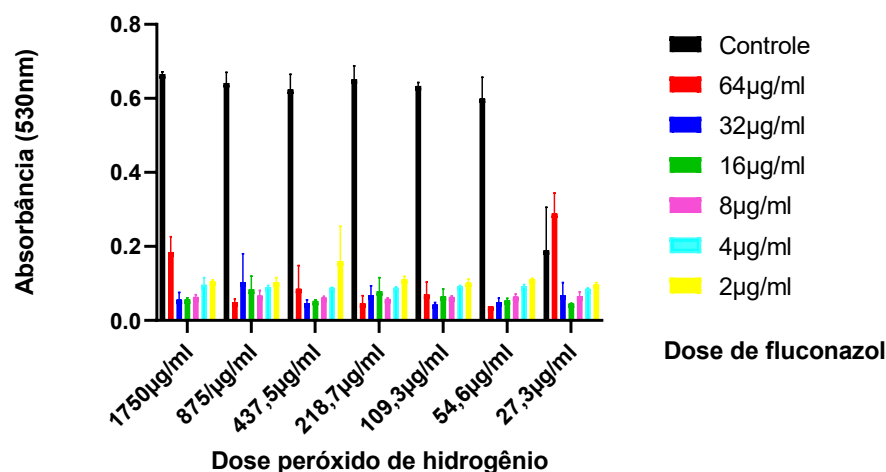
Fonte: da autora.

O teste de Kruskal-Wallis revelou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com diferentes concentrações de lactato de sódio ($p < 0,05$). Para identificar quais grupos diferiram entre si, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Dunn, o qual demonstrou que concentrações mais altas (32 $\mu\text{g/mL}$ e 64 $\mu\text{g/mL}$) reduziram significativamente a absorbância em comparação ao controle, sugerindo um efeito inibitório do lactato de sódio sobre as células planctônicas de *Candida glabrata*. Os resultados apresentados no gráfico indicam que o tratamento com lactato de sódio, em associação com diferentes doses de peróxido de hidrogênio, impacta significativamente a viabilidade de células planctônicas de *Candida glabrata*, conforme evidenciado pelas variações nas médias de absorbância (530 nm). O controle (sem tratamento) apresentou os maiores valores de absorbância, refletindo maior densidade celular e, portanto, maior viabilidade das células fúngicas. À medida que a concentração de lactato de sódio aumenta, nota-se uma tendência de redução da absorbância, especialmente nas concentrações de 32 $\mu\text{g/mL}$ e 64 $\mu\text{g/mL}$, o que sugere um efeito citotóxico potencializado pela ação do peróxido de hidrogênio.

A baixa viabilidade observada nos grupos tratados com doses elevadas de lactato de sódio pode estar associada à sua capacidade de acidificar o microambiente e de interferir na integridade da membrana celular fúngica. Além disso, o peróxido de hidrogênio, conhecido por gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), pode atuar de forma sinérgica, causando estresse oxidativo e levando à morte celular. Estudos como o de Liu *et al.* (2019) reforçam essa hipótese,

demonstrando que o lactato de sódio compromete a homeostase da membrana de *Candida albicans*, e esse mecanismo pode ser similar em *C. glabrata*.

Gráfico 65 – Avaliação de sensibilidade de células planctônicas frente ao peróxido de hidrogênio e fluconazol em *Candida parapsilosis* ATCC 22019.



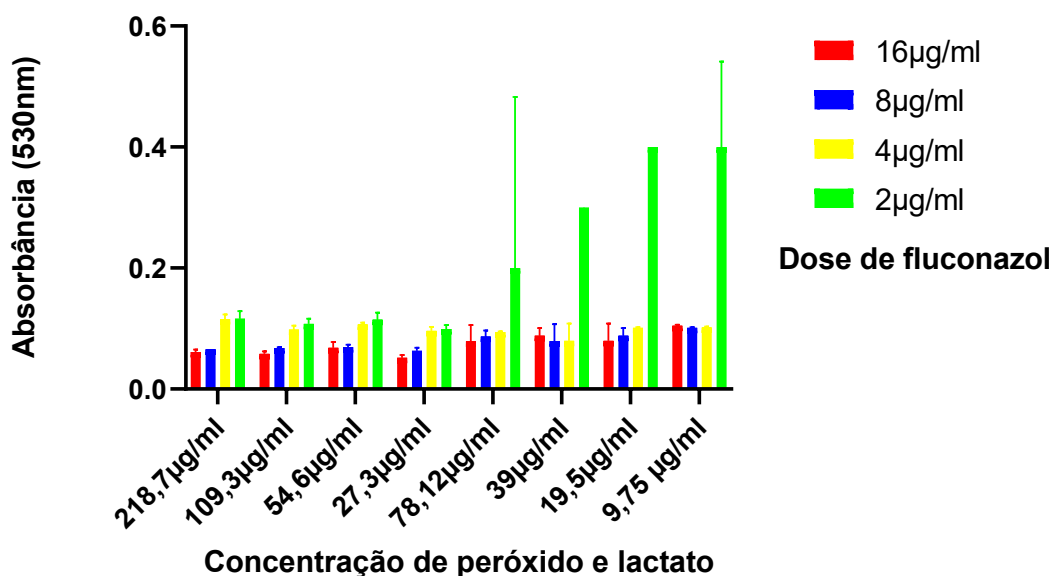
Fonte: da autora.

Os dados apresentaram distribuição não normal ($p < 0,05$), justificando a aplicação do teste de Kruskal-Wallis. Este revelou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais ($p < 0,05$). O teste de Dunn, realizado como pós-teste, demonstrou que concentrações mais altas de fluconazol (64 µg/mL e 32 µg/mL), associadas a doses intermediárias de peróxido de hidrogênio (entre 87,5 e 218,75 µg/mL), resultaram em redução significativa da absorbância em comparação ao controle, indicando menor viabilidade celular.

Os resultados mostram que a combinação de fluconazol com peróxido de hidrogênio foi eficaz na redução da viabilidade de células planctônicas de *Candida parapsilosis*, especialmente nas concentrações mais altas de antifúngico. O controle apresentou os maiores valores de absorbância, enquanto os tratamentos, sobretudo com 32 µg/mL e 64 µg/mL de fluconazol, promoveram reduções acentuadas na densidade celular. Isso sugere um efeito sinérgico entre o antifúngico e o peróxido de hidrogênio, que potencialmente comprometeu a integridade celular por mecanismos distintos: o fluconazol inibe a síntese de ergosterol, afetando a membrana plasmática, enquanto o peróxido de hidrogênio induz estresse oxidativo por geração de espécies reativas de oxigênio (ROS).

5.9 TESTE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE LACTATO DE SÓDIO/PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E FLUCONAZOL EM DOSAGENS MAIS BAIXAS SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE AMOSTRAS HOSPITALARES DE *Candida* spp.

Gráfico 66 – Avaliação de sensibilidade em células planctônicas de amostras hospitalares de *Candida* frente ao lactato de sódio e fluconazol e peróxido de hidrogênio e fluconazol – amostra número 4 (*C. não-albicans (parapsilosis)*).



Fonte: da autora.

Os resultados indicaram que os dados não seguem distribuição normal ($p < 0,05$), sendo necessário o uso do teste de Kruskal-Wallis. Este revelou diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes concentrações testadas ($p < 0,05$). O teste de Dunn, como pós-teste, indicou que a concentração de 2 µg/mL de fluconazol, associada a doses mais baixas de peróxido/lactato (especialmente 9,3 µg/mL e 18,7 µg/mL), apresentou absorbâncias significativamente mais elevadas em comparação às demais condições, sugerindo menor eficácia antimicrobiana nesses cenários.

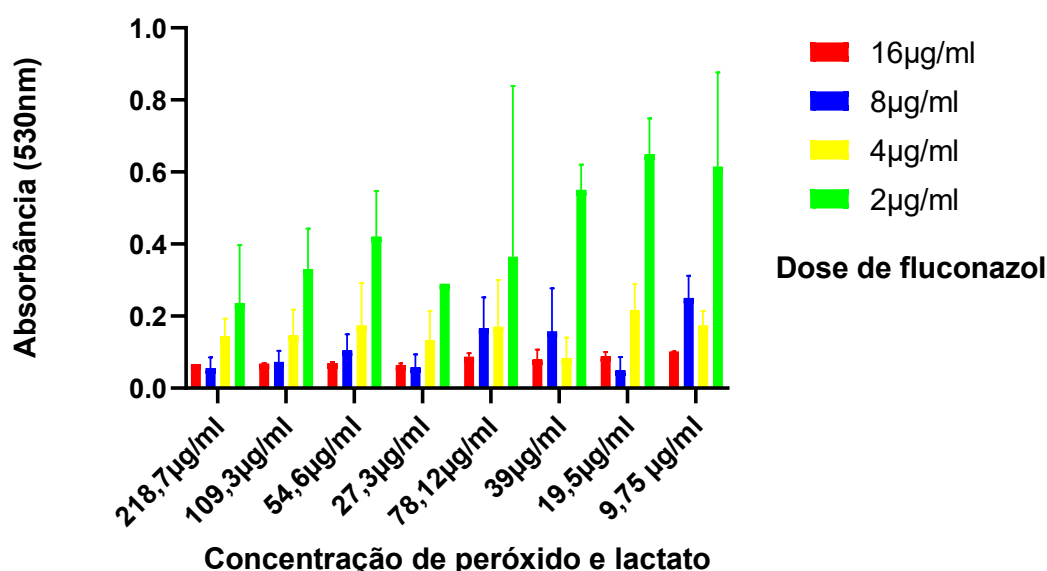
O gráfico evidencia o impacto da associação entre peróxido de hidrogênio, lactato de sódio e fluconazol sobre a viabilidade celular, medida pela absorbância a 530 nm. Observa-se que as menores concentrações de fluconazol (2 µg/mL – barras verdes) mantêm altos níveis de absorbância em concentrações mais baixas da combinação peróxido/lactato, indicando limitada atividade antifúngica. À medida que se aumentam as doses de fluconazol (4 a 16 µg/mL) e as

concentrações da associação peróxido/lactato, há uma redução consistente na absorvância, o que sugere maior eficácia na inibição fúngica.

Esse comportamento reforça a hipótese de que há um efeito sinérgico entre os três agentes — antifúngico, peróxido e lactato. O lactato de sódio pode acidificar o meio, enquanto o peróxido gera estresse oxidativo e o fluconazol interfere na biossíntese de ergosterol, afetando a integridade da membrana. A combinação dessas ações torna o ambiente hostil à sobrevivência celular, principalmente nas concentrações intermediárias (como 54,6 a 109,3 $\mu\text{g/mL}$), que apresentaram as menores médias de absorvância para todas as doses de fluconazol testadas. (Ribeiro, 2022).

