



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

YURI ANDRADE DE OLIVEIRA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOEMULSÕES DE
ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A PATÓGENOS
ASSOCIADOS À CANDIDOSE E À PERIODONTITE

Feira de Santana - BA
Março, 2026

YURI ANDRADE DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOEMULSÕES DE
ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A PATÓGENOS
ASSOCIADOS À CANDIDOSE E À PERIODONTITE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Soraya Castro Trindade.
Coorientador: Edrian Mania.

Feira de Santana - BA

Março, 2026

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

O52

Oliveira, Yuri Andrade de

Atividade antimicrobiana de nanoemulsões de óleos essenciais frente a patógenos associados a candidose e a periodontite / Yuri Andrade de Oliveira. – 2026.

115 f.: il.

Orientadora: Soraya Castro Trindade

Coorientador: Edrian Mania

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Feira de Santana, 2026.

1. Infecções orais. 2. Candida spp. 3. Bactérias periodontopatogênicas. 4. Óleos essenciais. 5. Nanopartículas de prata. I. Trindade, Soraya Castro, orient. II. Mania, Edrian, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU 616.31

Yuri Andrade de Oliveira

Nanopartículas de prata e nanoemulsões de óleos essenciais: avaliação antimicrobiana frente a patógenos da candidose e da periodontite.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de doutor, tendo sido aprovada pelos membros signatários abaixo.

Feira de Santana, Bahia, 26 de março de 2026.

Documento assinado digitalmente
 **SORAYA CASTRO TRINDADE**
Data: 28/03/2026 07:29:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientadora e presidente da Banca: Prof.^a Dr.^a **Soraya Castro Trindade**
Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS

Documento assinado digitalmente
 **VERA LUCIA COSTA VALE**
Data: 28/03/2026 14:01:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Profa.^a Dra.^a **Vera Lúcia Costa Vale**
Universidade do Estado da Bahia – UNEB

Documento assinado digitalmente
 **ANTONIO PEDRO FROES DE FARIAS**
Data: 02/04/2026 16:09:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **Antonio Pedro Fróes de Farias**
Centro Universitário de Ciências e Empreendedorismo (UNIFACEMP)

Documento assinado digitalmente
 **JOSE TADEU RAYNAL ROCHA FILHO**
Data: 30/03/2026 10:05:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **José Tadeu Raynal Filho**
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Documento assinado digitalmente
 **VIVIANE ALMEIDA SARMENTO**
Data: 29/03/2026 19:15:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof.^a Dr.^a **Viviane Almeida Sarmento**
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

Dedico este trabalho a todos aqueles que, direta ou indiretamente, empenharam esforços e contribuíram para que cada etapa deste percurso fosse concluída com sucesso.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que me foi concedido. Pela determinação, força, saúde, persistência, sabedoria e pelo amparo constante que permitiram a materialização desta conquista.

À minha família, em especial aos meus pais, Joaína e Valdomiro, às minhas irmãs, Adélia e Candice, e à minha segunda mãe, Carmosina. Agradeço pelo apoio incondicional em todos os momentos, pela dedicação, pela paciência e pelo amor incomensurável dispensados a mim durante toda esta trajetória.

À minha noiva, Laise Matos, pela empolgação compartilhada a cada novo passo, pela compreensão diante dos dias de ausência necessários e pela paciência em me ouvir incansavelmente. Obrigado por todo amor, carinho e cumplicidade. Te amo!

Aos meus amigos de longa data, João Pedro, Jorge, Adriana, Monalisa, Laís, Luciana, Thaíse e Aline, pelo apoio e companheirismo de sempre, presentes em todos os momentos importantes.

Ao NUPPIIM (Núcleo de Pesquisa, Prática Integrada e Investigação Multidisciplinar), grupo do qual tenho a honra de fazer parte desde a iniciação científica e pelo qual nutro grande apreço.

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Soraya Castro Trindade, pelo carinho, dedicação e paciência a mim destinados há tantos anos. Você é um exemplo admirável para todos que a rodeiam; é um privilégio participar de seu grupo de pesquisa.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Edrian Mania, pelo suporte fundamental e por oportunizar, juntamente com minha orientadora, minha vivência acadêmica em Santa Maria – RS.

À Prof.^a Dra. Aline Ferreira Ourique, ao Prof. Dr. Roberto Christ Vianna Santos, Carlos e Rose, por me acolherem tão generosamente e por tornarem minha estada em Santa Maria um período de tranquilidade e de profundo aprendizado.

A todos os discentes de pós-graduação e graduação que, de alguma forma, contribuíram para a construção deste trabalho, meu muito obrigado!

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

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e a todos os docentes do programa, pelo compartilhamento de conhecimento.

A todos que, direta ou indiretamente, participaram deste trabalho, manifesto meus sinceros agradecimentos.

"A verdadeira viagem de descoberta não consiste em procurar novas paisagens, mas em possuir novos olhos."

Marcel Proust

RESUMO

A investigação fundamenta-se na busca de alternativas terapêuticas para o manejo da candidose oral e da periodontite, condições frequentemente associadas à disbiose e à formação de biofilmes resilientes. Embora os óleos essenciais possuam propriedades antimicrobianas relevantes, sua aplicação clínica é limitada pela alta volatilidade, baixa solubilidade e instabilidade química. Nesse cenário, o uso de nanoemulsões surge como uma estratégia biotecnológica para proteger esses compostos e ampliar sua biodisponibilidade. Com isso, o objetivo do estudo foi desenvolver, caracterizar e avaliar a eficácia antimicrobiana de nanoemulsões contendo óleos essenciais de *Cymbopogon flexuosus*, *Ocimum basilicum*, *Lavandula dentata*, *Lavandula angustifolia* e Eugenol contra patógenos oportunistas, correlacionando sua performance com propriedades físico-químicas e perfis de citotoxicidade por meio de testes experimentais *in vitro*. Para isso, a preparação dos sistemas coloidais foi realizada por métodos de alta e baixa energia, seguida da caracterização quanto ao tamanho de gotícula, potencial Zeta e estabilidade. A atividade biológica foi mensurada através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) frente a cepas de referência (*Candida albicans* ATCC 10231 e *Nakaseomyces glabrata* ATCC 15126; *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* ATCC 25586, *Veillonella parvula* ATCC 10790, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Prevotella melaninogenica* ATCC 25845 e *Eikenella corrodens* ATCC 23864) e isolados clínicos de pacientes com candidose e periodontite (biofilme subgengival) utilizando nanopartículas de prata como referencial comparativo, além de ensaios de viabilidade celular em linhagens humanas. Tendo como diferencial o desenvolvimento de nanoemulsões que potencializaram a ação de óleo essenciais contra patógenos orais. Os resultados demonstraram que as nanoemulsões obtidas apresentaram estabilidade robusta e dimensões nanométricas inferiores a 130 nm, o que favoreceu a interação com as membranas microbianas. Observou-se que a nanoestruturação potencializou significativamente a ação dos ativos livres correspondentes; na qual a nanoemulsão contendo Eugenol, por exemplo, reduziu em até oito vezes a dose necessária para inibir *Fusobacterium nucleatum* em comparação ao óleo livre. Adicionalmente, a formulação contendo *Ocimum basilicum* viabilizou ação antifúngica potente, enquanto os ensaios de citotoxicidade indicaram que o método de baixa energia preservou melhor a viabilidade celular. Conclui-se que as nanoemulsões contendo óleos essenciais representam uma terapêutica alternativa eficaz e segura, superando as limitações dos ativos em estado livre e oferecendo uma alternativa promissora para o controle de infecções orais complexas e combate à resistência microbiana.

Palavras-chave: *Candida* spp.; bactérias periodontopatogênicas; candidose; periodontite; nanopartículas de prata; nanoemulsões.

ABSTRACT

The research is based on the search for therapeutic alternatives for the management of oral candidiasis and periodontitis, conditions frequently associated with dysbiosis and the formation of resilient biofilms. Although essential oils possess relevant antimicrobial properties, their clinical application is limited by high volatility, low solubility, and chemical instability. In this scenario, the use of nanoemulsions emerges as a biotechnological strategy to protect these compounds and increase their bioavailability. Therefore, the objective of the study was to develop, characterize, and evaluate the antimicrobial efficacy of nanoemulsions containing essential oils of *Cymbopogon flexuosus*, *Ocimum basilicum*, *Lavandula dentata*, *Lavandula angustifolia*, and Eugenol against opportunistic pathogens, correlating their performance with physicochemical properties and cytotoxicity profiles. For this purpose, the preparation of the colloidal systems was performed using high and low-energy methods, followed by characterization regarding droplet size, Zeta potential, and stability. Biological activity was measured through the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Microbicidal Concentration (MMC) against reference strains (*Candida albicans* ATCC 10231 and *Nakaseomyces glabrata* ATCC 15126; *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* ATCC 25586, *Veillonella parvula* ATCC 10790, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Prevotella melaninogenica* ATCC 25845, and *Eikenella corrodens* ATCC 23864) and clinical isolates from patients with candidiasis and periodontitis (subgingival biofilm) using silver nanoparticles as a comparative reference, in addition to cell viability assays in human lineages. With the development of nanoemulsions that enhanced the action of essential oils against oral pathogens as a distinguishing factor. The results demonstrated that the obtained nanoemulsions presented robust stability and nanometric dimensions below 130 nm, which favored interaction with microbial membranes. It was observed that nanostructuring significantly enhanced the action of the corresponding free actives; for instance, the nanoemulsion containing Eugenol reduced the dose required to inhibit *Fusobacterium nucleatum* by up to eight times compared to the free oil. Additionally, the formulation containing *Ocimum basilicum* enabled potent antifungal action, while cytotoxicity assays indicated that the low-energy method better preserved cell viability. It is concluded that nanoemulsions containing essential oils represent an effective and safe alternative therapy, overcoming the limitations of free-state compounds and offering a promising alternative for controlling complex oral infections and combating microbial resistance.

Keywords: *Candida spp.*; periodontopathogenic bacteria; candidiasis; periodontitis; silver nanoparticle; nanoemulsions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cultura de <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.	24
Figura 2: Cultura de <i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.	25
Figura 3: Cultura de <i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.	26
Figura 4: Cultura de <i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.	27
Figura 5: Cultura de <i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.	28
Figura 6: Cultura de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 e <i>Nakaseomyces glabrata</i> 15126 em meio de cultura ágar Sabouraud dextrose.	30
Figura 7: Solução com nanoemulsão contendo <i>Lavandula dentata</i> , logo após preparação (A). Solução contendo AgNp, logo após síntese (B).	56
Figura 8: Microscopia de Força Atômica das nanoemulsões de óleos essenciais. A) NE contendo <i>C. flexuosus</i> . B) NE contendo <i>O. basilicum</i> . C) NE contendo Eugenol (Alta energia). D) NE contendo Eugenol (Baixa energia). E) NE contendo <i>L. dentata</i> . F) NE contendo <i>L. angustifolia</i>	58
Figura 9: Espectros de absorção UV-Vis experimental e teórico da nanopartícula de prata sintetizadas.	59
Figura 10: Nanopartículas de prata obtidas por microscopia eletrônica de transmissão.	60
Figura 11: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo <i>C. flexuosus</i> e A.L de <i>C. flexuosus</i>	75
Figura 12: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo <i>O. basilicum</i> e A.L de <i>O. basilicum</i>	76
Figura 13: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo <i>L. dentata</i> e A.L de <i>L. dentata</i>	78
Figura 14: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo <i>L.</i>	

<i>angustifolia</i> e A.L de <i>L. angustifolia</i>	79
Figura 15: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo Eugenol (método de alta energia) e A.L de Eugenol (método de alta energia).	80
Figura 16: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo Eugenol (método de baixa energia) e A.L de Eugenol (método de baixa energia). ..	82
Figura 17: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo Eugenol (método de alta energia) x NE contendo Eugenol (método de baixa energia).	83
Figura 18: Distribuição da abundância relativa por filo.....	84
Figura 19: Distribuição da abundância relativa por gênero.	85
Figura 20: Distribuição da abundância relativa entre grupos cultiváveis e grupos não cultiváveis.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização físico-química das nanoemulsões.....	57
Tabela 2: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo <i>C. flexuosus</i> e o A.L de <i>C. flexuosus</i>	61
Tabela 3: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo <i>C. flexuosus</i> e o A.L de <i>C. flexuosus</i>	62
Tabela 4: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo <i>O. basilicum</i> e A.L de <i>O. basilicum</i>	63
Tabela 5: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo <i>O. basilicum</i> e A.L de <i>O. basilicum</i>	64
Tabela 6: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo <i>L. dentata</i> e A.L de <i>L. dentata</i>	65
Tabela 7: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo <i>L. dentata</i> e A.L de <i>L. dentata</i>	66
Tabela 8: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo <i>L. angustifolia</i> e A.L de <i>L. angustifolia</i>	67
Tabela 9: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo <i>L. angustifolia</i> e A.L de <i>L. angustifolia</i>	68
Tabela 10: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo Eugenol (Método de alta energia) e A.L de Eugenol (método de alta energia).....	69
Tabela 11: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo Eugenol	

(Método de alta energia) e A.L de Eugenol (método de alta energia).	70
Tabela 12: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo Eugenol (Método de baixa energia) e A.L de Eugenol (método de baixa energia).	71
Tabela 13: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo Eugenol (Método de baixa energia) e A.L de Eugenol (método de baixa energia).	72
Tabela 14: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante das AgNPs com citrato de sódio.....	73
Tabela 15: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante das AgNPs com citrato de sódio.....	74
Tabela 16: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo <i>Cymbopogon flexuosus</i> , o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.	75
Tabela 17: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo <i>Ocimum basilicum</i> , o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.	77
Tabela 18: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo <i>Lavandula dentata</i> , o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.	78
Tabela 19: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo <i>Lavandula angustifolia</i> , o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.	79
Tabela 20: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo Eugenol (método de alta energia), o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle	

não tratado.81

Tabela 21: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo Eugenol (método de baixa energia), o composto livre correspondente e o Tween 80 em relação ao controle não tratado.82

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 Microrganismos	23
2.1.1. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	23
2.1.2. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	24
2.1.3. <i>Veillonella parvula</i>	25
2.1.4. <i>Prevotella melaninogenica</i>	26
2.1.5. <i>Eikenella corrodens</i>	27
2.1.6. <i>Candida albicans</i>	28
2.1.7. <i>Nakaseomyces glabrata</i>	29
2.2. Doenças e tratamentos	30
2.2.1. Periodontite	30
2.2.2. Candidose bucal	31
2.3. Tratamentos alternativos	32
2.3.1. Nanopartículas de prata	32
2.3.2. Óleos essenciais	33
2.3.2.1. <i>Cymbopogon flexuosus</i>	34
2.3.2.2. <i>Ocimum basilicum</i>	34
2.3.2.3. <i>Lavandula dentata</i>	35
2.3.2.4. <i>Lavandula angustifolia</i>	35
2.3.2.5. Eugenol	35
2.3.3. Nanoemulsões	36
2.3.3.1 Nanoemulsão contendo <i>Cymbopogon flexuosus</i>	37
2.3.3.2. Nanoemulsão contendo <i>Ocimum basilicum</i>	37
2.3.3.3. Nanoemulsão contendo <i>Lavandula dentata</i>	38
2.3.3.4. Nanoemulsão contendo <i>Lavandula angustifolia</i>	39
2.3.3.5. Nanoemulsão contendo Eugenol (método de alta energia)	39
2.3.3.6. Nanoemulsão contendo Eugenol (método de baixa energia)	40
3. OBJETIVOS	41
3.1. Geral	41
3.2. Específicos	41

4. MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1. Síntese das nanopartículas de prata (AgNPs)	43
4.2. Caracterização das nanopartículas de prata (AgNPs)	43
4.3. Preparação das nanoemulsões contendo óleos essenciais	43
4.3.1. Nanoemulsão contendo óleo essencial de <i>Lavandula dentata</i> e nanoemulsão contendo óleo essencial de <i>Lavandula angustifolia</i>	44
4.3.2. Nanoemulsão contendo óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i>	44
4.3.3. Nanoemulsão contendo óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	45
4.3.4. Nanoemulsão contendo Eugenol (Método de alta energia).....	45
4.3.5. Nanoemulsão contendo Eugenol (Método de baixa energia).....	45
4.4. Caracterização físico-química das nanoemulsões contendo óleos essenciais e nanoemulsões contendo eugenol	46
4.4.1. Determinação do diâmetro médio de gotícula e índice de polidispersão	46
4.4.2. Potencial Zeta	47
4.4.3. Avaliação de pH	47
4.5. Seleção dos participantes e avaliação clínica	47
4.6. Diagnóstico da candidose e coleta dos fungos	48
4.7. Caracterização clínica periodontal e coleta de material biológico	49
4.7.1 Coleta de Biofilme	49
4.7.2 Coleta de sangue	50
4.8. Avaliação do potencial antimicrobiano	50
4.8.1. Concentração Inibitória Mínima (MIC).....	51
4.8.1.1. Técnica de microdiluição	52
4.9. Avaliação de citotoxicidade (MTT).....	53
4.10. Extração de DNA do biofilme bacteriano	54
4.11. Análise metagenômica.....	54
4.12. Análise estatística	54
5. RESULTADOS.....	56
5.1. Preparação das nanoemulsões e síntese das Nanopartículas de prata.....	56
5.2. Caracterização das nanoemulsões e das nanopartículas de prata	56
5.3. Atividade antimicrobiana das nanoemulsões.....	60
5.3.1. <i>Cymbopogon flexuosus</i>	61
5.3.2. <i>Ocimum basilicum</i>	62

5.3.3. <i>Lavandula dentata</i>	64
5.3.4. <i>Lavandula angustifolia</i>	66
5.3.5. Eugenol (método de alta energia)	68
5.3.6. Eugenol (método de baixa energia)	70
5.4. Atividade antimicrobiana das nanopartículas da prata	72
5.5. Teste de citotoxicidade das nanoemulsões	74
5.5.1. <i>Cymbopogon flexuosus</i>	74
5.5.2. <i>Ocimum basilicum</i>	76
5.5.3. <i>Lavandula dentata</i>	77
5.5.4. <i>Lavandula angustifolia</i>	78
5.5.5. Eugenol (método de alta energia)	80
5.5.6. Eugenol (método de baixa energia)	81
5.6. Metagenômica do biofilme subgengival	83
6. DISCUSSÃO	87
7. CONCLUSÃO	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

1 INTRODUÇÃO

A disbiose bucal é caracterizada pela redução de microrganismos benéficos e pelo aumento de espécies patogênicas, resultando na perda da homeostase da resposta do hospedeiro (CHATTOPADHYAY et al., 2024). Fatores extrínsecos, como a colonização do biofilme por patógenos-chave, injúrias teciduais e alterações ambientais, podem modificar a composição e a abundância das comunidades microbianas, aumentar a expressão de fatores de virulência e comprometer a vigilância imunológica (HAJISHENGALLIS; CHAVAKIS, 2021; LAMONT et al., 2018). O tabagismo, por exemplo, influencia a prevalência de bactérias periodontopatogênicas de acordo com a dose e o tempo de exposição (CHATTOPADHYAY et al., 2024). Além disso, embora muitas espécies microbianas mantenham relações cooperativas, a disbiose pode alterar essas interações e favorecer o estabelecimento de comunidades patogênicas (VEERAPANDIAN et al., 2025).

A disbiose do microbioma oral constitui um importante gatilho etiológico de doenças inflamatórias, destacando-se a periodontite e a candidose oral como condições associadas ao desequilíbrio homeostático (HAJISHENGALLIS; CHAPPLE, 2024). Na periodontite, a formação de biofilmes polimicrobianos complexos representa um desafio à terapêutica convencional, pois a matriz extracelular protege os patógenos tanto da resposta imune quanto da ação de agentes antimicrobianos (SANTOS et al., 2025). As interações no microbioma oral são predominantemente cooperativas e sinérgicas, favorecendo a estabilidade do biofilme disbiótico em detrimento das espécies comensais (KILIAN et al., 2026; TELES et al., 2026).

No contexto da candidose, a transição de *Candida* spp. do estado comensal para o fenótipo patogênico está frequentemente associada a hospedeiros imunocomprometidos, nos quais a redução da vigilância imunológica coincide com a desorganização das comunidades bacterianas residentes (MAKSoud et al., 2024). Esse estado disbiótico altera interações polimicrobianas e trans-reinos; a diminuição de sinais inibitórios bacterianos e as mudanças no microambiente oral, como variações de pH e disponibilidade de carbono, favorecem a hifização, a formação de

biofilmes complexos e a invasão tecidual pelo fungo (GULATI; NOBILE, 2023; QU et al., 2021). Assim, a candidose oral deve ser compreendida não apenas como uma infecção fúngica isolada, mas como manifestação de um desequilíbrio ecológico mais amplo (EIDT et al., 2022).

A candidose oral é uma infecção oportunista causada pela proliferação de leveduras do gênero *Candida* spp., sendo *C. albicans* a espécie mais prevalente, embora espécies não-albicans apresentem importância clínica crescente (TALAPKO et al., 2021). O desenvolvimento da doença está associado a estados de imunossupressão, distúrbios endócrinos, como diabetes mellitus, alterações hormonais e uso prolongado de antibióticos de amplo espectro, que reduzem a microbiota bacteriana competidora (GULATI; NOBILE, 2023). Clinicamente, a infecção pode se manifestar sob diferentes formas, principalmente variantes pseudomembranosas e eritematosas, refletindo distintos níveis de invasão tecidual e resposta inflamatória do hospedeiro (MAKSOUND et al., 2024). O manejo terapêutico enfrenta limitações relacionadas à capacidade de formação de biofilmes e ao surgimento de cepas com resistência intrínseca ou adquirida aos azóis e equinocandinas, o que aumenta o risco de falhas terapêuticas e recidivas (PAPPAS et al., 2021; RODRIGUES; HENRIQUES, 2022).

A periodontite, por sua vez, é uma inflamação crônica e progressiva do periodonto, caracterizada por inflamação gengival, sangramento à sondagem, perda de inserção periodontal e destruição óssea alveolar, frequentemente associada à formação de bolsas periodontais (CATON et al., 2018). Sua etiopatogênese envolve uma resposta imune exacerbada frente a biofilmes subgengivais disbióticos, nos quais *Porphyromonas gingivalis* se destaca como patógeno-chave (HAJISHENGALLIS; CHAVAKIS, 2021). Além dos efeitos locais, a periodontite tem sido associada a condições sistêmicas, como infarto agudo do miocárdio, síndrome metabólica e asma grave (GOMES-FILHO et al., 2020a; GOMES-FILHO et al., 2020b; TAMIYA et al., 2023). Apesar do conhecimento sobre sua etiopatogênese, as abordagens terapêuticas ainda se baseiam predominantemente no controle mecânico do biofilme, apresentando limitações quanto à especificidade e à prevenção de recidivas (FISCHER et al., 2020).

Diante das limitações inerentes às abordagens terapêuticas convencionais e do avanço consistente da resistência microbiana, a investigação de sistemas nanoestruturados tem sido progressivamente incorporada como uma estratégia complementar no controle de patógenos orais. Nesse cenário, as nanopartículas de prata (AgNPs) figuram entre os sistemas mais amplamente descritos, em função de sua atividade antimicrobiana de amplo espectro, sustentada por mecanismos multialvo, como a desorganização da parede celular, a indução de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a interação com o DNA microbiano (GORAIN et al., 2026; SIDDIQI et al., 2020). Contudo, apesar de seu potencial, a eficácia das AgNPs não é uniforme e pode ser significativamente influenciada por variáveis como tamanho, concentração, estabilidade coloidal e interação com o microambiente biológico, o que limita a previsibilidade de sua ação. Nesse contexto, sua inclusão no presente estudo não se configura como eixo central da investigação, mas como um referencial tecnológico, permitindo uma análise comparativa crítica e evidenciando que, nas condições experimentais adotadas, as nanoemulsões apresentaram desempenho superior.

