

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
dissertação será disponibilizado
somente a partir de 20/08/2027



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

ANA CAROLYNA BECHER ROSENO

**EFEITO ANTIBIOFILME DE UM NOVO NANOCARREADOR
DUAL DE MICONAZOL E CLORETO DE CETILPIRIDÍNIO**

Araçatuba - SP
2026

ANA CAROLYNA BECHER ROSENO

**EFEITO ANTIBIOFILME DE UM NOVO NANOCARREADOR
DUAL DE MICONAZOL E CLORETO DE CETILPIRIDÍNIO**

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, para obtenção
do título de Mestra

Área de Concentração: Saúde Bucal da
Criança

Orientador: Prof. Dr. Douglas Roberto
Monteiro

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

R815e Roseno, Ana Carolyna Becher.
Efeito antibiofilme de um novo nanocarreador dual de miconazol e cloreto de cetilpiridínio / Ana Carolyna Becher Roseno. -- Araçatuba, 2026
65 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientador: Prof. Douglas Roberto Monteiro

1. Biofilmes 2. Candidíase bucal 3. Miconazol 4. Nanopartículas magnéticas de óxido de ferro 5. Quitosana I. T.

Black D27
CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

*Dedico este trabalho a meu filho,
Arthur Becher Maia, o capítulo mais
lindo da minha história.*

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida por terem sido meu sustento em todos os momentos da minha trajetória. Pois tudo aquilo que conquistei em minha vida, foi porque Jesus me abençoou e Maria me guiou pelo caminho. “Para que todos saibam, considerem e, juntamente, entendam que a mão do Senhor fez isso” (Is 41:20).

Aos meus pais, Edson Pedroso Roseno e Adryana Becher Roseno, por sempre terem acreditado em meus sonhos e terem lutado, arduamente, para que todos eles se tornassem realidade. Este, é mais um deles. Carrego dentro de mim a força e determinação que aprendi com vocês e espero, do fundo do meu coração, que estejam orgulhos de mim. Amo muito vocês, muito obrigada por tudo.

À minha irmã, Giovanna Becher Roseno, por ser a minha melhor amiga e ter caminhado comigo, lado a lado, essa trajetória tão importante de nossas vidas. Eu amo você.

A meu filho, Arthur Becher Maia, minha motivação e força. Descobri a sua existência alguns dias antes da matrícula do mestrado e pensei muito em desistir, pois achei que não conseguiria conciliar tamanhas obrigações. Entretanto, não só me matriculei, como vivemos muitos momentos especiais juntos. Você esteve comigo, mesmo que dentro do ventre, em muitas aulas, seminários, congressos e ensaios laboratoriais. E ter vivido essa experiência foi a melhor escolha que eu poderia ter feito por mim. Por nós. Inclusive, peço-te perdão pelas ausências em seu primeiro ano de vida. Espero que um dia, orgulhe-se desse feito. Amo-te, com todo meu coração e minha alma. Você é a melhor parte de mim.

A meu avô João Ocyr Becher (*in memoriam*), um dos homens mais emblemáticos e inteligentes que conheci na minha vida, por ter me ensinando tantas coisas sobre Deus, família, próteses totais e fatos curiosos. Saudade vovô, espero que o céu seja lindo como o senhor descrevia em vida.

Aos meus avôs Loreny Becher, Leonilda Pedrosa e Adão Roseno, os quais são um dos meus motivos de orgulho, poder compartilhar momentos da minha vida adulta ao lado de seres humanos tão especiais.

A meu orientador, Douglas Roberto Monteiro, por tudo que fez e faz por mim e pelo meu filho. A escolha como meu orientador, trouxe como presente um grande amigo e pessoa a qual eu admiro muito. Nunca me esquecerei do acolhimento em meu momento de fragilidade com a gestação e o agradeco, imensamente, por ter confiado em mim como pesquisadora mesmo dividindo as tarefas com a maternidade. Além disso, saiba da minha admiração tremenda ao pesquisador que és e pela seriedade com que trilha seu caminho.

Ao meu colega de pesquisa, Wilmer Ramírez Carmona, que me ensinou com muita paciência e dedicação os primeiros experimentos no laboratório. Além disso, trouxe para os nossos momentos juntos muitos conselhos sobre a vida e a criação de uma família.

A minha amiga e parceira de ensaios laboratoriais, Natália Sicchieri Corteze, por toda a ajuda e pela amizade construída em meio a pipetas e placas de Petri. Sem você, tudo seria muito mais difícil.

A minha parceira de mestrado, Natália Pereira Ribeiro, por ter me ajudado inúmeras vezes e me ensinado com muita paciência tudo aquilo que eu precisei durante esse período.

Aos professores do departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, por serem uma inspiração para a minha vida profissional e pessoal.

Ao professor Dr. Juliano Pelim Pessan, o qual tive contato ainda como graduanda e desde aquele momento já nutri um sentimento muito bom pela pessoa e profissional que é. Sem dúvidas, uma das minhas maiores inspirações dentro da Odontopediatria.

Ao professor Dr. Gustavo Sivieri Araujo, uma das pessoas que eu mais conversei durante os anos de pandemia, em que eu, como representante de sala, achei nele, responsável pela disciplina de Endodontia, um amigo e conselheiro muito especial.

A professora Mariza Akemi Matsumoto, minha primeira orientadora de iniciação científica, a qual eu devo minha eterna gratidão por todos ensinamentos e por ter plantado em mim o amor à pesquisa.

À Ana Claudia Martins Grieger Manzatti, nossa querida bibliotecária, que nunca mediu esforços para ensinar e auxiliar no que fosse preciso.

Aos meus melhores amigos, Juliana Meira e Arthur Viotto, por todos os momentos muitíssimos felizes que vivemos juntos. Em especial, aqueles que vivemos como família após o nascimento do meu filho. Sinto saudades de vocês todos os dias.