Contudo, as concentrações mais baixas da associação (9,3 e 18,7 $\mu\text{g/mL}$) parecem ser insuficientes para induzir um efeito antimicrobiano significativo, especialmente com fluconazol em dose mínima. Isso evidencia a necessidade de uma dose limiar para que a sinergia seja eficaz, o que pode orientar futuras propostas terapêuticas ou formulações antimicrobianas.

Gráfico 67 – Avaliação de sensibilidade em células planctônicas de amostras hospitalares de *Candida* frente ao lactato de sódio e fluconazol e peróxido de hidrogênio e fluconazol – amostra número 23.

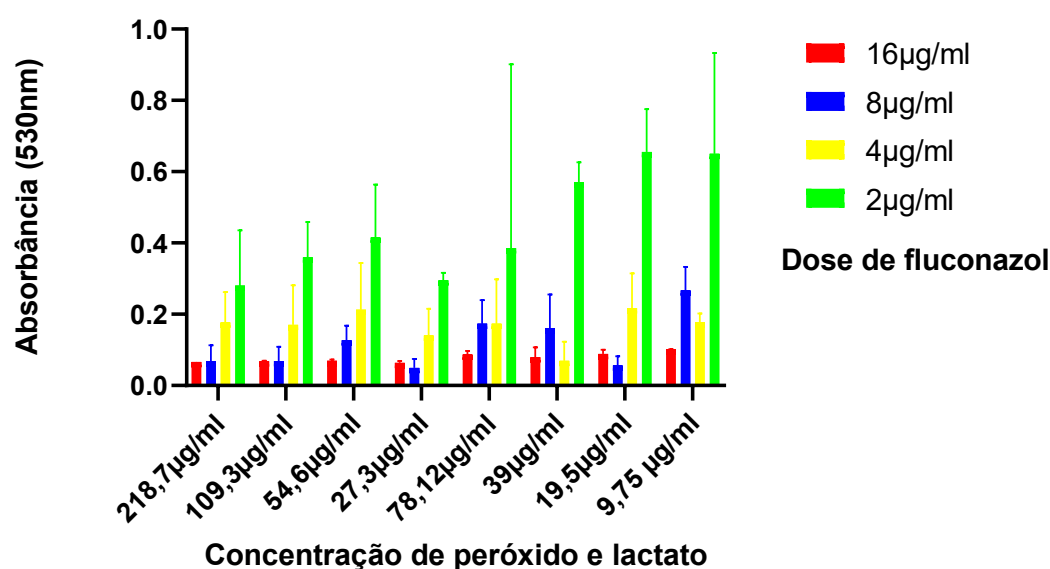


Fonte: da autora.

Os testes revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testados ($p < 0,05$). O pós-teste de Dunn mostrou que as concentrações mais baixas de fluconazol (2 $\mu\text{g/mL}$), associadas às menores doses da mistura peróxido/lactato (9,3 e 18,7 $\mu\text{g/mL}$), apresentaram absorvâncias significativamente mais elevadas em relação às concentrações mais

altas de antifúngico, sugerindo menor atividade antifúngica nessas condições. Observa-se que as amostras tratadas com 2 µg/mL mantêm altos níveis de viabilidade celular, enquanto concentrações de 8 e 16 µg/mL de fluconazol resultaram em redução progressiva da absorbância, principalmente nas faixas de 54,6 a 109,3 µg/mL da mistura, indicando maior eficácia antimicrobiana. Isso evidencia um possível efeito sinérgico entre os três compostos: fluconazol (inibição da síntese de ergosterol), peróxido de hidrogênio (geração de espécies reativas de oxigênio) e lactato de sódio (acidificação do meio), cuja combinação parece potencializar o dano celular, especialmente quando todos estão presentes em concentrações eficazes. Comparando com a amostra 4, os valores de absorbância da amostra 23 são mais elevados, sugerindo maior resistência ou menor suscetibilidade às combinações testadas, o que pode ser explicado por variabilidade fenotípica entre cepas clínicas, como relatado por Silva *et al.* (2012), reforçando a necessidade de avaliações individualizadas para definir estratégias antifúngicas mais eficazes. Essas observações são sustentadas por estudos como os de Liu *et al.* (2019), que demonstram a eficácia potencial da associação de antifúngicos com agentes oxidantes e acidificantes.

Gráfico 68 – Avaliação de sensibilidade em células planctônicas de amostras hospitalares de *Candida* frente ao lactato de sódio e fluconazol e peróxido de hidrogênio e fluconazol – amostra 25 (*C. não-albicans - glabratra*).

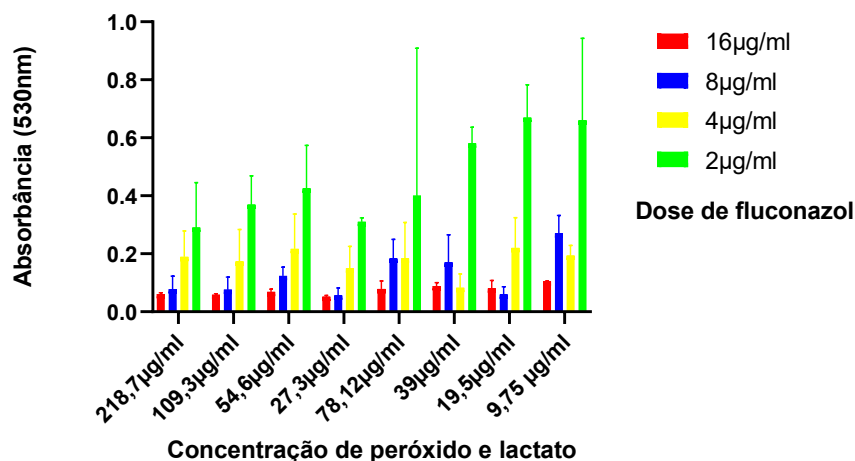


Fonte: da autora.

Os testes revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais ($p < 0,05$). O pós-teste de Dunn demonstrou que os tratamentos com

concentrações mais baixas de fluconazol (2 µg/mL), especialmente quando combinadas a doses reduzidas da mistura peróxido/lactato (9,3 a 27,9 µg/mL), apresentaram absorvâncias significativamente maiores em comparação a concentrações mais elevadas do antifúngico, indicando menor eficácia antimicrobiana nesses cenários. A análise gráfica revela que, de maneira geral, as amostras tratadas com 2 µg/mL (barras verdes) mantêm alta viabilidade celular em praticamente todas as concentrações da mistura, enquanto os tratamentos com 8 e 16 µg/mL (azul e vermelho) resultaram em diminuição progressiva da absorvância, sobretudo nas faixas de 54,6 a 109,3 µg/mL, sugerindo ação sinérgica entre os compostos. O fluconazol atua na inibição da biossíntese de ergosterol, o peróxido de hidrogênio promove estresse oxidativo, e o lactato de sódio acidifica o meio, comprometendo a integridade celular; sua combinação, portanto, tende a potencializar a ação antifúngica, especialmente quando em concentrações adequadas (Cabral, 2013). Em comparação com as amostras 4 e 23, a amostra 25 apresentou os maiores valores de absorvância para a dose mínima de fluconazol, inclusive em concentrações mais elevadas da mistura, o que pode indicar um perfil de resistência mais acentuado ou uma menor suscetibilidade intrínseca à estratégia combinatória testada. Este padrão está de acordo com a variabilidade fenotípica descrita por Silva *et al.* (2012), e reforça a importância da avaliação individualizada de cepas clínicas para a definição de esquemas terapêuticos mais eficazes, como proposto também nos estudos de Liu *et al.* (2019), que demonstram a relevância da associação entre antifúngicos e agentes oxidantes na inibição de leveduras patogênicas.

Gráfico 69 – Avaliação de sensibilidade em células planctônicas de amostras hospitalares de *Candida* frente ao lactato de sódio e fluconazol e peróxido de hidrogênio e fluconazol – amostra 33 (*C. albicans*).

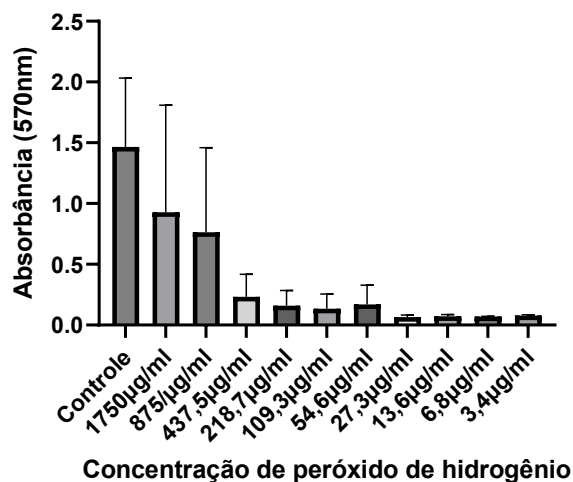


Fonte: da autora.

Os testes revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais ($p < 0,05$). O pós-teste de Dunn indicou que as concentrações mais baixas de fluconazol (2 $\mu\text{g/mL}$), associadas às menores doses da combinação peróxido/lactato (especialmente entre 9,3 e 27,9 $\mu\text{g/mL}$), apresentaram absorvâncias significativamente mais altas do que os tratamentos com doses maiores de antifúngico, evidenciando menor efeito antifúngico nessas condições. A análise do gráfico mostra que, mais uma vez, os maiores valores de absorvância foram observados nas barras verdes (2 $\mu\text{g/mL}$), independentemente da concentração da mistura peróxido/lactato, o que sugere que a baixa dose do antifúngico, mesmo em combinação com agentes oxidantes e acidificantes, não foi suficiente para reduzir a viabilidade celular de maneira expressiva. Em contrapartida, as concentrações de 8 e 16 $\mu\text{g/mL}$ de fluconazol, principalmente quando associadas às doses intermediárias da mistura (54,6 a 109,3 $\mu\text{g/mL}$), promoveram reduções consistentes da absorvância, indicando um possível efeito sinérgico entre os três compostos. Essa sinergia, atribuída à ação combinada do fluconazol na síntese de ergosterol, do peróxido de hidrogênio no estresse oxidativo e do lactato na acidificação do meio, reforça a eficácia da estratégia combinatória, desde que as concentrações sejam adequadas. Em comparação com as demais amostras (4, 23 e 25), a amostra 33 apresentou um perfil intermediário de resposta, com maior variabilidade nos dados, o que pode ser reflexo de flutuações na resistência fenotípica, como descrito por Silva *et al.* (2012). Esses resultados sustentam os achados de e Liu *et al.* (2019), que destacam a importância de combinações terapêuticas para contornar limitações do uso isolado de antifúngicos frente a cepas com potencial resistência.

