

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
dissertação será disponibilizado
somente a partir de 12/08/2027



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Programa de Pós-graduação em Ciências
Área de Concentração em Saúde Bucal da Criança



NATÁLIA PEREIRA RIBEIRO

**Potencial antibiofilme de um sistema nanocarreador de cloreto de cetilpiridínio:
evidências em modelo microcosmo de candidíase bucal**

ARAÇATUBA – SP

2026



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Programa de Pós-graduação em Ciências
Área de Concentração em Saúde Bucal da Criança



NATÁLIA PEREIRA RIBEIRO

**Potencial antibiofilme de um sistema nanocarreador de cloreto de cetilpiridínio:
evidências em modelo microcosmo de candidíase bucal**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (Unesp), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde Bucal da Criança.

Orientador: Prof. Assist. Dr. Douglas Roberto Monteiro

ARAÇATUBA – SP

2026

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

R484p	Ribeiro, Natália Pereira. Potencial antibiofilme de um sistema nanocarreador de cloreto de cetilpiridínio: evidências em modelo microcosmo de candidíase bucal / Natália Pereira Ribeiro. - Araçatuba, 2026 64 f. : il. ; tab. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba Orientador: Prof. Douglas Roberto Monteiro 1. Biofilmes 2. Candidíase bucal 3. Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro 4. Cetilpiridínio 5. Quitosana I. T. Black D27 CDD 617.645
-------	--

Dedico este trabalho aos meus pais, Izabel de Jesus Pereira e Maurício Ribeiro, que nunca mediram esforços para que eu pudesse sonhar e seguir meus caminhos. O apoio, o amor e a confiança de vocês foram essenciais em toda a minha formação, desde a graduação até o mestrado. Sou imensamente grata por tudo.

Agradecimentos

Deus

Agradeço primeiramente a Deus, por sua infinita bondade ao longo de toda esta caminhada. Foi Ele quem me concedeu vida, saúde, força e sabedoria para enfrentar cada desafio, especialmente nos momentos de cansaço, insegurança e dúvida. Nos dias em que pensei não ser capaz, foi Deus quem me sustentou, renovou minhas forças e me fez seguir em frente. Sua presença constante foi meu amparo, minha esperança e minha luz, guiando cada passo desta trajetória e permitindo que eu chegasse até aqui para a concretização de mais um sonho.

Aos meus pais

Aos meus pais, Izabel de Jesus Pereira e Maurício Ribeiro, minha mais profunda gratidão. Vocês sempre foram meu alicerce, minha força e meu maior exemplo. Ao longo de toda a minha trajetória acadêmica, estiveram ao meu lado com amor, paciência, incentivo e apoio incondicional. Nos momentos de dificuldade, foram vocês que acreditaram em mim quando eu mesma duvidei, oferecendo palavras de conforto e motivação para que eu não desistisse. Cada conquista alcançada carrega um pouco do esforço, das renúncias e do amor de vocês. Este trabalho é também de vocês. Amo vocês!

Ao meu Orientador

Ao meu orientador, Douglas Roberto Monteiro, minha mais sincera e eterna gratidão. Mesmo eu não sendo da área, nunca hesitou em me acolher, orientar e estar presente em cada etapa deste percurso. Com paciência, dedicação e generosidade, ensinou-me cada conceito e cada detalhe, sempre com clareza e comprometimento, contribuindo de forma fundamental para meu crescimento acadêmico e pessoal. Sua postura ética, humana e profissional o torna um exemplo não apenas de professor, mas também de pessoa. Serei eternamente grata por todo o aprendizado, apoio e confiança depositados em mim ao longo desta trajetória. Tenho profunda admiração por sua competência como professor e profissional, se um dia eu conseguir chegar a uma pequena parte do que o senhor é, já me sentirei realizada.

Ao Victor Perinazzo Sachi

Ao meu namorado e melhor amigo, Victor Perinazzo Sachi, meu mais sincero agradecimento por caminhar ao meu lado desde 2017, sendo presença constante, apoio seguro e abrigo nos

momentos mais desafiadores. Sua paciência, compreensão, incentivo e companheirismo foram essenciais para que eu pudesse seguir em frente, mesmo nos dias de cansaço e incerteza. Tenho por você profunda admiração, carinho e amor, e sou imensamente grata por dividir não apenas as conquistas, mas também cada dificuldade superada ao longo dessa caminhada. Saiba que sua importância em minha vida é imensurável, e que estarei sempre ao seu lado, assim como você sempre esteve ao meu. Amo você!