A Rafael Maia Frederico, o qual não só me deu o melhor presente da minha vida, nosso querido filho, como também foi meu suporte durante os anos de mestrado.

À Maria Cristina dos Santos e Giovanni dos Santos Pavarini por terem acolhido eu e meu filho como uma família, além de proporcionarem momentos muito especiais juntos. Vocês são muito importantes e, com certeza, fizeram a caminhada mais leve e prazerosa.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, na pessoa do Diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem e do Vice-Diretor Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências, na pessoa do Prof. Assoc. Rogério de Castilho Jacinto e a Vice Coordenadora Prof. Assoc. Aimee Maria Guiotti.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo fomento de minha bolsa de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; Processo 2024/05943-5) e à PROPe-UNESP (EDITAL 03/2025 PROPe - Programa de Incentivo e Estímulo à Pesquisa aos Recém-contratados - IEPe-RC) pelos auxílios financeiros concedidos que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

" Quando se começa a caminhar, o caminho aparece "

- atribuído a Rumi.

RESUMO

Roseno, ACB. **Efeito antibiofilme de um novo nanocarreador dual de miconazol e cloreto de cetilpiridínio**. 2026. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

Os objetivos desse estudo foram desenvolver um novo nanocarreador dual baseado na incorporação simultânea de miconazol (MCZ) e cloreto de cetilpiridínio (CPC) em um sistema *core-shell* constituído por nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) revestidas por quitosana (CS), realizar sua caracterização físico-química e avaliar seus efeitos sobre biofilmes microcosmos de estomatite protética. O nanocarreador dual IONPs-CS-MCZ-CPC foi obtido pela mistura de uma suspensão coloidal de IONPs com CS previamente dissolvida em ácido acético, seguida da incorporação de 500 µg/mL de MCZ e CPC. A caracterização foi realizada por microscopia eletrônica de transmissão, espalhamento dinâmico de luz, potencial zeta, difratometria de raios X, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e análise termogravimétrica. Cinco indivíduos com estomatite protética doaram saliva, e os isolados clínicos de *Candida* no estado planctônico foram submetidos à determinação da concentração inibitória mínima do nanocarreador. O *pool* de saliva desses pacientes foi utilizado para formar biofilmes microcosmos (72 h) sobre espécimes de resina acrílica em um modelo de adesão ativa. Após, os biofilmes foram tratados (24 h) com diferentes suspensões do nanocarreador dual, contendo MCZ e CPC nas concentrações de 7,8, 19,5 ou 39 µg/mL (IONPs-CS-MCZ39-CPC39). IONPs, CS e a combinação de MCZ com CPC não carregados também foram avaliados, enquanto biofilmes não tratados constituíram o controle negativo. Os parâmetros analisados incluíram biomassa total, atividade metabólica e contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs), além das análises por microscopia eletrônica de varredura e microscopia confocal de varredura a laser. Os dados foram analisados por ANOVA a um critério ou teste de Kruskal-Wallis, seguidos do teste post hoc de Student-Newman-Keuls ($n = 9$; $\alpha = 0,05$). O nanocarreador obtido apresentou morfologia global esférica, semelhante a nanoflower, com diâmetro médio de $52,35 \pm 23,18$ nm, índice de polidispersividade de $0,49 \pm 0,005$ e potencial zeta de $+30,70 \pm 3,99$ mV. O nanocarreador manteve a estrutura cristalina das IONPs isoladas e exibiu estabilidade térmica até aproximadamente 100 °C. O nanocarreador demonstrou efeito antifúngico

predominantemente sinérgico sobre células planctônicas de *Candida*. Nos ensaios de biofilme, não houve redução significativa da biomassa total ou da espessura. Entretanto, a formulação IONPs-CS-MCZ39-CPC39 promoveu redução de 93,2% na atividade metabólica, além de diminuir significativamente as UFCs e aumentar a proporção de células mortas, superando os fármacos não carregados. A análise ultraestrutural revelou biofilmes complexos formados por hifas, leveduras e bactérias. Conclui-se que o nanocarreador dual foi eficientemente obtido e apresenta potencial antifúngico e antibiofilme relevante para o manejo da estomatite protética.

Palavras-chave: Biofilmes; Candidíase bucal; Miconazol; Nanopartículas magnéticas de óxido de Ferro; Quitosana.

ABSTRACT

Roseno, ACB. **Antibiofilm effect of a novel dual nanocarrier of miconazole and cetylpyridinium chloride**. 2026. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

The objectives of this study were to develop a novel dual nanocarrier based on the simultaneous incorporation of miconazole (MCZ) and cetylpyridinium chloride (CPC) in a core-shell system consisting of chitosan (CS)-coated iron oxide nanoparticles (IONPs), to perform its physicochemical characterization, and to evaluate its effects on microcosm biofilms of denture stomatitis. The dual nanocarrier IONPs-CS-MCZ-CPC was obtained by mixing a colloidal suspension of IONPs with CS previously dissolved in acetic acid, followed by the incorporation of 500 µg/mL of MCZ and CPC. Characterization was performed by transmission electron microscopy, dynamic light scattering, zeta potential, X-ray diffractometry, Fourier transform infrared spectroscopy, and thermogravimetric analysis. Five individuals with denture stomatitis donated saliva, and clinical isolates of *Candida* in the planktonic state were subjected to determination of the minimum inhibitory concentration of the nanocarrier. The saliva pool from these patients was used to form microcosm biofilms (72 h) on acrylic resin specimens in an active adhesion model. Subsequently, the biofilms were treated (24 h) with different suspensions of the dual nanocarrier, containing MCZ and CPC at concentrations of 7.8, 19.5, or 39 µg/mL (IONPs-CS-MCZ39-CPC39). Uncarried IONPs, CS, and the combination of MCZ with CPC were also evaluated, while untreated biofilms constituted the negative control. The parameters analyzed included total biomass, metabolic activity, and colony-forming unit (CFU) count, in addition to analyses by scanning electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. The data were analyzed by one-way ANOVA or Kruskal-Wallis test, followed by the Student-Newman-Keuls post-hoc test ($n = 9$; $\alpha = 0.05$). The obtained nanocarrier presented a globally spherical morphology, similar to a nanoflower, with an average diameter of 52.35 ± 23.18 nm, a polydispersity index of 0.49 ± 0.005 , and a zeta potential of $+30.70 \pm 3.99$ mV. The nanocarrier maintained the crystalline structure of the isolated IONPs and exhibited thermal stability up to approximately 100 °C. The nanocarrier demonstrated a predominantly synergistic antifungal effect on planktonic *Candida* cells. In biofilm assays, there was no significant reduction in total biomass or