5.10 EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES RECÉM-FORMADOS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

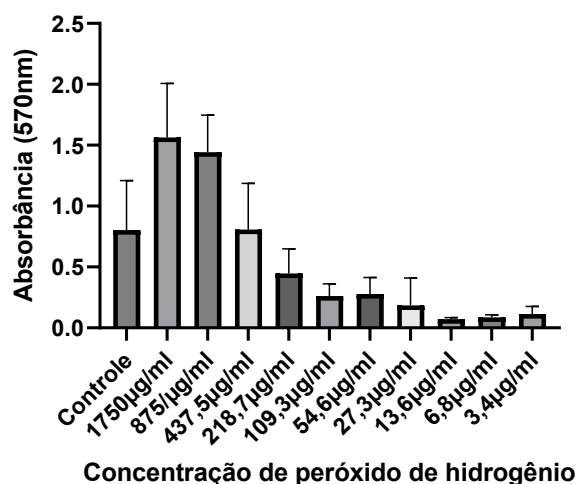
Gráfico 70 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostras padrão (*C. albicans* SC5314, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019)



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn apontou que todas as concentrações de peróxido de hidrogênio, a partir de 218,75 µg/mL, promoveram reduções significativas na atividade metabólica em comparação ao controle, sendo as concentrações mais altas (1750 µg/mL, 875 µg/mL e 437,5 µg/mL) as que mais impactaram a viabilidade dos biofilmes. O gráfico demonstra claramente uma tendência de redução dose-dependente da atividade metabólica: enquanto o controle exibe alta absorvância (indicando metabolismo celular ativo), a exposição progressiva ao peróxido leva a uma queda acentuada e consistente na absorvância, atingindo valores mínimos nas concentrações entre 109,3 µg/mL e 6,84 µg/mL, o que sugere forte efeito oxidativo sobre as células fúngicas. Esse resultado é coerente com o mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio, que atua por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), danificando estruturas celulares críticas como membranas, proteínas e DNA.

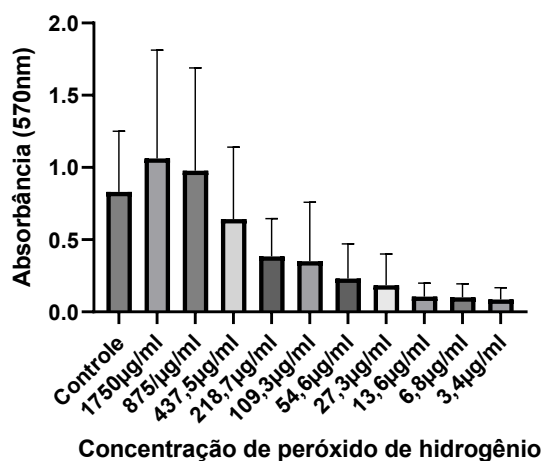
Gráfico 71 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostras de número 3 (*C. não-albicans - tropicalis*).



Fonte: da autora.

O teste de Dunn, realizado como pós-teste, demonstrou que a partir da concentração de 218,75 µg/mL já se observa uma queda significativa na atividade metabólica em relação ao controle, com reduções mais acentuadas nas faixas de 437,5 a 27,3 µg/mL, enquanto nas menores concentrações (13,6 a 6,84 µg/mL) os níveis de absorbância foram praticamente nulos. O gráfico mostra uma redução progressiva da absorbância conforme o aumento da concentração de peróxido, indicando forte ação inibitória do composto sobre a atividade celular dos biofilmes em formação. Ao contrário do controle, que apresenta valores elevados de absorbância (indicando metabolismo ativo), as demais condições exibem uma queda dose-dependente, refletindo a capacidade do peróxido de hidrogênio de induzir estresse oxidativo e comprometimento celular em biofilmes ainda imaturos. Esses dados corroboram o potencial do peróxido como agente antimicrobiano eficaz na fase inicial de desenvolvimento do biofilme, antes da consolidação de sua matriz extracelular protetora. Resultados similares foram descritos por Matos (2009), que evidenciaram a ação direta do peróxido sobre células de *Candida* em diferentes fases de crescimento, reforçando sua utilidade como adjuvante no combate precoce à formação de biofilmes em superfícies clínicas e dispositivos médicos.

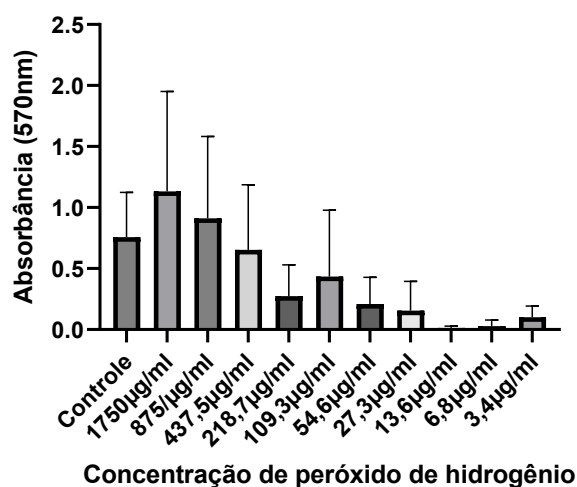
Gráfico 72 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra número 15 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn indicou que as concentrações mais elevadas de peróxido (de 437,5 a 27,3 µg/mL) promoveram uma redução significativa da atividade metabólica em comparação ao controle, com as concentrações mais baixas (13,6 a 3,4 µg/mL) mantendo os menores níveis de absorbância, sugerindo eficácia citotóxica contínua mesmo em doses reduzidas. O gráfico demonstra uma queda progressiva na viabilidade celular conforme aumenta a concentração de peróxido, com destaque para a expressiva diminuição da atividade metabólica nas faixas intermediárias, evidenciada pela diferença nítida em relação ao controle. A ação do peróxido de hidrogênio, baseada na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), compromete a integridade celular por dano oxidativo direto, afetando membranas, proteínas e ácidos nucleicos, o que é particularmente eficaz na fase inicial de formação de biofilmes, quando as células ainda estão em processo de adesão e organização. Os resultados observados nesta amostra reforçam achados de Matos (2009), que relataram a eficácia do peróxido contra estruturas biofilmes imaturas, sugerindo que seu uso pode ser uma abordagem promissora para prevenir a maturação e o estabelecimento de infecções persistentes associadas a superfícies biomédicas.

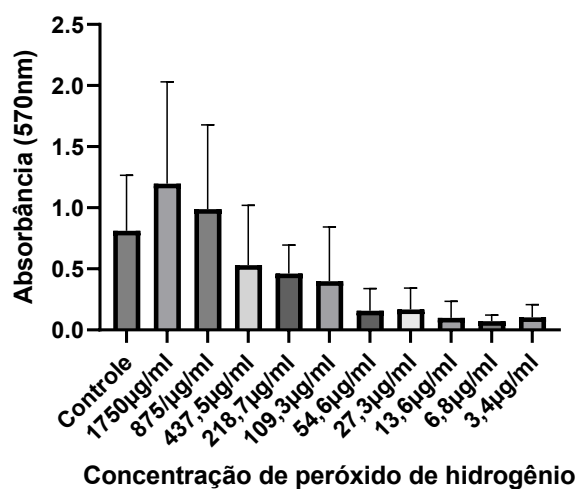
Gráfico 73 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra 29 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn apontou que todas as concentrações acima de 218,7 µg/mL apresentaram redução significativa da atividade metabólica em comparação ao controle, sendo que as concentrações intermediárias (437,5 a 27,3 µg/mL) foram especialmente eficazes na diminuição da viabilidade celular. O gráfico mostra uma tendência clara de queda progressiva da absorbância conforme o aumento da concentração de peróxido, com níveis mínimos observados nas menores concentrações testadas (13,6 a 3,4 µg/mL), refletindo forte ação antimicrobiana. Essa redução da atividade celular está associada ao mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio, que promove estresse oxidativo por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), levando ao comprometimento de estruturas celulares essenciais. A ação do peróxido é potencialmente mais eficaz em biofilmes ainda em formação, como no caso dos recém-aderidos, que não possuem a matriz extracelular madura que confere maior resistência.

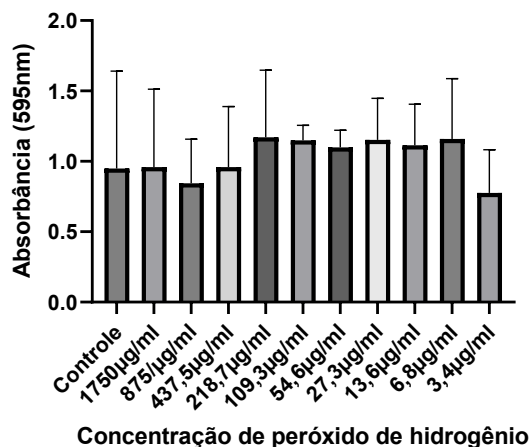
Gráfico 74 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra 33 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn indicou que a partir da concentração de 437,5 µg/mL já se observa uma redução significativa da atividade metabólica em relação ao controle, com valores de absorbância progressivamente menores conforme aumenta a concentração de peróxido, sendo as faixas mais baixas (13,6 a 3,4 µg/mL) associadas aos níveis mínimos de viabilidade celular. O gráfico revela uma queda acentuada e contínua na atividade metabólica dos biofilmes com o aumento das doses do peróxido, demonstrando uma clara relação dose-dependente. Essa redução está relacionada à ação do peróxido de hidrogênio, que gera espécies reativas de oxigênio (ROS), danificando membranas, proteínas e estruturas celulares vitais, particularmente em biofilmes ainda em formação, que são mais suscetíveis por não possuírem barreiras protetoras maduras. Os resultados observados para a amostra 33 são consistentes com os achados de outras amostras e com a literatura, como no estudo de Matos (2009), que demonstrou o efeito citotóxico do peróxido sobre células fúngicas em biofilmes imaturos, sugerindo seu potencial como agente profilático ou terapêutico contra infecções iniciais relacionadas a dispositivos médicos ou superfícies contaminadas.