Paralelamente, os óleos essenciais (OEs) têm sido apontados como alternativas biotecnológicas relevantes, sobretudo pela complexidade de sua composição química, que pode dificultar a adaptação microbiana e reduzir a probabilidade de desenvolvimento de resistência (KHAMENEH et al., 2021). Ainda que seus mecanismos de ação estejam majoritariamente associados à desestabilização da membrana citoplasmática e à interferência em sistemas de quorum sensing (BAPTISTA et al., 2023), a heterogeneidade composicional desses metabólitos e a variabilidade de suas respostas biológicas impõem desafios à padronização e à reprodutibilidade dos efeitos observados. Ademais, a aplicação clínica dos OEs em sua forma livre é comprometida por limitações físicoquímicas, como volatilidade elevada e instabilidade oxidativa, que impactam diretamente sua eficácia terapêutica. Nesse sentido, o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados, como as nanoemulsões, emerge não apenas como uma solução tecnológica, mas como uma necessidade para viabilizar o uso mais consistente desses compostos (MAES et al., 2026). Ao promover o encapsulamento dos princípios ativos, esses

sistemas minimizam a degradação ambiental e favorecem a interação com biofilmes patogênicos, ainda que os mecanismos envolvidos nessa maior penetração não estejam completamente elucidados (RAZA et al., 2024). Assim, a integração entre fitoterápicos e nanotecnologia deve ser compreendida não como uma solução consolidada, mas como um campo em expansão que demanda validação crítica e padronização metodológica (HUANG et al., 2025).

Nesse contexto, as nanoemulsões (NEs) destacam-se como sistemas carreadores versáteis, particularmente relevantes para a entrega de compostos hidrofóbicos, como os óleos essenciais, e para a modulação de sua interação com biofilmes complexos. Caracterizadas como dispersões coloidais termodinamicamente instáveis, porém cineticamente estáveis, constituídas por gotículas em escala nanométrica, as NEs apresentam elevada área superficial e capacidade de solubilização de compostos lipofílicos, o que favorece sua biodisponibilidade e estabilidade no ambiente oral (SHI et al., 2021; YADAV et al., 2023). Ainda que desafios relacionados à estabilidade a longo prazo, à toxicidade e à padronização de formulações persistam, esses sistemas configuram-se como uma abordagem promissora para a potencialização de compostos bioativos naturais. Nesse sentido, considerando a necessidade de alternativas terapêuticas mais eficazes e seguras no controle de infecções orais, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de nanoemulsões de óleos essenciais frente a patógenos associados à candidose e à periodontite, a fim de analisar criticamente o desempenho desses sistemas e contribuir para o avanço de estratégias nanotecnológicas aplicadas à Odontologia.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Microrganismos

Entre os microrganismos associados a infecções orais, destacam-se espécies com elevada relevância clínica na candidose e na periodontite. Considerando a frequência de isolamento em lesões intraorais e a importância epidemiológica, foram selecionadas as leveduras *Candida albicans* e *Nakaseomyces glabrata* (antiga *Candida glabrata*) (PAPPAS et al., 2024; TALAPKO et al., 2026a). Em relação às bactérias periodontopatogênicas, foram priorizadas espécies amplamente implicadas na disbiose periodontal, incluindo *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula*, *Prevotella melaninogenica* e *Eikenella corrodens* (HAJISHENGALLIS; CHAPPLE, 2024; LAMONT et al., 2025).

A compreensão das características biológicas e dos mecanismos de virulência desses microrganismos é fundamental para a proposição de estratégias antimicrobianas mais eficazes, especialmente frente à crescente tolerância observada em biofilmes orais.

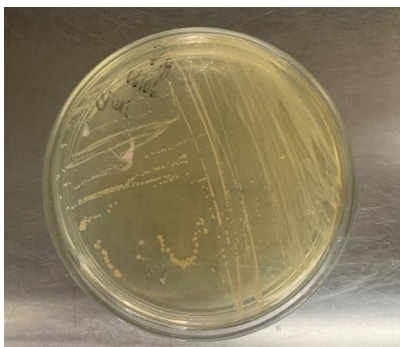
2.1.1. *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis (Figura 1) é um cocobacilo Gram-negativo, anaeróbio estrito, caracterizado por elevada atividade proteolítica. Classificada como patógeno-chave da periodontite, sua presença em sítios periodontais associa-se ao aumento da profundidade de sondagem e à perda de inserção periodontal (LAMONT et al., 2025).

O paradigma etiológico da periodontite evoluiu do enfoque em patógenos isolados para o conceito de disbiose polimicrobiana. Nesse contexto, *P. gingivalis* atua como espécie orquestradora capaz de modular a resposta imune do hospedeiro e

favorecer a transição de uma microbiota simbiótica para um estado disbiótico (HAJISHENGALLIS; CHAPPLE, 2024). Avanços em sequenciamento de nova geração e transcriptômica têm evidenciado a complexa rede de interações sinérgicas no microbioma oral (MEYLE et al., 2026).

Figura 1: Cultura de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.



Fonte: O autor.

2.1.2. *Fusobacterium nucleatum*

Fusobacterium nucleatum (Figura 2) é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio estrito e metabolicamente versátil, apresentando elevada heterogeneidade genética. Estudos filogenéticos sustentam sua divisão em subespécies com diferentes potenciais de virulência, incluindo *subsp. nucleatum*, *polymorphum*, *vincentii* e *animalis*, esta última associada a agravos sistêmicos e processos inflamatórios (LIU et al., 2024; WU et al., 2025).

Durante a maturação do biofilme dentário, *F. nucleatum* exerce papel de organismo-ponte, facilitando a co-agregação entre colonizadores primários, como *Streptococcus* spp. e *Actinomyces* spp., e patógenos anaeróbios tardios, incluindo *P. gingivalis* e *Treponema denticola*. Essa capacidade está relacionada à expressão de múltiplas adesinas, como a RadD, sendo essencial para a transição da eubiose para a disbiose periodontal (HAN et al., 2024; ZHOU et al., 2026).

Figura 2: Cultura de *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* ATCC 25586 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.



Fonte: O autor.

2.1.3. *Veillonella parvula*

Veillonella parvula (Figura 3) é um diplococo Gram-negativo, anaeróbio estrito, cuja relevância no biofilme oral está associada ao seu metabolismo singular. A espécie não fermenta carboidratos complexos, utilizando preferencialmente o ácido láctico produzido por colonizadores primários como fonte de carbono e energia (MEYLE et al., 2026).

Além disso, apresenta elevada capacidade de co-agregação mediada por adesinas de superfície, permitindo sua integração em comunidades polimicrobianas em diferentes estágios de maturação (HONG et al., 2024; ROJAS-TAPIAS et al., 2022). Ao converter lactato em ácidos orgânicos mais fracos, como o propionato, *V. parvula* contribui para a modulação do pH local e para a manutenção de condições favoráveis à persistência de patógenos acidossensíveis (ZHOU et al., 2025a).

Figura 3: Cultura de *Veillonella parvula* ATCC 10790 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.



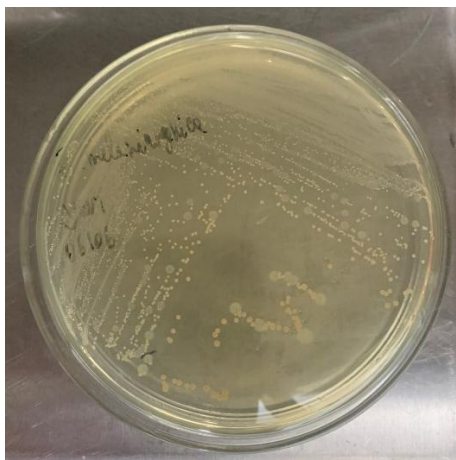
Fonte: O autor.

2.1.4. *Prevotella melaninogenica*

Prevotella melaninogenica (Figura 4) é um bastonete Gram-negativo, anaeróbio estrito, frequentemente isolado do dorso lingual, da saliva e do biofilme subgengival. Embora integre a microbiota comensal, pode atuar como 26atobionte em condições de disbiose, participando ativamente de infecções polimicrobianas (KÖNÖNEN; GURSOY, 2022).

Sua relevância clínica na periodontite tem sido associada à produção de enzimas proteolíticas e vesículas de membrana externa capazes de intensificar a destruição tecidual e a evasão imune (YAMAZAKI et al., 2024). Entretanto, permanece em debate se a espécie atua como indutora primária da doença ou como oportunista favorecida pelo ambiente inflamatório e consequente disponibilidade nutricional no microambiente (KOTTRASHETTI et al., 2023; HAJISHENGALLIS; CHAPPLE, 2024).

Figura 4: Cultura de *Prevotella melaninogenica* ATCC 25845 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.



Fonte: O autor.

2.1.5. *Eikenella corrodens*

Eikenella corrodens (Figura 5) é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, integrante da microbiota orofaríngea. Em meios sólidos, suas colônias podem apresentar depressão característica do ágar, associada à motilidade mediada por pili do tipo IV (MEYLE et al., 2026).

Apesar de frequentemente comensal, a espécie atua como patógeno oportunista relevante na periodontite e em infecções sistêmicas, incluindo endocardite. Sua capacidade de co-agregação com patógenos do complexo vermelho favorece a colonização de nichos subgengivais sob baixa tensão de oxigênio (HAJISHENGALLIS; CHAPPLE, 2024; LI et al., 2021).

Figura 5: Cultura de *Eikenella corrodens* ATCC 23834 em meio de cultura ágar Brucella suplementado.



Fonte: O autor.

2.1.6. *Candida albicans*

Candida albicans (Figura 6) é um fungo polimórfico cuja plasticidade fenotípica constitui importante fator de virulência na cavidade oral. A transição entre formas leveduriformes, pseudo-hifas e hifas verdadeiras é regulada por estímulos ambientais e por *quorum sensing*, sendo fundamental para invasão tecidual e formação de biofilmes (RODRIGUEZ-CERDEIRA et al., 2024; TALAPKO et al., 2026a).

As hifas atuam como estrutura de suporte para adesão a superfícies abióticas e células epiteliais, além de interagirem como sítios de ancoragem para bactérias colonizadoras tardias em biofilmes polimicrobianos (VILA et al., 2020). Uma vez estabelecido, o biofilme apresenta matriz extracelular densa que exacerba a expressão de fatores de virulência e reduz significativamente a eficácia de antifúngicos e da resposta fagocitária (JABRA-RIZK et al., 2025).

A capacidade de transição entre os estados morfológicos, particularmente da forma leveduriforme para a hifal, é fortemente induzida *in vivo* por estímulos como variações de pH e presença de CO₂, sendo determinante para a invasão tecidual e a evasão do sistema imune (WEST et al., 2020). No entanto, os protocolos padronizados de microdiluição em caldo (CLSI, 2017) são conduzidos em condições que favorecem predominantemente a forma de levedura, estabelecendo uma divergência entre o

modelo experimental e a dinâmica da infecção no hospedeiro (LOHSE et al., 2020). Esse hiato biológico compromete a acurácia preditiva dos ensaios *in vitro*, uma vez que as formas hifais apresentam perfis distintos de expressão gênica e de suscetibilidade a antifúngicos, frequentemente subestimados em condições laboratoriais convencionais (IBAÑEZ-VARA et al., 2021).

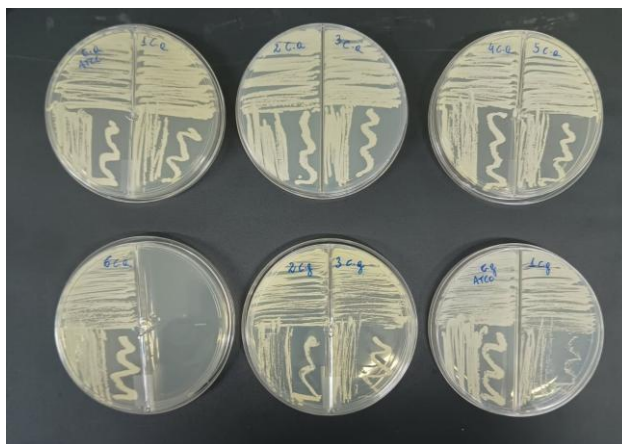
O sinergismo entre *C. albicans* e o microbioma bacteriano é, portanto, um determinante crítico para a organização estrutural dos biofilmes, a persistência da infecção e a evasão às abordagens terapêuticas convencionais (CHAKRABORTY et al., 2024).

2.1.7. *Nakaseomyces glabrata*

Nakaseomyces glabrata (Figura 6) destaca-se pela elevada capacidade de colonização persistente e evasão imune. Diferentemente de *C. albicans*, não forma hifas verdadeiras, mas expressa ampla família de adesinas epiteliais (Epa), que garantem forte adesão aos tecidos do hospedeiro e a superfícies abióticas (TALAPKO et al., 2026a). A secreção de exoenzimas, como fosfolipases e hemolisinas, facilita a degradação de membranas celulares e a aquisição de ferro sistêmico, provendo suporte metabólico para a invasão tecidual profunda (RODRIGUES et al., 2024).

A espécie apresenta resistência intrínseca ou rapidamente adquirida aos azóis, especialmente ao fluconazol, frequentemente associada à superexpressão de bombas de efluxo e a alterações no gene *ERG11* (PAPPAS et al., 2024; TALAPKO et al., 2026). Esse perfil fenotípico de multirresistência tem contribuído para sua crescente relevância clínica e para a maior dificuldade no manejo terapêutico de infecções persistentes ou recorrentes (ARENDRUP; PATTERSON, 2025; FISHER et al., 2026). Nesse contexto, *N. glabrata* tem emergido epidemiologicamente como a principal espécie não-*albicans* em ambientes odontológicos e hospitalares, fenômeno impulsionado pela pressão seletiva decorrente do uso profilático e empírico de fluconazol e itraconazol. Tal cenário favorece a substituição de espécies sensíveis por linhagens mais resistentes e de difícil erradicação em biofilmes polimicrobianos (FISHER et al., 2026; ARENDRUP; PATTERSON, 2025).

Figura 6: Cultura de *Candida albicans* ATCC 10231 e *Nakaseomyces glabrata* 15126 em meio de cultura ágar Sabouraud dextrose.



Fonte: O autor.

2.2. Doenças e tratamentos

2.2.1. Periodontite

A periodontite é uma doença inflamatória crônica caracterizada por perda de inserção clínica, formação de bolsas periodontais e reabsorção óssea alveolar, podendo culminar, em estágios mais avançados, na perda dentária (CATON et al., 2018; MEYLE et al., 2026). Sua etiopatogênese transcende a simples presença bacteriana, sendo definida por uma resposta imune-inflamatória desregulada do hospedeiro em face de um biofilme subgengival sinérgico e disbiótico. Nesse ecossistema, *P. gingivalis* assume o papel fundamental de patógeno-chave, capaz de subverter os mecanismos de defesa inata e adaptativa, orquestrando a transição da homeostase para um estado inflamatório destrutivo (HAJISHENGALLIS; CHAPPLE, 2024; LAMONT et al., 2025).

O tratamento baseia-se principalmente no desbridamento mecânico supra e subgengival, como coadjuvante a utilização de agentes químicos (colutórios), além de poder ser complementado por intervenções cirúrgicas os quais visam,

primordialmente, o controle da carga microbiana e a estabilização da perda de inserção, sem necessariamente promover a restituição dos tecidos perdidos (MEYLE et al., 2026; SANZ et al., 2020). As intervenções cirúrgicas buscam o acesso a áreas anatomicamente complexas e a correção de defeitos infraósseos, embora sua eficácia seja limitada pela arquitetura do remanescente alveolar (CATON et al., 2018).

Entretanto, essas abordagens apresentam limitações, especialmente frente à complexidade estrutural dos biofilmes e à possibilidade de recolonização microbiana (FISCHER et al., 2020; ZHOU et al., 2025b). Essas limitações têm impulsionado a busca por estratégias adjuvantes, como a utilização de AgNPs e NEs, capazes de atuar de forma mais específica sobre biofilmes periodontais, dada a sua capacidade de penetrar na matriz polimérica extracelular e exercer atividade bactericida multialvo sobre patógenos persistentes (YIN et al., 2020; ZHANG et al., 2026).

2.2.2. Candidose bucal

A candidose bucal é uma infecção oportunista causada por leveduras do gênero *Candida*, manifestando-se sob diferentes formas clínicas em indivíduos imunocompetentes e, com maior gravidade, em hospedeiros imunocomprometidos (RODRIGUEZ-CERDEIRA et al., 2024). Clinicamente, as apresentações são estratificadas em variantes pseudomembranosas (formas brancas) e eritematosas, além de fenótipos específicos como a candidose mucocutânea crônica, a queilite angular (queilocandidose) e a candidose multifocal crônica, que exigem diagnósticos diferenciais precisos (PAPPAS et al., 2024; TALAPKO et al., 2026^a). A transição da *Candida* de comensal para patogênica é modulada por fatores predisponentes que rompem a homeostase do hospedeiro, incluindo o uso prolongado de antibioticoterapia de amplo espectro, descompensação de *diabetes mellitus*, alterações hormonais (gravidez e contraceptivos), além de estados severos de imunossupressão decorrentes do HIV/AIDS ou de terapias oncológicas citotóxicas e radioterápicas (FISHER et al., 2026; GORAIN et al., 2026).

O tratamento convencional das candidoses orais baseia-se classicamente em

fármacos polienos (como a nistatina e anfotericina B) e azóis (como o miconazol e fluconazol). Contudo, a eficácia desses agentes é comprometida pela emergência de mecanismos de resistência intrínseca e adquirida, além da tolerância fenotípica inerente à organização em biofilmes (PAPPAS et al., 2024; TALAPKO et al., 2026a). Esse cenário evidencia a necessidade de abordagens terapêuticas alternativas capazes de superar mecanismos clássicos de resistência, como o desenvolvimento de sistemas baseados em AgNPs e Nes surge como uma alternativa promissora, oferecendo mecanismos de ação multialvo que superam as barreiras de resistência tradicionais e potencializam a penetração de compostos ativos na matriz extracelular fúngica (FISHER et al., 2026; ZHANG et al., 2026).

2.3. Tratamentos alternativos

2.3.1. Nanopartículas de prata

A nanotecnologia compreende a ciência e a engenharia voltadas ao design, à síntese e à aplicação de materiais e sistemas em escala nanométrica (1 a 100 nm), baseando-se na manipulação controlada da matéria em níveis atômicos e moleculares (KUMAR et al., 2024^a; MADAN et al., 2026). As vantagens dessa abordagem decorrem das propriedades físico-químicas emergentes que os materiais passam a apresentar nessa escala. O aumento da razão superfície/volume eleva a energia superficial das nanopartículas, conferindo maior reatividade química e propriedades ópticas, eletrônicas e biológicas distintas daquelas observadas em materiais de macroescala (ROSS et al., 2025; SALEH, 2020). Os nanomateriais possuem aplicações transversais em diferentes áreas, desde a conversão energética até a segurança alimentar. Entretanto, é na nanomedicina que seu impacto se destaca, com aplicações em biossensores diagnósticos, sistemas de liberação controlada de fármacos e terapias direcionadas para doenças complexas e infecciosas (YIN et al., 2020; AL-SHARQI et al., 2025).

Os avanços recentes da nanotecnologia possibilitaram a obtenção de diversos nanomateriais com propriedades ajustáveis para aplicações industriais e biomédicas. Entre eles, as nanopartículas de prata (AgNPs) ocupam posição de destaque, podendo ser sintetizadas por rotas físicas (como ablação a laser), químicas (redução por agentes químicos) ou biológicas (síntese verde), sendo esta última frequentemente preferida em aplicações odontológicas devido à menor toxicidade e maior sustentabilidade (GORAIN et al., 2026; WANG et al., 2024). Embora apresentem estabilidade química e boa condutividade, o principal interesse clínico nas AgNPs está relacionado ao seu amplo espectro antimicrobiano. Seu mecanismo de ação envolve a liberação controlada de íons Ag^+ , capazes de induzir estresse oxidativo por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais hidroxila. Em células fúngicas e bacterianas, esse processo promove despolarização da membrana, disfunção mitocondrial e danos ao DNA e a proteínas enzimáticas, culminando em morte celular programada e apoptose (AL-SHARQI et al., 2025; ZHANG et al., 2026).

As AgNPs têm se consolidado como plataformas promissoras para o enfrentamento da resiliência microbiana. As propriedades físico-químicas como o diâmetro hidrodinâmico e o potencial de superfície permitem que essas nanopartículas atuem não apenas como agentes antimicrobianos diretos, mas também como sistemas carreadores capazes de favorecer a penetração na matriz extracelular de biofilmes (MADAN et al., 2026). No caso de *Candida* spp., a atividade das AgNPs está associada ao intenso estresse oxidativo e à ruptura da integridade da parede celular fúngica, contribuindo para superar mecanismos de efluxo que reduzem a eficácia de antifúngicos convencionais (TALAPKO et al., 2026^a; ZHANG et al., 2026).

2.3.2. Óleos essenciais

Os óleos essenciais de *C. flexuosus*, *O. basilicum*, *L. dentata*, *L. angustifolia* e do eugenol possuem amplo espectro antimicrobiano e sinergismo com sistemas nanotecnológicos para o controle de biofilmes orais (SANTOS et al., 2024). Enquanto o citral e o eugenol apresentam alta eficácia no rompimento de membranas lipídicas,

as espécies de *Lavandula* e *O. basilicum* oferecem estabilidade química e baixa citotoxicidade quando encapsulados (IBRAHIM *et al.*, 2022).

2.3.2.1. *Cymbopogon flexuosus*

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* (capim-limão) é um sistema químico complexo dominado por aldeídos monoterpênicos, especialmente o citral (HUANG *et al.*, 2021). Sua riqueza química confere ao óleo uma alta lipofilicidade, permitindo a ruptura da membrana plasmática bacteriana e o extravasamento de conteúdo intracelular (FERREIRA *et al.*, 2022). Além do citral, a presença de mirceno e geraniol potencializa suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, fundamentais para a regeneração tecidual em aplicações dermatológicas (GOMES *et al.*, 2024). A volatilidade e a instabilidade desses compostos frente à oxidação têm impulsionado o desenvolvimento de sistemas de entrega nanotecnológicos, visando preservar sua bioatividade antimicrobiana em tratamentos clínicos prolongados (LIMA *et al.*, 2023).

2.3.2.2. *Ocimum basilicum*

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* (manjeriço) caracteriza-se por uma composição química versátil, predominantemente rica em fenilpropanoides como o estragol e monoterpênicos como o linalol, que definem sua marcante atividade biológica (AMOR *et al.*, 2021). Essa complexidade química permite que o óleo atue na desestabilização da integridade da parede celular de patógenos, demonstrando eficácia superior no combate a fungos e bactérias gram-positivas (CHANDRAKALA *et al.*, 2022). Além da ação direta, a sinergia entre o eugenol e o 1,8-cineol presente em determinados quimiotipos potencializa propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, essenciais para a cicatrização de feridas e terapias cutâneas (HOSSEINI *et al.*, 2023).