thickness. However, the IONPs-CS-MCZ39-CPC39 promoted a 93.2% reduction in metabolic activity, in addition to significantly decreasing CFUs and increasing the proportion of dead cells, surpassing the uncarried drugs. Ultrastructural analysis revealed complex biofilms formed by hyphae, yeasts, and bacteria. It is concluded that the dual nanocarrier was efficiently obtained and presents relevant antifungal and antibiofilm potential for the management of denture stomatitis.

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

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – As imagens A, C, E, G e H mostram o resultado da microscopia 50
eletrônica de transmissão por varredura. Além, delas, demonstra-se o
histograma de distribuição de tamanho em função da frequência de
nanopartículas de óxido de ferro (IONPs; A e B), IONPs revestidas com
quitosana (IONPs-CS; C e D) e IONPs revestidas com CS e conjugadas com
miconazol (MCZ) e cloreto de cetilpiridínio (CPC), constituindo o
nanocarreador dual IONPs-CS-MCZ-CPC (E-H). A imagem H corresponde
ao mapeamento elementar do nanocarreador dual mostrado em G, obtido
por espectroscopia de energia dispersiva de raios X.

Figura 2 – Difratogramas de raios X (A-C), espectros de infravermelho por 51
transformada de Fourier (D-F) e curvas termogravimétricas (G-I) de
nanopartículas de óxido de ferro (IONPs; A, D e G), IONPs revestidas com
quitosana (IONPs-CS; B, E e H) e IONPs revestidas com CS e conjugadas
com miconazol (MCZ) e cloreto de cetilpiridínio (CPC), constituindo o
nanocarreador dual IONPs-CS-MCZ-CPC (C, F e I).

Figura 3 – Avaliação quantitativa da biomassa total (A) e da atividade 52
metabólica (B), expressa em absorbância/mL, de biofilmes microcosmos de
estomatite protética. Os biofilmes foram submetidos a tratamento por 24 h
com nanopartículas de óxido de ferro (IONPs; 54,5 µg/mL), quitosana (CS;
54,5 µg/mL), miconazol (39 µg/mL) associado ao cloreto de cetilpiridínio (39
µg/mL) (MCZ39-CPC39), bem como com três formulações do nanocarreador
dual: IONPs-CS-MCZ7.8-CPC7.8 (7,8 µg/mL de cada fármaco), IONPs-CS-
MCZ19.5-CPC19.5 (19,5 µg/mL de cada fármaco) e IONPs-CS-MCZ39-
CPC39 (39 µg/mL de cada fármaco). O grupo controle negativo (NC)
corresponde aos biofilmes tratados exclusivamente com meio de cultura
McBain, sem adição de compostos ativos. A análise estatística foi realizada
por ANOVA a um critério, seguida do teste *post hoc* de Student-Newman-
Keuls ($\alpha = 0,05$). Letras minúsculas distintas indicam diferenças
estatisticamente significativas entre os grupos experimentais.

Figura 4 – Avaliação quantitativa das cargas bacteriana total (A), de *Candida* 53
spp. (B), de *Streptococcus mutans* (C) e de *Lactobacillus spp.* (D), expressas
em log₁₀ CFU/mL, de biofilmes microcosmos de estomatite protética. Os

biofilmes foram submetidos a tratamento por 24 h com nanopartículas de óxido de ferro (IONPs; 54,5 µg/mL), quitosana (CS; 54,5 µg/mL), miconazol (39 µg/mL) associado ao cloreto de cetilpiridínio (39 µg/mL) (MCZ39-CPC39), bem como com três formulações do nanocarreador dual: IONPs-CS-MCZ7.8-CPC7.8 (7,8 µg/mL de cada fármaco), IONPs-CS-MCZ19.5-CPC19.5 (19,5 µg/mL de cada fármaco) e IONPs-CS-MCZ39-CPC39 (39 µg/mL de cada fármaco). O grupo controle negativo (NC) corresponde aos biofilmes tratados exclusivamente com meio de cultura McBain, sem adição de compostos ativos. A análise estatística foi realizada por ANOVA a um critério ou teste de Kruskal-Wallis, seguidos do teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls ($\alpha = 0,05$). Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais.

Figura 5 – Análise por microscopia eletrônica de varredura de biofilmes 54
microcosmos de estomatite protética submetidos a diferentes tratamentos:
meio de cultura McBain sem adição de compostos ativos (A; controle
negativo), combinação de miconazol (MCZ) e cloreto de cetilpiridínio (CPC),
ambos a 39 µg/mL (B), e nanocarreador dual contendo MCZ e CPC, também
a 39 µg/mL (C). As imagens E, F, G e H correspondem ao mapeamento
elementar por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) do
biofilme apresentado na imagem D, evidenciando a distribuição dos átomos
de Fe, Cl, N e O, respectivamente. A imagem I mostra a sobreposição dos
mapas elementares de Fe, Cl, N e O.