Aos professores

Aos professores do departamento, Prof. Juliano Pelim Pessan, Prof. Alberto Delbem, Prof. Caio Sampaio e Profa. Thayse Hosida, meus sinceros agradecimentos pela contribuição valiosa ao longo desta trajetória. A convivência acadêmica, os ensinamentos compartilhados, a disponibilidade e o comprometimento de cada um foram fundamentais para minha formação, ampliando meus conhecimentos e fortalecendo meu crescimento profissional. Muito obrigada por todo o aprendizado e apoio.

Aos meus amigos

Aos meus amigos, Amanda Costa, Samuel Campos, Maria Ferreira, Bianca Uehara, Raquel Amancio, Douglas Biagi, Beatriz Casimiro e Afonso Furquim, minha profunda gratidão pela amizade, pela presença constante e pelo apoio ao longo dessa caminhada. Os momentos de leveza, descontração e muito humor tornaram os dias mais fáceis e os desafios mais suportáveis. Cada conversa, riso e gesto de carinho tiveram papel fundamental nesta conquista, que também carrega um pouco de cada um de vocês.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba e a todos os seus funcionários, meus sinceros agradecimentos por proporcionarem a estrutura, o suporte e as condições necessárias para a realização deste mestrado. O comprometimento, a dedicação e o cuidado de cada um foram fundamentais para que essa trajetória fosse concluída sem que nada faltasse, contribuindo de forma significativa para minha formação acadêmica e profissional. Muito obrigada por todo o apoio.

À Direção da Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Na pessoa do Diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem e do Vice-Diretor Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra, agradeço pela oportunidade, que foi fundamental para minha trajetória.

À Coordenação de Pós Graduação em Ciências

A coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências, na pessoa do Prof. Assoc. Rogério de Castilho Jacinto e a Vice Coordenadora. Profa. Assist. Dra. Aimee Maria Guiotti, agradeço pelo oportunidade, que foi fundamental para minha trajetória.

À Agência de Fomento

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), meus sinceros agradecimentos pelo apoio financeiro, por meio da concessão da bolsa de mestrado (nº 001), fundamental para a dedicação às atividades acadêmicas e para a realização deste trabalho. Agradeço também ao auxílio em pesquisa concedido pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) (nº 2024/05943-5) o fomento concedido foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa e para a conclusão desta etapa da minha formação.

RESUMO

Ribeiro, NP. **Potencial antibiofilme de um sistema nanocarreador de cloreto de cetilpiridínio: evidências em modelo microcosmo de candidíase bucal.** 2026. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba 2026.

Este estudo avaliou o efeito de um nanocarreador de cloreto de cetilpiridínio (CPC), baseado em nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) revestidas por quitosana (CS), sobre biofilmes microcosmos de estomatite protética. Isolados de *Candida* spp. da saliva de cinco doadores com estomatite protética foram identificados por espectrometria de massa MALDI-TOF MS, e a concentração inibitória mínima (CIM) do nanocarreador foi determinada por microdiluição em caldo. Biofilmes microcosmos foram formados (72h) sobre resina acrílica no modelo *Amsterdam Active Attachment* e tratados (24 h) com o nanocarreador contendo diferentes concentrações de CPC (39, 78 ou 156 µg/mL). Os efeitos foram analisados por contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs), biomassa total (cristal violeta), atividade metabólica (redução do XTT), microscopia confocal (viabilidade e espessura) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). IONPs, CS, CPC isolados e biofilme não tratado serviram como controles. Os dados foram submetidos aos testes de ANOVA ou Kruskal-Wallis, com teste *post-hoc* de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). Foram identificadas as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*. O nanocarreador apresentou efeito predominantemente sinérgico, com valores de CIM inferiores aos dos controles. Embora não tenha reduzido significativamente as UFCs e a biomassa total, o nanocarreador com 156 µg/mL de CPC reduziu a atividade metabólica em 79,3% ($p < 0,001$). Além disso, as análises de microscopia confocal revelaram redução significativa na viabilidade celular e na espessura do biofilme, com desempenho superior ao CPC em sua forma livre. Por MEV, o biofilme exposto ao nanocarreador exibiu uma estrutura menos densa, constituída por leveduras em associação com cocos e bacilos. Conclui-se que o nanocarreador tem um forte efeito antifúngico sobre células planctônicas de *Candida* e é capaz de modular a virulência e a arquitetura do biofilme, mesmo sem reduzir a carga microbiana e a biomassa, representando uma possível estratégia no manejo da candidíase bucal.