2.3.2.3. *Lavandula dentata*

O óleo essencial de *Lavandula dentata* diferencia-se de outras lavandas por sua alta concentração de 1,8-cineol (eucaliptol), conferindo-lhe um perfil químico mais voltado à proteção respiratória e ação antisséptica (SOUZA et al., 2022). Esses monoterpenos oxigenados são responsáveis por alterar a permeabilidade da membrana mitocondrial de patógenos, resultando em uma potente atividade bactericida e antifúngica (MOHAMMED et al., 2021). Além disso, a presença de fenchona e acetato de linalila atua de forma sinérgica na modulação de processos inflamatórios, o que viabiliza seu uso em terapias para o alívio de dores musculares e distúrbios cutâneos (BOUZIDI et al., 2023).

2.3.2.4. *Lavandula angustifolia*

O óleo essencial de *Lavandula angustifolia*, reconhecido mundialmente por sua pureza e baixa toxicidade, possui uma composição química marcada pelo equilíbrio entre o linalol e o acetato de linalila (SILVA et al., 2021). Diferente de outras lavandas, seu baixo teor de cânfora e 1,8-cineol favorece uma ação antimicrobiana suave, porém eficaz, atuando na desintegração de membranas lipídicas de patógenos fúngicos e bacterianos (HAZARIKA et al., 2023). Além da atividade antisséptica, a presença de terpinen-4-ol e lavandulol confere propriedades ansiolíticas e anti-inflamatórias potentes, o que viabiliza sua aplicação clínica na redução do estresse oxidativo e na aceleração da cicatrização de queimaduras (ZHU et al., 2022).

2.3.2.5. Eugenol

O eugenol, um fenilpropanoide majoritário no óleo de cravo-da-índia, é amplamente reconhecido por sua estrutura fenólica que lhe confere uma excepcional capacidade de desnaturação proteica e lise da membrana citoplasmática (KUMAR et al., 2021). Sua composição química simples, mas altamente reativa, permite a inibição

de enzimas vitais e a interferência no transporte de elétrons bacteriano, ganhando relevância em tratamentos odontológicos analgésicos e antissépticos (MATHEW et al., 2022). Além da ação antibacteriana contra cepas de *Escherichia coli*, por exemplo, o eugenol exibe propriedades antifúngicas ao degradar o ergosterol da parede de leveduras, prevenindo a formação de biofilmes em dispositivos médicos (TALIBI et al., 2023).

2.3.3. Nanoemulsões

As nanoemulsões são sistemas coloidais cineticamente estáveis constituídos por dispersões heterofásicas (aquosa e oleosa) estabilizadas por compostos anfifílicos, como tensoativos. Esses agentes reduzem a tensão interfacial e promovem a formação de uma barreira mecânica ou eletrostática, conferindo maior estabilidade ao sistema ao longo do tempo (KUMAR et al., 2026; MADAN et al., 2026). Com gotículas dispersas em escala nanométrica (tipicamente entre 20 e 200 nm), essas estruturas apresentam aparência translúcida característica e elevada área de superfície ativa. Essa arquitetura favorece aplicações multifuncionais, especialmente como nanocarreadores para liberação controlada de fármacos e para a encapsulação de compostos bioativos lipofílicos, contribuindo para melhorar a solubilidade, a estabilidade oxidativa e a biodisponibilidade de fitocomponentes e outras moléculas hidrofóbicas em matrizes complexas (AL-SHARQI et al., 2025; GORAIN et al., 2026).

Além disso, as nanoemulsões atuam como reservatórios protetores de compostos hidrofóbicos, reduzindo processos de oxidação e hidrólise prematura dos bioativos encapsulados. Embora sejam sistemas cineticamente estáveis, sua elevada eficácia biológica está associada principalmente às dimensões nanométricas das gotículas, que proporcionam grande área superficial e favorecem a difusão e a transposição de barreiras biológicas, permitindo interação celular mais rápida e eficiente (KUMAR et al., 2026; ZHANG et al., 2026). As propriedades físico-químicas dessas formulações dependem fortemente da natureza do bioativo e da fração volumétrica da fase oleosa empregada, variáveis que influenciam parâmetros críticos

como viscosidade, estabilidade térmica (volatilidade), tensão interfacial e biocompatibilidade celular. Esses fatores, por sua vez, determinam o perfil de liberação e a substantividade do sistema no microambiente oral (AL-SHARQI et al., 2025; GORAIN et al., 2026).

2.3.3.1 Nanoemulsão contendo *Cymbopogon flexuosus*

As nanoemulsões contendo *Cymbopogon flexuosus* destacam-se principalmente pela capacidade de estabilizar o citral, aldeído monoterpênico majoritário responsável pela atividade antimicrobiana do óleo, porém altamente suscetível à degradação oxidativa (IBRAHIM et al., 2022). A nanoestruturação desse óleo em sistemas óleo-em-água atua diretamente na modulação da estabilidade química desse composto, reduzindo perdas por volatilização e oxidação, fatores que limitam sua aplicação na forma livre.

Além da proteção físico-química, a organização do sistema em gotículas nanométricas favorece interações mais eficientes com superfícies biológicas, particularmente biofilmes, uma vez que parâmetros como área superficial e carga interfacial influenciam a adesão e a difusão no microambiente microbiano (MUKHOPADHYAY et al., 2023). Esse aspecto é especialmente relevante em infecções orais, nas quais a matriz extracelular dos biofilmes atua como barreira à penetração de agentes antimicrobianos.

Outro ponto crítico refere-se à modulação da toxicidade local. A encapsulação do óleo essencial em nanoescala contribui para reduzir efeitos irritativos associados à alta reatividade de seus constituintes, ao mesmo tempo em que preserva a integridade das células do hospedeiro (RAJ et al., 2023). Adicionalmente, a compartimentalização dos isômeros geranial e neral no interior das gotículas favorece a manutenção de seu efeito sinérgico, possibilitando uma liberação mais controlada e um aumento do tempo de residência no sítio de ação (SHARMA et al., 2024).

2.3.3.2. Nanoemulsão contendo *Ocimum basilicum*

As nanoemulsões contendo *Ocimum basilicum* têm sido amplamente exploradas em função da necessidade de veicular eficientemente compostos hidrofóbicos como o linalol e o estragol, cujas atividades antimicrobianas e antioxidantes estão diretamente relacionadas à sua disponibilidade no meio biológico (BASAVEGOWDA et al., 2022).

A incorporação desses fitoconstituintes em sistemas nanoestruturados permite não apenas sua dispersão em matrizes aquosas, mas também a modulação de sua liberação, reduzindo perdas associadas à volatilização e à instabilidade química. A redução do tamanho de gotícula para a escala nanométrica altera significativamente a interação do sistema com membranas biológicas, favorecendo a difusão dos compostos ativos e potencializando sua ação sobre estruturas lipídicas bacterianas (HUSSAIN et al., 2022). Esse comportamento contribui para a obtenção de efeitos antimicrobianos em concentrações inferiores às requeridas para o óleo essencial em sua forma livre, evidenciando uma melhoria funcional decorrente da nanoestruturação.

Além disso, a interface formada pelos tensoativos exerce papel importante na proteção dos compostos contra degradação induzida por fatores ambientais, como a luz, preservando o perfil químico do óleo ao longo do tempo (KUMAR et al., 2024c). Dessa forma, a nanoemulsificação contendo *O. basilicum* não apenas amplia sua estabilidade, mas também contribui para maior previsibilidade de resposta biológica em aplicações envolvendo tecidos vivos.

2.3.3.3. Nanoemulsão contendo *Lavandula dentata*

As nanoemulsões contendo *Lavandula dentata* destacam-se pela capacidade de compartimentar o 1,8-cineol e o linalol, protegendo esses monoterpenos contra a rápida volatilização e degradação oxidativa (SMAILSS et al., 2024). A nanoestruturação em sistemas de alta energia permite a obtenção de gotículas monodispersas que favorecem a permeação através de barreiras biológicas complexas, otimizando a entrega desses compostos bioativos (BAKHSHAEI et al., 2023).

Essa organização em escala nanométrica contribui para uma liberação mais

controlada dos fitoconstituintes, favorecendo a manutenção de suas propriedades biológicas ao longo do tempo, particularmente aquelas relacionadas à modulação inflamatória e ao processo de reparo tecidual (TEIXEIRA et al., 2023). Além disso, ao alterar a cinética de exposição dos compostos ativos, a nanoemulsificação possibilita a obtenção de efeitos biológicos relevantes em concentrações mais baixas, o que pode reduzir a ocorrência de reações adversas associadas ao uso direto do óleo essencial (GUPTA et al., 2023).

2.3.3.4. Nanoemulsão contendo *Lavandula angustifolia*

As nanoemulsões contendo *Lavandula angustifolia* têm sido amplamente estudadas devido à sua eficácia na preservação do acetato de linalila e linalol, compostos voláteis responsáveis por suas propriedades ansiolíticas e antimicrobianas (ARASU et al., 2023). A encapsulação em sistemas nanoestruturados permite que essas moléculas hidrofóbicas sejam dispersas em meios aquosos com alta estabilidade coloidal, evitando a separação de fases e a degradação induzida pela luz (KASSEM et al., 2023).

Além disso, a redução do tamanho de partícula para a escala nanométrica aumenta a biodisponibilidade cutânea, permitindo que os fitoconstituintes atravessem o estrato córneo de forma mais eficiente (MISHRA et al., 2022). A nanoestruturação não apenas mantém o perfil químico original do óleo, mas também reduz a toxicidade celular, tornando-o ideal para aplicações biomédicas e odontológicas (SILVA et al., 2023).

2.3.3.5. Nanoemulsão contendo Eugenol (método de alta energia)

As nanoemulsões contendo eugenol obtidas por método de alta energia, como a ultrassonificação, caracterizam-se pela formação de sistemas com distribuição de tamanho de gotícula mais controlada e elevada estabilidade cinética (AL-MAHTURI et al., 2023). O intenso cisalhamento promovido por esse aporte energético intenso favorece a dispersão eficiente da fase oleosa, resultando em encapsulação mais

homogênea do eugenol, composto cuja elevada reatividade química o torna suscetível à degradação oxidativa e à volatilização (FERREIRA et al., 2023).

A redução do diâmetro médio das gotículas para a escala nanométrica modifica a dinâmica de interação do sistema com o meio aquoso, ampliando a área de contato e favorecendo a disponibilidade do composto ativo, o que contribui para a intensificação de sua atividade biológica mesmo em condições de baixa solubilidade intrínseca (OLIVEIRA et al., 2023). No entanto, o uso de altas energias de processamento pode influenciar a integridade estrutural de compostos fenólicos sensíveis, indicando a necessidade de controle rigoroso das condições operacionais para preservar a funcionalidade do sistema (SILVA; COIMBRA; MOURA, 2022).

2.3.3.6. Nanoemulsão contendo Eugenol (método de baixa energia)

As nanoemulsões contendo eugenol por método de baixa energia, como a rotaevaporação, se baseiam no aproveitamento das propriedades físico-químicas dos tensoativos e do sistema óleo/água para promover a formação espontânea de gotículas em escala nanométrica (COSTA et al., 2022).

Diferente dos processos mecânicos, as técnicas de baixa energia utilizam o balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) e a solubilidade do eugenol para gerar sistemas termodinamicamente estáveis com baixo consumo energético (MARTINS et al., 2023). A escala nanométrica alcançada por esses métodos facilita a difusão do eugenol através de barreiras biológicas, otimizando sua ação antimicrobiana (RODRIGUES et al., 2023). Além disso, a ausência de etapas de cisalhamento mecânico intenso preserva a integridade estrutural dos compostos fenólicos, resultando em formulações com alta carga de fármaco e excelente perfil de segurança (SOUZA et al., 2024).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana de nanoemulsões contendo óleos essenciais frente a *Candida* spp. e bactérias periodontopatogênicas, correlacionando sua eficácia microbiológica com propriedades físico-químicas e citotoxicidade em células mononucleares periféricas humanas, utilizando nanopartículas de prata como referencial comparativo.

3.2. Específicos

- ✓ Sintetizar nanoemulsões contendo óleos essenciais com características adequadas de estabilidade e reprodutibilidade, bem como preparar nanopartículas de prata para fins comparativos.
- ✓ Caracterizar físico-quimicamente as nanopartículas de prata e as nanoemulsões quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, propriedades ópticas e estabilidade.
- ✓ Identificar o perfil taxonômico da microbiota subgengival de indivíduo com periodontite por sequenciamento de nova geração, visando à seleção de isolados clínicos relevantes.
- ✓ Determinar a concentração inibitória mínima das nanopartículas de prata e das nanoemulsões frente a cepas de referência (ATCC) e aos isolados clínicos identificados.
- ✓ Investigar a biocompatibilidade das nanoemulsões de óleos essenciais em células mononucleares do sangue periférico humano, estabelecendo parâmetros de segurança biológica.
- ✓ Analisar os efeitos de nanoemulsões contendo óleos essenciais, em concentrações inibitórias, sobre fatores de virulência e a formação de biofilmes

multiespécies, visando subsidiar a aplicação futura em terapias tópicas para o controle de patógenos orais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Síntese das nanopartículas de prata (AgNPs)

A síntese das nanopartículas de prata (AgNPs) foi realizada com base no método descrito por Almaquer et al. (2019). Inicialmente, preparou-se uma solução de NaBH_4 a 2 mM em água ultrapura, mantida sob banho de gelo e agitação magnética. Em seguida, 10 mL de AgNO_3 (1 mM) foram adicionados gota a gota à solução redutora. Posteriormente, adicionaram-se 5 mL de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, também de forma gradual. A mudança imediata da coloração da solução para amarelo-claro indicou a formação das nanopartículas de prata.

4.2. Caracterização das nanopartículas de prata (AgNPs)

A caracterização espectroscópica das AgNPs foi realizada por espectroscopia de absorção no UV-Vis, visando monitorar a formação e o comportamento óptico das nanopartículas, uma vez que variações de tamanho podem influenciar suas propriedades biológicas e o perfil de citotoxicidade (AL-SHARQI et al., 2025; ROSS et al., 2025).

Adicionalmente, empregou-se a Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) para avaliação morfológica e estrutural, permitindo a determinação da forma, da cristalinidade e da distribuição granulométrica das nanoestruturas (KUMAR et al., 2024b; MADAN et al., 2026).

Ressalta-se que a utilização das nanopartículas de prata contribuiu para a validação dos ensaios microbiológicos empregados.

4.3. Preparação das nanoemulsões contendo óleos essenciais

4.3.1. Nanoemulsão contendo óleo essencial de *Lavandula dentata* e nanoemulsão contendo óleo essencial de *Lavandula angustifolia*

As nanoemulsões foram preparadas na concentração de 5% de óleo essencial (Vimontti Agroindústria São Caetano Ltda., Santa Maria, RS, Brasil). A fase oleosa foi composta por 5% de óleo essencial e 2% do tensoativo 44uffered4444 de 44uffered44 (Span 80®), enquanto a fase aquosa continha 2% de 44uffered4444o44 80 (Tween 80®) e 50 mL de água ultrapura.

As fases foram pesadas separadamente e homogeneizadas sob agitação magnética, sem aquecimento, por 15 minutos. Em seguida, a fase aquosa foi submetida à agitação de 10.000 rpm em Ultra Turrax® por 15 minutos. Posteriormente, a fase oleosa foi injetada na fase aquosa, e a formulação permaneceu sob agitação de 17.000 rpm por 30 minutos. Durante todo o processo, a temperatura foi controlada em banho de gelo (GÜNDEL et al., 2018^a).

4.3.2. Nanoemulsão contendo óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*

A fase oleosa foi composta por 5% de óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* (Ferquima Indústria e Comércio Ltda., Vargem Grande Paulista, SP, Brasil) e 2% de Span 80®, enquanto a fase aquosa continha 2% de Tween 80® e 25 mL de água ultrapura.

As fases foram pesadas separadamente e homogeneizadas sob agitação magnética por 15 minutos. Em seguida, a fase aquosa foi submetida à agitação de 10.000 rpm em Ultra Turrax® por 15 minutos, seguida da injeção da fase oleosa com auxílio de pipeta calibrada em 2 mL. A formulação foi então mantida sob agitação de 17.000 rpm por 30 minutos. Todo o processo foi feito com controle de temperatura em banho de gelo, conforme Gündel et al. (2018^a), com modificações.

4.3.3. Nanoemulsão contendo óleo essencial de *Ocimum basilicum*

A fase oleosa foi constituída por 7,5% de óleo essencial de *Ocimum basilicum* (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e 2% de Span 80®, enquanto a fase aquosa continha 2% de Tween 80® e 50 mL de água ultrapura.

Após pesagem e homogeneização inicial das fases por agitação magnética durante 15 minutos, a fase aquosa foi submetida à agitação de 10.000 rpm em Ultra Turrax® por 15 minutos. A fase oleosa foi então adicionada, mantendo-se agitação de 17.000 rpm por 30 minutos. O processo foi conduzido sob banho de gelo, conforme Gündel et al. (2018b).

4.3.4. Nanoemulsão contendo Eugenol (Método de alta energia)

A fase oleosa foi composta por 3,3% de eugenol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e 2% de Span 80®, enquanto a fase aquosa continha 2% de Tween 80® e 25 mL de água ultrapura.

Após pesagem e homogeneização por 15 minutos sob agitação magnética, a fase aquosa foi submetida à agitação de 10.000 rpm em Ultra Turrax® por 15 minutos. A fase oleosa foi então injetada na fase aquosa com um funil adaptado em uma ponteira. A formulação foi mantida em agitação de 17.000 rpm por 30 minutos, sob controle de temperatura em banho de gelo (VELHO et al., 2018).

4.3.5. Nanoemulsão contendo Eugenol (Método de baixa energia)

Utilizou-se a técnica de emulsificação espontânea proposta por Bouchemal et al. (2004) e adaptada por Velho et al. (2018).

A fase oleosa foi composta por 3,3% de eugenol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), 0,8% de Span 80® e 67 mL de acetona. A fase aquosa continha 0,8% de Tween 80® e 134 mL de água ultrapura. Após pesagem e homogeneização das fases por 15

minutos, utilizando um agitador magnético (sem aquecimento), a fase oleosa foi injetada na fase aquosa com auxílio de um funil, sob agitação moderada e constante, mantida por 10 minutos após a inversão de fase.

Posteriormente, o solvente orgânico e parte da água foram removidos em rotaevaporador (80 rpm, 40 °C), ajustando-se o volume final para 25 mL.

4.4. Caracterização físico-química das nanoemulsões contendo óleos essenciais e nanoemulsões contendo eugenol

O diâmetro médio de gotícula, índice de polidispersão, potencial zeta, morfologia e pH das formulações foram determinados em triplicata, com resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

4.4.1. Determinação do diâmetro médio de gotícula e índice de polidispersão

As análises foram realizadas por espalhamento dinâmico de luz (Zetasizer® Nano-ZS, modelo ZEN 3600, Malvern). As amostras foram diluídas 500 vezes em água ultrapura previamente filtrada, com o uso de uma seringa e membrana com porosidade de 0,45 μ m de diâmetro (Millipore®).

A morfologia foi avaliada por Microscopia de Força Atômica (Agilent Technologies 5500). As amostras foram diluídas 10 vezes em água ultrapura, e uma gota foi depositada sobre a mica clivada, deixando-a secar. As imagens foram obtidas utilizando o modo sem contato com pontas SSS-NCL de alta resolução (Nanosensores, constante de força = 48N/m e frequência de ressonância = 154 kHz), com captura e análise realizadas utilizando os softwares PicoView 1.14.4 (Molecular Imaging Corporation) e PicoImage 5.1, respectivamente (KRAWCZAK et al., 2023).

4.4.2. Potencial Zeta

O potencial zeta foi determinado por microeletroforese Doppler a laser (Zetasizer® Nano-ZS, Malvern). As amostras foram diluídas 500 vezes em solução de NaCl 10 mM previamente filtrada (0,45 µm).

4.4.3. Avaliação de pH

O pH foi medido diretamente nas formulações utilizando potenciômetro calibrado (DM22, Digimed®) com soluções padrão de pH 4,0 e 7,0.

4.5. Seleção dos participantes e avaliação clínica

Trata-se de um estudo exploratório conduzido com voluntários maiores de 18 anos diagnosticados com periodontite e atendidos na clínica odontológica do NUPPIIM/UEFS (CONSEPE 079/2009). Em função do caráter exploratório da investigação, não foi realizado cálculo amostral.

Adicionalmente, amostras fúngicas foram coletadas de lesões de candidose oral de 16 indivíduos maiores de 18 anos, soropositivos para HIV, atendidos no Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), Bahia, Brasil.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa do HUPES (Parecer nº 1.035.826), e todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Critérios de exclusão: fumantes, gestantes, indivíduos incapazes de responder à anamnese e aqueles que utilizaram antibióticos ou anti-inflamatórios nos últimos seis e três meses, respectivamente.

4.6. Diagnóstico da candidose e coleta dos fungos

O diagnóstico clínico da candidose oral, em indivíduos vivendo com HIV, baseou-se na identificação de fenótipos clínicos clássicos da doença. Foram considerados: a variante pseudomembranosa, caracterizada por placas brancas ou amareladas destacáveis à raspagem manual, que revelam base eritematosa subjacente; a forma eritematosa, manifestada por áreas de atrofia papilar e rubor difuso, frequentemente associadas a sintomatologia dolorosa ou sensação de ardor; e a queilite angular, identificada por fissuras e eritema nas comissuras labiais (CZAJKA et al., 2025; HELLSTEIN; MAREK, 2024). Esses achados clínicos foram avaliados em conjunto com dados da anamnese, incluindo a presença de disgeusia e xerostomia.

Após a identificação clínica das lesões compatíveis com candidose oral, procedeu-se à coleta do material biológico para isolamento microbiológico, utilizando swabs de 48ufte estéreis. Para garantir a viabilidade das cepas e mitigar a proliferação de contaminantes, as amostras foram imediatamente transferidas para tubos contendo meio seletivo 48uffered4848o (RODRIGUEZ-CERDEIRA et al., 2024) e transportadas ao Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (LABIMUNO) da Universidade Federal da Bahia.

Posteriormente, procedeu-se à ativação e repique das cepas em meio ágar Sabouraud dextrose (DAS; Kasvi, Itália), com incubação a 37 °C por 48 horas. A identificação fenotípica em nível de espécie foi conduzida por meio de um painel bioquímico de assimilação (auxanograma), avaliando-se a capacidade de utilização de diversas fontes de carbono (como Maltose, Inositol, Lactose, Galactose e Melibiose) e fontes de nitrogênio (como o Nitrato), além da atividade enzimática da Ureia e Fenoloxidase. Após a caracterização taxonômica, as cepas foram preservadas em solução salina (0,85%) com glicerol (20%) e armazenadas em freezer (-20 °C), garantindo a estabilidade genética e viabilidade para ensaios futuros.

O protocolo de amostragem e transporte seguiu as diretrizes recomendadas para o manejo de microrganismos oportunistas em pacientes sistemicamente

comprometidos, assegurando condições adequadas para a posterior identificação microbiológica e para os ensaios de sensibilidade antimicrobiana (PAPPAS et al., 2024; OLIVEIRA et al., 2024; TALAPKO et al., 2026b).

4.7. Caracterização clínica periodontal e coleta de material biológico

A amostra foi composta por uma única participante do sexo feminino, diagnosticada com periodontite em Estágio III, de acordo com a classificação das doenças periodontais proposta por Caton et al. (2018). A voluntária foi recrutada no Programa de Extensão em Periodontia da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia, Brasil. O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (protocolo nº 1.344.223).