Figura 6 – Análise por microscopia confocal de varredura a laser de biofilmes 55
microcosmos de estomatite protética submetidos a diferentes tratamentos:
meio de cultura McBain sem adição de compostos ativos (A e D; controle
negativo - NC), combinação de miconazol (MCZ) e cloreto de cetilpiridínio
(CPC), ambos a 39 µg/mL (B e E; MCZ39-CPC39), e nanocarreador dual
constituído por nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) revestidas por
quitosana (CS) carreando MCZ e CPC, também a 39 µg/mL (C e F; IONPs-
CS-MCZ39-CPC39). As fluorescências verde e vermelha indicam células
vivas e mortas, respectivamente. As imagens G e H correspondem às
análises de viabilidade celular e espessura dos biofilmes, respectivamente.
Letras minúsculas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas

entre os grupos experimentais (ANOVA a um critério, seguida do teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls; $\alpha = 0,05$).

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Características demográficas e clínicas dos voluntários do estudo, incluindo idade, gênero, tipo de prótese dentária utilizada e classificação da estomatite protética 47
- Tabela 2 – Distribuição da carga fúngica, coloração das colônias em meio CHROMagar *Candida* e identificação taxonômica por MALDI-TOF MS de *Candida* spp. isoladas das amostras de saliva 48
- Tabela 3 – Concentrações inibitórias mínimas (CIMs) obtidas após a exposição de células planctônicas de *Candida* a nanopartículas de óxido de ferro (IONPs), quitosana (CS), miconazol (MCZ) e cloreto de cetilpiridínio (CPC), avaliados individualmente ou como parte do nanocarreador dual 49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAA	Amsterdam Active Attachment
ATR	Refletância total atenuada
CIM	Concentração inibitória mínima
CN	Controle negativo
CPC	Cloreto de Cetilpiridínio
CS	Quitosana
DLS	Espalhamento dinâmico da luz
EDS	Energia dispersiva de raios x
FICI	Índice de concentração inibitória fracionada
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com Fourier
HAADF	Detector de campo escuro anular de alto ângulo
IONPs	Nanopartículas de óxido de ferro
MCVL	Microscopia confocal de varredura a laser
MCZ	Miconazol
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
STEM	Microscopia eletrônica de transmissão por varredura
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TGA	Termogravimétrica
UFC	Unidade formadora de colônia
XRD	Difração de raios X
ZP	Potencial zeta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAIS E MÉTODOS	20
2.1 Obtenção e análise físico-química do nanocarreador dual IONPs-CS-MCZ-CPC	20
2.2 Coleta salivar e identificação taxonômica de <i>Candida</i> spp.	22
2.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	23
2.4 Preparação e análise da rugosidade de espécimes de resina acrílica	24
2.5 Crescimento de biofilme microcosmo e exposição ao nanocarreador dual	24
2.6 Análises de biofilmes	26
2.7 Análises da ultraestrutura e viabilidade dos biofilmes por técnicas microscópicas	26
2.8 Análise estatística	27
3 RESULTADOS	27
3.1 Análise físico-química do nanocarreador dual IONPs-CS-MCZ-CPC	27
3.2 Características dos pacientes e identificação taxonômica de <i>Candida</i> spp.	30
3.3 Determinação da CIM	31
3.4 Análises de biofilmes	31
3.5 Análises dos biofilmes por técnicas microscópicas	32
4 DISCUSSÃO	33
5 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

O edentulismo continua a afetar uma parcela significativa da população mundial, com prevalências que variam de 11% a 37% conforme a região geográfica, sendo mais frequente em indivíduos com 75 anos ou mais (Borg-Bartolo et al., 2022). Nesse mesmo contexto, a cárie dentária, importante determinante da perda dentária ao longo da vida, apresenta elevada prevalência mundial em pessoas de meia-idade e idosos, variando de 17% a 53% nos diferentes continentes, com maior ocorrência entre indivíduos de 65 a 74 anos (Borg-Bartolo et al., 2022). Embora dados recentes apontem redução do edentulismo em adultos de 70 a 74 anos, associada ao aumento da proporção de indivíduos com 20 ou mais dentes (Tay et al., 2026), esses achados refletem uma transição do edentulismo total para perdas dentárias parciais. Como consequência, persiste uma demanda expressiva por reabilitação com próteses dentárias (Peron et al., 2023), inclusive em adultos mais jovens (Pinto et al., 2025), visando à restauração da função mastigatória.

Nesse contexto de crescente utilização de próteses dentárias, a instalação de próteses removíveis na cavidade bucal cria superfícies favoráveis ao desenvolvimento de biofilme microbiano (Monteiro et al., 2021), caracterizado por uma comunidade inter-reino imersa em matriz extracelular (Lueyar et al., 2023). Esse biofilme polimicrobiano, associado a fatores locais e sistêmicos do hospedeiro, pode favorecer o desenvolvimento de infecções bucais, como a estomatite protética (Hannah et al., 2017; McReynolds et al., 2023; Jørgensen, 2024). A estomatite protética consiste em uma inflamação crônica da mucosa subjacente a próteses totais ou parciais confeccionadas em resina acrílica (Hannah et al., 2017; McReynolds et al., 2023), caracterizando-se clinicamente por áreas eritematosas, com ou sem edema, podendo ocorrer de forma sintomática ou assintomática, e eventualmente associada a alterações hiperplásicas (Peric et al., 2024). Do ponto de vista microbiológico, espécies do gênero *Candida*, especialmente *Candida albicans*, são os principais patógenos envolvidos (Fifolato et al., 2025). Contudo, evidências indicam que bactérias como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. e *Staphylococcus aureus* também participam do processo infeccioso, com cargas mais elevadas em pacientes acometidos pela doença (Bilhan et al., 2009; Mantzourani et al., 2010; Sampaio et al., 2025).