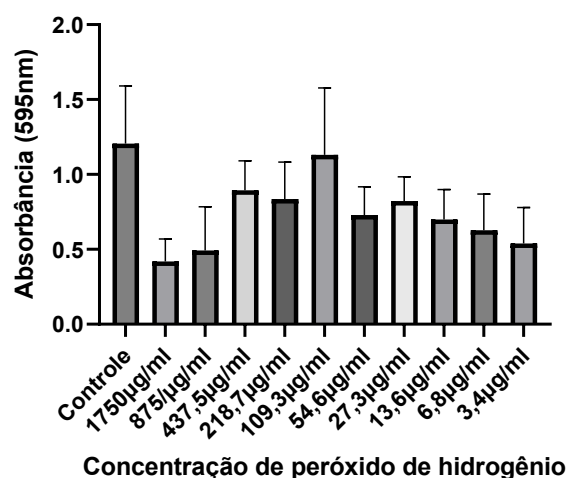
Gráfico 75 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostras padrão (*C. albicans* SC5314, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019).



Fonte: da autora.

O gráfico mostra que, em todas as concentrações de peróxido avaliadas (de 1750 a 3,4 µg/mL), os valores de absorbância variaram de forma sutil e sem tendência clara de redução, mantendo-se relativamente próximos ao controle, com sobreposição dos intervalos de erro padrão, o que indica que o peróxido de hidrogênio, nas condições e tempo de exposição utilizados, não teve impacto expressivo sobre a biomassa dos biofilmes em estágio inicial de adesão. Esse padrão sugere que, embora o peróxido seja conhecido por sua ação oxidante e citotóxica sobre células fúngicas, ele não foi capaz de degradar ou impedir significativamente o acúmulo de matriz extracelular nos biofilmes em formação dessas amostras específicas. A persistência da biomassa mesmo na presença de concentrações elevadas de peróxido pode estar relacionada à rápida produção de matriz ou à resistência estrutural da matriz polimérica frente ao estresse oxidativo. Tais achados estão em concordância com a literatura, como discutido por Silva *et al.* (2012), que descrevem a dissociação frequente entre viabilidade celular e densidade de biomassa em biofilmes, especialmente em fases iniciais, destacando a importância de análises complementares para avaliar a eficácia de agentes antimicrobianos frente a biofilmes em diferentes estágios.

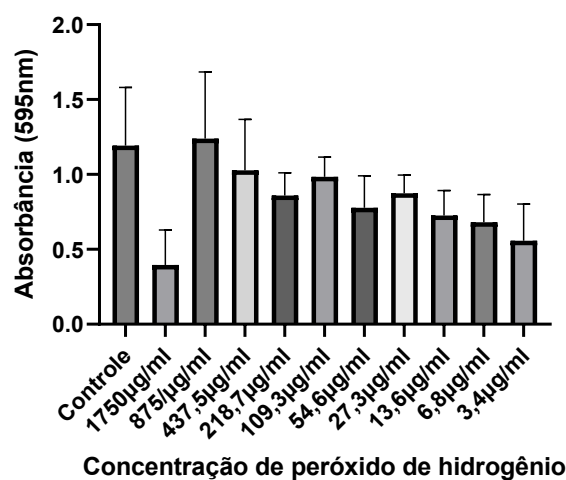
Gráfico 76 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra número 1 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn apontou que concentrações mais altas de peróxido, como 1750 e 875 µg/mL, promoveram uma redução significativa na biomassa em comparação ao controle, embora as concentrações intermediárias tenham mantido valores relativamente estáveis, com variações pouco expressivas. O gráfico mostra uma queda inicial acentuada da biomassa nas maiores concentrações, seguida por uma oscilação entre as faixas intermediárias (218,7 a 54,6 µg/mL), com discreta tendência de redução nas menores concentrações (13,6 a 3,4 µg/mL). Esses dados sugerem que o peróxido de hidrogênio apresenta um efeito mais evidente na desestabilização da biomassa apenas em concentrações elevadas, possivelmente por ação oxidante direta sobre componentes estruturais do biofilme. No entanto, a persistência de biomassa nas faixas intermediárias e baixas pode estar relacionada à tolerância estrutural da matriz extracelular ou à rápida reestruturação do biofilme em formação. Esses achados reforçam a observação de que a biomassa nem sempre acompanha diretamente a viabilidade celular, como discutido por Silva *et al.* (2012), sendo essencial a análise integrada de parâmetros fisiológicos e estruturais para avaliar a eficácia de agentes antimicrobianos como o peróxido de hidrogênio em diferentes fases de desenvolvimento do biofilme.

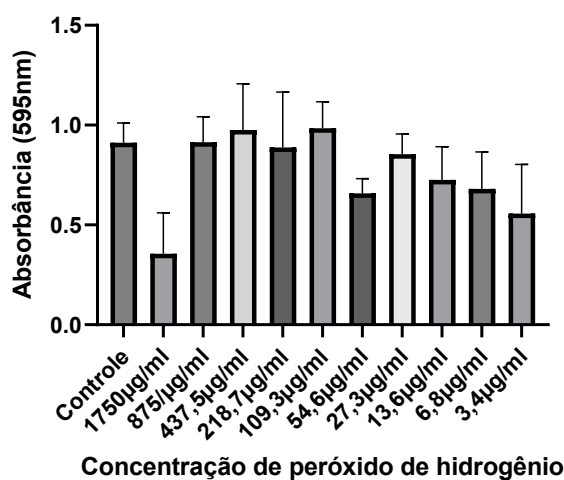
Gráfico 77 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 15 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn indicou que a concentração de 875 µg/mL promoveu uma redução significativa da biomassa em relação ao controle, enquanto as demais concentrações, especialmente as intermediárias (218,7 a 54,6 µg/mL), apresentaram valores mais estáveis, com absorbâncias semelhantes ao controle, embora com tendência de leve diminuição nas concentrações mais baixas (13,6 a 3,4 µg/mL). O gráfico mostra que, apesar da ação oxidante esperada do peróxido de hidrogênio, a biomassa do biofilme recém-formado não foi drasticamente afetada em grande parte das concentrações testadas, mantendo-se com valores médios próximos a 1,0 de absorbância. Isso sugere que, nessa amostra específica, o peróxido foi mais eficiente na redução da atividade celular do que na degradação da matriz biofilme, o que está de acordo com estudos como os de Silva *et al.* (2012), que apontam que a biomassa pode persistir mesmo após a morte celular, especialmente em biofilmes ainda em formação. Assim, a ação do peróxido de hidrogênio sobre a biomassa parece ser limitada, a menos que utilizado em concentrações muito altas, o que reforça a necessidade de abordagens combinadas ou tempo de exposição prolongado para desorganização estrutural efetiva do biofilme.

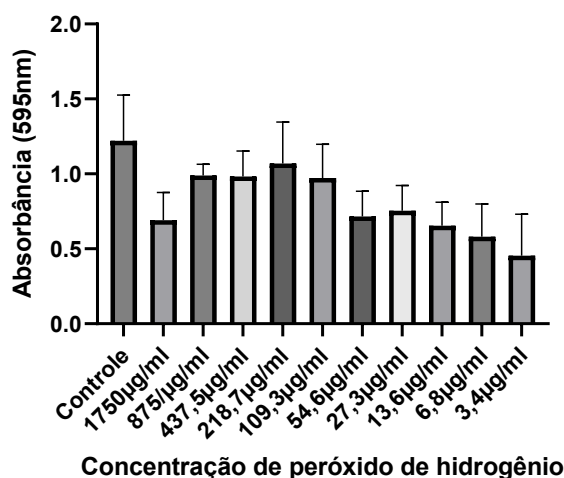
Gráfico 78 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra 29 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn revelou que a concentração de 875 µg/mL resultou em uma redução significativa da biomassa em comparação ao controle, enquanto as demais concentrações, especialmente entre 218,7 e 54,6 µg/mL, apresentaram valores de absorbância semelhantes ou até ligeiramente superiores ao controle, com uma leve tendência de queda nas menores concentrações (13,6 a 3,4 µg/mL). O gráfico mostra que, de maneira geral, a biomassa do biofilme foi pouco afetada pela maioria das concentrações de peróxido, com variações pequenas e sobreposição dos desvios padrão. Esse padrão sugere que o peróxido de hidrogênio, nas condições avaliadas, teve ação limitada sobre a matriz estrutural do biofilme em formação, mesmo quando eficaz na redução da viabilidade celular. Isso reforça a ideia de que a matriz extracelular pode se manter preservada mesmo após a exposição a agentes oxidantes, especialmente em estágios iniciais do biofilme, como apontado por Silva *et al.* (2012). Assim, a amostra 29 mostra um perfil de resistência estrutural da biomassa frente ao peróxido, indicando que, para um efeito mais completo de remoção do biofilme, pode ser necessária a combinação com outros agentes que atuem diretamente na desestabilização da matriz ou a aplicação prolongada do tratamento.

Gráfico 79 – Avaliação da biomassa de biofilmes recém-aderidos ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 33 (*C. albicans*).

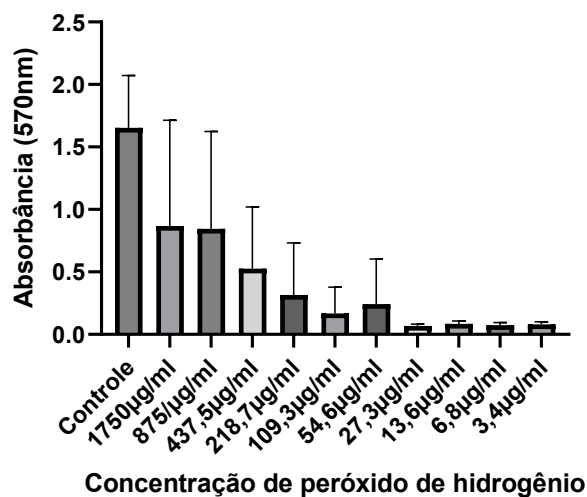


Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn indicou que as concentrações mais altas (875 e 437,5 µg/mL), bem como as mais baixas (13,6 e 6,84 µg/mL), promoveram reduções significativas da biomassa em comparação ao controle, enquanto as concentrações intermediárias (218,7 a 54,6 µg/mL) mantiveram valores próximos ao basal. O gráfico demonstra uma queda inicial da biomassa em 875 µg/mL, seguida por um leve aumento nas concentrações intermediárias, e posteriormente uma redução mais consistente nas faixas inferiores. Esse comportamento não linear pode indicar uma resposta adaptativa ou transiente das células biofilme, refletindo variações na resistência estrutural da matriz extracelular frente ao estresse oxidativo. A persistência da biomassa em concentrações moderadas, apesar da ação conhecida do peróxido de hidrogênio como agente gerador de espécies reativas de oxigênio (ROS), sugere que os mecanismos de defesa da matriz ainda não haviam sido completamente superados nessas faixas. Essa interpretação está em consonância com estudos como os de Silva *et al.* (2012) e Matos (2009), que apontam que a biomassa pode permanecer relativamente estável mesmo após perda de viabilidade celular, especialmente em biofilmes imaturos. Portanto, os resultados obtidos para a amostra 33 reforçam a importância de avaliar, de forma complementar, tanto a estrutura quanto a atividade dos biofilmes ao se testar agentes antimicrobianos como o peróxido de hidrogênio.