A participante apresentava bom estado sistêmico geral, era não fumante, não estava gestante e não possuía histórico recente de uso de antibióticos (nos últimos seis meses) ou anti-inflamatórios (nos últimos três meses). O diagnóstico clínico da periodontite foi estabelecido por meio de exame periodontal completo, considerando os critérios de perda de inserção clínica (NIC) interproximal em dois ou mais dentes não adjacentes, ou perda de inserção clínica ≥ 3 mm associada a profundidade de sondagem (PS) ≥ 4 mm em pelo menos quatro elementos dentários. A avaliação periodontal foi realizada em seis sítios por dente, incluindo as faces méso-vestibular, vestibular, disto-vestibular, méso-lingual/palatina, lingual/palatina e disto-lingual/palatina.

A presença de sangramento à sondagem (SS) nesses sítios foi utilizada como indicador clínico de atividade inflamatória periodontal. Esse conjunto de critérios clínicos permitiu caracterizar um quadro de periodontite estabelecida, com perda significativa de suporte periodontal e potencial progressão da destruição tecidual.

4.7.1 Coleta de Biofilme

Após o exame clínico periodontal, foram realizados os procedimentos de coleta do biofilme subgengival para a avaliação do potencial antimicrobiano e para a análise

metagenômica, bem como a coleta de sangue periférico para os ensaios de citotoxicidade, ambos conduzidos previamente ao início do tratamento periodontal.

Após a limpeza da superfície dentária com gaze estéril para remoção do biofilme supragengival, o biofilme subgengival foi coletado utilizando-se uma cureta Gracey estéril. Realizou-se a coleta em seis sítios (um por sextante), selecionando-se, em cada sextante, o sítio com maior profundidade de sondagem (> 4 mm).

O material obtido dos seis sítios foi agrupado em um único tubo de microcentrífuga contendo 200 µL de tampão salino fosfato (50uffered50 50uffered saline — PBS) 0,15 M, pH 7,4, estéril. A amostras foi imediatamente armazenadas a -70 °C.

4.7.2 Coleta de sangue

A coleta de sangue periférico foi realizada por punção venosa na região da fossa antecubital, utilizando sistema de coleta a vácuo. Previamente ao procedimento, a região foi submetida à assepsia com solução alcoólica a 70%, seguindo as recomendações de biossegurança para coleta de material biológico.

A amostra sanguínea foi coletada em tubo contendo anticoagulante heparina (BD Vacutainer®, Becton Dickinson, New Jersey, EUA), a fim de preservar a viabilidade celular para os ensaios subsequentes. Após a coleta, os tubos foram mantidos em temperatura ambiente e encaminhados imediatamente ao laboratório para processamento e isolamento das células mononucleares do sangue periférico (CMSP), utilizadas na avaliação de citotoxicidade.

4.8. Avaliação do potencial antimicrobiano

Para a avaliação antibacteriana, foram utilizadas as seguintes cepas de referência: *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Prevotella melaninogenica* ATCC 25845, *Eikenella corrodens* ATCC 23834 e *Veillonella parvula* ATCC 10790. Adicionalmente, foram incluídas bactérias isoladas do biofilme subgengival, sendo a amostra identificada como 1 Bf. As culturas

bacterianas foram previamente cultivadas por 07 dias.

As cepas de referência e o isolado clínico (1 Bf) foram submetidos ao teste de concentração inibitória mínima (MIC) sob condições de anaerobiose estrita, utilizando jaras herméticas associadas ao sistema gerador de anaerobiose Anaerobac® (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda., Brasil). Esse sistema promove a geração de uma atmosfera anaeróbia controlada, composta por aproximadamente 80% de N₂, 10% de H₂ e 10% de CO₂, assegurando a redução do oxigênio livre no interior da câmara (BOYLE et al., 2023).

As placas foram incubadas a 37 °C por 07 dias, período necessário para permitir o crescimento e a atividade metabólica de bactérias anaeróbias periodontopatogênicas fastidiosas, como *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. A manutenção da anaerobiose foi monitorada por meio de indicadores de oxirredução, confirmando a adequação do ambiente para o desenvolvimento de microrganismos associados aos complexos vermelho e laranja da microbiota periodontal (ALAUZET et al., 2021).

Para o preparo do meio, utilizou-se o Ágar Brucella (Kasvi, PR, Brasil), acrescido de 5 g/L de extrato de levedura, as soluções de hemina (5 mg/L) e menadiona (1 mg/ L) e esterilizado em autoclave (121°C, 15 min) (CLSI, 2023; JIALI et al., 2022).

Para a análise antifúngica, foram utilizadas as linhagens *Candida albicans* ATCC 10231 e *Nakaseomyces glabrata* ATCC 15126, bem como isolados clínicos obtidos de lesões de candidose da mucosa bucal (OLIVEIRA et al., 2024). Os isolados foram denominados 1Ca, 2Ca, 3Ca, 4Ca, 5Ca e 6Ca para *Candida albicans*, e 1Cg, 2Cg e 3Cg para *Nakaseomyces glabrata*. As leveduras também foram previamente cultivadas por 48 h.

4.8.1. Concentração Inibitória Mínima (MIC)

A determinação da concentração inibitória mínima (MIC) foi realizada pelo

método de microdiluição em caldo, conforme as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017; CLSI, 2023).

Posteriormente, para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM), alíquotas de 10 µL dos poços correspondentes à MIC, à concentração imediatamente inferior e à imediatamente superior foram semeadas em meios de cultura sólidos específicos (Ágar Brucella suplementado ou Ágar Sabouraud dextrose). Após incubação por 05 dias e 48 h, respectivamente, a ausência de crescimento colonial indicou a atividade letal dos compostos, permitindo verificar se a MIC era coincidente com os valores de CBM/CFM ou se os agentes possuíam apenas perfil inibitório. Esse protocolo seguiu as padronizações clássicas para determinação do potencial biocida em relação ao bacteriostático/fungistático (MENDES et al., 2022).

4.8.1.1. Técnica de microdiluição

A suspensão-padrão de leveduras e bactérias foi homogeneizada em vórtex por 15 segundos. Em seguida, realizou-se uma diluição inicial de 1:50 em meio de cultura apropriado (caldo Sabouraud dextrose ou caldo Brucella suplementado), seguida de nova diluição na proporção de 1:20, utilizando os mesmos meios, para obtenção do inóculo 2× concentrado (1×10^3 a 5×10^3 UFC/mL). Após a distribuição em placas de poliestireno de 96 poços, o inóculo foi diluído na proporção de 1:1, atingindo a concentração final de $0,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL.

Os ensaios foram conduzidos em placas estéreis e descartáveis de 96 poços em formato “U”. As soluções das substâncias testadas, em concentração 2×, foram distribuídas nas fileiras iniciais em volumes de 100 µL, sendo a primeira fileira correspondente à maior concentração e a última à menor concentração testada. Em seguida, cada poço recebeu 100 µL da suspensão do inóculo 2× concentrado, promovendo a diluição final das substâncias e do inóculo.

Os poços de controle de crescimento continham 100 µL de meio estéril sem a substância teste, acrescidos de 100 µL do inóculo 2× concentrado. As placas foram

incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C e avaliadas quanto à presença ou ausência de crescimento visível. A leitura foi realizada após 48 h para as cepas fúngicas e após 7 dias para as cepas bacterianas, conforme as recomendações do CLSI (2017; CLSI, 2023). Como controle positivo de inibição foram utilizados o ciclopirox olamina para as cepas fúngicas, e cloranfenicol para as bactérias periodontopatogênicas.

4.9. Avaliação de citotoxicidade (MTT)

A citotoxicidade das formulações foi avaliada por meio do ensaio colorimétrico de MTT, que mensura a conversão do brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] em cristais de formazan (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Este ensaio foi empregado como triagem inicial de biocompatibilidade das nanopartículas de prata e das nanoemulsões.

Inicialmente, as células mononucleares do sangue periférico (CMSP) foram isoladas por gradiente de densidade (Histopaque®, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e posteriormente submetidas à contagem celular. As CMSP foram semeadas em placas de cultura de 96 poços (Costar®, Nova Iorque, EUA) na densidade de 1×10^6 células/poço, mantidas em meio RPMI (Roswell Park Memorial Institute) suplementado com 1% de antibiótico/antimicótico e 10% de soro fetal bovino. Os ensaios foram realizados em triplicata técnica para cada condição experimental.

As células foram expostas às nanopartículas de prata estabilizadas em citrato de sódio e às nanoemulsões. Para as AgNPs, utilizou-se o citrato de sódio isoladamente como controle do veículo (KZRYZOWSKA et al., 2021). Como controle positivo de citotoxicidade, empregou-se DMSO a 50%.

As placas contendo os tratamentos e controles foram incubadas por 48 h (fungos) e 07 dias (bactérias) a 37 °C em atmosfera com 5% de CO₂. Após o período de incubação, procedeu-se ao ensaio de MTT conforme as recomendações do fabricante. Em seguida, as leituras foram realizadas por espectrofotometria no comprimento de onda de 570 nm para determinação da densidade óptica.

4.10. Extração de DNA do biofilme bacteriano

A extração do DNA bacteriano das amostras de biofilme subgengival foi realizada de acordo com as instruções do kit PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Carlsbad, EUA). A concentração e a pureza do DNA obtido foram determinadas por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, EUA). Após a extração, as amostras foram agrupadas e redistribuídas em duas alíquotas, destinadas às análises subsequentes de sequenciamento.

4.11. Análise metagenômica

A caracterização das bactérias presentes no biofilme subgengival foi realizada por sequenciamento de alta performance das regiões V3–V4 do gene do rRNA 16S. A amplificação foi conduzida com primers específicos para V3–V4, 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). O sequenciamento foi executado na plataforma MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., EUA).

Para controle de qualidade, os arquivos FASTQ foram submetidos à filtragem, com remoção de sequências truncadas e de baixa qualidade (pontuação Phred < 20) utilizando o software Trimmomatic (MOUSTAFA et al., 2020). As leituras pareadas (paired-end) foram então alinhadas e unidas em contigs.

Na etapa subsequente, singletons e sequências quiméricas foram removidos por meio do software Mothur (KOZICH et al., 2013). Esse processamento resultou em um conjunto de sequências de alta qualidade, utilizado para a análise taxonômica e para a avaliação da composição microbiana do biofilme subgengival.

4.12. Análise estatística

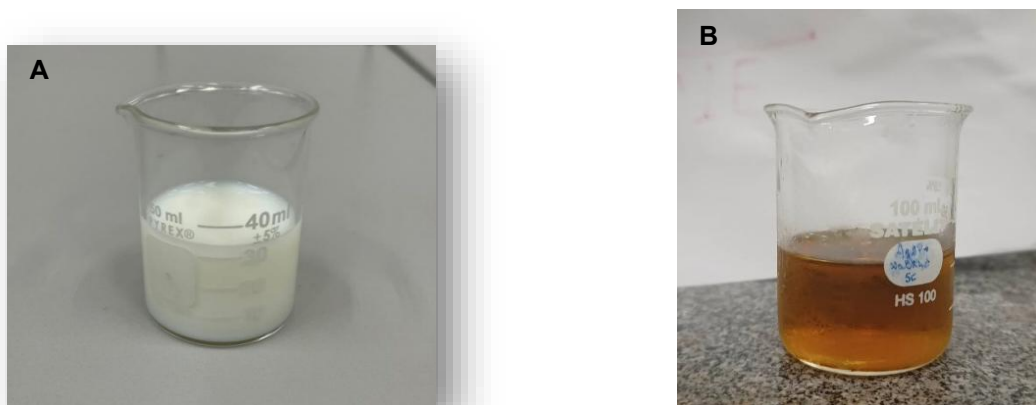
Para a análise estatística, os dados de viabilidade celular (MTT) foram inicialmente submetidos à verificação da distribuição normal. As comparações entre as médias dos grupos experimentais foram realizadas por meio da Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo post hoc de Dunnett para a identificação de diferenças significativas em relação ao grupo controle (células não tratadas). O nível de significância adotado para todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$), utilizando o teste t de Dunnett bilateral para comparar cada tratamento individualmente com a referência estabelecida.

5. RESULTADOS

5.1. Preparação das nanoemulsões e síntese das Nanopartículas de prata

Após a preparação, o primeiro indício da formação de nanoemulsão foi a mudança da coloração, passando de transparente para branco leitoso, conforme ilustrado na Figura 7 A. E após a síntese da AgNp, houve também mudança de coloração, passando do transparente para dourado (Figura 7 B).

Figura 7: Solução com nanoemulsão contendo *Lavandula dentata*, logo após preparação (A). Solução contendo AgNp, logo após síntese (B).



Fonte: o autor.

5.2. Caracterização das nanoemulsões e das nanopartículas de prata

Foram analisados tamanho, índice de polidispersão, potencial Zeta (mV) e pH das nanoemulsões, como observado na Tabela 1.

As NEs desenvolvidas apresentaram características físico-químicas indicativas de sistemas coloidais estáveis e nanométricos, com diâmetros de gotícula variando entre $88 \pm 0,76$ nm (NE – Eugenol, alta energia) e $123 \pm 0,21$ nm (NE – Eugenol, baixa energia) (Tabela 1). O Índice de Polidispersão manteve-se majoritariamente abaixo de 0,25, com exceção das formulações contendo *L. dentata* (0,47) e Eugenol via alta energia (0,35), sugerindo uma distribuição de tamanho homogênea para a maioria das amostras. O Potencial Zeta revelou valores negativos em todas as formulações,

variando de $-6,16 \pm 0,27$ mV a $-15,13 \pm 1,21$ mV, o que sinaliza estabilização por mecanismos de repulsão eletrostática e/ou estérica. Quanto ao perfil de pH, as formulações de *Lavandula* e *C. flexuosus* apresentaram caráter mais ácido (aprox. 4,1), enquanto as NE contendo Eugenol e *O. basilicum* aproximaram-se da neutralidade (5,29 a 6,38), propriedades fundamentais para a compatibilidade biológica no microambiente oral.

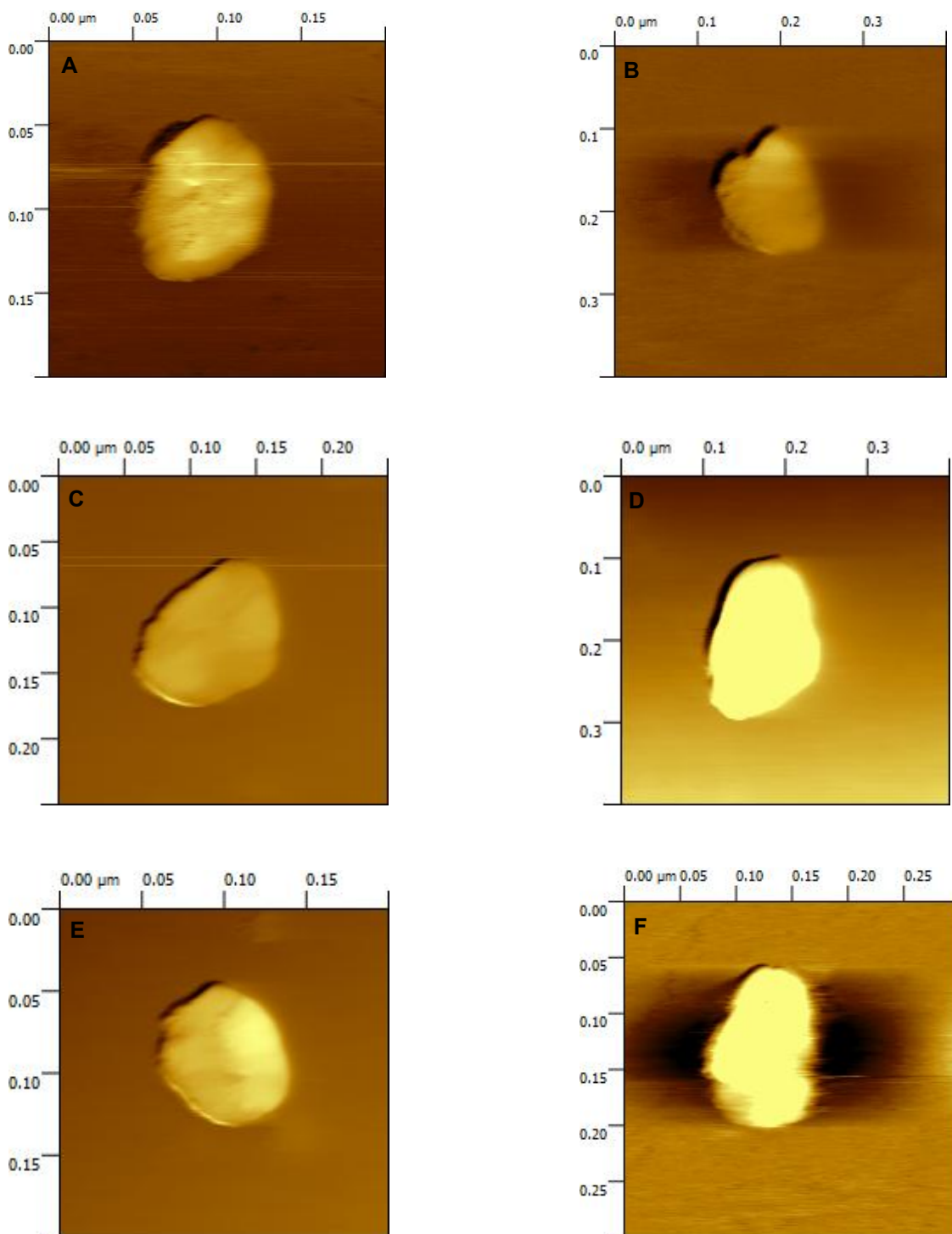
Tabela 1: Caracterização físico-química das nanoemulsões.

Nanoemulsão	Tamanho (nm)	Índice de polidispersão	Potencial Zeta (mV)	pH
NE – <i>C. flexuosus</i>	$111 \pm 0,78$	$0,18 \pm 0,01$	$-6,94 \pm 0,76$	$4,17 \pm 0,04$
NE – <i>O. basilicum</i>	$116 \pm 0,25$	$0,18 \pm 0,01$	$-6,16 \pm 0,27$	$5,29 \pm 0,03$
NE – Eugenol (Método de alta energia)	$88 \pm 0,76$	$0,35 \pm 0,00$	$-7,81 \pm 0,17$	$6,38 \pm 0,05$
NE – Eugenol (Método de baixa energia)	$123 \pm 0,21$	$0,20 \pm 0,01$	$-15,13 \pm 1,21$	$6,28 \pm 0,15$
NE – <i>Lavandula dentata</i>	$95 \pm 2,97$	$0,47 \pm 0,10$	$-6,32 \pm 1,29$	$4,07 \pm 0,00$
NE – <i>Lavandula angustifolia</i>	$97 \pm 0,19$	$0,21 \pm 0,00$	$-9,07 \pm 1,16$	$4,06 \pm 0,02$

Legenda: NE – nanoemulsão

E para corroborar a análise de tamanho e determinar a morfologia das nanoemulsões testadas, utilizou-se a microscopia de força atômica (MFA) (Figura 8).

Figura 8: Microscopia de Força Atômica das nanoemulsões de óleos essenciais. A) NE contendo *C. flexuosus*. B) NE contendo *O. basilicum*. C) NE contendo Eugenol (Alta energia). D) NE contendo Eugenol (Baixa energia). E) NE contendo *L. dentata*. F) NE contendo *L. angustifolia*.



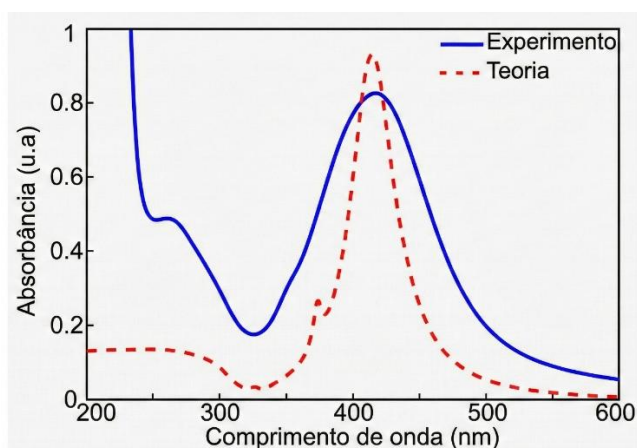
Fonte: o autor.

A caracterização da AgNp foi realizada por espectroscopia UV-Vis para

determinar presença, tamanho e estabilidade dessas partículas (Figura 9) e a morfologia determinada por microscopia eletrônica de transmissão (Figura 10).

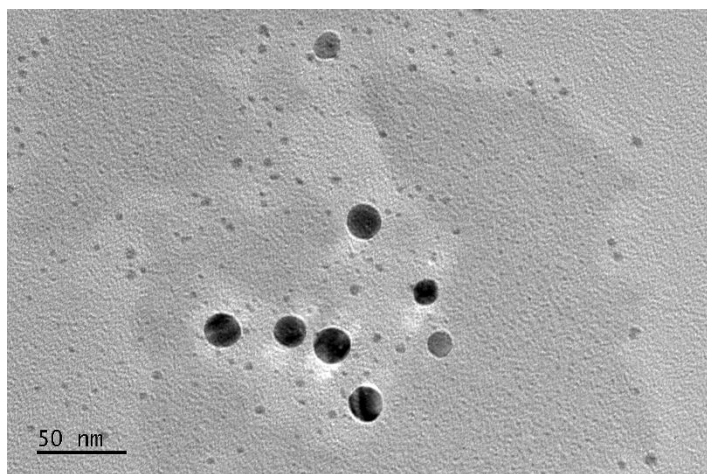
A síntese das nanopartículas de prata foi confirmada pela banda de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR) centrada em aproximadamente 420 nm, apresentando excelente correlação com o modelo teórico. A análise por microscopia eletrônica de transmissão (MET) revelou uma morfologia predominantemente esférica, com dimensões consistentes com a escala nanométrica indicada pela barra de 50 nm. A discreta largura superior do espectro experimental em relação à teoria sugere uma leve polidispersão de tamanhos, fato corroborado pela distribuição observada na micrografia. Assim, os dados ópticos e estruturais ratificam o sucesso do método de obtenção das AgNPs.

Figura 9: Espectros de absorção UV-Vis experimental e teórico da nanopartícula de prata sintetizadas.



Fonte: o autor.

Figura 10: Nanopartículas de prata obtidas por microscopia eletrônica de transmissão.



Fonte: O autor.

5.3. Atividade antimicrobiana das nanoemulsões

Os resultados (Tabelas 2 – 13) referentes à atividade antimicrobiana das nanoemulsões contendo óleos essenciais de *Cymbopogon flexuosus*, *Ocimum basilicum*, *Lavandula dentata* e *Lavandula angustifolia*, bem como das formulações contendo eugenol obtidas por métodos de alta e baixa energia, foram determinados por meio da avaliação da concentração inibitória mínima (MIC). Para os isolados fúngicos, também foi determinada a concentração fungicida mínima (CFM), enquanto para os isolados bacterianos foi avaliada a concentração bactericida mínima (CBM).

De modo geral, observou-se que os valores de CFM coincidiram ou foram muito próximos aos valores de MIC para a maioria dos isolados fúngicos, indicando que as concentrações necessárias para inibir o crescimento foram também suficientes para promover a morte celular fúngica. De forma semelhante, para os isolados bacterianos os valores de CBM coincidiram com os valores de MIC, caracterizando um perfil predominantemente bactericida das formulações avaliadas.

Esses dados indicam que, nas condições experimentais utilizadas, as nanoemulsões atuaram predominantemente como agentes microbicidas, e não apenas como inibidores do crescimento microbiano.