Palavras-chave: Biofilmes; Candidíase bucal; Cetilpiridínio; Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro; Quitosana.

ABSTRACT

Ribeiro, NP. **Antibiofilm potential of a nanocarrier system of cetylpyridinium chloride: evidence from a microcosm model of oral candidiasis**, 2026. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba 2026.

This study evaluated the effect of a cetylpyridinium chloride (CPC) nanocarrier based on chitosan-coated (CS) iron oxide nanoparticles (IONPs) on denture stomatitis microcosm biofilms. *Candida* spp. isolates obtained from the saliva of five donors with denture stomatitis were identified by MALDI-TOF MS, and the minimum inhibitory concentration (MIC) of the nanocarrier was determined using the broth microdilution method. Microcosm biofilms were formed for 72 h on acrylic resin specimens using the Amsterdam Active Attachment model and subsequently treated for 24 h with the nanocarrier containing different CPC concentrations (39, 78, or 156 µg/mL). The effects were assessed by colony-forming unit (CFU) counts, total biomass quantification (crystal violet staining), metabolic activity (XTT reduction assay), confocal laser scanning microscopy (CLSM) to evaluate viability and biofilm thickness, and scanning electron microscopy (SEM). IONPs, CS, free CPC, and untreated biofilms were used as controls. Data were analyzed using ANOVA or Kruskal–Wallis tests, followed by the Student–Newman–Keuls *post hoc* test ($p < 0.05$). The *Candida* species identified included *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, and *C. glabrata*. The nanocarrier exhibited a predominantly synergistic effect, with MIC values lower than those of the controls. Although it did not significantly reduce CFU counts or total biomass, the nanocarrier containing 156 µg/mL CPC reduced metabolic activity by 79.3% ($p < 0.001$). In addition, confocal microscopy analyses demonstrated a significant reduction in cell viability and biofilm thickness, with superior performance compared to CPC in its free form. SEM analysis revealed that biofilms exposed to the nanocarrier displayed a less dense structure, composed of yeasts associated with cocci and bacilli. In conclusion, the nanocarrier exhibited a strong antifungal effect on planktonic *Candida* cells and was able to modulate biofilm virulence and architecture, even without reducing microbial load or biomass, representing a promising strategy for the management of oral candidiasis.

Keywords: Biofilms; Oral candidiasis; Cetylpyridinium; Magnetic iron oxide nanoparticles; Chitosan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Unidades formadoras de colônias (log₁₀ UFC/mL) de microrganismos totais (A), *Candida* spp. (B), *Streptococcus mutans* (C) e *Lactobacillus* spp. (D) em biofilmes microcosmos de candidíase bucal sob diferentes tratamentos. Os grupos experimentais incluíram: nanopartículas de óxido de ferro (IONPs; 108 µg/mL), quitosana (CS; 108 µg/mL), cloreto de cetilpiridínio (CPC; 156 µg/mL) e o nanocarreador IONPs-CS-CPC nas concentrações de 39, 78 e 156 µg/mL de CPC. O controle negativo (NC) consistiu em biofilme exposto apenas ao meio de cultura. Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística entre os grupos (ANOVA a um critério ou Kruskal-Wallis, com *post hoc* de Student-Newman-Keuls; $p < 0,05$)..... 32

Figura 2. Biomassa total (A) e atividade metabólica (B) de biofilmes microcosmos de candidíase bucal sob diferentes tratamentos. Os grupos experimentais incluíram: nanopartículas de óxido de ferro (IONPs; 108 µg/mL), quitosana (CS; 108 µg/mL), cloreto de cetilpiridínio (CPC; 156 µg/mL) e o nanocarreador IONPs-CS-CPC nas concentrações de 39, 78 e 156 µg/mL de CPC. O controle negativo (NC) consistiu em biofilme exposto apenas ao meio de cultura. Diferenças estatísticas entre os grupos experimentais estão indicadas por letras minúsculas distintas (ANOVA a um critério com *post hoc* de Student-Newman-Keuls; $p < 0,05$)..... 33