5.11 EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO SOBRE BIOFILMES MADUROS DE AMOSTRAS PADRÕES E HOSPITALARES DE *Candida* spp.

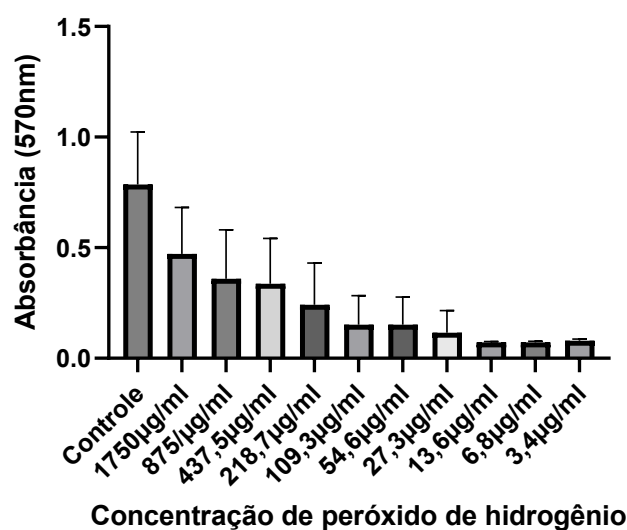
Gráfico 80 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostras padrão (*C. albicans* SC5314, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn mostrou que todas as concentrações a partir de 437,5 µg/mL promoveram reduções significativas na atividade metabólica em comparação ao controle, com destaque para as concentrações entre 218,7 e 27,3 µg/mL, que apresentaram quedas progressivas e expressivas nos níveis de absorbância. O gráfico evidencia uma forte relação dose-dependente, com declínio acentuado da atividade celular à medida que aumenta a concentração de peróxido, atingindo níveis mínimos nas menores concentrações testadas (13,6 a 3,4 µg/mL), sugerindo que mesmo pequenas quantidades do agente oxidante são capazes de comprometer a viabilidade celular em biofilmes maduros. Esses dados demonstram a eficácia do peróxido de hidrogênio em induzir estresse oxidativo severo, mesmo em estruturas já estabelecidas e mais resistentes, como os biofilmes maduros, cuja matriz extracelular densa geralmente oferece maior proteção contra agentes antimicrobianos. Esse resultado corrobora os achados de Matos (2009), que destacam o potencial do peróxido como ferramenta eficaz na redução da viabilidade de biofilmes fúngicos, inclusive em estágios avançados de desenvolvimento, reforçando seu uso como agente desinfetante em ambientes clínicos e hospitalares onde esses biofilmes estão associados a infecções persistentes.

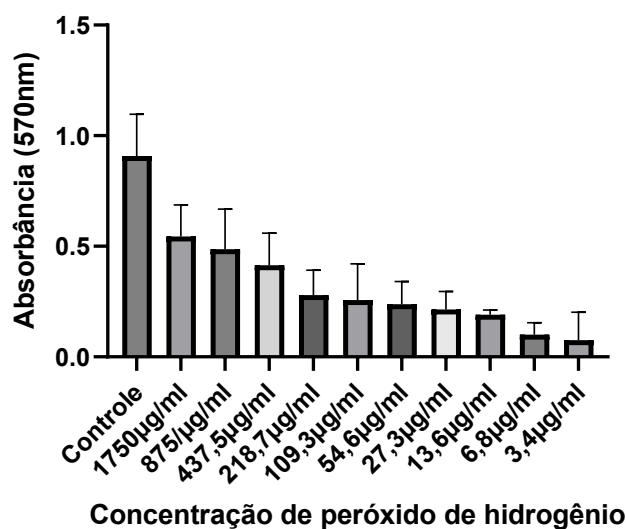
Gráfico 81 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 5 (*C. não-albicans - glablatra*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn demonstrou que todas as concentrações de peróxido testadas, a partir de 875 µg/mL, apresentaram reduções significativas na atividade metabólica em comparação ao controle, com diminuições progressivas e expressivas ao longo das demais faixas de concentração, incluindo as mais baixas. O gráfico evidencia uma clara tendência dose-dependente, com queda acentuada da absorbância à medida que se aumenta a concentração de peróxido, atingindo níveis mínimos de atividade nas concentrações inferiores (13,6 a 3,4 µg/mL). Esses dados indicam que o peróxido de hidrogênio é altamente eficaz na redução da viabilidade de biofilmes maduros mesmo em concentrações relativamente baixas, provavelmente devido à sua ação oxidativa agressiva que danifica estruturas celulares essenciais, como membranas e proteínas, independentemente da presença da matriz protetora do biofilme. A sensibilidade observada nesta amostra reforça achados da literatura, como os apresentados por Matos (2009), que destacam a efetividade do peróxido frente a biofilmes bem estabelecidos, sugerindo seu uso como alternativa potente para descontaminação de superfícies clínicas ou dispositivos médicos colonizados por fungos em fase madura de biofilme.

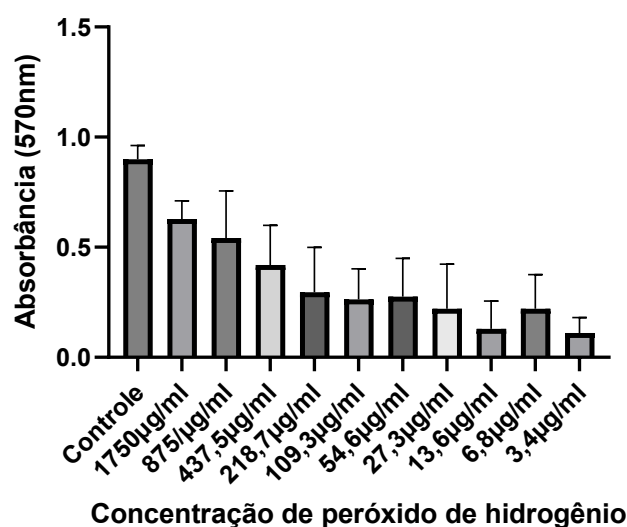
Gráfico 82 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 23 (*C. não-albicans - tropicalis*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn demonstrou que todas as concentrações a partir de 875 µg/mL resultaram em reduções significativas da atividade metabólica em comparação ao controle, com diminuições progressivas e contínuas em todo o intervalo de concentrações testadas. O gráfico mostra um padrão claro de redução dose-dependente, com queda acentuada da absorbância já nas concentrações iniciais e atingindo valores próximos de zero nas menores concentrações (13,6 a 3,4 µg/mL), indicando que o peróxido de hidrogênio foi altamente eficaz em comprometer a viabilidade celular dos biofilmes maduros. A amostra 23 se mostrou bastante sensível à ação do agente oxidante, o que sugere que, apesar da presença de matriz extracelular protetora característica de biofilmes maduros, as células ainda foram significativamente afetadas, possivelmente devido à intensa geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) que levam à oxidação de componentes celulares essenciais. Esses resultados estão de acordo com os achados de Matos (2009), que demonstraram que o peróxido de hidrogênio é capaz de atravessar a matriz do biofilme e exercer sua ação citotóxica de forma eficiente, mesmo em estágios avançados de desenvolvimento, reforçando seu potencial como alternativa terapêutica ou desinfetante para superfícies contaminadas por biofilmes fúngicos maduros.

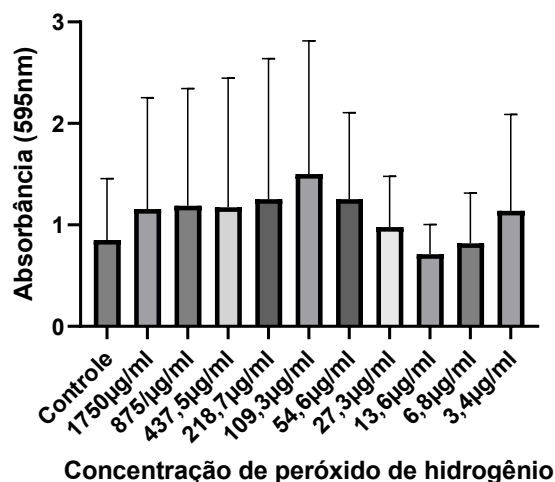
Gráfico 83 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 33 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O pós-teste de Dunn demonstrou que todas as concentrações de peróxido de hidrogênio, a partir de 875 µg/mL, reduziram significativamente a atividade metabólica em relação ao controle, com uma queda gradual da viabilidade celular à medida que a concentração do agente aumentava. O gráfico mostra uma tendência clara de inibição metabólica dose-dependente, com as menores concentrações (13,6 a 3,4 µg/mL) promovendo níveis mínimos de absorbância, sugerindo forte comprometimento da viabilidade celular mesmo em doses reduzidas. Esses resultados reforçam a eficácia do peróxido de hidrogênio como agente antifúngico contra biofilmes maduros, cujas estruturas são normalmente mais resistentes devido à presença de matriz extracelular espessa. A capacidade do peróxido de atravessar essa barreira protetora e induzir estresse oxidativo suficiente para inativar as células fúngicas é consistente com achados da literatura, como os de Sharma *et al.* (2016), que destacam a ação potente do peróxido em diferentes fases do desenvolvimento do biofilme. Assim, os dados da amostra 33 confirmam o potencial desse composto como uma alternativa eficaz para o controle de infecções associadas a biofilmes maduros em ambientes clínicos.

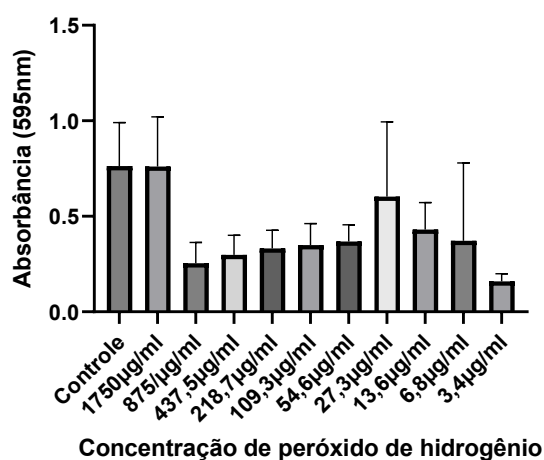
Gráfico 84 – Avaliação da biomassa de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostras padrão (*C. albicans* SC5314, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019).



Fonte: da autora.