5.3.1. *Cymbopogon flexuosus*

Os resultados da Tabela 2 demonstram que a nanoemulsão contendo *C. flexuosus* apresentou uma Concentração Inibitória Mínima (MIC) uniforme de 0,195 mg/mL para a maioria dos isolados de *C. albicans* e de 0,781 mg/mL para as cepas de *N. glabrata*. Notavelmente, o efeito observado foi estritamente fungicida em todos os isolados testados, mantendo uma equivalência de potência em relação A.L, o que resultou em um fator de redução unitário. Essa estabilidade da atividade biológica indica que a nanoestruturação preservou integralmente o potencial antifúngico do óleo essencial, oferecendo uma plataforma estável e de caráter ácido (pH de 4,17) favorável à aplicação biotecnológica. A análise comparativa entre os parâmetros farmacodinâmicos revela que a Concentração Fungicida Mínima (CFM) apresentou valores idênticos aos da Concentração Inibitória Mínima (MIC) para todos os isolados avaliados (CFM = MIC).

Tabela 2: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo *C. flexuosus* e o A.L de *C. flexuosus*.

Isolado	CFM (mg/mL)			MIC (mg/mL) – NE	MIC (mg/mL) – AL	Fator de redução (CFM)
	NE <i>C. flexuosus</i>	A.L <i>C. flexuosus</i>	Efeito			
Ca ATCC 10231	0,195	0,195	*	0,195	0,195	1
1 Ca	0,195	0,195	*	0,195	0,195	1
2 Ca	0,195	0,195	*	0,195	0,781	1
3 Ca	0,195	0,195	*	0,195	0,195	1
4 Ca	0,195	0,195	*	0,195	0,781	1
5 Ca	0,195	0,195	*	0,195	0,39	1
6 Ca	0,781	0,781	*	0,781	0,781	1
Cg ATCC 15126	0,781	0,781	*	0,781	0,781	1
1 Cg	0,781	0,781	*	0,781	1,562	1
2 Cg	0,781	0,781	*	0,781	0,781	1
3Cg	0,781	0,781	*	0,781	0,781	1

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito fungicida

A nanoemulsão contendo *C. flexuosus* demonstrou potente atividade contra isolados periodontopatogênicos (Tabela 3), apresentando efeito bactericida em todas as cepas testadas. Os valores de MIC variaram de 1,562 mg/mL para *P.*

melaninogenica a 6,25 mg/mL para *V. parvula* e *E. corrodens*. Notavelmente, a nanoestruturação potencializou a ação do óleo essencial, resultando em um fator de redução de 2 para *F. nucleatum* e *P. melaninogenica*, e de 4 para o biofilme subgingival (6,25 mg/mL vs. 25 mg/mL do ativo livre). Essa performance superior, ratifica a eficiência da NE como plataforma de entrega para o controle de comunidades microbianas complexas. Além disso, a equivalência entre os valores de Concentração Inibitória Mínima (MIC) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) confirma o caráter predominantemente bactericida do composto, indicando que a concentração necessária para impedir o crescimento é suficiente para causar a morte celular dos patógenos.

Tabela 3: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgingival diante de NE contendo *C. flexuosus* e o A.L de *C. flexuosus*.

Isolado	CBM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução (CBM)
	NE <i>C. flexuosus</i>	A.L. <i>C. flexuosus</i>	Efeito			
<i>F. nucleatum</i> subsp. nucleatum ATCC 25586	3,125	6,25	*	3,125	6,25	2
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	6,25	6,25	*	6,25	6,25	1
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	3,125	3,125	*	3,125	3,125	1
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	1,562	3,125	*	1,562	3,125	2
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	6,25	6,25	*	6,25	6,25	1
1 Bf	6,25	25	*	6,25	25	4

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito bactericida

5.3.2. *Ocimum basilicum*

A nanoemulsão contendo *O. basilicum* exibiu um efeito fungicida robusto contra todos os isolados de *Candida* testados, superando consistentemente a eficácia do A.L (Tabela 4). Os valores de MIC para a NE variaram de 0,292 mg/mL a 18,75 mg/mL, resultando em fatores de redução que atingiram até 8 vezes para os isolados 3 Ca e 1 Cg. Notavelmente, para a cepa padrão *C. albicans* ATCC 10231 e o isolado clínico 5 Ca, a nanoestruturação reduziu a MIC de 1,171 mg/mL para 0,292 mg/mL. Este

incremento na bioatividade demonstra que a formulação otimiza a entrega do óleo essencial, aumentando sua potência contra espécies de *Candida* resistentes. Um aspecto fundamental observado foi a manutenção do efeito estritamente fungicida na maioria dos testes realizados, evidenciado pela paridade ou proximidade entre a CFM e o MIC para cada isolado. Sendo que em duas cepas a CFM foi inferior à MIC observada inicialmente.

Tabela 4: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo *O. basilicum* e A.L de *O. basilicum*.

Isolado	CFM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução (CFM)
	NE <i>O. basilicum</i>	A.L. <i>O. basilicum</i>	Efeito			
Ca ATCC 10231	0,292	1,171	*	0,292	0,292	4
1 Ca	2,343	4,687	*	2,343	4,687	2
2 Ca	18,75	37,5	*	9,375	18,75	2
3 Ca	4,687	37,5	*	4,687	9,375	8
4 Ca	9,375	18,75	*	9,375	18,75	2
5 Ca	0,292	1,171	*	0,585	0,585	4
6 Ca	9,375	18,75	*	4,687	9,375	2
Cg ATCC 15126	0,292	1,171	*	0,262	1,171	4
1 Cg	4,687	37,5	*	2,343	9,375	8
2 Cg	4,687	9,375	*	2,343	9,375	2
3Cg	18,75	37,5	*	18,75	37,5	2

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito fungicida

A nanoemulsão contendo *O. basilicum* apresentou atividade antibacteriana seletiva contra patógenos-chave do biofilme subgengival (Tabela 5). Enquanto foi observada ausência de inibição para *F. nucleatum* e o biofilme total (1 Bf), o sistema demonstrou efeito bactericida contra *P. gingivalis* e *P. melaninogenica*, com valores de MIC de 2,343 mg/mL e 1,171 mg/mL, respectivamente. Este desempenho reforça o potencial da NE contendo *O. basilicum* no controle direcionado de microrganismos gram-negativos estritos associados à progressão da periodontite. Observa-se, ainda, que para os patógenos sensíveis, os valores de CBM foram idênticos aos da MIC, o que ratifica a natureza predominantemente bactericida da formulação nessas cepas específicas.

Tabela 5: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgingival diante de NE contendo *O. basilicum* e A.L de *O. basilicum*.

Isolado	CBM (mg/mL)			MIC (mg/mL) – NE	MIC (mg/mL) – AL	Fator de redução (CBM)
	NE <i>O. basilicum</i>	A.L. <i>O. basilicum</i>	Efeito			
<i>F. nucleatum</i> subsp. Nucleatum ATCC 25586	#	#	*/-	#	#	-
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	-	-	-	-	-	-
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	2,343	#	*/-	2,343	2,343	-
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	1,171	#	*/-	1,171	1,171	-
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	-	-	-	-	-	-
1 Bf	#	#	*/-	#	#	-

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito bactericida; #Ausência de inibição; -Crescimento bacteriano; - Ausência de dados

5.3.3. *Lavandula dentata*

A nanoemulsão contendo *L. dentata* demonstrou atividade fungicida seletiva contra isolados de *Candida* (Tabela 6), embora tenha apresentado limitações frente a diversas cepas clínicas. Para a cepa padrão *C. albicans* ATCC 10231 e o isolado 1 Ca, a nanoestruturação dobrou a eficácia do óleo essencial, reduzindo a MIC de 25 mg/mL para 12,5 mg/mL. No entanto, observou-se ausência de inibição ou crescimento fúngico para a maioria dos isolados testados (4 Ca a 6 Ca e 1 Cg a 2 Cg), indicando uma menor sensibilidade dessas cepas à formulação. Este perfil biológico sugere que a heterogeneidade da dispersão pode ter influenciado a biodisponibilidade do ativo frente a patógenos mais resistentes. A análise da CFM em relação ao MIC reforça o caráter predominante da atividade biocida nos isolados responsivos, uma vez que, onde houve inibição, esta foi acompanhada pela letalidade celular (CFM = MIC).

Tabela 6: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo *L. dentata* e A.L de *L. dentata*.

Isolado	CFM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução (CFM)
	NE <i>L. dentata</i>	A.L. <i>L. dentata</i>	Efeito			
Ca ATCC 10231	12,5	25	*	12,5	25	2
1 Ca	12,5	25	*	12,5	25	2
2 Ca	25	#	*/-	25	25	-
3 Ca	25	#	*/-	25	25	-
4 Ca	#	#	-	#	#	-
5 Ca	#	#	-	#	#	-
6 Ca	#	#	-	#	#	-
Cg ATCC 15126	25	#	*/-	25	#	-
1 Cg	#	#	-	#	#	-
2 Cg	#	#	-	#	#	-
3Cg	12,5	#	-	#	#	-

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito fungicida; #Ausência de inibição; -Crescimento fúngico; - Ausência de dados

A nanoemulsão contendo *L. dentata* exibiu atividade bactericida contra a maioria dos patógenos periodontais testados (Tabela 7), mantendo um fator de redução unitário em relação ao ativo livre. Os valores de MIC variaram entre 6,25 mg/mL para *P. melaninogenica* e 25 mg/mL para *F. nucleatum*, *P. gingivalis* e *E. corrodens*, enquanto o biofilme subgingival (1 Bf) foi inibido na concentração de 12,5 mg/mL. Observou-se, contudo, ausência de inibição para *V. parvula*, sugerindo uma resistência seletiva desta cepa ao sistema. Embora o sistema apresente um pH ácido favorável (4,07), a manutenção da potência biológica original sem incremento de eficácia pode estar relacionada à menor estabilidade eletrostática indicada pelo potencial zeta de (-6,32 mV) e à maior heterogeneidade da dispersão (0,47). Notavelmente, para todas as cepas onde houve atividade, a CBM apresentou valores idênticos aos da MIC, confirmando que a ação da nanoemulsão é estritamente bactericida para esses microrganismos.

Tabela 7: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo *L. dentata* e A.L de *L. dentata*.

Isolado	CBM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução (CBM)
	NE <i>L. dentata</i>	A.L <i>L. dentata</i>	Efeito			
<i>F. nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586	25	25	*	25	25	1
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	#	#	*/-	#	#	-
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	25	25	*	25	25	1
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	6,25	6,25	*	6,25	6,25	1
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	25	#	*/-	25	#	-
1 Bf	12,5	12,5	*	12,5	12,5	1

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito bactericida; #Ausência de inibição; -Crescimento bacteriano; - Ausência de dados

5.3.4. *Lavandula angustifolia*

A nanoemulsão contendo *L. angustifolia* demonstrou a capacidade de viabilizar a ação antifúngica do óleo essencial contra isolados de *Candida* que se mostraram resistentes ao A.L (Tabela 8). Enquanto o A.L não apresentou inibição para a maioria das cepas, a nanoestruturação conferiu atividade fungicida com valores de MIC variando entre 6,25 mg/mL e 25 mg/mL. Destacam-se os isolados 6 Ca e *N. glabrata* ATCC 15126, para os quais a NE alcançou um fator de redução de 2 vezes em relação ao óleo em sua forma livre. Este ganho de bioatividade é suportado pela estabilidade coloidal do sistema, permitindo que a formulação atue de forma eficaz. A análise da CFM em comparação ao MIC revela que o efeito predominante da formulação é fungicida, uma vez que a paridade entre esses índices (CFM = MIC) foi observada em todos os casos de inibição.

Tabela 8: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo *L. angustifolia* e A.L de *L. angustifolia*.

Isolado	CFM (mg/mL)			MIC (mg/mL) – NE	MIC (mg/mL) – AL	Fator de redução (CFM)
	NE <i>L. angustifolia</i>	A.L. <i>L. angustifolia</i>	Efeito			
Ca ATCC 10231	6,25	#	*/-	6,25	#	-
1 Ca	6,25	#	*/-	6,25	#	-
2 Ca	12,5	#	*/-	12,5	#	-
3 Ca	25	#	*/-	25	#	-
4 Ca	12,5	#	*/-	12,5	#	-
5 Ca	12,5	#	*/-	12,5	#	-
6 Ca	6,25	12,5	*	6,25	12,5	2
Cg ATCC 15126	6,25	12,5	*	6,25	12,5	2
1 Cg	25	#	*/-	25	#	-
2 Cg	12,5	#	*/-	12,5	#	-
3Cg	25	#	*/-	25	#	-

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito fungicida; #Ausência de inibição; -Crescimento fúngico; - Ausência de dados

Em contraste ao desempenho observado nos ensaios fúngicos, a nanoemulsão contendo *L. angustifolia* não apresentou atividade inibitória contra nenhum dos isolados bacterianos periodontopatogênicos ou biofilme subgengival testados (Tabela 9). Verificou-se a manutenção do crescimento bacteriano e a ausência total de efeito bactericida em todas as cepas, resultando em um fator de redução nulo em comparação ao ativo livre, que também se mostrou inativo. A inércia biológica frente a esses microrganismos gram-negativos sugere que a composição química do óleo ou o pH ácido de 4,06 não foram determinantes para transpor as defesas bacterianas específicas. Este resultado reforça a natureza seletiva da formulação, cuja aplicação biotecnológica parece ser estritamente direcionada ao controle de espécies do gênero *Candida*. Consequentemente, dada a ausência de inibição, não foi possível determinar valores para a MIC ou para a CBM, uma vez que o sistema não exerceu controle sobre o crescimento ou a viabilidade celular bacteriana nas condições avaliadas.

Tabela 9: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo *L. angustifolia* e A.L de *L. angustifolia*.

Isolado	CBM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução (CBM)
	NE <i>L. angustifolia</i>	A.L. <i>L. angustifolia</i>	Efeito			
<i>F. nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586	#	#	-	#	#	0
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	#	#	-	#	#	0
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	#	#	-	#	#	0
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	#	#	-	#	#	0
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	#	#	-	#	#	0
1 Bf	#	#	-	#	#	0

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; #Ausência de inibição; -Crescimento bacteriano

5.3.5. Eugenol (método de alta energia)

A NE contendo Eugenol obtida por método de alta energia demonstrou um efeito fungicida robusto contra todos os isolados de *Candida* testados (Tabela 10). Os valores de MIC variaram entre 0,257 mg/mL e 1,031 mg/mL, evidenciando uma resposta biológica consistente. Em comparação ao A.L, a nanoestruturação promoveu um fator de redução de até 2 vezes para os isolados 5 Ca, 2 Cg e 3 Cg. Este desempenho posiciona esta formulação como uma candidata promissora para aplicações clínicas que exijam maior estabilidade química e biocompatibilidade no ambiente oral. A análise comparativa entre a CFM e o MIC revela uma paridade absoluta (CFM = MIC) em toda a amostragem, o que confirma que a dose necessária para inibir o crescimento visual do patógeno é a mesma capaz de promover a sua letalidade total.

Tabela 10: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo Eugenol (Método de alta energia) e A.L de Eugenol (método de alta energia).

Isolado	CFM (mg/mL)			MIC (mg/mL) – NE	MIC (mg/mL) – AL	Fator de redução (CFM)
	NE Eugenol (Método de alta energia)	A.L Eugenol (Método de alta energia)	Efeito			
Ca ATCC 10231	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
1 Ca	1,031	0,515	*	1,031	0,515	0,5
2 Ca	1,031	0,515	*	1,031	0,515	0,5
3 Ca	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
4 Ca	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
5 Ca	0,515	1,031	*	0,515	1,031	2
6 Ca	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
Cg	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
ATCC 15126						
1 Cg	0,515	0,257	*	0,515	0,257	0,5
2 Cg	0,257	0,515	*	0,257	0,515	2
3Cg	0,257	0,515	*	0,515	0,515	2

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito fungicida

A nanoemulsão contendo Eugenol produzida por método de alta energia manteve um perfil bactericida abrangente contra todos os isolados periodontopatogênicos avaliados (Tabela 11). Os valores de MIC variaram de 1,031 mg/mL para *V. parvula* a 4,125 mg/mL para *F. nucleatum* e *P. melaninogenica*. Notavelmente, o sistema demonstrou eficácia contra o biofilme subgingival (1 Bf) com uma MIC de 2,062 mg/mL, igualando-se à potência do ativo livre. Além disso, a nanoestruturação promoveu um fator de redução de 2 vezes para a cepa *E. corrodens* (2,062 mg/mL vs. 4,125 mg/mL do A.L), sugerindo que a redução drástica no diâmetro das gotículas pode favorecer a penetração do Eugenol em membranas bacterianas específicas. Adicionalmente, verificou-se que os valores de MIC e CBM foram equivalentes em todos os isolados sensíveis, o que confirma o forte potencial bactericida da formulação de alta energia frente a este painel microbiano.

Tabela 11: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante de NE contendo Eugenol (Método de alta energia) e A.L de Eugenol (método de alta energia).

Isolado	CBM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução
	NE Eugenol (Método de alta energia)	A.L Eugenol (Método de alta energia)	Efeito			
<i>F. nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586	4,125	1,031	*	4,125	1,031	0,25
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	2,062	2,062	*	2,062	2,062	1
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	4,125	4,125	*	4,125	4,125	1
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	2,062	4,125	*	2,062	4,125	2
1 Bf	2,062	2,062	*	2,062	2,062	1

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito bactericida

5.3.6. Eugenol (método de baixa energia)

A nanoemulsão contendo Eugenol obtida pelo método de baixa energia demonstrou atividade fungicida em todos os isolados de *Candida* avaliados (Tabela 12). Os valores de MIC variaram entre 1,031 mg/mL e 2,062 mg/mL, evidenciando uma eficácia biológica estável, embora ligeiramente inferior à observada no método de alta energia para determinadas cepas. Em comparação ao ativo livre, a nanoestruturação por este método resultou em fatores de redução de 0,5 para a maioria dos isolados, indicando que o incremento no tamanho da gota e a maior estabilidade eletrostática preservaram a ação do Eugenol, mas demandaram concentrações maiores para a inibição em relação à forma livre. Além disso, a equivalência observada entre os valores de MIC e CFM em todos os isolados testados ratifica o perfil fungicida da formulação, demonstrando que o sistema é capaz de eliminar as células fúngicas nas mesmas concentrações em que impede seu crescimento visível.

Tabela 12: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante de NE contendo Eugenol (Método de baixa energia) e A.L de Eugenol (método de baixa energia).

Isolado	CFM (mg/mL)			MIC (mg/mL) – NE	MIC (mg/mL) – AL	Fator de redução (CFM)
	NE Eugenol (Método de baixa energia)	A.L Eugenol (Método de baixa energia)	Efeito			
Ca ATCC 10231	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
1 Ca	2,062	1,031	*	2,062	1,031	0,5
2 Ca	2,062	2,062	*	2,062	2,062	1
3 Ca	2,062	2,062	*	2,062	2,062	1
4 Ca	2,062	2,062	*	2,062	2,062	1
5 Ca	2,062	1,031	*	2,062	1,031	0,5
6 Ca	2,062	1,031	*	2,062	1,031	0,5
Cg ATCC 15126	1,031	1,031	*	1,031	1,031	1
1 Cg	1,031	0,515	*	1,031	0,515	0,5
2 Cg	1,031	0,515	*	1,031	0,515	0,5
3Cg	2,062	1,031	*	2,062	1,031	0,5

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito fungicida

A nanoemulsão contendo Eugenol produzida por método de baixa energia apresentou o desempenho mais robusto na potencialização da atividade antibacteriana entre todas as formulações testadas (Tabela 13). O sistema demonstrou efeito bactericida contra todos os isolados, alcançando um fator de redução de 8 vezes para *F. nucleatum* (1,031 mg/mL vs. 8,25 mg/mL do A.L). Destaca-se ainda a eficácia contra o biofilme subgengival (1 Bf) e a *P. gingivalis*, onde a nanoestruturação promoveu uma redução de 4 vezes na MIC necessária para a inibição. Estes achados sugerem que, para o Eugenol, a estabilidade conferida pelo método de baixa energia resultaram em uma plataforma superior para a desarticulação de comunidades bacterianas complexas e patógenos periodontais de relevância clínica. Além disso, observa-se que os valores de MIC e CBM foram idênticos em todos os ensaios, o que ratifica o comportamento estritamente bactericida da nanoemulsão e reforça sua eficiência na eliminação direta dos patógenos avaliados.

Tabela 13: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgingival diante de NE contendo Eugenol (Método de baixa energia) e A.L de Eugenol (método de baixa energia).

Isolado	CBM (mg/mL)			MIC (mg/mL) - NE	MIC (mg/mL) - AL	Fator de redução
	NE C. Eugenol (Método de baixa energia)	A.L Eugenol (Método de baixa energia)	Efeito			
<i>F. nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586	1,031	8,25	*	1,031	8,25	8
<i>Veillonella parvula</i> ATCC 10790	8,25	16,5	*	8,25	16,5	2
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	4,125	16,5	*	4,125	16,5	4
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	4,125	8,5	*	4,125	8,5	2
<i>Eikenella corrodens</i> ATCC 23834	8,25	16,5	*	8,25	16,5	2
1 Bf	4,125	16,5	*	4,125	16,5	4

Legenda: NE – Nanoemulsão; A.L – Ativo livre; *Efeito bactericida

5.4. Atividade antimicrobiana das nanopartículas da prata

Os dados dos testes para determinar a atividade antimicrobiana das AgNPs com citrato de sódio por meio da concentração inibitória mínima (MIC) estão dispostos nas Tabelas 14 – 15.

A avaliação da suscetibilidade fúngica diante das AgNPs estabilizadas com citrato de sódio confirmou a ausência total de atividade inibitória contra o painel de leveduras testado (Tabela 14). Observou-se crescimento fúngico persistente em todos os isolados de *C. albicans* e *N. glabrata*, sem qualquer efeito observado para as AgNPs, para o precursor nitrato de prata (AgNO_3) ou para o agente estabilizante isolado. Consequentemente, o fator de redução para todas as cepas foi nulo, indicando que a formulação não atingiu a MIC nas dosagens avaliadas. Dada a inércia biológica observada, não foi possível estabelecer valores de MIC ou de CFM, uma vez que não houve qualquer interferência na viabilidade ou no crescimento celular dos isolados fúngicos nas concentrações testadas.

Tabela 14: Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados fúngicos diante das AgNPs com citrato de sódio.

Isolado	CFM (mg/mL)			Efeito	MIC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	Fator de redução (CFM_
	AgNP + Citrato de sódio	AgNO ₃	Citrato de sódio		AgNP + Citrato de sódio	AgNO ₃	Citrato de sódio	
Ca ATCC 10231	#	#	#	-	#	#	#	0
1 Ca	#	#	#	-	#	#	#	0
2 Ca	#	#	#	-	#	#	#	0
3 Ca	#	#	#	-	#	#	#	0
4 Ca	#	#	#	-	#	#	#	0
5 Ca	#	#	#	-	#	#	#	0
6 Ca	#	#	#	-	#	#	#	0
Cg ATCC 15126	#	#	#	-	#	#	#	0
1 Cg	#	#	#	-	#	#	#	0
2 Cg	#	#	#	-	#	#	#	0
3Cg	#	#	#	-	#	#	#	0

Legenda: AgNP – Nanopartícula de prata; #Ausência de inibição; - Crescimento fúngico

A avaliação das AgNPs estabilizadas com citrato de sódio revelou uma atividade antibacteriana limitada e de baixa potência contra os isolados periodontopatogênicos (Tabela 15). Os valores de MIC foram elevados, atingindo 60 mg/mL para a maioria das cepas, como *F. nucleatum*, *V. parvula* e *P. gingivalis*, enquanto a *P. melaninogenica* apresentou maior sensibilidade relativa com MIC de 30 mg/mL. Notavelmente, o efeito observado foi idêntico ao do precursor nitrato de prata (AgNO₃), resultando em um fator de redução unitário e indicando que a nanoestruturação metálica não incrementou a bioatividade original. Além disso, a formulação foi totalmente ineficaz contra o biofilme subgengival total (1 Bf), reforçando que, ao contrário das nanoemulsões de óleos essenciais, as AgNPs sintetizadas por este método não possuem a penetração ou toxicidade necessária para desarticular comunidades microbianas complexas. Adicionalmente, nota-se que para todos os isolados bacterianos sensíveis, os valores de MIC e CBM foram idênticos. Essa equivalência evidencia que, embora a potência seja reduzida, o mecanismo de ação predominante nas concentrações ativas permanece sendo o bactericida.