Figura 3. Arquitetura e parâmetros quantitativos dos biofilmes microcosmos por microscopia confocal de varredura a laser. Representação 2D e 3D do controle negativo (NC; A, D), cloreto de cetilpiridínio (CPC) a 156 µg/mL (B, E) e das nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) revestidas por quitosana (CS) carreando CPC a 156 µg/mL (IONPs-CS-CPC156; C, F). As células viáveis e mortas estão representadas em fluorescência verde e vermelha, respectivamente. (G) Percentual de células mortas e (H) espessura dos biofilmes (µm) após os tratamentos. Diferenças estatísticas entre os grupos experimentais estão indicadas por letras minúsculas distintas (ANOVA a um critério com *post hoc* de Student-Newman-Keuls; $p < 0,05$)..... 34

Figura 4. Micrografias eletrônicas de varredura dos biofilmes microcosmos. (A) Grupo controle negativo. (B) Biofilme exposto ao cloreto de cetilpiridínio (CPC) a 156 µg/mL. (C) Biofilme tratado com nanopartículas de óxido de ferro revestidas por quitosana carreando CPC a 156 µg/mL..... 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil demográfico, características protéticas e severidade da estomatite protética na amostra estudada.....	29
Tabela 2. Contagem microbiológica, coloração em CHROMagar <i>Candida</i> e identificação por MALDI-TOF MS das espécies de <i>Candida</i> da saliva dos voluntários do estudo.....	30
Tabela 3. Concentração inibitória mínima (CIM) de nanopartículas de óxido de ferro (IONPs), quitosana (CS) e cloreto de cetilpiridínio (CPC), em formas livres ou associadas em /nanocarreador, contra cepas de <i>Candida</i> spp. isoladas de pacientes com estomatite protética.....	31

SUMÁRIO

Introdução.....	12
Materiais e Métodos.....	13
Resultados.....	16
Discussão.....	18
Conclusão.....	22
Referências Bibliográficas.....	23
Tabela 1.....	29
Tabela 2.....	30
Tabela 3.....	31
Figura 1.....	32
Figura 2.....	33
Figura 3.....	34
Figura 4.....	35
Anexo A.....	36
Anexo B.....	60

INTRODUÇÃO

A estomatite protética é uma forma de candidíase bucal caracterizada por inflamação crônica da mucosa bucal recoberta por próteses removíveis, totais ou parciais.^{1,2} Clinicamente, manifesta-se por eritema associado à colonização fúngica dos tecidos bucais e ao biofilme desenvolvido nas superfícies protéticas, sendo causada principalmente por *Candida albicans*, embora espécies não-*albicans* também possam estar envolvidas.^{1,2,3,4,5} Seu desenvolvimento está relacionado à disbiose da microbiota bucal e ao comprometimento das defesas do hospedeiro, sendo favorecido por fatores locais e sistêmicos, como o uso de próteses, hipossalivação, idade avançada, diabetes mellitus, imunossupressão e uso prolongado de antibióticos ou corticosteroides.^{7,8} Em portadores de próteses totais, a estomatite protética apresenta uma prevalência variável de 11 a 70%.²

Embora os antifúngicos tradicionais sejam os fármacos de primeira escolha para auxiliar no tratamento da estomatite protética, relatos de resistência em espécies de *Candida* e a natureza polimicrobiana dos biofilmes, os quais apresentam cargas elevadas de várias espécies bacterianas, têm contribuído para a recorrência dessa infecção.^{9,10,11,12} Isso justifica o uso de terapias adjuvantes de amplo espectro, como o cloreto de cetilpiridínio (CPC), um composto quaternário de amônio com atividade antimicrobiana e antibiofilme frente a múltiplos patógenos.^{13,14,15,16}

Apesar da eficácia, o CPC apresenta baixa substantividade, o que reduz a duração do efeito clínico e demanda reaplicações frequentes, podendo favorecer o surgimento de resistência microbiana em algumas espécies.^{17,18} A literatura também evidencia sua citotoxicidade para fibroblastos e queratinócitos, mesmo em baixas concentrações ou curtos períodos de exposição.¹⁹ Clinicamente, o uso do CPC está associado a efeitos adversos como manchas dentárias, ulcerações, alteração do paladar e ardência bucal.²⁰ Nesse contexto, abordagens combinadas, como a associação de antimicrobianos a formulações coloidais de nanopartículas, têm sido investigadas para potencializar a ação antibiofilme e reduzir efeitos adversos no tratamento da candidíase bucal.²¹ Particularmente, as nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) destacam-se por sua reatividade, propriedades magnéticas e biocompatibilidade, sendo comumente revestidas com quitosana (CS), um polímero mucoadesivo com atividade antimicrobiana que previne sua agregação.^{22,23,24}