Como parte do manejo dessa condição infecciosa, o miconazol (MCZ) tem sido indicado como opção terapêutica antifúngica (Carvalho-Silva et al., 2025), assim como o uso de enxaguantes bucais com ampla ação antimicrobiana, como o cloreto de cetilpiridínio (CPC) (Tahara et al., 2024). Evidências demonstram que espécies de *Candida* isoladas de pacientes com estomatite protética apresentam susceptibilidade ao MCZ quando avaliadas no estado planctônico (Fifolato et al., 2025). De forma semelhante, o CPC é eficaz contra *Candida* spp. isoladas de próteses dentais ou associadas à sua colonização (Aoun et al., 2015; Barbosa et al., 2019). Contudo, algumas cepas de *Candida* podem apresentar resistência ou tolerância a antifúngicos azólicos, especialmente quando organizadas em biofilmes, o que compromete a eficácia do tratamento (Vandenbosch et al., 2010; Kean et al., 2017; Silva et al., 2017; Li et al., 2025). De modo semelhante, a susceptibilidade ao CPC pode estar reduzida em determinadas cepas de *Candida* (Edlind et al., 2005), e alguns patógenos bacterianos bucais podem desenvolver adaptação a esse antisséptico (Verspecht et al., 2019). Adicionalmente, o uso clínico de MCZ pode provocar irritação local em alguns pacientes (Rodrigues et al., 2019), enquanto o CPC pode ocasionar alterações do paladar, sensação de queimação, dormência e manchamento dentário (Oo et al., 2023).

Como resposta às limitações das terapias convencionais, nanopartículas de óxido de ferro (IONPs) revestidas por quitosana (CS) têm sido investigadas como sistemas carreadores de agentes antimicrobianos (Arias et al. 2020b; Araujo et al., 2020). As IONPs apresentam propriedades magnéticas, estabilidade química, alta reatividade de superfície, potencial antimicrobiano e biocompatibilidade, o que as tornam promissoras para aplicações biomédicas avançadas (Arias et al. 2018; Baabu et al. 2022; Meng et al. 2024). A CS, por sua vez, é um polímero natural biocompatível e biodegradável, com propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas, capaz de funcionalizar as IONPs e melhorar sua estabilidade coloidal (Arias et al., 2018; Bashir et al., 2022).

Com base nessas propriedades, sistemas core-shell formados por IONPs revestidas por CS têm sido empregados para o carregamento de MCZ e CPC, visando ao controle de biofilmes relacionados à estomatite protética. Estudos demonstram que o nanocarreador IONPs-CS-MCZ apresenta desempenho superior ao MCZ na

redução de biofilmes simples ou duais de *Candida* spp. (Arias et al. 2020b), bem como de biofilmes microcosmos salivares contendo cepas de referência de *Candida* (Caldeirão et al., 2021). Esse sistema também promove reduções significativas em biofilmes inter-reino complexos relacionados à cárie, prótese dentária e gengivite, afetando sua composição microbiana (Arias et al., 2020a). De forma semelhante, resultados promissores são observados para o nanocarreador IONPs-CS-CPC, o qual supera o CPC livre na redução da carga celular de biofilmes de *Candida* em culturas simples e mistas (Araujo et al., 2020).

Diante desse cenário, embora os nanocarreadores individuais de MCZ ou CPC apresentem resultados consistentes e promissores, a eficácia desses sistemas tem sido majoritariamente avaliada em modelos experimentais de biofilme que não reproduzem plenamente a complexidade microbiológica observada clinicamente na estomatite protética. Ainda, a incorporação simultânea de MCZ e CPC em um único nanocarreador poderia ser uma estratégia potencialmente mais eficaz, ao permitir a combinação de diferentes modos de ação antimicrobiana em um mesmo sistema. Essa abordagem torna-se particularmente relevante quando avaliada em biofilmes microcosmos formados a partir da saliva de pacientes com estomatite protética, os quais apresentam maior representatividade das condições encontradas in vivo.

Consequentemente, o objetivo do presente estudo foi desenvolver um novo nanocarreador dual, baseado na incorporação concomitante de MCZ e CPC em um sistema core-shell formado por IONPs revestidas por CS, realizar sua caracterização físico-química e avaliar seus efeitos sobre biofilmes microcosmos salivares provenientes de indivíduos com estomatite protética.

5 CONCLUSÃO

Diante dos achados do presente estudo, conclui-se que o sistema *core-shell* constituído por IONPs revestidas por CS foi adequadamente obtido e conjugado com MCZ e CPC, resultando em um nanocarreador dual com dimensões na escala nanométrica. Esse sistema apresentou efeito antifúngico sinérgico frente a isolados clínicos de *C. albicans* provenientes de pacientes com estomatite protética, bem como efeito indiferente frente a uma cepa de *C. parapsilosis*. O nanocarreador contendo 39 µg/mL de cada fármaco demonstrou a maior atividade antibiofilme, superando a combinação dos fármacos não carregados, especialmente na redução da atividade metabólica, da viabilidade celular e da carga microbiana do biofilme microcosmo. Em contrapartida, não foram observadas alterações significativas na biomassa total e espessura do biofilme. Esses resultados indicam que essa nova abordagem nanotecnológica apresenta elevado potencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas voltadas ao controle e/ou à prevenção da estomatite protética em usuários de próteses removíveis.