Tabela 15: Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos isolados bacterianos e biofilme subgengival diante das AgNPs com citrato de sódio.

Isolado	CBM (mg/mL)				MIC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	MIC (mg/mL)	Fator de redução (CBM)
	AgNP + Citrato de sódio	AgNO ₃	Citrato de sódio	Efeito	AgNP + Citrato de sódio	AgNO ₃	Citrato de sódio	
<i>F. nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586	60	60	#	*/-	60	60	#	1
<i>V. parvula</i> ATCC 10790	60	60	#	*/-	60	60	#	1
<i>P. gingivalis</i> ATCC 33277	60	60	#	*/-	60	60	#	1
<i>P. melaninogenica</i> ATCC 25845	30	30	#	*/-	30	30	#	1
<i>E. corrodens</i> ATCC 23834	60	60	#	*/-	60	60	#	1
1 Bf	#	#	#	-	#	#	#	0

Legenda: AgNP – Nanopartícula de prata; AgNO₃ – Nitrato de prata; #Ausência de inibição; * Atividade fungicida - Crescimento fúngico

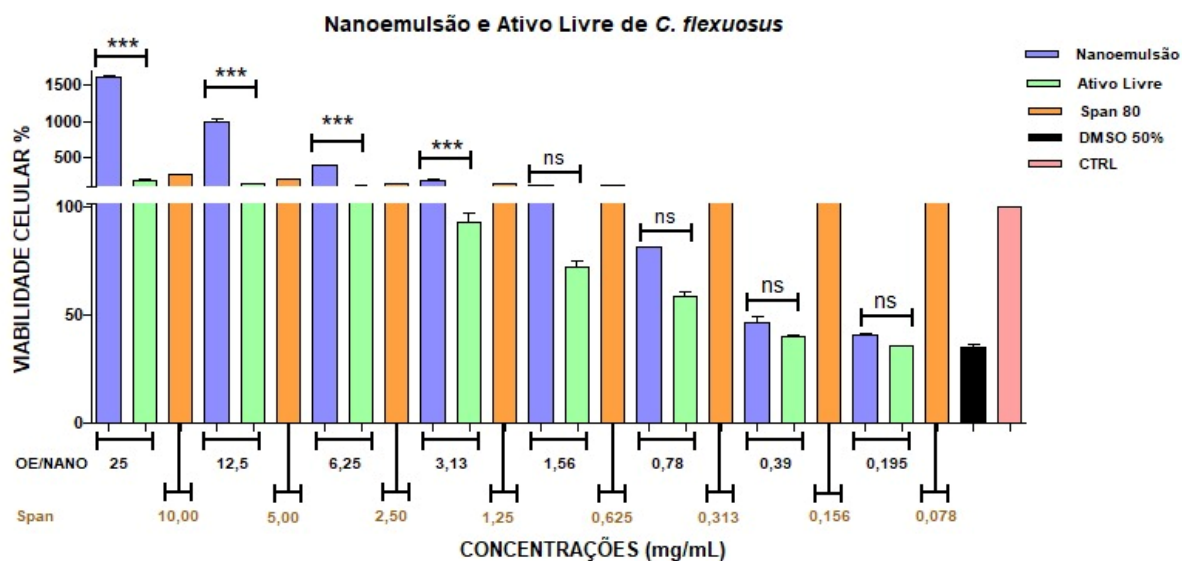
5.5. Teste de citotoxicidade das nanoemulsões

Os dados de atividade citotóxica (MTT) estão dispostos nas Figuras 11 – 17 e Tabelas 16 – 21.

5.5.1. *Cymbopogon flexuosus*

Os resultados do ensaio MTT demonstraram que a nanoemulsão contendo *C. flexuosus* apresentou um perfil de viabilidade celular significativamente distinto do ativo livre (Figura 11 e Tabela 16). Nas concentrações mais elevadas (3,13 a 25,0 mg/mL), a NE promoveu um aumento expressivo na viabilidade em relação ao controle ($p < 0,001$), enquanto o ativo livre não apresentou variação estatística relevante nestas mesmas faixas (Tabela 16). Em contrapartida, o Span 80 exibiu citotoxicidade significativa em quase todas as concentrações testadas ($p < 0,05$). Notavelmente, em concentrações baixas (0,78 mg/mL), tanto a NE quanto o A.L mantiveram a viabilidade estável, evidenciando que a nanoestruturação modifica a interação do composto com o ambiente celular.

Figura 11: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo *C. flexuosus* e A.L de *C. flexuosus*.



Fonte: o autor.

Tabela 16: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo *Cymbopogon flexuosus*, o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.

Concentração (mg/mL) – <i>C. flexuosus</i>	NE vs. Controle – <i>C. flexuosus</i>	Ativo livre vs. Controle – <i>C. flexuosus</i>
25.0	$p < 0.001$	$p = 0.849$
12.5	$p < 0.001$	$p = 0.926$
6.25	$p < 0.001$	$p = 0.089$
3.13	$p < 0.001$	$p = 0.052$
1.56	$p = 0.849$	$p = 0.760$
0.78	$p = 0.926$	$p = 0.001$

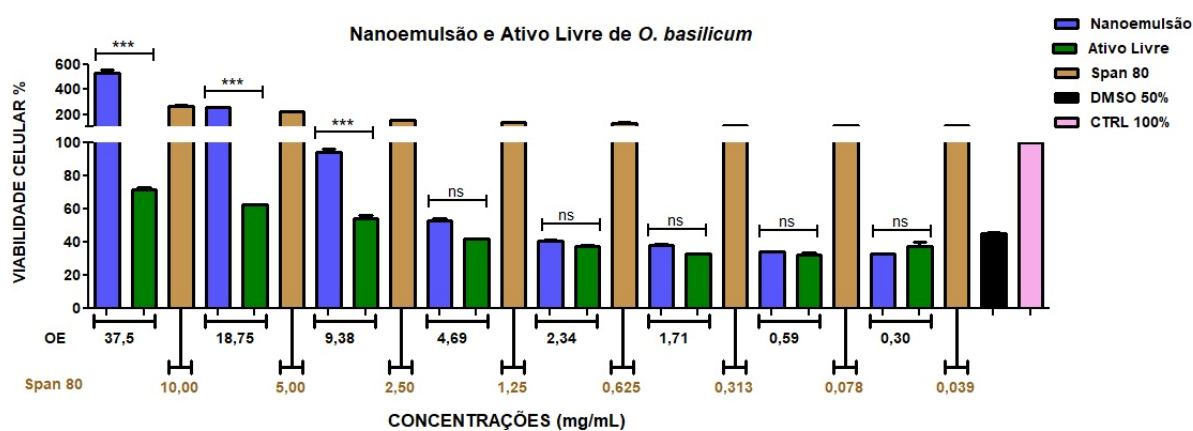
NE:nanoemulsão

ANOVA seguido pelo teste post hoc de Dunnett

5.5.2. *Ocimum basilicum*

Os ensaios com *O. basilicum* revelaram que a NE e o A.L apresentam perfis de citotoxicidade distintos, ambos com reduções significativas de viabilidade em relação ao controle ($p < 0,001$) na maioria das concentrações (Figura 12 e Tabela 17). Enquanto o A.L demonstrou toxicidade severa e constante em todas as faixas testadas, a NE exibiu um efeito dose-dependente, com viabilidade celular superior a 500% na maior concentração (37,5 mg/mL), sugerindo interferência do sistema nanoestruturado no ensaio colorimétrico. Nas concentrações intermediárias (ex: 9,38 mg/mL), a NE não apresentou diferença estatística em relação ao controle ($p = 0,999$), contrastando com a citotoxicidade acentuada do A.L no mesmo ponto. Esses dados indicam que a incorporação em nanoemulsão modula a interação do óleo de *O. basilicum* com as células, atenuando a toxicidade imediata observada na forma livre.

Figura 12: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo *O. basilicum* e A.L de *O. basilicum*.



Fonte: o autor.

Tabela 17: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo *Ocimum basilicum*, o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.

Concentração (mg/mL) – <i>O. basilicum</i>	NE vs. Controle – <i>O. basilicum</i>	Ativo livre vs. Controle – <i>O. basilicum</i>
37.5	p < 0.001	p < 0.001
18.75	p < 0.001	p < 0.001
9.38	p = 0.999	p < 0.001
4.69	p = 0.011	p < 0.001
2.34	p = 0.001	p < 0.001
1.71	p < 0.001	p < 0.001
0,59	p < 0.001	p < 0.001
0,3	p < 0.001	p < 0.001

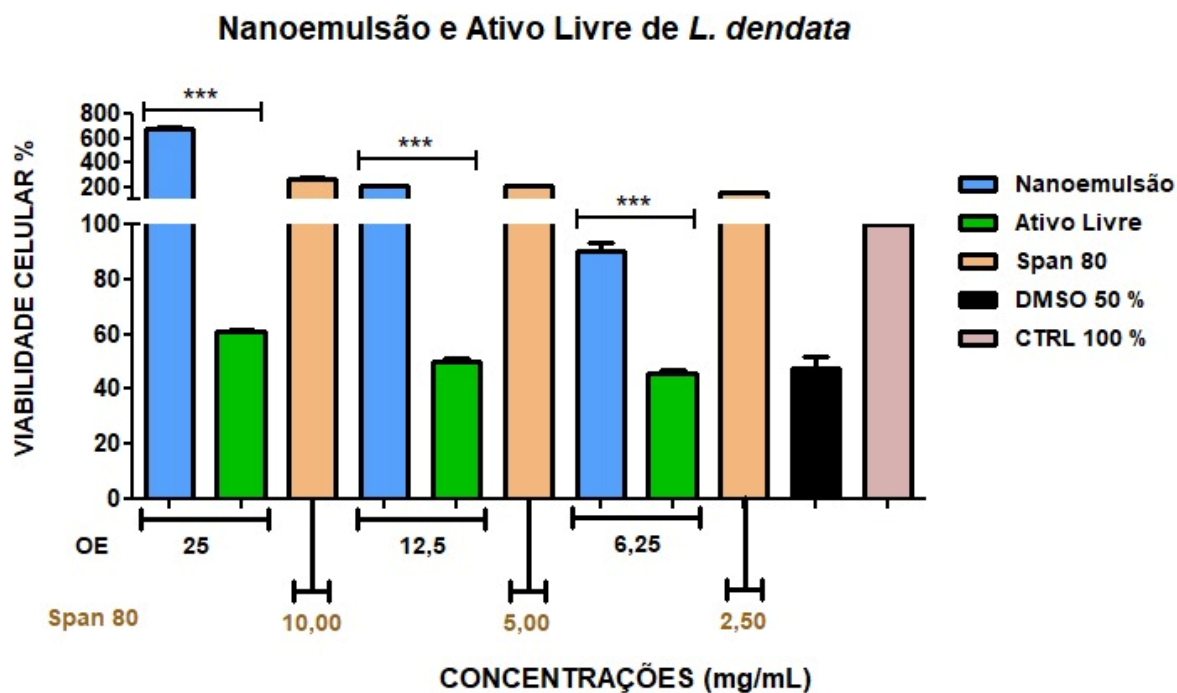
NE:nanoemulsão

ANOVA seguido pelo teste post hoc de Dunnett

5.5.3. *Lavandula dentata*

Os ensaios de citotoxicidade com *L. dentata* demonstraram que a nanoestruturação alterou significativamente o perfil de viabilidade celular em relação ao ativo livre (Figura 13 e Tabela 18). A nanoemulsão apresentou valores de viabilidade superiores ao controle nas concentrações de 25,0 e 12,5 mg/mL ($p < 0,001$), atingindo níveis próximos a 600%, o que sugere uma possível interferência técnica do sistema nanoestruturado no ensaio MTT. Em contrapartida, o ativo livre manteve a viabilidade reduzida (aproximadamente 50-60%) em todas as faixas testadas, embora sem diferença estatística em relação ao controle ($p > 0,05$). Na concentração de 6,25 mg/mL, a NE aproximou-se da neutralidade biológica, evidenciando que a formulação modula a entrega do óleo essencial e atenua os efeitos citotóxicos observados na forma livre.

Figura 13: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo *L. dentata* e A.L de *L. dentata*.



Fonte: o autor.

Tabela 18: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo *Lavandula dentata*, o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.

Concentração (mg/mL) – <i>L. dentata</i>	NE vs. Controle – <i>L. dentata</i>	Ativo livre vs. Controle – <i>L. dentata</i>
25.0	p < 0.001	p = 0.970
12.5	p < 0.001	p = 0.930
6.25	p < 0.001	p = 0.754

NE:nanoemulsão

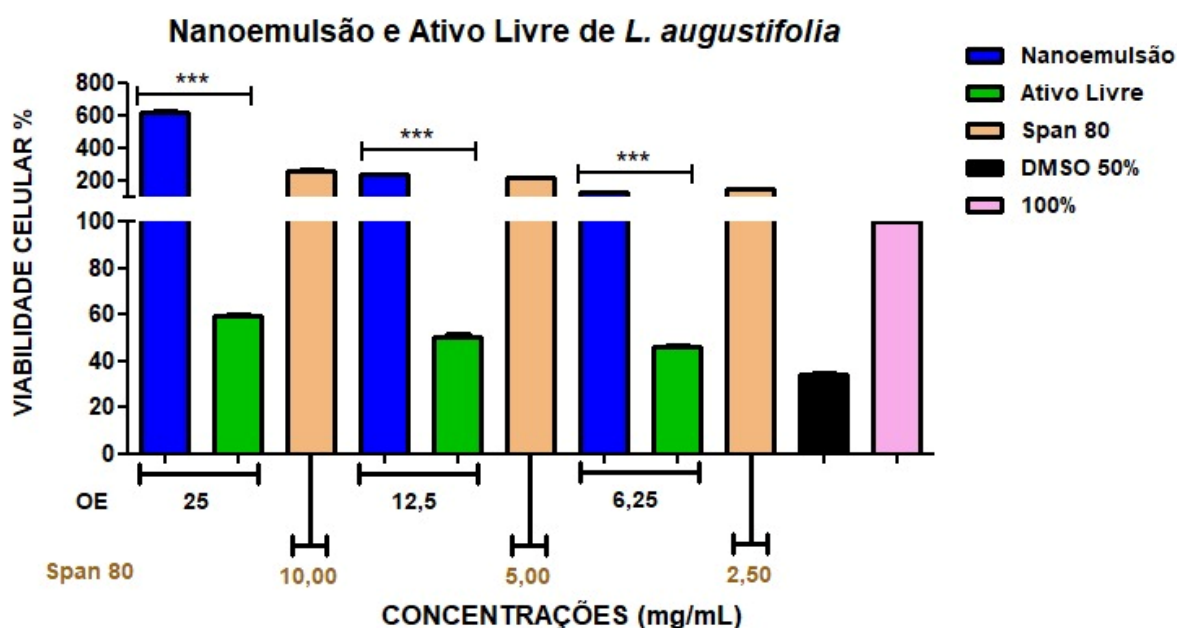
ANOVA seguido pelo teste post hoc de Dunnett

5.5.4. *Lavandula angustifolia*

Os ensaios com *L. angustifolia* revelaram que tanto a nanoemulsão quanto o ativo livre apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle ($p < 0,001$) em todas as concentrações testadas (Figura 14 e Tabela 19).

Enquanto o A.L demonstrou citotoxicidade moderada, mantendo a viabilidade celular entre 40% e 60%, a NE exibiu valores de absorbância discrepantes, ultrapassando 600% na maior concentração (25,0 mg/mL). Esse incremento nos valores da NE, acompanhado por um perfil dose-dependente, sugere uma interação direta do sistema nanoestruturado com as células testadas, sugerindo uma intensa proliferação celular nas maiores concentrações testadas.

Figura 14: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo *L. angustifolia* e A.L de *L. angustifolia*.



Fonte: o autor.

Tabela 19: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo *Lavandula angustifolia*, o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.

Concentração (mg/mL)	NE vs. Controle – <i>L. angustifolia</i>	Ativo livre vs. Controle – <i>L. angustifolia</i>
25.0	p < 0.001	p < 0.001
12.5	p < 0.001	p < 0.001
6.25	p < 0.001	p < 0.001

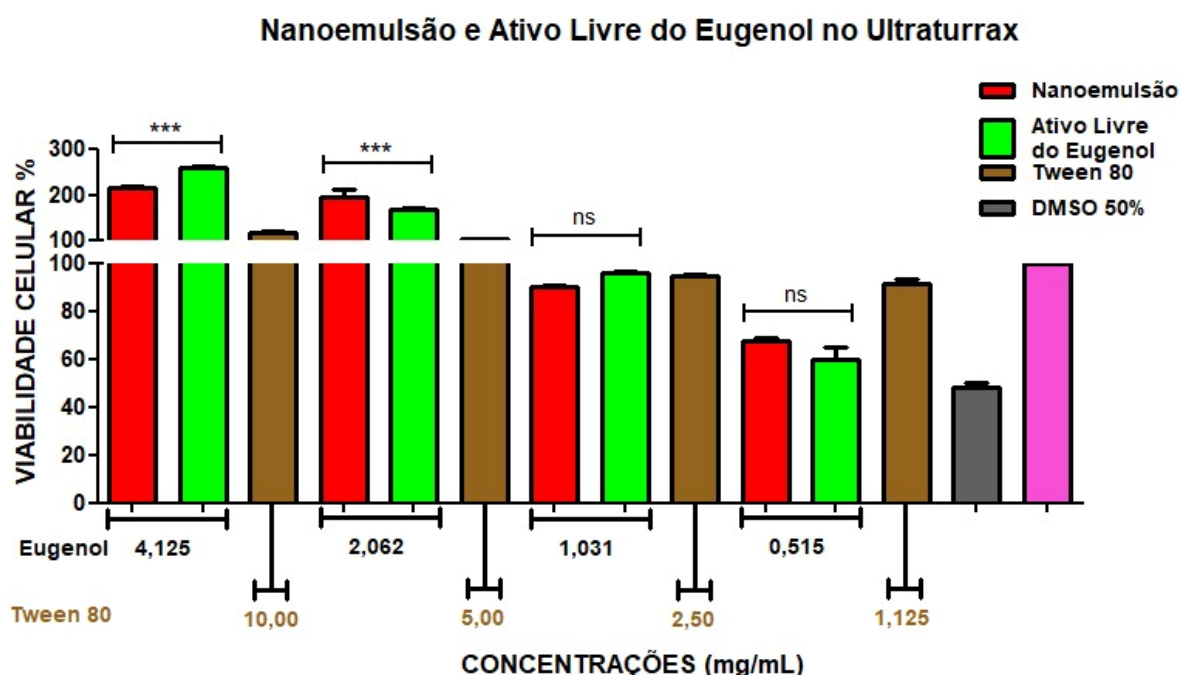
NE:nanoemulsão

ANOVA seguido pelo teste post hoc de Dunnett

5.5.5. Eugenol (método de alta energia)

Os ensaios de citotoxicidade com o eugenol revelaram que tanto a nanoemulsão quanto o ativo livre apresentaram um perfil dose-dependente, com indicativo de proliferação celular nas maiores concentrações (4,125 e 2,062 mg/mL; $p < 0,001$) (Figura 15 e Tabela 20). Esse fenômeno, que resultou em valores de viabilidade acima de 200%. Em concentrações intermediárias (1,031 mg/mL), ambas as formas não apresentaram diferença estatística em relação ao controle ($p > 0,05$), enquanto na menor concentração testada (0,515 mg/mL), observou-se uma redução moderada da viabilidade ($p < 0,01$). Tais dados indicam que a nanoestruturação por alta energia manteve o comportamento biológico do ativo livre, sem agravar a toxicidade inerente ao composto.

Figura 15: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo Eugenol (método de alta energia) e A.L de Eugenol (método de alta energia).



Fonte: o autor.

Tabela 20: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo Eugenol (método de alta energia), o composto livre correspondente e o Span 80 em relação ao controle não tratado.

Concentração (mg/mL) – Eugenol (método de alta energia)	NE vs. Controle – Eugenol (método de alta energia)	Ativo livre vs. Controle – Eugenol (método de alta energia)
4.125	$p < 0.001$	$p < 0.001$
2.062	$p < 0.001$	$p < 0.001$
1.031	$p = 0.555$	$p = 0.544$
0.515	$p = 0.006$	$p < 0.001$

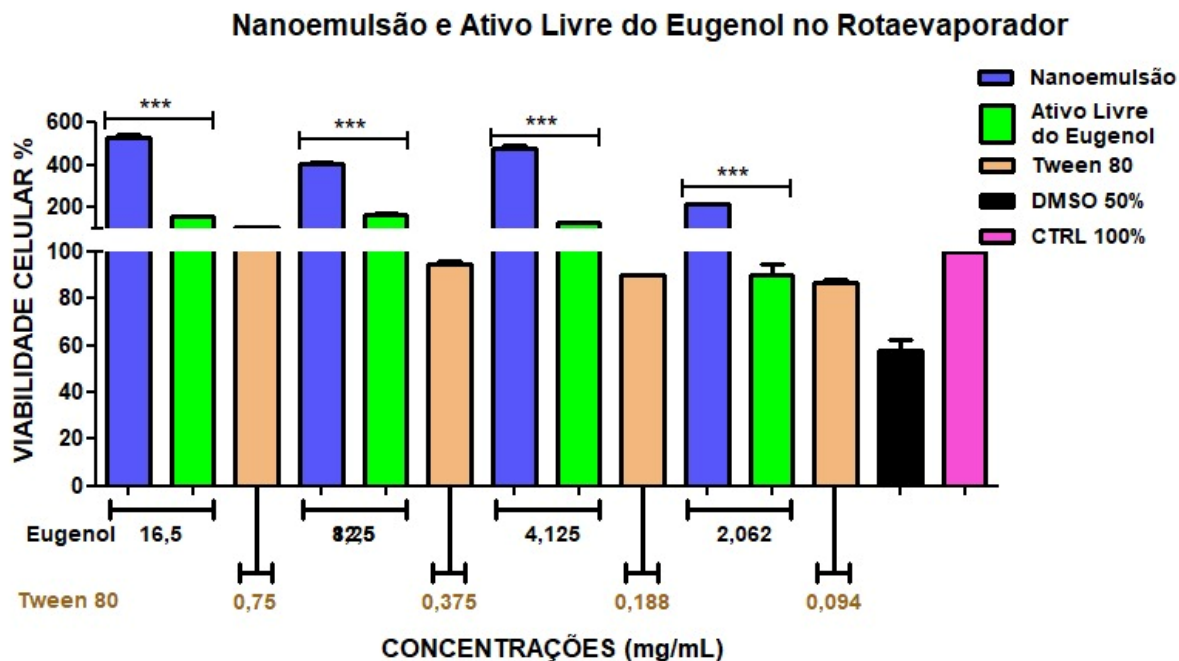
NE:nanoemulsão

ANOVA seguido pelo teste post hoc de Dunnett

5.5.6. Eugenol (método de baixa energia)

Os ensaios com o eugenol (baixa energia) revelaram que a nanoemulsão apresentou proliferação celular ($p < 0,001$) em todas as concentrações testadas, atingindo viabilidades aparentes de até 500% (Figura 16 e Tabela 21). Esse comportamento, observado também no ativo livre nas maiores dosagens ($p < 0,001$). À medida que a concentração foi reduzida para 2,62 mg/mL, o A.L. tendeu à neutralidade biológica ($p = 0,713$), enquanto a NE manteve o sinal elevado ($p < 0,001$).