O gráfico mostra que a biomassa total dos biofilmes maduros se manteve relativamente constante ao longo de todas as concentrações de peróxido avaliadas, com valores médios de absorbância variando entre aproximadamente 1,2 e 2,0 e com amplos desvios padrão, indicando grande variabilidade intra-grupo. Mesmo nas concentrações mais elevadas (1750 e 875 µg/mL), a biomassa não apresentou redução expressiva em relação ao controle. Esses dados sugerem que o peróxido de hidrogênio, embora eficaz na redução da viabilidade celular, não foi capaz de degradar significativamente a matriz estrutural dos biofilmes maduros, o que pode ser atribuído à espessa e complexa composição da matriz extracelular que caracteriza esse estágio avançado de desenvolvimento. Essa dissociação entre viabilidade celular e integridade estrutural é bem documentada na literatura, como observado em Silva *et al.* (2012), que ressaltam que a matriz pode persistir mesmo após morte celular, servindo como barreira física adicional. Portanto, os resultados sugerem que, apesar da ação oxidativa do peróxido de hidrogênio, estratégias combinadas com enzimas de degradação de matriz ou maior tempo de exposição podem ser necessárias para promover a remoção efetiva da biomassa de biofilmes maduros.

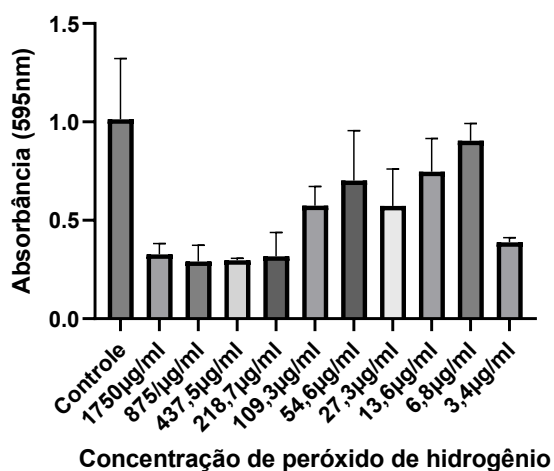
Gráfico 85 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 5 (*C. não-albicans – glabratra*).



Fonte: da autora.

O gráfico demonstra que, mesmo com a exposição a diferentes concentrações de peróxido, a biomassa do biofilme se manteve relativamente constante, com variações pontuais que não se configuraram como tendência clara de redução. Observa-se leve oscilação dos valores de absorbância, com médias fluando entre 0,3 e 0,8, mas sem declínio progressivo proporcional ao aumento da concentração do agente oxidante. Esses achados indicam que o peróxido de hidrogênio não promoveu redução significativa da biomassa da amostra 5, mesmo nas maiores concentrações, o que pode ser explicado pela resistência estrutural conferida pela matriz extracelular espessa e consolidada típica de biofilmes maduros. De acordo com Silva *et al.* (2012), a integridade da matriz pode permanecer preservada mesmo após a morte das células, o que explica a ausência de correlação direta entre perda de viabilidade celular e redução de biomassa. Assim, os resultados sugerem que o peróxido de hidrogênio, quando utilizado isoladamente, pode não ser suficiente para desestabilizar a matriz de biofilmes maduros, sendo recomendada a associação com agentes que atuem especificamente na degradação da estrutura polimérica da matriz para uma abordagem mais eficaz na remoção do biofilme.

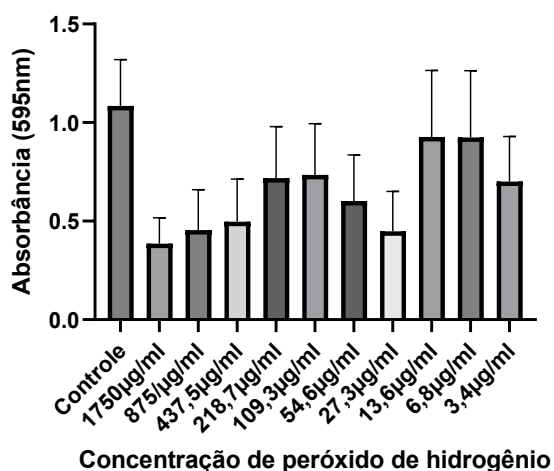
Gráfico 86 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra de número 22 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O gráfico mostra que a biomassa não apresentou uma tendência clara de redução frente ao aumento da concentração de peróxido, mantendo-se relativamente estável ao longo das concentrações intermediárias e até mesmo elevando-se em alguns pontos, como em 64 e 32 µg/mL. A única concentração que apresentou um valor visivelmente inferior foi a de 3,4 µg/mL, porém essa queda não foi estatisticamente relevante no contexto geral do experimento. Esse padrão de variação sugere que, para a amostra 22, o peróxido de hidrogênio não exerceu efeito consistente sobre a estrutura da matriz do biofilme maduro. A resistência da biomassa pode ser atribuída à densa e complexa matriz extracelular típica de biofilmes em estágio avançado, que funciona como uma barreira física e química, limitando a penetração e a ação de agentes antimicrobianos. Esses achados estão alinhados com a literatura, como relatado por Silva *et al.* (2012), que destacam que, mesmo após comprometimento da atividade metabólica das células, a estrutura da matriz pode se manter intacta. Assim, os dados reforçam a necessidade de uso combinado de estratégias antimicrobianas que incluam não apenas agentes citotóxicos como o peróxido de hidrogênio, mas também compostos capazes de degradar ou desorganizar diretamente a matriz polimérica do biofilme para obtenção de resultados mais eficazes na remoção e controle dessas estruturas microbianas maduras (Matos, 2009).

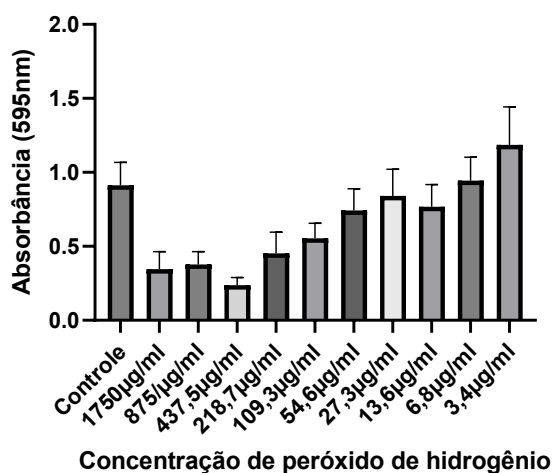
Gráfico 87 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra 29 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O gráfico mostra que, embora o controle apresente valor de absorbância ligeiramente superior, não há tendência de redução progressiva da biomassa com o aumento da concentração do peróxido; ao contrário, observa-se uma oscilação dos valores ao longo das diferentes concentrações, com variações discretas e ampla sobreposição dos desvios padrão. As concentrações mais baixas (13,6 a 3,4 µg/mL) inclusive mantêm valores semelhantes ou até superiores às concentrações intermediárias e altas, evidenciando a ausência de efeito dose-dependente. Esses resultados sugerem que, na amostra 29, o peróxido de hidrogênio não promoveu degradação significativa da matriz extracelular do biofilme maduro, o que pode ser atribuído à robustez estrutural conferida pela maturação da matriz, que age como barreira contra a ação oxidativa. Isso está de acordo com estudos como os de Silva *et al.* (2012), que apontam a dissociação entre viabilidade celular e biomassa em biofilmes estabelecidos, reforçando que a remoção completa dessas estruturas exige não apenas agentes antimicrobianos, mas também compostos com ação específica sobre a matriz polimérica. Portanto, os dados da amostra 29 indicam a limitação do peróxido de hidrogênio isolado como estratégia para desorganização estrutural de biofilmes maduros.

Gráfico 88 – Avaliação da atividade metabólica de biofilmes maduros ao peróxido de hidrogênio – amostra 48 (*C. albicans*).



Fonte: da autora.

O gráfico mostra um comportamento não usual: enquanto seria esperado um possível efeito de redução da biomassa com o aumento da concentração do peróxido, os dados da amostra 48 revelam uma tendência inversa, com valores mais baixos nas concentrações iniciais (875 a 109,3 µg/mL) e aumento progressivo nas faixas mais baixas (13,6 a 3,4 µg/mL), culminando com o maior valor de absorbância justamente na menor concentração testada. Esses achados indicam que o peróxido de hidrogênio, nas condições aplicadas, não apenas foi ineficaz na degradação da biomassa, como pode ter favorecido a compactação ou intensificação da matriz biofilme em concentrações subletais, fenômeno que já foi descrito na literatura como possível resposta adaptativa de microrganismos a estresse oxidativo. A variabilidade entre os grupos e a ausência de padrão dose-resposta indicam que a matriz madura da amostra 48 apresenta alta resistência ao agente oxidante, reforçando a necessidade de abordagens mais específicas, como o uso combinado com agentes dispersores de matriz ou aplicação prolongada. Esses achados estão de acordo com o que propõe Silva *et al.* (2012), que destacam a complexidade do controle de biofilmes maduros e a importância de estratégias integradas para superação da resistência estrutural conferida pela matriz polimérica.

Os resultados indicam que o peróxido de hidrogênio exerce um efeito dose-dependente na viabilidade celular de *Candida* spp., com um impacto ainda mais notável quando combinado com o fluconazol. Esse efeito sinérgico é consistente com pesquisas que exploram a interação entre oxidantes e antifúngicos convencionais, como semelhante ao estudo de Astvad *et al.* (2018), que sugere que o uso de peróxido de hidrogênio em combinação com antifúngicos pode

desestabilizar a estrutura celular fúngica, principalmente em cepas resistentes. A ação do peróxido de hidrogênio é potencialmente atribuída à geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que aumentam o estresse oxidativo nas células fúngicas, comprometendo a integridade da membrana célula, de acordo com estudos semelhantes de Hu, (2015).

O efeito limitado das concentrações intermediárias de peróxido de hidrogênio, conforme observado, sugere um ponto de saturação celular onde as células de *Candida* desenvolvem tolerância temporária a níveis moderados de EROs, como observado por Wiederhold *et al.* (2018). No entanto, concentrações mais altas superam esse mecanismo, levando à inibição celular expressiva. Para biofilmes fúngicos e cepas resistentes a fluconazol, estudos indicam que o peróxido de hidrogênio combinado com antifúngicos pode efetivamente romper a estrutura do biofilme e reduzir a resistência (Alves *et al.*, 2014).

As implicações clínicas desses achados são promissoras. A utilização de peróxido de hidrogênio como adjuvante terapêutico oferece uma abordagem de baixo custo para o manejo de infecções fúngicas resistentes, semelhante aos estudos de Clancy e Nguyen (2018), que analisaram o custo-benefício de tratamentos combinados em infecções hospitalares. A combinação de agentes antimicrobianos disponíveis e acessíveis, como o peróxido de hidrogênio, com antifúngicos tradicionais, pode não apenas melhorar a eficácia do tratamento, mas também reduzir a dosagem de medicamentos como o fluconazol, minimizando seus efeitos colaterais e contribuindo para uma abordagem terapêutica mais segura e econômica.