REFERÊNCIAS

- Aoun G, Cassia A, Berberi A. Effectiveness of a Chlorhexidine Digluconate 0.12% and Cetylpyridinium Chloride 0.05% Solution in eliminating *Candida albicans* Colonizing Dentures: A Randomized Clinical in vivo Study. J Contemp Dent Pract. 2015; 16(6):433-436. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1702.
- Appu M, Lian Z, Zhao D, Huang J. Biosynthesis of chitosan-coated iron oxide (Fe₃O₄) hybrid nanocomposites from leaf extracts of Brassica oleracea L. and study on their antibacterial potentials. 3 Biotech. 2021; 11(6):271. doi: 10.1007/s13205-021-02820-w.
- Araujo HC, Arias LS, Caldeirão ACM, Assumpção LCF, Morceli MG, de Souza Neto FN, Camargo ER, Oliveira SHP, Pessan JP, Monteiro DR. Novel colloidal nanocarrier of cetylpyridinium chloride: Antifungal activities on *Candida* species and cytotoxic potential on murine fibroblasts. J Fungi (Basel). 2020; 6(4):218. doi: 10.3390/jof6040218.
- Araujo HC, Carmona WR, Sato C, Oliveira MS, Alves GSG, Morato DN, Pessan JP, Monteiro DR. In vitro antimicrobial effects of chitosan on microcosm biofilms of oral candidiasis. J Dent. 2022; 125:104246. doi: 10.1016/j.jdent.2022.104246.
- Arias LS, Brown JL, Butcher MC, Delaney C, Monteiro DR, Ramage G. A nanocarrier system that potentiates the effect of miconazole within different interkingdom biofilms. J Oral Microbiol. 2020a; 12(1):1771071. doi: 10.1080/20002297.2020.1771071.
- Arias LS, Delbem ACB, Fernandes RA, Barbosa DB, Monteiro DR. Activity of tyrosol against single and mixed-species oral biofilms. J Appl Microbiol. 2016; 120(5):1240-1249. doi: 10.1111/jam.13070.
- Arias LS, Pessan JP, de Souza Neto FN, Lima BHR, Camargo ER, Ramage G, Delbem ACB, Monteiro DR. Novel nanocarrier of miconazole based on chitosan-coated iron oxide nanoparticles as a nanotherapy to fight *Candida* biofilms. Colloids Surf. B Biointerfaces. 2020b; 192:111080. doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.111080.
- 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(2):46. doi: 10.3390/antibiotics7020046.
- Baabu PRS, Kumar HK, Gumpu MB, Babu K J, Kulandaisamy AJ, Rayappan JBB. Iron oxide nanoparticles: A review on the province of its compounds, properties and biological applications. Materials (Basel). 2022; 16(1):59. doi: 10.3390/ma16010059.
- Barbosa AH, Damasceno JL, Casemiro LA, Martins CHG, Pires RH, Candido RC. Susceptibility to Oral Antiseptics and Virulence Factors Ex Vivo Associated with *Candida* spp. Isolated from Dental Prostheses. J Prosthodont. 2019; 28(4):398-408. doi: 10.1111/jopr.13037.

Bashir SM, Ahmed Rather G, Patrício A, Haq Z, Sheikh AA, Shah MZUH, Singh H, Khan AA, Imtiyaz S, Ahmad SB, Nabi S, Rakhshan R, Hassan S, Fonte P. Chitosan Nanoparticles: A Versatile Platform for Biomedical Applications. *Materials (Basel)*. 2022; 15(19):6521. doi: 10.3390/ma15196521.

Bilhan H, Sulun T, Erkose G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O, Bilgin T. The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. *Clin Oral Investig*. 2009; 13(4):363-368. doi: 10.1007/s00784-008-0240-6.

Borg-Bartolo R, Roccuzzo A, Molinero-Mourelle P, Schimmel M, Gambetta-Tessini K, Chaurasia A, Koca-Ünsal RB, Tennert C, Giacaman R, Campus G. Global prevalence of edentulism and dental caries in middle-aged and elderly persons: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2022; 127:104335. doi: 10.1016/j.jdent.2022.104335.

Caldeirão ACM, Araujo HC, Tomasella CM, Sampaio C, Dos Santos Oliveira MJ, Ramage G, Pessan JP, Monteiro DR. Effects of Antifungal Carriers Based on Chitosan-Coated Iron Oxide Nanoparticles on Microcosm Biofilms. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(5):588. doi: 10.3390/antibiotics10050588.

Carvalho-Silva JM, Gaspar CS, Dos Reis AC, Teixeira ABV. Denture stomatitis: Treatment with antimicrobial drugs or antifungal gels? A systematic review of clinical trials. *J Prosthet Dent*. 2025; 134(4):1108-1114. doi: 10.1016/j.prosdent.2023.12.014.

Cieplik F, Zaura E, Brandt BW, Buijs MJ, Buchalla W, Crielaard W, Laine ML, Deng DM, Rob Exterkate RAM. Microcosm biofilms cultured from different oral niches in periodontitis patients. *J Oral Microbiol*. 2018; 11(1):1551596. doi: 10.1080/20022727.2018.1551596.

Clogston JD, Patri AK. Zeta potential measurement. *Methods Mol Biol*. 2011; 697:63-70. doi: 10.1007/978-1-60327-198-1_6.

CLSI. 2017. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), fourth edition. Document M27-A4.

Danaei M, Dehghankhold M, Ataei S, Hasanzadeh Davarani F, Javanmard R, Dokhani A, Khorasani S, Mozafari MR. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics*. 2018; 10(2):57. doi: 10.3390/pharmaceutics10020057.

Darmani H, Al-Saleh DRH. Oral rinses: some kill and some cripple *Candida albicans*. *Med Princ Pract*. 2024; 33:338-46.

Das D, Bhuyan L, Panda A, Raghuvarshi 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.

Di Martino P. Extracellular polymeric substances, a key element in understanding biofilm phenotype. *AIMS Microbiol.* 2018; 4(2):274-288. doi: 10.3934/microbiol.2018.2.274.