O uso de IONPs-CS como carreadores de miconazol, fluconazol, clorexidina e CPC tem demonstrado resultados promissores no controle de biofilmes de *Candida spp.*^{25,26,27,28} Em especial, o CPC associado às IONPs-CS superou o CPC isolado na redução da carga celular de

biofilmes de *C. albicans* e *C. glabrata*, tanto em modelos simples quanto mistos, mantendo o mesmo perfil de citotoxicidade.²⁸ Apesar dos avanços, nenhum estudo prévio avaliou a eficácia do nanocarreador IONPs-CS-CPC sobre biofilmes microcosmos desenvolvidos em um modelo de adesão ativa a partir da saliva de pacientes com estomatite protética. A utilização desse modelo experimental representa melhor a disbiose clínica do que as cepas de referência e pode fornecer suporte para investigações futuras *in situ* e *in vivo*. Consequentemente, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do nanocarreador IONPs-CS-CPC sobre biofilme microcosmo polimicrobiano formado sobre espécimes de resina acrílica posicionados verticalmente no modelo *Amsterdam Active Attachment* (AAA), usando saliva de pacientes portadores de estomatite protética como inóculo microbiano.

CONCLUSÃO

O nanocarreador de CPC apresentou efeito antifúngico sinérgico sobre células planctônicas de *Candida* spp. isoladas da saliva de pacientes com graus variados de estomatite protética. Esse nanocarreador também reduziu significativamente o metabolismo, a viabilidade e a espessura do biofilme microcosmo de candidíase bucal, mesmo sem reduzir a carga microbiana. Portanto, a nanoterapia avaliada no presente estudo demonstra capacidade de modular a virulência e a integridade estrutural do biofilme, constituindo uma estratégia potencial no manejo da candidíase bucal por meio de um mecanismo de ação distinto e complementar aos tratamentos tradicionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. McReynolds DE, Moorthy A, Moneley JO, Jabra-Rizk MA, Sultan AS. Denture stomatitis: an interdisciplinary clinical review. **J Prosthodont.** 2023;32:560–70. doi:10.1111/jopr.13687.
2. Perić M, Miličić B, Kuzmanović Pfićer J, Živković R, Arsić Arsenijević V. A systematic review of denture stomatitis: predisposing factors, clinical features, etiology, and global *Candida* spp. distribution. **J Fungi (Basel).** 2024;10:328. doi:10.3390/jof10050328.
3. Gad MM, Fouda SM. Current perspectives and the future of *Candida albicans*-associated denture stomatitis treatment. **Dent Med Probl.** 2020;57:95–102. doi:10.17219/dmp/112861.
4. Das D, Bhuyan L, Panda A, Raghuvanshi M, Dash KC, Mishra P. Global prevalence of *Candida* species diversity in oral cavity of denture-wearing patients: a systematic review and meta-analysis. **Bangladesh J Med Sci.** 2025;24:S24–33. doi:10.3329/bjms.v24i10.79172.
5. Fifolato MA, Clemente LM, Ribeiro AB, Oliveira VC, Salgado HC, Watanabe E, et al. *Candida* spp. in denture stomatitis: prevalence, microbial load, and antifungal resistance across severity levels. **Microorganisms.** 2025;13:2057. doi:10.3390/microorganisms13092057.
6. Sav H, Altinbas R, Dursun ZB. Fungal profile and antifungal susceptibility pattern in patients with oral candidiasis. **Infez Med.** 2020;28:392–6.
7. Villar CC, Dongari-Bagtzoglou A. Fungal diseases: oral dysbiosis in susceptible hosts. **Periodontol 2000.** 2021;87:166–80. doi:10.1111/prd.12378.
8. Jørgensen MR. Pathophysiological microenvironments in oral candidiasis. **APMIS.** 2024;132:956–73. doi:10.1111/apm.13412.
9. Keyvanfar A, Najafiarab H, Talebian N, Tafti MF, Adeli G, Ghasemi Z, et al. Drug-resistant oral candidiasis in patients with HIV infection: a systematic review and meta-analysis. **BMC Infect Dis.** 2024;24:546. doi:10.1186/s12879-024-09442-6.
10. Nguyen MD, Ren P. Trends in antifungal resistance among *Candida* species: an eight-year retrospective study in the Galveston-Houston Gulf Coast region. **J Fungi (Basel).** 2025;11:232. doi:10.3390/jof11030232.
11. Mantzourani M, Gilbert SC, Fenlon M, Beighton D. Non-oral bifidobacteria and the aciduric microbiota of the denture plaque biofilm. **Mol Oral Microbiol.** 2010;25:190–9. doi:10.1111/j.2041-1014.2009.00565.x.