6 CONCLUSÕES

Os resultados dos experimentos com *Lactobacillus* spp. demonstraram que as cepas avaliadas, incluindo *L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus* induziram alterações estatisticamente significativas na atividade metabólica ou na biomassa de *Candida* spp.

O estudo realizado demonstrou que os diferentes tratamentos antifúngicos com fluconazol, lactato de sódio e peróxido de hidrogênio, aplicados isoladamente ou em combinações, impactaram de forma distinta as respostas biológicas das espécies de *Candida*. A ação dependente da dose observada para cada composto permitiu identificar concentrações críticas que provocam inibição ou alteração no crescimento de células planctônicas e na formação de biofilmes. Os resultados destacam a eficácia potencial do lactato de sódio e do peróxido de hidrogênio como adjuvantes no tratamento de infecções fúngicas refratárias ao tratamento antifúngico, especialmente ao combinar essas substâncias com fluconazol, o que apresentou um efeito sinérgico significativo na redução da viabilidade e biomassa de biofilmes.

Estudos complementares com concentrações ajustadas desses compostos podem oferecer novos caminhos para otimizar terapias combinadas, visando melhorar a eficácia do tratamento antifúngico e reduzir o uso isolado de antifúngicos convencionais, como o fluconazol. Dessa forma, esta pesquisa contribui para o entendimento das interações entre diferentes tratamentos e as respostas adaptativas de *Candida* spp., fornecendo uma base relevante para futuras estratégias terapêuticas que possam controlar efetivamente a formação de biofilmes e a resistência antifúngica em ambientes clínicos e em comunidade.

REFERÊNCIAS

- ADAM, B.; BAILLIE, G. S.; DOUGLAS, L. J. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 344-349, 2002.
- ALP, S. *et al.* Epidemiology of candidaemia in a tertiary care university hospital: 10-year experience with 381 candidaemia episodes between 2001 and 2010. **Mycoses**, v. 58, 2019.
- ALVES, C. *et al.* Antifungal activity of phenolic compounds identified in flowers from North Eastern Portugal against *Candida* species. **Future Microbiology**, v. 9, n. 2, p. 139-146, 2014.
- ÅVALL-JÄÄSKELÄINEN, S.; PALVA, A.. Lactobacillus surface layers and their applications. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 3, p. 511-529, 2005.
- AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. *In*: SALMINEN, S.; WRIGHT, A. von (org.). **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 2004. p. 1-66.
- AZIZ, M.; REVANKAR, S. G. *Candida auris*: a recent emerging fungal pathogen. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 2, p. 123, 2020.
- BANDARA, H. M. H. N. *et al.* A novel, quorum sensor-infused liposomal drug delivery system suppresses *Candida albicans* biofilms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 578, p. 119096, 2020.
- BRAUN MELSUNGEN, AG. *Compound sodium lactate solution for infusion*. Melsungen: B. Braun Melsungen, 2020.
- BEN-AMI, R.; TUMBARELLO, M. *Candida tropicalis* infections: epidemiology, pathogenesis, and treatment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 4, p. 1025-1033, 2014.
- BISWAS, S.; VAN DIJCK, P.; DATTA, A. Environmental sensing and signal transduction pathways regulating dimorphism in *Candida albicans*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 71, n. 2, p. 348-376, 2007.

- BODIE, A. R. *et al.* Comparison of ready-to-eat “organic” antimicrobials, sodium bisulfate, and sodium lactate, on *Listeria monocytogenes* and the indigenous microbiome of organic uncured beef frankfurters stored under refrigeration for three weeks. **PLOS ONE**, v. 17, n. 1, 2022.
- BRON, P. A. *et al.* Can probiotics modulate human disease by impacting intestinal barrier function? **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 1, p. 93-107, 2017.
- BROWN, G. D. *et al.* Hidden killers: human fungal infections. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 165, p. 165rv13, 2012.
- CABRAL, M.; FIGUEROA, L. I. C.; FARIÑA, J. I. Synergistic antifungal activity of statin–azole associations as witnessed by *Saccharomyces cerevisiae*- and *Candida utilis*-bioassays and ergosterol quantification. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 30, n. 1, p. 31-38, 2013.
- CALDERONE, R. A.; FONZI, W. A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology**, v. 9, n. 7, p. 327-335, 2001. doi:10.1016/s0966-842x(01)02094-7.
- CANTÓN, RAFAEL *et al.* Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 5, p. 413-431, 2012.
- CARDOSO, V. M. **O microbioma humano**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade do Porto – Porto, Portugal.
- CAVALHEIRO, M.; TEIXEIRA, M. C. *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies. **Frontiers in Medicine**, v. 5, p. 28, 2018.
- CHANDRA, J. *et al.* Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 18, p. 5385-5394, 2001.
- CHEN, Y. *et al.* Correlation between gastrointestinal fungi and varying degrees of chronic hepatitis B virus infection. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, n. 4, p. 492-498, 2011.

CHO, I.; BLASER, M. J. The human microbiome: at the interface of health and disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 4, p. 260-270, 2012.

COSMILE EUROPE. **Sodium lactate – ingredient**. [s.l.]. Cosméticos Europe, 2024.
Disponível em: <https://cosmileeurope.eu/ingredient/sodium-lactate>. Acesso em: [24 jan 2024].

CRUMP, J. A.; COLLIGNON, P. J. Intravascular catheter-associated infections. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 19, p. 1-8, 2000.

CUI, L.; MORRIS, A. The mycobiome: role in health and disease, and as a potential probiotic target in gastrointestinal disease. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 64, n. 5, p. 1298-1307, 2019.

DATTA, R.; HENRY, M. Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies—a review. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v. 81, n. 7, p. 1119-1129, 2006.

DE LIMA, R. F.; FERNANDES, C. DE F.; VIEIRA JUNIOR, J. R. Teores de peróxido de hidrogênio em extratos de folhas de bananeira na presença do fungo. **Mycosphaerella fijiensis**. P.115-156. v. 3. 2011.

DE OLIVEIRA SANTOS, G. C. *et al.* *Candida* infections and therapeutic strategies: mechanisms of action for traditional and alternative agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1351, 2018.

DOUGLAS, L. J. *Candida* biofilms and their role in infection. **Trends in Microbiology**, v. 11, n. 1, p. 30-36, 2003.

DOVIGO, L. *et al.* Curcumin-mediated photodynamic inactivation of *Candida albicans* in a murine model of oral candidiasis. **Sabouraudia**, v. 51, n. 3, p. 243-251, 2013.

DRAELOS, Z. D. Cosmetics and dermatologic problems and solutions. **Hoboken: John Wiley & Sons**, 2012.

ENE, I. V. *et al.* Growth of *Candida albicans* cells on the physiologically relevant carbon source lactate affects their recognition and phagocytosis by immune cells. **Infection and Immunity**, v. 81, n. 1, p. 238-248, 2013.

FANNING, S.; MITCHELL, A. P. Fungal biofilms. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 4, p. e1002585, 2012.

- FENG, Y. *et al.* Understanding fluconazole tolerance in *Candida albicans*: implications for effective treatment of candidiasis and combating invasive fungal infections. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 35, p. 314-321, 2023.
- FINNEGAN, M. *et al.* Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 10, p. 2108-2115, 2010.
- GÄNZLE, M. G. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. **Current Opinion in Food Science**, v. 2, p. 106-117, 2015.
- GHOSH, S. *et al.* Biogenic silver nanoparticles (AgNPs) from *Tinospora cordifolia* leaves: an effective antibiofilm agent against *Staphylococcus aureus* ATCC 23235. **Frontiers in Chemistry**, v. 11, p. 1118454, 2023.
- GOUBA, N.; DRANCOURT, M. Digestive tract mycobiota: a source of infection. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 5, p. e1004657, 2015.
- HERNÁNDEZ, A. **Evaluación del efecto antimicrobiano del lactato de sodio en la conservación de la carne molida de res.** 2012. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Ciências Agrárias – Universidad Agraria del Ecuador. Novembro, 2017. 2017.
- HILL, C. *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.
- HOJJATI, M.; BEHABAHANI, B.; FALAH, F. Aggregation, adherence, anti-adhesion and antagonistic activity properties relating to surface charge of probiotic *Lactobacillus brevis* gp104 against *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, v. 147, p. 104420, 2020.
- HU, LUYIN *et al.* Genetic and phenotypic characterization of *Candida albicans* strains isolated from infectious disease patients in Shanghai. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 74-83, 2015.
- HUFFNAGLE, G. B.; NOVERR, M. C. The emerging world of the fungal microbiome. **Trends in Microbiology**, v. 21, n. 7, p. 334-341, 2013.
- ILIEV, I. D.; LEONARDI, I. Fungal dysbiosis: immunity and interactions at mucosal barriers. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 10, p. 635-646, 2017. doi:10.1038/nri.2017.55.

- JEAVONS, H. S. Prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis using exogenous *Lactobacillus*. **Journal of Obstetric, Gynecologic, & Neonatal Nursing**, v. 32, n. 3, p. 287-296, 2003.
- JIANG, T. *et al.* Enhanced transdermal drug delivery by transfersome-embedded oligopeptide hydrogel for topical chemotherapy of melanoma. **ACS Nano**, v. 12, n. 10, p. 9693-9701, 2018.
- JUN, C. *et al.* Discovery and characterization of a thermostable D-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus jensenii* through genome mining. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 109-117, 2013.
- KAVANAUGH, N. L.; RIBIS, J. W. Interactions between *Candida albicans* and bacteria in polymicrobial implant infections. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 9, p. 3232-3240, 2012.
- KIM, D. *et al.* Clinical significance of lactate clearance for the development of early allograft dysfunction and short-term prognosis in deceased donor liver transplantation. **Clinical Transplantation**, v. 31, n. 12, p. e13136, 2017.
- KOJIC, E. M.; DAROUICHE, R. O. *Candida* infections of medical devices. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 2, p. 255-267, 2004.
- KOZAK, R. A.; MCCULLOCH, J. A. *Candida albicans* as a commensal and pathogen in the human microbiome. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 1521-1530, 2014.
- KULLBERG, B. J.; ARENDRUP, M. C. Invasive candidiasis. **The New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 15, p. 1445-1456, 2015.
- KUMAMOTO, C. A.; VINCES, M. D. Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 11, p. 1546-1554, 2005.
- LEBEER, S. *et al.* Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 58-63, 2008.
- LI, F.; PALECEK, SEAN P. a *Candida albicans* gene involved in binding human epithelial cells. **Eukaryotic Cell**, v. 2, n. 6, p. 1266-1273, 2003.
- LIU, H. Transcriptional control of dimorphism in *Candida albicans*. **Current Opinion in Microbiology**, v. 4, n. 6, p. 728-735, 2001.