Edlind MP, Smith WL, Edlind TD. Effects of cetylpyridinium chloride resistance and treatment on fluconazole activity versus *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(2):843-845. doi: 10.1128/AAC.49.2.843-845.2005.

Exterkate RAM, Crielaard W, Cate Ten JM. Different response to amine fluoride by *Streptococcus mutans* and polymicrobial biofilms in a novel high-throughput active attachment model. *Caries Res.* 2010; 44(4):372-379. doi: 10.1159/000316541.

Fifolato MA, Clemente LM, Ribeiro AB, Oliveira VC, Salgado HC, Watanabe E, Silva CHLD. *Candida* spp. in denture stomatitis: prevalence, microbial load, and antifungal resistance across severity levels. *Microorganisms.* 2025; 13(9):2057. doi:10.3390/microorganisms13092057.

Fifolato MA, Clemente LM, Ribeiro AB, Oliveira VC, Salgado HC, Watanabe E, Silva CHLD. *Candida* spp. in Denture Stomatitis: Prevalence, Microbial Load, and Antifungal Resistance Across Severity Levels. *Microorganisms.* 2025; 13(9):2057. doi: 10.3390/microorganisms13092057.

Gamil Y, Hamed MG, Elsayed M, Essawy A, Medhat S, Zayed SO, Ismail RM. The anti-fungal effect of miconazole and miconazole-loaded chitosan nanoparticles gels in diabetic patients with Oral candidiasis-randomized control clinical trial and microbiological analysis. *BMC Oral Health.* 2024; 24(1):196. doi: 10.1186/s12903-024-03952-0.

Gonçalves LM, Madeira PLB, Diniz RS, Nonato RF, de Siqueira FSF, de Sousa EM, Farias DCS, Rocha FMG, Rocha CHL, Lago ADN, Monteiro CA. 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.

Hannah VE, O'Donnell L, Robertson D, Ramage G. Denture Stomatitis: Causes, Cures and Prevention. *Prim Dent J.* 2017; 6(4):46-51. doi: 10.1308/205016817822230175.
Jørgensen MR. Pathophysiological microenvironments in oral candidiasis. *APMIS.* 2024; 132(12):956-973. doi: 10.1111/apm.13412.

Kean R, Rajendran R, Haggarty J, Townsend EM, Short B, Burgess KE, Lang S, Millington O, Mackay WG, Williams C, Ramage G. *Candida albicans* mycofilms support *Staphylococcus aureus* colonization and enhances miconazole resistance in dual-species interactions. *Front Microbiol.* 2017; 8:258. doi: 10.3389/fmicb.2017.00258.

Kobayashi D, Kondo K, Uehara N, Otokozawa S, Tsuji N, Yagihashi A, Watanabe N. Endogenous reactive oxygen species is an important mediator of miconazole antifungal effect. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(10):3113-3117. doi: 10.1128/AAC.46.10.3113-3117.2002.

Li Y, Hind C, Furner-Pardoe J, Sutton JM, Rahman KM. Understanding the mechanisms of resistance to azole antifungals in *Candida* species. JAC Antimicrob Resist. 2025; 7(3):dlaf106. doi: 10.1093/jacamr/dlaf106.

Lombardi A, Ouanounou A. Fungal infections in dentistry: Clinical presentations, diagnosis, and treatment alternatives. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2020; 130(5):533-546. doi: 10.1016/j.oooo.2020.08.011.

Lueyar TK, Karygianni L, Attin T, Thurnheer T. Dynamic interactions between *Candida albicans* and different streptococcal species in a multispecies oral biofilm. Microbiologyopen. 2023; 12(5):e1381. doi: 10.1002/mbo3.1381.

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(3):190-199. doi: 10.1111/j.2041-1014.2009.00565.x.

Mao X, Auer DL, Buchalla W, Hiller KA, Maisch T, Hellwig E, Al-Ahmad A, Cieplik F. 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.

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(3):624-634. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02483.x.

McReynolds DE, Moorthy A, Moneley JO, Jabra-Rizk MA, Sultan AS. Denture stomatitis - An interdisciplinary clinical review. J Prosthodont. 2023; 32(7):560-570. doi: 10.1111/jopr.13687.

Meng YQ, Shi YN, Zhu YP, Liu YQ, Gu LW, Liu DD, Ma A, Xia F, Guo QY, Xu CC, Zhang JZ, Qiu C, Wang JG. Recent trends in preparation and biomedical applications of iron oxide nanoparticles. J Nanobiotechnology. 2024; 22(1):24. doi: 10.1186/s12951-023-02235-0.

Monteiro DR, de Souza Batista VE, Caldeirão ACM, Jacinto RC, Pessan JP. Oral prosthetic microbiology: aspects related to the oral microbiome, surface properties, and strategies for controlling biofilms. Biofouling. 2021; 37(4):353-371. doi: 10.1080/08927014.2021.1912741.

Monteiro DR, Roseno ACB, Ribeiro NP, Hosida TY, Pessan JP. Quantification of Microbial Biofilm Biomass. In: Shukla, Ashutosh Kumar; Monteiro, Douglas Roberto (org.). Microbial Biofilm Dynamics. 1. ed. [S. l.]: CRC Press, 2026. p. 107-115.

Monteiro DR, Silva S, Negri M, Gorup LF, de Camargo ER, Oliveira R, Barbosa DB, Henriques M. Silver colloidal nanoparticles: effect on matrix composition and structure of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms. J Appl Microbiol. 2013; 114(4):1175-1183. doi: 10.1111/jam.12102.

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.

Newton AV. Denture sore mouth: a possible aetiology. *Br Dent J*. 1962; 112:357-360.