12. Sampaio C, Pessan JP, Nunes GP, Magno MB, Maia LC, Exterkate R, et al. Are the counts of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* changed in complete denture wearers carrying denture stomatitis? A systematic review with meta-analyses. *J Prosthet Dent*. 2023;S0022-3913(23)00180-4. doi:10.1016/j.prosdent.2023.03.015.
13. Pandit S, Cai JN, Jung JE, Lee YS, Jeon JG. Effect of brief cetylpyridinium chloride treatments during early and mature cariogenic biofilm formation. **Oral Dis**. 2015;21:565–71. doi:10.1111/odi.12312.
14. Ardizzoni A, Pericolini E, Paulone S, Orsi CF, Castagnoli A, Oliva I, et al. In vitro effects of commercial mouthwashes on several virulence traits of *Candida albicans*, viridans streptococci and *Enterococcus faecalis* colonizing the oral cavity. **PLoS One**. 2018;13:e0207262. doi:10.1371/journal.pone.0207262.
15. Mao X, Auer DL, Buchalla W, Hiller KA, Maisch T, Hellwig E, et al. Cetylpyridinium chloride: mechanism of action, antimicrobial efficacy in biofilms, and potential risks of resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64:e00576-20. doi:10.1128/AAC.00576-20.
16. Darmani H, Al-Saleh DRH. Oral rinses: some kill and some cripple *Candida albicans*. **Med Princ Pract**. 2024;33:338–46.
17. Tadakamadla SK, Bharathwaj VV, Duraiswamy P, Sforza C, Tartaglia GM. Clinical efficacy of a new cetylpyridinium chloride–hyaluronic acid-based mouthrinse compared to chlorhexidine and placebo mouthrinses: a 21-day randomized clinical trial. **Int J Dent Hyg**. 2020; 18:116–23. doi:10.1111/idh.12413.
18. Verspecht T, Rodriguez Herrero E, Khodaparast L, Boon N, Bernaerts K, Quirynen M, et al. Development of antiseptic adaptation and cross-adaptation in selected oral pathogens in vitro. *Sci Rep*. 2019;9:8326. doi:10.1038/s41598-019-44822-y.
19. Fromm-Dornieden C, Rembe JD, Schäfer N, Böhm J, Stuermer EK. Cetylpyridinium chloride and miramistin as antiseptic substances in chronic wound management: prospects and limitations. **J Med Microbiol**. 2015;64:407–14. doi:10.1099/jmm.0.000034.
20. Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden GA. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. **Int J Dent Hyg**. 2008;6:290–303. doi:10.1111/j.1601-5037.2008.00344.x.