Figura 16: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo Eugenol (método de baixa energia) e A.L de Eugenol (método de baixa energia).



Fonte: o autor.

Tabela 21: Comparação estatística (ANOVA seguida pelo teste post hoc de Dunnett) da viabilidade celular no ensaio MTT para a nanoemulsão contendo Eugenol (método de baixa energia), o composto livre correspondente e o Tween 80 em relação ao controle não tratado.

Concentração (mg/mL)	NE vs. Controle – – Eugenol (método de baixa energia)	Ativo livre vs. Controle – Eugenol (método de baixa energia)
16.5	p < 0.001	p < 0.001
8.25	p < 0.001	p < 0.001
4.125	p < 0.001	p = 0.049
2.62	p < 0.001	p = 0.713

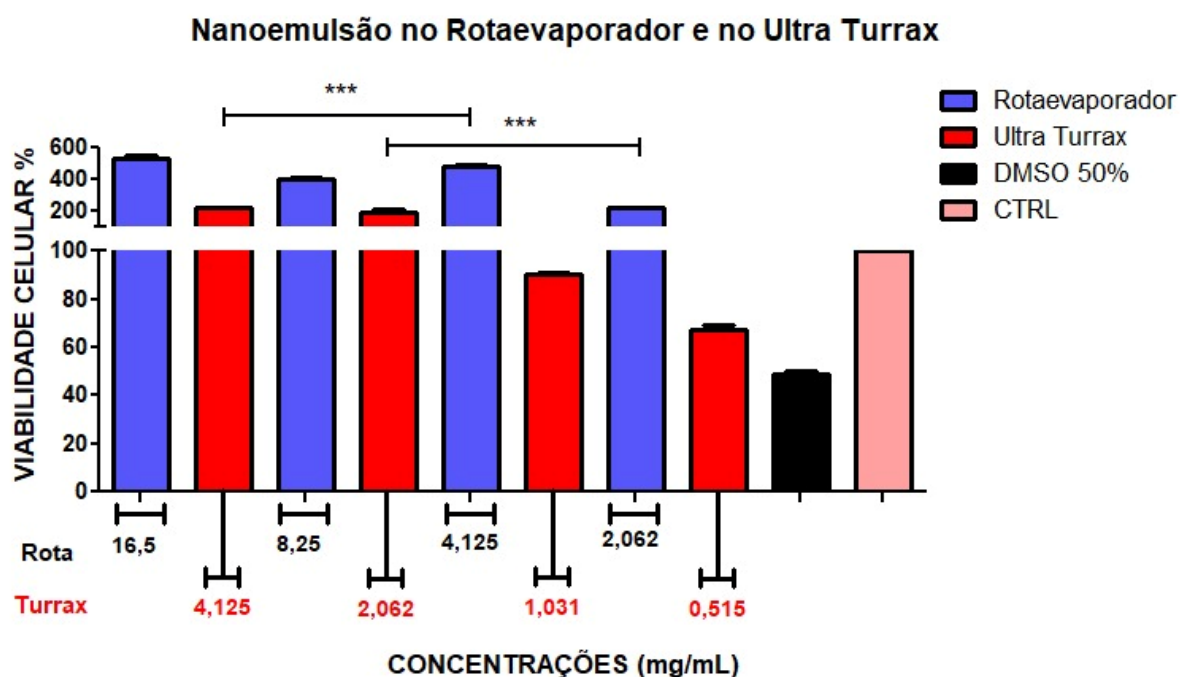
NE:nanoemulsão

ANOVA seguido pelo teste post hoc de Dunnett

A comparação entre os métodos de preparação revelou que a nanoemulsão contendo Eugenol por baixa energia apresentou um perfil de segurança biológico superior ao método de alta energia (Figura 17). Embora ambos os métodos tenham reduzido significativamente a citotoxicidade em relação ao Eugenol em sua forma livre, o método de baixa energia mostrou-se mais eficaz em preservar a viabilidade celular

em dosagens mais elevadas.

Figura 17: Teste de citotoxicidade pelo método colorimétrico MTT da NE contendo Eugenol (método de alta energia) x NE contendo Eugenol (método de baixa energia).



Fonte: o autor.

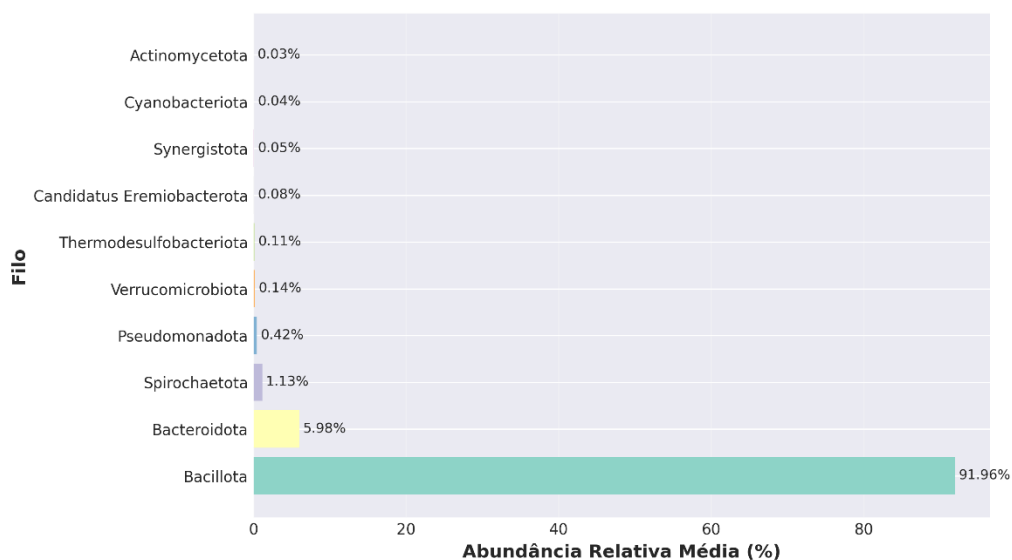
5.6. Metagenômica do biofilme subgingival

Os dados da análise metagenômica estão representados nas Figuras 18 a 20.

A análise metagenômica da abundância relativa revelou que o biofilme subgingival é predominantemente composto por quatro filos principais: Bacillota, Bacteroidota, Spirochaetota e Pseudomonadota (Figura 18). O filo Bacillota apresentou a maior representatividade na amostra, seguido por uma presença equilibrada de Bacteroidota e Spirochaetota, que juntos compõem o cerne da comunidade microbiana complexa avaliada. Filos menos abundantes, como Pseudomonadota e Verrucomicrobiota, também foram detectados, embora em menores proporções. Essa diversidade taxonômica reflete a complexidade do biofilme subgingival utilizado nos ensaios biológicos, validando-o como um modelo

representativo para os testes de eficácia das nanoemulsões desenvolvidas nesta pesquisa.

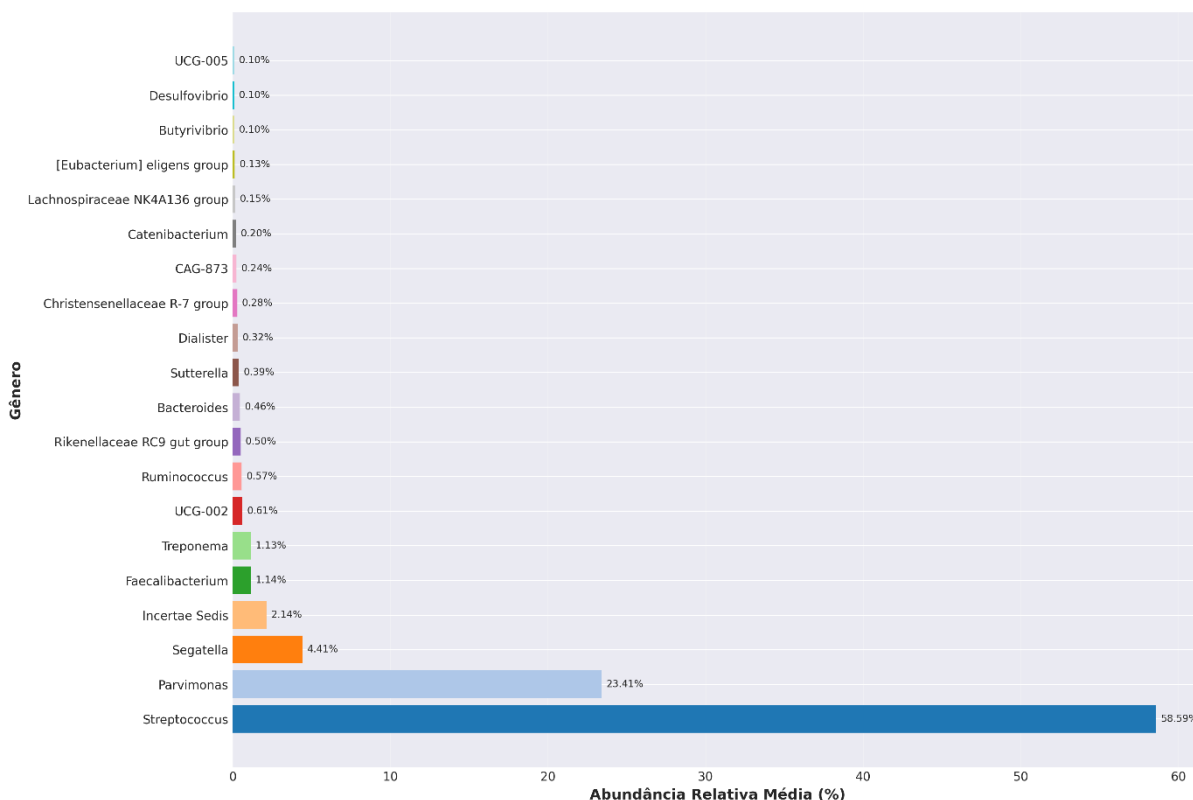
Figura 18: Distribuição da abundância relativa por filo.



Fonte: O autor.

A análise da abundância relativa em nível de gênero revelou uma comunidade polimicrobiana complexa, com o gênero *Streptococcus* e *Parvimonas* apresentando maior dominância na amostra de biofilme subgengival (Figura 19). Verificou-se também uma presença expressiva de gêneros classicamente associados à patogênese periodontal, como *Segatella*, *Fusobacterium* e *Tannerella*. Outros gêneros de relevância clínica, incluindo *Treponema* e *Faecalibacterium*, foram detectados em proporções significativas, reforçando o perfil anaeróbico e agressivo do inóculo.

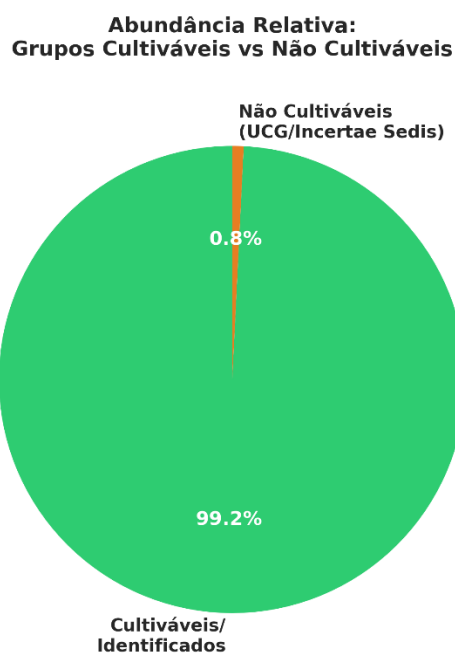
Figura 19: Distribuição da abundância relativa por gênero.



Fonte: O autor.

A análise da composição microbiana revelou que a amostra avaliada foi composta predominantemente por microrganismos cultiváveis, apesar de ter sido possível detectar uma parcela ínfima de microrganismos não cultiváveis (Figura 20). Os dados de abundância relativa demonstraram que, apesar de gêneros cultiváveis como *Prevotella* e *Porphyromonas* sejam dominantes, a presença de táxons não cultiváveis ou de difícil cultivo contribuem para a complexidade estrutural e funcional do biofilme testado.

Figura 20: Distribuição da abundância relativa entre grupos cultiváveis e grupos não cultiváveis.



Fonte: O autor.

6. DISCUSSÃO

A nanoemulsão contendo *C. flexuosus* apresentou gotículas inferiores a 200 nm com baixo índice de polidispersidade (PDI), caracterizando um sistema monodisperso e fisicamente estável, essencial para prevenir a separação de fases e proteger compostos voláteis (DAS; PRAKASH, 2024). A estabilidade cinética e a morfologia esférica uniforme observadas, típicas de métodos de alta energia, sugerem que a repulsão eletrostática e estérica — evidenciada pelo potencial zeta negativo — previne a coalescência (GUPTA et al., 2024; RAI et al., 2023). Biologicamente, a manutenção de valores de CFM equivalentes ao óleo livre contra cepas fúngicas demonstra que o encapsulamento preservou a integridade do citral (principal componente ativo do óleo), assegurando a permeabilidade celular necessária (PRAKASH et al., 2021; UPADHYAY et al., 2021). Notavelmente, a formulação superou o ativo livre frente a patógenos periodontais como *F. nucleatum* e *P. melaninogenica*, com redução de duas vezes na CBM. Essa eficácia potencializada decorre da maior solubilidade em meio aquoso, proteção contra oxidação/volatilização do citral e do reduzido tamanho de gota, que otimiza a interação com membranas bacterianas e a biodisponibilidade no microambiente do patógeno (GÜNDEL et al., 2021; GUPTA et al., 2024; KAUR et al., 2024; SELIM et al., 2025).

No contexto do biofilme subgingival, as nanoemulsões demonstram capacidade superior de desorganizar a matriz extracelular e inibir o *quorum sensing* em comunidades multiespécies (YUAN et al., 2026). Diferente do ativo livre, que é limitado por barreiras de difusão e baixa solubilidade aquosa, o sistema nanoestruturado garante a liberação sustentada e direcionada dos bioativos diretamente no sítio de infecção (SILVA et al., 2022).

No que se refere à segurança biológica, manteve-se a viabilidade celular em níveis $\geq 80\%$ nas concentrações correspondentes à MIC. Notavelmente, a nanoemulsão contendo *C. flexuosus* demonstrou biocompatibilidade superior, com viabilidade acima de 100% nas maiores concentrações testadas, enquanto reduções citotóxicas foram observadas apenas em doses fora da faixa inibitória (BARBIERI et al., 2022; BELIBASAKIS et al., 2019; CALIENNI et al., 2022; GOU et al., 2021b;

HAJISHENGALLIS & CHAVAKIS, 2021; LAMONT et al., 2018; SEDEKARI et al., 2023; ZHENG et al., 2021).

A eficácia superior da NE contendo *O. basilicum* frente ao A.L, com reduções de até oito vezes na CFM, decorre da compartimentalização do óleo essencial em gotículas nanométricas, o que otimiza a solubilização de compostos hidrofóbicos e o transporte através da parede celular fúngica (ALVES-SILVA et al., 2021). Este sistema de entrega preserva a integridade química de monoterpenos voláteis, como o linalol, direcionando altas concentrações de fitocompostos à membrana citoplasmática do patógeno (MILOŠEVIĆ et al., 2024; SEDEGUI et al., 2022). O efeito fungicida observado em cepas ATCC e clínicas de *C. albicans* e *N. glabrata* reflete uma disfunção metabólica irreversível induzida pela elevada área superficial das nanogotículas, que intensifica a interação com ergosteróis e resulta em lise celular (LI et al., 2022). Assim, a nanoestruturação amplia o espectro de ação contra leveduras oportunistas e configura-se como uma estratégia viável para reduzir a citotoxicidade sistêmica, mantendo a potência inibitória necessária ao controle de infecções (ARANCIBIA et al., 2023; D'AGOSTINO et al., 2022).

A seletividade da nanoemulsão contendo *O. basilicum* frente a patógenos periodontais sugere que sua eficácia antimicrobiana é dependente da composição estrutural da parede celular de bactérias Gram-negativas (SADEGUI et al., 2022). A inibição de *P. gingivalis* e *P. melaninogenica*, em contraste com a ausência de ação contra *F. nucleatum*, indica que a nanoestruturação facilita a permeação através de membranas ricas em lipopolissacarídeos específicos (ALVES-SILVA et al., 2021). Embora o aumento da área superficial das nanogotículas potencialize a interação com proteínas de membrana, a complexidade da matriz do biofilme subgengival pode atuar como barreira física à difusão dos ativos (D'AGOSTINO et al., 2022). Essa variação na susceptibilidade reforça que, apesar da melhora na biodisponibilidade, a resistência intrínseca de certas espécies anaeróbias demanda concentrações terapêuticas superiores ou sinergismos para a desarticulação da matriz polimérica (MILOŠEVIĆ et al., 2024).

A redução da viabilidade celular observada nos ensaios de MTT, tanto para a NE quanto para o A.L em concentrações superiores a 0,30 mg/mL, reflete a

citotoxicidade inerente aos componentes terpênicos do *O. basilicum* (MILOŠEVIĆ et al., 2024). A manutenção de perfis de toxicidade similares entre ambas as formas indica que a nanoestruturação não anula o potencial irritativo sistêmico, exigindo um controle rigoroso da dose terapêutica (LI et al., 2022). Assim, a viabilidade superior a 80% restrita às maiores concentrações reforça a necessidade de sistemas de entrega que garantam a eficácia antimicrobiana sem comprometer a integridade dos tecidos periodontais humanos (ARANCIBIA et al., 2023).

A nanoemulsão contendo *L. dentata* potencializou a atividade antifúngica contra *Candida* spp., reduzindo a CFM em até duas vezes e promovendo a transição de um perfil fungistático para fungicida, o que sugere que a compartimentalização nanométrica altera a cinética fármaco-receptor e supera mecanismos de resistência ao aumentar a biodisponibilidade dos terpenos (OLIVEIRA et al., 2023; SILVA et al., 2021; SOUZA et al., 2022). Paralelamente, a eficácia sobre *P. melaninogenica* e microrganismos sésseis do biofilme subgengival indica uma penetração superior na matriz polimérica extracelular, superando barreiras difusionais que limitam fitoterápicos convencionais, embora a resistência de *V. parvula* evidencie uma seletividade dependente da interação com o envelope celular (FERREIRA et al., 2021; OLIVEIRA, 2023; SANTOS; SILVA et al., 2022). No que tange à biocompatibilidade, a nanoemulsão elevou a viabilidade celular a níveis superiores a 600% no ensaio de MTT, valores elevados não necessariamente indicam proliferação celular, mas podem refletir aumento da atividade metabólica mitocondrial ou possível interferência do sistema testado no processo de redução do tetrazólio (OLIVEIRA; SANTOS et al., 2021; SILVA et al., 2022; SOUZA, 2023; STEEPHENS et al., 2020).

A NE contendo *L. angustifolia* apresentou eficácia antifúngica superior ao A.L, inibindo isolados de *Candida* spp. anteriormente resistentes. Esse incremento decorre da encapsulação nanométrica, que amplia a área de superfície e protege os bioativos contra a volatilização, otimizando a entrega aos sítios de ação (BARDANIA et al., 2020). A redução da CFM em até duas vezes para cepas como *C. albicans*, 6 Ca e *N. glabrata* ATCC 15126 indica que o sistema carreador facilita a permeação de terpenos através da parede celular fúngica (YOUSEFI et al., 2022). A manutenção de um perfil majoritariamente fungistático sugere que, embora a biodisponibilidade seja ampliada,

o mecanismo primário envolve a interferência na homeostase da membrana citoplasmática sem induzir lise celular imediata (PELLEGRINI et al., 2023).

A inércia antimicrobiana da NE contendo *L. angustifolia* contra o complexo subgengival, incluindo *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, reflete a variabilidade quimiotípica do gênero, onde teores reduzidos de linalol e acetato de linalila podem não atingir o limiar de desestabilização lipídica das membranas (GARCIA-VALLE et al., 2021). Este perfil reforça que a redução para a escala nanométrica não garante eficácia se a fase oleosa carecer de afinidade farmacodinâmica com os sítios bacterianos (RODRIGUES et al., 2022; ZHANG et al., 2023). Em contrapartida, a análise de viabilidade celular revelou um efeito citoprotetor e proliferativo dose-dependente da nanoemulsão, superando significativamente o ativo livre, que demonstrou citotoxicidade moderada. Enquanto o óleo puro reduz a viabilidade para patamares de 50%, a estruturação nanométrica minimiza interações deletérias diretas com a membrana citoplasmática e protege constituintes voláteis contra a oxidação prematura (SILVA et al., 2022; SOUZA et al., 2021). Tais achados ratificam o potencial biotecnológico do sistema como um carreador seguro, essencial para futuras aplicações terapêuticas onde a redução da toxicidade intrínseca é mandatória (SANTOS et al., 2023).

A NE contendo eugenol obtida por alta energia demonstra atividade antifúngica robusta e estritamente fungicida contra todos os isolados de *Candida* spp., decorrente da redução nanométrica que amplia a área de contato e facilita a desestabilização da membrana citoplasmática (D'AURIA et al., 2022). O método de ultrassonificação é determinante para a estabilidade e otimização da biodisponibilidade dos grupos fenólicos, resultando em CFMs entre 0,257 e 1,031 mg/mL e fatores de redução de até duas vezes, o que evidencia uma lise celular superior à forma livre (GARCIA-DIEZ et al., 2021; YOUSEFI et al., 2022). Simultaneamente, sua potente ação bactericida sobre o biofilme subgengival e *P. gingivalis* confirma a capacidade deste fenilpropanoide em romper a membrana externa e inibir a matriz extracelular (KUMAR et al., 2021). A eficácia frente à *E. corrodens* (2,062 mg/mL) indica que a nanoestruturação facilita a difusão através de porinas em Gram-negativas, superando limitações de solubilidade e desestabilizando a homeostase iônica intracelular (ZHANG et al., 2022). Assim, o sistema consolida-se como veículo essencial para a

estabilidade química e potencialização da atividade farmacodinâmica em ambientes periodontais complexos (MARTINS et al., 2023).

A viabilidade celular superior a 100% observada para a NE contendo eugenol (método de alta energia) em concentrações elevadas sugere um estímulo ao metabolismo mitocondrial (SANTOS et al., 2021). O eugenol livre, embora apresente perfil semelhante em doses altas, exibe queda acentuada de viabilidade na menor concentração testada (0,515 mg/mL), divergindo da proteção conferida pelo sistema de alta energia (NEDEL et al., 2026). Essa manutenção da integridade celular em sistemas nanoemulsionados é atribuída à redução da toxicidade intrínseca do composto fenólico através da compartimentalização em gotículas submicrométricas (SILVA et al., 2023).