Oo MMT, Oo PH, Saddki N. Efficacy of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash as an adjunct to toothbrushing compared with 0.12% chlorhexidine gluconate mouthwash in reducing dental plaque and gingival inflammation: A randomized control trial. *Int J Dent Hyg*. 2023; 21(1):195-202. doi: 10.1111/idh.12614.

Pascon RC, Bergamo RF, Spinelli RX, de Souza ED, Assis DM, Juliano L, Vallim MA. Amylolytic microorganism from São Paulo zoo composting: isolation, identification, and amylase production. *Enzyme Res*. 2011; 2011:679624. doi: 10.4061/2011/679624.

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.

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(5):328. doi: 10.3390/jof10050328.

Peron D, Muniz FWMG, Colaço J, Marostega MG, Dias JJ, Rösing CK, Colussi PRG. Use and need of dental prosthesis among community dwelling elderly: a cross-sectional population-based study. *Cad Saúde Colet*. 2022; 30(2):274-284. doi: 10.1590/1414-462X202230020475.

Pinto RDS, Drummond AMA, Ferreira RC, Gomes VE, Oliveira Júnior AJ, Marques APBS, Soares ARDS, Barbosa MCF, Moura RNV. Oral health needs and use of services by adults: evidence from SB Brasil 2023. *Braz Oral Res*. 2025; 39(suppl 1):e049. doi: 10.1590/1807-3107bor-2025.vol39.0049.

Piosik E, Ziegler-Borowska M, Chełminiak-Dudkiewicz D, Martyński T. Effect of Aminated Chitosan-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles with Applicational Potential in Nanomedicine on DPPG, DSPC, and POPC Langmuir Monolayers as Cell Membrane Models. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(5):2467. doi: 10.3390/ijms22052467.

Rodrigues LS, Motta FA, Picharski GL, Vasconcelos TM, Riccieri MC, Dalla-Costa LM. Invasive candidiasis: risk factor for mortality in a pediatric tertiary care hospital in south of Brazil. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(23):e15933. doi: 10.1097/MD.00000000000015933.

Rodriguez-Loya J, Lerma M, Gardea-Torresdey JL. Dynamic Light Scattering and Its Application to Control Nanoparticle Aggregation in Colloidal Systems: A Review. *Micromachines (Basel)*. 2023; 15(1):24. doi: 10.3390/mi15010024.

Sampaio C, Pessan JP, Nunes GP, Magno MB, Maia LC, Exterkate R, Deng D, Monteiro DR. 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*. 2025; 133(2):427-437. doi: 10.1016/j.prosdent.2023.03.015.

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.

Silva S, Rodrigues CF, Araújo D, Rodrigues ME, Henriques M. *Candida* species biofilms' antifungal resistance. *J Fungi (Basel)*. 2017; 3(1):8. doi: 10.3390/jof3010008. Sogias IA, Williams AC, Khutoryanskiy VV. Why is chitosan mucoadhesive? *Biomacromolecules*. 2008; 9(7):1837-42. doi: 10.1021/bm800276d.

Souza Neto FN, Araújo OA, Guilherme LR, Garg VK, Oliveira AC, de Souza PEN, Franco Júnior A. Particles that slide over the water surface: Synthesis and characterization of iron oxides particles coated with PDMS, with hydrophobic and magnetic properties. *Materials Chemistry and Physics*. 2015; 162:100-105. doi: 10.1016/j.matchemphys.2015.05.014

Souza Neto FN, Sala RL, Fernandes RA, Xavier TPO, Cruz SA, Paranhos CM, Monteiro DR, Barbosa DB, Delbem ACB, Camargo ER. Effect of synthetic colloidal nanoparticles in acrylic resin of dental use. *European Polymer Journal*. 2019; 112(2019):531-538. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2018.10.009.

Tahara H, Sanda M, Itsumi M, Fukamachi H, Nishi H, Iwasa F, Kuwata H, Baba K. Efficacy of Cetylpyridinium Chloride Mouthwash on Denture Plaque Reduction and Microbiome Alteration in a Randomized Crossover Trial. *Cureus*. 2024; 16(12):e75357. doi: 10.7759/cureus.75357.

Tay JRH, Li H, Leite FRM, Malhotra R, Nascimento GG, Peres KG, Tonetti MS, Peres MA. Tooth loss and masticatory function in older adults: A 15-year population-based time trend study in Singapore. *J Dent*. 2026; 165:106297. doi: 10.1016/j.jdent.2025.106297.

Vandenbosch D, Braeckmans K, Nelis HJ, Coenye T. Fungicidal activity of miconazole against *Candida* spp. Biofilms. *J Antimicrob Chemother*. 2010; 65(4):694-700. doi: 10.1093/jac/dkq019.

Verspecht T, Rodriguez Herrero E, Khodaparast L, Khodaparast L, Boon N, Bernaerts K, Quirynen M, Teughels W. Development of antiseptic adaptation and cross-adaptation in selected oral pathogens in vitro. *Sci Rep*. 2019; 9(1):8326. doi: 10.1038/s41598-019-44822-y.

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(5):750-758. doi: 10.1093/jac/dkh181.

Wilson BK, Prud'homme RK. Nanoparticle size distribution quantification from transmission electron microscopy (TEM) of ruthenium tetroxide stained polymeric nanoparticles. *J Colloid Interface Sci.* 2021; 604:208-220. doi: 10.1016/j.jcis.2021.04.081.

Wu W, He Q, Jiang C. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale Res Lett.* 2008; 3(11):397-415. doi: 10.1007/s11671-008-9174-9.

Wu Y, Cowin G, Moonshi SS, Tran HDN, Fithri NA, Whittaker AK, Zhang R, Ta HT. Engineering chitosan nano-cocktail containing iron oxide and ceria: A two-in-one approach for treatment of inflammatory diseases and tracking of material delivery. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021; 131:112477. doi: 10.1016/j.msec.2021.112477.