21. Monteiro DR, Pessan JP. Nanocarriers of antifungal drugs: possible strategies to overcome antimicrobial resistance. **Future Microbiol.** 2022;17:1199–202. doi:10.2217/fmb-2022-0138.
22. Arias LS, Pessan JP, Vieira APM, de Lima TMT, Delbem ACB, Monteiro DR. Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: a perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. **Antibiotics (Basel).** 2018;7:46. doi:10.3390/antibiotics7020046.
23. Baabu PRS, Kumar HK, Gumpu MB, Babu KJ, Kulandaisamy AJ, Rayappan JBB. Iron oxide nanoparticles: a review on the province of its compounds, properties and biological applications. **Materials (Basel).** 2022;16:59. doi:10.3390/ma16010059.
24. Meng YQ, Shi YN, Zhu YP, Liu YQ, Gu LW, Liu DD, et al. Recent trends in preparation and biomedical applications of iron oxide nanoparticles. **J Nanobiotechnology.** 2024;22:24. doi:10.1186/s12951-023-02235-0.
25. Vieira APM, Arias LS, de Souza Neto FN, Kubo AM, Lima BHR, Camargo ER, et al. Antibiofilm effect of chlorhexidine-carrier nanosystem based on iron oxide magnetic nanoparticles and chitosan. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019;174:224–31. doi:10.1016/j.colsurfb.2018.11.023.
26. Arias LS, Pessan JP, de Souza Neto FN, Lima BHR, Camargo ER, Ramage G, et al. Novel nanocarrier of miconazole based on chitosan-coated iron oxide nanoparticles as a nanotherapy to fight Candida biofilms. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020;192:111080. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111080.
27. de Lima TMT, Arias LS, Afanaci LF, Ferraresse RFB, de Souza Neto FN, Lima BHR, et al. Assembly and antifungal effect of a new fluconazole-carrier nanosystem. *Future Microbiol.* 2020;15:273–85. doi:10.2217/fmb-2019-0182.
28. Araujo HC, Arias LS, Caldeirão ACM, Assumpção LCF, Morceli MG, de Souza Neto FN, et al. Novel colloidal nanocarrier of cetylpyridinium chloride: antifungal activities on Candida species and cytotoxic potential on murine fibroblasts. *J Fungi (Basel).* 2020;6:218. doi:10.3390/jof6040218.
29. Newton AV. Denture sore mouth: a possible aetiology. *Br Dent J.* 1962;112:357–60.
30. Araujo HC, Carmona WR, Sato C, Oliveira MS, Alves GSG, Morato DN, et al. In vitro antimicrobial effects of chitosan on microcosm biofilms of oral candidiasis. *J Dent.* 2022;125:104246. doi:10.1016/j.jdent.2022.104246.

31. Cieplik F, Zaura E, Brandt BW, Buijs MJ, Buchalla W, Crielaard W, et al. Microcosm biofilms cultured from different oral niches in periodontitis patients. *J Oral Microbiol.* 2019;11:1551596. doi:10.1080/20022727.2018.1551596.
32. Pascon RC, Bergamo RF, Spinelli RX, de Souza ED, Assis DM, Juliano L, et al. Amylolytic microorganism from São Paulo zoo composting: isolation, identification, and amylase production. *Enzyme Res.* 2011;2011:679624. doi:10.4061/2011/679624.
33. Exterkate RAM, Crielaard W, ten Cate JM. Different response to amine fluoride by *Streptococcus mutans* and polymicrobial biofilms in a novel high-throughput active attachment model. *Caries Res.* 2010;44:372–9. doi:10.1159/000316541.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 4th ed. Wayne (PA): CLSI; 2017. Document M27-A4.
35. Wei GX, Bobek LA. In vitro synergic antifungal effect of MUC7 12-mer with histatin-5 12-mer or miconazole. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:750–8. doi:10.1093/jac/dkh181.
36. Gonçalves LM, Madeira PLB, Diniz RS, Nonato RF, de Siqueira FSF, de Sousa EM, et al. Effect of *Terminalia catappa* Linn. on biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata* and on changes in color and roughness of acrylic resin. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2019;2019:7481341. doi:10.1155/2019/7481341.
37. McBain AJ, Sissons C, Ledder RG, Sreenivasan PK, De Vizio W, Gilbert P. Development and characterization of a simple perfused oral microcosm. *J Appl Microbiol.* 2005;98:624–34. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02483.x.
38. Caldeirão ACM, Araujo HC, Tomasella CM, Sampaio C, Oliveira MJS, Ramage G, et al. Effects of antifungal carriers based on chitosan-coated iron oxide nanoparticles on microcosm biofilms. *Antibiotics (Basel).* 2021;10:588. doi:10.3390/antibiotics10050588.
39. Seddighi NS, Salari S, Izadi AR. Evaluation of antifungal effect of iron oxide nanoparticles against different *Candida* species. *IET Nanobiotechnol.* 2017;11:883–8. doi:10.1049/iet-nbt.2017.0025.
40. Carmo PHFD, Garcia MT, Figueiredo-Godoi LMA, Lage ACP, Silva NSD, Junqueira JC. Metal nanoparticles to combat *Candida albicans* infections: an update. *Microorganisms.* 2023;11:138. doi:10.3390/microorganisms11010138.