- LIU, P. *et al.* *Escherichia coli* and *Candida albicans* induced macrophage extracellular trap-like structures with limited microbicidal activity. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e90042, 2014.
- LO, H. J. *et al.* Nonfilamentous *Candida albicans* mutants are avirulent. **Cell**, v. 90, n. 5, p. 939-949, 1997. doi:10.1016/s0092-8674(00)80358-x.
- LU, H. *et al.* *Candida albicans* targets that potentially synergize with fluconazole. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 323-337, 2021.
- LU, Y.; SU, C.; LIU, H. *Candida albicans* hyphal initiation and elongation. **Trends in Microbiology**, 2014.
- LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. **Food Quality and Preference**, v. 15, n. 7-8, p. 751-759, 2004.
- LUPETTI, A.; DANESI, R.; CAMPA, M.; DEL TACCA, M.; KELLY, S. Molecular basis of resistance to azole antifungals. **Trends in Molecular Medicine**, v. 8, n. 2, 2002.
- MACALPINE, J. *et al.* A small molecule produced by *Lactobacillus* species blocks *Candida albicans* filamentation by inhibiting a DYRK1-family kinase. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 6151, 2021.
- MAKAROVA, K. *et al.* Comparative genomics of the lactic acid bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 42, p. 15611-15616, 2006.
- MANN, J. F.; LEUNG, T. Rational use of antibiotics in the management of *Candida* infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 5, p. 1236-1246, 2018.
- MATSUBARA, Y. *et al.* Organ and brain crosstalk: the liver-brain axis in gastrointestinal, liver, and pancreatic diseases. **Neuropharmacology**, v. 205, p. 108915, 2022.
- MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.
- MCKEE, L. H. Microbial contamination of meat and its control. In: SOFOS, J. N. (ed.). *Improving the Safety of Fresh Meat*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2009. p. 106-131.
- MELO, A. S. *et al.* Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida* spp. isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex. **Medical Mycology**, v. 49, n. 3, p. 253-262, 2011.

- MENDOZA, J.; ARRAMREDDY, R.; SCHILLER, B. Dialysate sodium: choosing the optimal hemodialysis bath. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 66, n. 4, p. 710-720, 2015.
- NAKATSUJI, T. *et al.* A commensal strain of *Staphylococcus epidermidis* protects against skin neoplasia. **Science Advances**, v. 4, n. 2, p. eaao4502, 2018.
- NETT, J. E.; ANDES, D. R. Contributions of the biofilm matrix to *Candida* pathogenesis. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 21, 2020.
- NOBLE, S. M.; GIANETTI, B. A. *Candida albicans* morphology and pathogenicity. **Trends in Microbiology**, v. 12, n. 10, p. 463-467, 2004. doi:10.1016/j.tim.2004.08.002.
- NOEL M., CIARA E. *Efecto sinérgico in vitro del fluconazol y el aceite esencial de origanum vulgare frente a Candida albicans*. 2017.
- NOVERR, M. C.; HUFFNAGLE, G. B. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? An emerging role for the gut microbiota in systemic immunity. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 78, n. 1, p. 8-12, 2004.
- ORLANDIN, J. *et al.* Evaluation of targeted oxidative stress induced by oxygen-ozone in vitro after ischemic induction. **Redox Report**, v. 27, n. 1, p. 259-269, 2022.
- OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of beneficial effects. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 82, n. 1-4, p. 279-289, 2002.
- PAPPAS, P. G. *et al.* Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 62, n. 4, p. e1-e50, 2016.
- PAPPAS, P. G. *et al.* Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, p. 18026, 2018.
- PARFREY, L. W.; KNIGHT, R. Spatial and temporal variability of the human microbiota. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, p. 5-7, 2012.
- PAROLIN, C. *et al.* Isolation of vaginal lactobacilli and characterization of anti-*Candida* activity. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0131220, 2015.
- PATTERSON, S. D. *et al.* Blood flow restriction exercise: considerations of methodology, application, and safety. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 533, 2019.

PEDRO, N. A.; MIRA, N. P. A molecular view on the interference established between vaginal *Lactobacilli* and pathogenic *Candida* species: challenges and opportunities for the development of new therapies. **Microbiological Research**, v. 281, p. 127628, 2024.

PERFECT, J. R. The antifungal pipeline: a reality check. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, n. 9, p. 719-727, 2010.

PFALLER, M. A. *et al.* Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1366-1377, 2010.

PFALLER, M. A. *et al.* Twenty years of the SENTRY antifungal surveillance program: results for *Candida* species from 1997–2016. In: **Open Forum Infectious Diseases**. US: Oxford University Press, 2019. p. S79-S94.

PINTO, R. M.; DE OLIVEIRA, M. T. *Candida parapsilosis*: an emerging pathogen. **Medical Mycology**, v. 51, n. 2, p. 178-192, 2013.

RAJAB, A. A. H. *et al.* Combating enteropathogenic and multidrug resistant *Escherichia coli* using the lytic bacteriophage vB_EcoM_ECO78, which disrupts bacterial biofilm formation and exhibits a remarkable environmental stability. **Journal of Applied Microbiology**, v. 136, n. 2, p. lxaf028, 2025.

RAMAGE, G. *et al.* Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 9, p. 2475-2479, 2001.

RIBEIRO, D. Comments regarding the article: "Silveira FM, Schuch LF, Schimidt TR, Lopes MP, Wagner VP, Só BB, *et al.* Potentially carcinogenic effects of hydrogen peroxide for tooth bleaching on the oral mucosa: A systematic review and meta-analysis." **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 128, n. 5, p. 1130-1131, 2022.

Prosthet Dent. 2022; in press". **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 128, n. 5, p. 1130-1131, 2022.

RISSO, D. S.; MALCATA, F. X. Bacteriocins produced by lactic acid bacteria: a review regarding their application in food and health. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 2, p. 194-214, 2017.

RODRIGUES, C. F. *et al.* Biofilm and infection mechanisms in *Candida* spp. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1431, 2017.

SCHOBITZ, R. P.; YILDIZ, G.; YILDIZ, F. Sodium lactate. In: **Encapsulations: Nanotechnology in the Agri-Food Industry**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 327-355.

SHAPIRO, R. S.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 75, n. 2, p. 213-267, 2011.

SILVA, S. *et al.* *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SLOVER, C. M.; DANZIGER, L. H. A comprehensive review of the treatment of vulvovaginal candidiasis and the role of *Lactobacillus* probiotics in its prevention. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 13, n. 2, p. 146-152, 2008.

SMITH, R. N.; MANN, N. J.; BRAUE, A. The role of dietary therapy in the management of acne. **Australian Family Physician**, v. 43, n. 12, p. 912-916, 2014.

SOBEL, J. D. *Candida glabrata*: an emerging pathogen. **Journal of Fungi**, v. 2, n. 3, p. 9, 2016.

SOBEL, J. D.; FISHER, J. F. *Candida krusei* infections: a review of its biology and clinical significance. **Medical Mycology**, v. 50, n. 6, p. 529-537, 2012.

SOBEL, J. D.; SOBEL, R. Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 19, n. 9, p. 971-977, 2018.

STRUS, M. *et al.* The in vitro activity of vaginal *Lactobacillus* with probiotic properties against *Candida*. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 13, n. 2, p. 69-75, 2005.

SUDBERY, P. E. Growth of *Candida albicans* hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 737-748, 2011. doi:10.1038/nrmicro2636.

TAMANG, J. P.; WATANABE, K.; HOLZAPFEL, W. H. Review: diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 377, 2016.

TASSINARI, I. *et al.* Lactate administration reduces brain injury and ameliorates behavioral outcomes following neonatal hypoxia–ischemia. **Neuroscience**, v. 448, p. 191-205, 2020.

TKHILAISHVILI, T. *et al.* Antibacterial efficacy of two commercially available bacteriophage formulations, staphylococcal bacteriophage and PYO bacteriophage, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: prevention and eradication of biofilm formation and control of a systemic infection of *Galleria mellonella* larvae. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 110, 2020.

TSANG, C. C.; LEE, K. C. Antifungal activity of sodium lactate against *Candida* species: implications for food preservation. **Food Control**, v. 114, p. 107267, 2020. Disponível em: [link não informado].

TUCKER, K. *Antibiotic resistance in surface waters and biofilm-response to environmental contaminants*. 2021. Tese (Doutorado) – Stellenbosch University, Stellenbosch.

TURNBAUGH, P. J. *et al.* The human microbiome project. **Nature**, v. 449, n. 7164, p. 804-810, 2007.

UENO, K. *et al.* Intestinal resident yeast *Candida glabrata* requires Cyb2p-mediated lactate assimilation to adapt in mouse intestine. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, p. e24759, 2011.

UNDERHILL, D. M.; ILIEV, I. D. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 6, p. 405-416, 2014.

VAZ, V. *et al.* Whitening toothpaste containing activated charcoal, blue covarine, hydrogen peroxide or microbeads: which one is the most effective? **Journal of Applied Oral Science**, v. 27, p. e20180051, 2019.

VERDENELLI, M. C. *et al.* Impact of probiotic SYN BIO® administered by vaginal suppositories in promoting vaginal health of apparently healthy women. **Current Microbiology**, v. 73, p. 483-490, 2016.

VIEIRA, F. *Dissertação para obtenção do grau de Mestre no Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz*. EM - IUEM - Ciências Farmacêuticas, 2016.

WU, K. *et al.* Highly selective hydrogen peroxide electrosynthesis on carbon: in situ interface engineering with surfactants. **Chem**, v. 6, n. 6, p. 1443-1458, 2020.

WIEDERHOLD, N. P. The antifungal arsenal: alternative drugs and future targets.

International Journal of Antimicrobial Agents, v. 51, n. 3, p. 333-339, 2018.

WILLIAMS, D.; LEWIS, M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. **Journal of Oral Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 5771, 2011.

XIAO, M. *et al.* Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia in China: an update from the CHIF-NET study. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 221, n. Supplement_2, p. S139-S147, 2020.

ZANGL, I. *et al.* *Limosilactobacillus fermentum* limits *Candida glabrata* growth by ergosterol depletion. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 2, p. e03326-22, 2023.

ZARNOWSKI, R. *et al.* *Candida albicans* biofilm–induced vesicles confer drug resistance through matrix biogenesis. **PLoS Biology**, v. 16, n. 10, p. e2006872, 2018.