41. Peña A, Sánchez NS, Calahorra M. Effects of chitosan on *Candida albicans*: conditions for its antifungal activity. *Biomed Res Int.* 2013;2013:527549. doi:10.1155/2013/527549.
42. Shih PY, Liao YT, Tseng YK, Deng FS, Lin CH. A potential antifungal effect of chitosan against *Candida albicans* is mediated via the inhibition of SAGA complex component expression and the subsequent alteration of cell surface integrity. *Front Microbiol.* 2019;10:602. doi:10.3389/fmicb.2019.00602.
43. N S SA, Pillai DS, Shanmugam R. The antifungal activity of chitosan nanoparticle-incorporated probiotics against oral candidiasis. *Cureus.* 2024;16:e70093. doi:10.7759/cureus.70093.
44. Frías-De-León MG, Hernández-Castro R, Conde-Cuevas E, García-Coronel IH, Vázquez-Aceituno VA, Soriano-Ursúa MA, et al. *Candida glabrata* antifungal resistance and virulence factors: a perfect pathogenic combination. *Pharmaceutics.* 2021;13:1529. doi:10.3390/pharmaceutics13101529.
45. de Groot PWJ, Kraneveld EA, Yin QY, Dekker HL, Gross U, Crielard W, et al. The cell wall of the human pathogen *Candida glabrata*: differential incorporation of novel adhesin-like wall proteins. *Eukaryot Cell.* 2008;7:1951–64. doi:10.1128/EC.00284-08.
46. Waseem M, Das S, Mondal D, Kumari A, Kulshreshtha R, Thakur JK, et al. Identification of ABC transporter Cdr1 inhibitors of *Candida glabrata*. *Arch Biochem Biophys.* 2025;764:110270. doi:10.1016/j.abb.2024.110270.
47. Yan D, Li Y, Liu Y, Li N, Zhang X, Yan C. Antimicrobial properties of chitosan and chitosan derivatives in the treatment of enteric infections. *Molecules.* 2021;26:7136. doi:10.3390/molecules26237136
48. Basso L, Sudre G, Albertini D, Rahbé Y, David L. Chitosan surface interaction platform for protein binding quantification by fluorescence microscopy: application to the specificity of CBD proteins. *Carbohydr Polym.* 2025;354:123321. doi:10.1016/j.carbpol.2025.123321.
49. Abarca-Cabrera L, Fraga-García P, Berensmeier S. Bio-nano interactions: binding proteins, polysaccharides, lipids and nucleic acids onto magnetic nanoparticles. *Biomater Res.* 2021;25:12. doi:10.1186/s40824-021-00212-y.
50. Diaz-Diestra DM, Palacios-Hernandez T, Liu Y, Smith DE, Nguyen AK, Todorov T, et al. Impact of surface chemistry of ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles on protein corona formation and endothelial cell uptake, toxicity, and barrier function. *Toxicol Sci.* 2022;188:261–75. doi:10.1093/toxsci/kfac058.

51. Nithyanand P, Boya BR, Lee JH, Lee J. Polymicrobial biofilms: interkingdom interactions, resistance and therapeutic strategies. *Microb Biotechnol.* 2025;18:e70218. doi:10.1111/1751-7915.70218.
52. Li Y, Huang S, Du J, Wu M, Huang X. Current and prospective therapeutic strategies: tackling *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* cross-kingdom biofilm. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1106231. doi:10.3389/fcimb.2023.1106231.
53. Barbosa JO, Rossoni RD, Vilela SF, de Alvarenga JA, Velloso MS, Prata MC, et al. *Streptococcus mutans* can modulate biofilm formation and attenuate the virulence of *Candida albicans*. *PLoS One.* 2016;11:e0150457. doi:10.1371/journal.pone.0150457.
54. Crabbé A, Jensen PØ, Bjarnsholt T, Coenye T. Antimicrobial tolerance and metabolic adaptations in microbial biofilms. *Trends Microbiol.* 2019;27:850–63. doi:10.1016/j.tim.2019.05.003.
55. Uruén C, Chopo-Escuin G, Tommassen J, Mainar-Jaime RC, Arenas J. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. *Antibiotics (Basel).* 2020;10:3. doi:10.3390/antibiotics10010003.
56. Peng Y, Chen B. Role of cell membrane homeostasis in the pathogenicity of pathogenic filamentous fungi. *Virulence.* 2024;15:2299183. doi:10.1080/21505594.2023.2299183.