O menor tamanho de gota observado para a nanoemulsão contendo eugenol, obtida por método de alta energia, pode ser atribuído à baixa viscosidade e à estrutura molecular relativamente compacta desse fenilpropanoide, características que favorecem sua dispersão durante processos como cavitação ultrassônica ou homogeneização em alta pressão (KAZI et al., 2022). Em métodos de alta energia, a eficiência da redução de tamanho é ditada pelo equilíbrio entre a taxa de ruptura das gotas e a taxa de coalescência imediata; nesse contexto, a polaridade intermediária do eugenol favorece uma interação mais robusta com os surfactantes na interface óleo/água, reduzindo drasticamente a tensão interfacial de forma mais eficaz do que terpenos mais volumosos ou menos polares (LIU et al., 2023; WANG et al., 2025).

Além disso, compostos fenólicos como o eugenol possuem comportamento semelhante ao de co-surfactantes, auxiliando na estabilização mecânica da interface e impedindo o fenômeno de maturação de Ostwald, o que resulta em distribuições de tamanho nanométrico mais estreitas e estáveis (ZHANG et al., 2024; DUPONT; LARSSON, 2026). A aplicação de altas densidades de energia em sistemas contendo eugenol permite, portanto, que a energia mecânica supere as forças viscosas de forma mais eficiente, consolidando a influência da composição química do óleo sobre o desempenho do método de fabricação (CHEN et al., 2024; SMITH; GARCIA, 2025).

A utilização do método de baixa energia na obtenção da NE contendo eugenol resulta na manutenção ou discreta elevação dos valores de CFM em relação ao ativo livre, com fatores de redução predominantes de 0,5 ou 1. Essa resposta sugere que sistemas nanoestruturados por métodos espontâneos apresentam limitações na entrega do composto fenólico, possivelmente devido à menor uniformidade do tamanho de gota e estabilidade frente à parede celular de *Candida* spp. (D'AURIA et al., 2022). Apesar de CFMs de até 2,062 mg/mL, o perfil estritamente fungicida em 100% dos isolados indica que o mecanismo de ação via desequilíbrio da homeostase iônica e dano à membrana permanece preservado (GARCIA-DIEZ et al., 2021; YOUSEFI et al., 2022). No que tange à segurança biológica, a técnica por rotaevaporador (baixa energia) reduziu a toxicidade aguda, apresentando viabilidade celular superior a 100%, enquanto o método por Ultra-Turrax (alta energia) otimizou a eficácia de amplo espectro às custas de uma menor seletividade frente a células humanas (TALEB et al., 2021). Assim, o aporte cinético na fabricação emerge como fator determinante para equilibrar a permeação através de barreiras biológicas e a biocompatibilidade do nanossistema (D'AURIA et al., 2022; YOUSEFI et al., 2022).

A utilização de métodos de alta e baixa energia para a obtenção de nanoemulsões de eugenol justifica-se pela busca de um equilíbrio entre a eficácia farmacodinâmica e a segurança biológica no manejo de afecções orais (ZHANG et al., 2026). Enquanto a técnica de alta energia (ultrassonificação) otimiza a atividade fungicida e bactericida ao reduzir drasticamente o diâmetro das gotículas, ampliando a área de contato com patógenos como *P. gingivalis*, o método de baixa energia (emulsificação espontânea) destaca-se por preservar a viabilidade celular humana (ZHANG et al., 2022). Essa diferenciação no aporte cinético permite que sistemas de alta energia rompam biofilmes complexos por meio de uma lise celular superior, ao passo que a formulação de baixa energia atua como um carreador de menor toxicidade aguda para os tecidos periodontais (ZHENG et al., 2021). Assim, a escolha metodológica define a seletividade da entrega do composto fenólico frente às barreiras biológicas (YUAN et al., 2026).

A maior citotoxicidade observada nas concentrações mais baixas das nanoemulsões testadas, contrastando com a viabilidade em doses elevadas, pode ser

atribuída à instabilidade cinética dos sistemas quando excessivamente diluído (ZHANG et al., 2022). Em baixas concentrações, a redução da densidade de surfactantes na interface óleo-água pode favorecer a coalescência e o fenômeno de maturação de Ostwald, expondo as células a gotículas instáveis que rompem a membrana plasmática de forma mais agressiva (ZHENG et al., 2021). Além disso, a rápida liberação dos ativos livres em meios diluídos pode desencadear um estresse oxidativo agudo imediato, enquanto concentrações maiores podem formar complexos micelares mais estáveis que modulam a biodisponibilidade do composto (YUAN et al., 2026). Essa toxicidade inversa sugere que a integridade estrutural das nanoemulsões é dependente da concentração crítica, sendo a estabilização termodinâmica um fator determinante para a biocompatibilidade tecidual (SILVA et al., 2021).

A seletividade observada para as nanoemulsões de óleos essenciais frente aos diferentes isolados Gram-negativos pode ser atribuída à organização molecular da membrana externa e às variações estruturais nos lipopolissacarídeos (ALVES-SILVA et al., 2021; SADEGHI et al., 2022). Diferente das bactérias Gram-positivas, a membrana externa das Gram-negativas funciona como uma barreira hidrofílica seletiva; contudo, a nanoestruturação em sistemas de entrega lipídicos facilita a interação eletrostática e a fusão com a membrana bacteriana, permitindo que os terpenos hidrofóbicos contornem as porinas (GÜNDEL et al., 2021; ZHANG et al., 2022). A presença de cadeias laterais de antígeno O específicas e o grau de acilação do Lípidio A influenciam diretamente a permeabilidade basal da célula (MATOS et al., 2023; MILOŠEVIĆ et al., 2024). A eficácia distinta contra *P. gingivalis* em comparação a outros patógenos, por exemplo, sugere que os componentes das nanoemulsões, como o citral e o eugenol, conseguem desestabilizar as pontes de cátions bivalentes (Mg^{2+} e Ca^{2+}) que estabilizam os LPS, provocando a liberação de vesículas de membrana externa e a consequente lise celular (D'AGOSTINO et al., 2022; GUPTA et al., 2024). Além disso, o tamanho reduzido das gotículas da nanoemulsão aumenta a energia livre de superfície, permitindo uma penetração mais profunda em microambientes anaeróbios complexos onde as defesas estruturais das Gram-negativas costumam ser mais robustas (KAUR et al., 2024; YUAN et al., 2026).

A resposta distinta de cada óleo essencial frente a diferentes microrganismos

é determinada pela complexa interação entre o perfil cromatográfico dos fitoconstituintes e os alvos moleculares específicos de cada linhagem (EL-SAYED; TOAMA; MIKHAIL, 2022). Embora o citral e o eugenol apresentem amplo espectro, sua eficácia varia conforme a afinidade por componentes da membrana, como o ergosterol em fungos ou proteínas transportadoras em bactérias, o que explica por que uma nanoemulsão pode ser potente contra *Candida albicans* e menos eficaz contra *F. nucleatum* (KHARE et al., 2021; WIWIED et al., 2024). Essa especificidade é influenciada pela hidrofobicidade dos terpenos, que determina a taxa de partição na bicamada lipídica e a capacidade de inativar enzimas do metabolismo energético (MA et al., 2023). Além disso, microrganismos possuem mecanismos de defesa diferenciados, como bombas de efluxo e enzimas modificadoras, que reconhecem e expõem seletivamente certos compostos fenólicos, enquanto outros conseguem saturar esses sistemas e causar dano irreversível (VALDIVIESO-UGARTE et al., 2021). Assim, a bioatividade não depende apenas da concentração, mas da complementaridade química entre os ativos do óleo e a arquitetura celular do patógeno alvo (BAPAREH et al., 2023).

A interação das nanoemulsões com as partes ativas dos microrganismos transcende a simples ruptura física da membrana, envolvendo a inibição seletiva de complexos enzimáticos e sistemas de transporte vitais (PISOSCHI et al., 2021). Devido à sua natureza anfifílica e reduzido tamanho de gota, as NEs conseguem penetrar na bicamada lipídica e interagir diretamente com proteínas globulares e enzimas do ciclo de Krebs localizadas na face citoplasmática, como a malato desidrogenase, resultando na interrupção do metabolismo energético (CHAUHAN et al., 2022). Em espécies de *Candida*, os componentes ativos das NEs demonstram afinidade por sítios catalíticos de enzimas responsáveis pela síntese de glucanos e quitina, essenciais para a integridade da parede celular, enquanto em bactérias Gram-negativas, a interação ocorre com as ATPases de membrana, levando ao colapso do potencial quimiosmótico e extravasamento de ATP (LI et al., 2024; MITH et al., 2025). Além disso, a capacidade das NEs em modular a expressão de genes relacionados ao *quorum sensing* e à formação de biofilmes indica que essas nanoestruturas interferem na comunicação intercelular ao bloquear receptores proteicos de superfície,

impedindo a maturação da matriz extracelular (EL-SAYED et al., 2022; GOUDA et al., 2023).

O estudo contemplou diferentes estratégias nanotecnológicas (nanoemulsões e nanopartículas metálicas), permitindo uma análise comparativa de suas propriedades antimicrobianas. A ausência de atividade inibitória das AgNPs estabilizadas com citrato de sódio frente a *Candida* spp. sugere que o tamanho e a estabilidade coloidal influenciam diretamente a eficácia antimicrobiana, possivelmente devido à interferência do citrato na liberação de íons prata (Ag^+) essenciais para o estresse oxidativo e dano estrutural (DURÁN et al., 2021). Diferentemente dos sistemas nanoemulsionados, essas nanopartículas metálicas apresentam menor interação com leveduras, demandando funcionalizações superficiais para superar barreiras celulares (HE et al., 2021; SALESA et al., 2021). Em contrapartida, observa-se uma seletividade para bactérias anaeróbias, com CBMs entre 30 e 60 mg/mL para *P. melaninogenica* e *F. nucleatum*, indicando que o agente capeante limita a biodisponibilidade iônica e exige doses elevadas para a despolarização da membrana (SARKAR et al., 2022). A ineficácia frente ao biofilme subgengival corrobora que a estabilização por citrato não provê a penetração necessária para desestruturar matrizes poliméricas complexas, reforçando que a eficácia em ambientes polimicrobianos depende criticamente da natureza do estabilizante (SHINDHAL et al., 2021).

A variabilidade na atividade antimicrobiana das AgNPs é dependente do método de síntese empregado, uma vez que diferentes rotas determinam parâmetros críticos como tamanho, morfologia e estado de aglomeração (MENG et al., 2022). Embora a síntese química por redução com borohidreto de sódio e nitrato de prata produza partículas com alta uniformidade, a utilização de extratos vegetais na síntese verde frequentemente resulta em AgNPs com maior estabilidade e bioatividade, devido à presença de biomoléculas que atuam simultaneamente como agentes redutores e estabilizantes (AKRAM et al., 2021; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ et al., 2023). Essa arquitetura de superfície influencia a taxa de oxidação e a cinética de liberação de íons prata (Ag^+), que é o principal mecanismo de toxicidade para patógenos periodontais, permitindo uma interação mais eficaz com os grupos tiol das proteínas

da membrana externa de bactérias Gram-negativas (WANG et al., 2024). Além disso, técnicas como a ablação a laser ou síntese mediada por radiação micro-ondas podem gerar partículas sem subprodutos tóxicos, superando as limitações da síntese convencional e reduzindo a citotoxicidade para os tecidos humanos sem comprometer a eficácia frente a espécies de *Candida* (KUMARI et al., 2022; SIDDIQI et al., 2026).

A ocorrência de valores de CFM inferiores à MIC sugere que a nanoestruturação otimiza a biodisponibilidade a ponto de a letalidade ocorrer em doses sub-inibitórias nominais (FADEEVA et al., 2021). Esse fenômeno indica que a viabilidade celular é severamente comprometida pela penetração facilitada das gotículas nanométricas na parede de *Candida* e *Nakaseomyces*, embora a turbidez visual possa persistir devido a detritos celulares ou frações do fitocomplexo (GOU et al., 2021). Em contrapartida, a paridade (CFM = MIC) observada para *C. flexuosus* e eugenol reforça um mecanismo biocida direto, onde a inibição metabólica converge com a lise celular imediata (NAGASHIMA et al., 2022). Discrepâncias em que a CFM exige doses superiores podem decorrer da liberação lenta do ativo pela matriz ou da presença de subpopulações fúngicas persistentes (WIEDMER et al., 2023). Portanto, a relação entre esses índices em sistemas nanoemulsionados é modulada pela solubilidade do fitocomplexo e pela eficácia da entrega intracelular, determinando a amplitude entre a inibição e a morte celular (KHOURY et al., 2022).

Algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Os ensaios foram realizados em condições *in vitro*, que não reproduzem integralmente a complexidade do microambiente oral e da arquitetura do biofilme subgengival *in vivo*. Além disso, a análise metagenômica baseou-se em uma única amostra periodontal, o que limita a extrapolação do perfil microbiológico observado. Estudos com modelos de biofilme mais complexos e maior número de amostras clínicas são necessários para ampliar a validação dos achados. No entanto, a análise metagenômica permitiu contextualizar os ensaios de MIC, ao demonstrar a predominância de gêneros periodontopatogênicos como *Prevotella* e *Fusobacterium* no biofilme subgengival. Assim, os testes de suscetibilidade realizados contra essas espécies tornam-se biologicamente relevantes para o microbioma observado.

A predominância do filo Bacillota (91,96%) e do gênero *Streptococcus* (58,59%)

reflete o perfil taxonômico da microbiota do biofilme subgengival analisado, cujos grupos são descritos como componentes essenciais na arquitetura de comunidades microbianas complexas (ABUSLEME et al., 2021; KRZYSZIAK et al., 2022). A elevada proporção de táxons cultiváveis detectada (99,2%) indica que a microbiota corresponde majoritariamente a microrganismos passíveis de isolamento laboratorial, o que valida a aplicação de ensaios microbiológicos clássicos, como a determinação da MIC e CFM / CBM, para triagem de novos agentes (BOBO et al., 2019). No entanto, a presença de gêneros anaeróbios estritos, como *Parvimonas* e *Segatella*, sugere a existência de microambientes específicos que podem limitar a difusão e a eficácia terapêutica em biofilmes estruturados, exigindo sistemas de entrega com alta capacidade de penetração matricial (BOBO et al., 2019).

O perfil taxonômico centrado em *Streptococcus* e *Parvimonas* justifica a aplicação de nanoestruturas com efeito fungicida e bactericida simultâneo, dada a natureza polimicrobiana das infecções orais (KIM et al., 2020). A baixa representatividade de grupos não cultiváveis (0,8%) simplifica o direcionamento terapêutico, mas a resistência das AgNP com citrato de sódio alerta para as limitações de estabilizadores aniônicos em matrizes biológicas complexas (SALESA et al., 2021). Em contrapartida, a nanoemulsão de eugenol destaca-se por manter a eficácia em ambientes saturados por *Bacillota* (91,96%), o filo predominante nesta microbiota (SHINDHAL et al., 2021). Essa hegemonia taxonômica, com baixa proporção de *Pseudomonadota* e *Spirochaetota*, sugere um ecossistema de baixa complexidade em termos de táxons desconhecidos, facilitando a predição da eficácia de óleos essenciais (ABUSLEME et al., 2021; KRZYSZIAK et al., 2022; YOUSEFI et al., 2022). No entanto, a presença de anaeróbios estritos como *Treponema* e *Segatella* indica microambientes protegidos que podem atuar como reservatórios de resistência, cuja desarticulação depende criticamente da metodologia de preparação da nanoemulsão para garantir a penetração necessária (D'AURIA et al., 2022; GARCIA-DIEZ et al., 2021).

7. CONCLUSÃO

A presente investigação consolidou o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados como uma alternativa biotecnológica eficaz para o controle de patógenos orais associados à candidose e à periodontite. A utilização da nanotecnologia permitiu superar limitações intrínsecas aos óleos essenciais, como a volatilidade e a baixa solubilidade, potencializando a sua estabilidade e eficácia biológica. Os resultados demonstram que a nanoestruturação não apenas preserva as propriedades antimicrobianas dos compostos ativos, mas também otimiza a sua interação com microrganismos complexos, estabelecendo um avanço significativo no desenvolvimento de terapias complementares para a saúde oral.

No que diz respeito à eficácia contra cepas fúngicas de *Candida* spp., as nanoemulsões contendo Eugenol (especialmente a obtida pelo método de baixa energia) e contendo *Ocimum basilicum* apresentaram os resultados mais promissores. Estas formulações exibiram um perfil fungicida robusto em todos os isolados testados, superando o desempenho das demais variantes. Da mesma forma, frente aos periodontopatógenos, a nanoemulsão contendo Eugenol por baixa energia destacou-se pela sua elevada potência bactericida, conseguindo reduzir as concentrações inibitórias em até oito vezes contra o *F. nucleatum* quando comparada ao ativo livre. Em contrapartida, as nanopartículas de prata estabilizadas com citrato de sódio mostraram-se menos eficazes neste contexto específico, reforçando a superioridade dos sistemas baseados em óleos essenciais para estas aplicações.

A inclusão da análise metagenômica conferiu um suporte científico rigoroso ao estudo, ao caracterizar a complexidade polimicrobiana do biofilme subgengival utilizado nos ensaios. A identificação de uma comunidade dominada por gêneros como *Streptococcus*, *Prevotella* e *Fusobacterium*, com uma elevadíssima proporção de microrganismos cultiváveis, validou o modelo experimental e assegurou que os testes antimicrobianos refletissem alvos biológicos clinicamente relevantes. Além disso, a elevada biocompatibilidade demonstrada pelas nanoemulsões em células mononucleares periféricas humanas reforça a segurança destes sistemas para um futuro uso clínico.

Apesar dos avanços, há necessidade de avaliar a estabilidade das nanoemulsões em matrizes biológicas mais complexas. Como próximos passos, sugere-se a realização de estudos pré-clínicos em animais para determinar a substantividade das formulações na cavidade oral e a sua eficácia na modulação de biofilmes multiespécies. Adicionalmente, a investigação de mecanismos de libertação controlada e a incorporação destas nanoemulsões em veículos de aplicação tópica, como géis ou elixires, permitirão aproximar estes achados da prática clínica odontológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUSLEME, L. et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with host response. **Periodontology** **2000**, v. 85, n. 1, p. 79-111, 2021.
- AKRAM, M. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts for enhanced antimicrobial and biofilm inhibitory activities. **Materials Today Communications**, v. 27, p. 102224, 2021.
- ALAUZET, C. et al. Antimicrobial susceptibility testing of Anaerobic Bacteria: report of a French nationwide survey. **Microorganisms**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 1614, jul. 2021.
- ALMAQUER, G. et al. Synthesis and characterization of silver nanoparticles for biological applications. **Nanoscale Research Letters**, 2019
- AL-MAHTURI, A. et al. High-energy emulsification of bioactive eugenol: influence of processing conditions on droplet characteristics and stability. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 340, p. 111302, 2023.
- AL-SHARQI, A. et al. Surface charge and size-dependent toxicity of silver nanoparticles against oral pathogens: a mechanistic approach. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 42, p. 102-115, 2025.
- ALVES-SILVA, J. M. et al. Essential Oils and Their Nanoemulsions as Antifungal Agents: Mechanisms and Applications. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 114-132, 2021.
- ALVES-SILVA, J. M. et al. Essential oils and their phytoconstituents: Any role in the management of bacterial resistance? **Antioxidants**, v. 10, n. 10, p. 1592, 2021.
- AMOR, G. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ocimum basilicum* L. essential oil against foodborne pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 147, p. 111674-111685, 2021.
- ARANCIBIA, C. et al. Nanoemulsions as efficient delivery systems for natural fungicides. **Heliyon**, v. 9, n. 4, e14582, 2023.
- ARASU, S. et al. Formulation and characterization of *Lavandula angustifolia* essential oil nanoemulsion: a promising approach for enhanced therapeutic efficacy. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 8421, 2023.
- ARENDRUP, M. C.; PATTERSON, T. F. Multidrug-Resistant *Candida*: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Clinical Management. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 25, n. 1, p. 12-28, 2025.
- BAKHSHAEI, M. et al. Formulation and evaluation of nanoemulsions containing *Lavandula* species: a comparative study on droplet size and biological efficacy.

Journal of Molecular Liquids, [s. l.], v. 375, p. 121345, 2023.

BAPTIISTA, R. *et al.* Essential Oils as Antimicrobial Agents of Post-Antibiotic Era: Mechanisms of Action, Synergies and Quorum Sensing Inhibition. **Antibiotics**, Basel, v. 12, n. 5, p. 842, 2023.

BARBIERI, R. *et al.* Phytochemicals for Periodontal Disease: A Review on Plant-Based Therapeutic Strategies. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 445, 2022.

BARDANIA, H. *et al.* Formulation and evaluation of *Lavandula angustifolia* essential oil-loaded nanoemulsion against *Candida albicans*. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, p. 101550, 2020.

BAPAREH, A. *et al.* Antimicrobial activity of essential oils: mechanisms of action and factors influencing their effectiveness. **Microbial Pathogenesis**, v. 182, p. 106240, 2023.

BASAVEGOWDA, N. *et al.* *Ocimum basilicum* essential oil-loaded nanoemulsions: synthesis, characterization, and evaluation of antioxidant and cytotoxic activities. **Journal of Food Process Engineering**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. e13926, 2022.

BELIBASAKIS, G. N. *et al.* The subgingival microbial community in oral health and periodontitis: A conceptual diversity model. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, p. 426, 2019.

BOBO, D. *et al.* Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. **Pharmaceutical Research**, v. 33, p. 2373–2387, 2019.

BOUZIDI, A. *et al.* Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Lavandula dentata* essential oil from North Africa. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1275, p. 134-145, 2023.

CALIENNI, M. N. *et al.* Nanoformulations as a Strategy to Overcome the Limits of Essential Oils in Topical Application. **Molecules**, v. 27, n. 21, p. 7476, 2022.

CATON, J. G. *et al.* A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. **Journal of Clinical Periodontology**, [s. l.], v. 45, n. 20, p. S1-S8, jun. 2018.

CHAKRABORTY, T. *et al.* Interdomain Synergism: *Candida albicans* and Oral Bacteria in Health and Disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, 2024.

CHANDRAKALA, R. *et al.* Evaluation of the antimicrobial and antioxidant potential of *Ocimum basilicum* essential oil and its application in health sciences. **Journal of King Saud University - Science**, Riyadh, v. 34, n. 4, p. 102047-102058, 2022.

CHATTOPADHYAY, S.; MALAYIL, L.; CHOPYK, J.; *et al.* Oral microbiome dysbiosis

among cigarette smokers and smokeless tobacco users compared to non-users. **Scientific Reports**, v. 14, n. 10394, 2024.

CHAUHAN, A. et al. Essential oil-based nanoemulsions: Preparation, characterization, and their antimicrobial mechanism against foodborne pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1024340, 2022.

CHEN, X. et al. Energy density distribution and droplet fragmentation in high-pressure homogenization of phenolic essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 365, p. 111821, 2024.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **M27: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**. 4. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria**. 10th ed. CLSI standard M11. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2023.

COSTA, J. et al. Low-energy emulsification methods for eugenol-loaded nanoemulsions: a review of spontaneous and phase inversion techniques. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 76, p. 103789, 2022.

CZAJKA, K. et al. Signs and symptoms of oral candidiasis associated with health factors and resistant *Candida* infections in a Northern Ontario patient cohort. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 16, p. 1-12, jan. 2025.

D'AGOSTINO, M. et al. Fabrication of basil oil Nanoemulsion: Evaluation of its anti-biofilm potential. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 74, 103554, 2022.

D'AGOSTINO, C. et al. Essential oil-based nanoemulsions: An update on their characterization, biological activities, and safety. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 74, p. 103551, 2022.

D'AURIA, F. D. et al. Antifungal Activity of Eugenol and Its Nanoemulsion against *Candida albicans*: Mechanism of Action and Combined Effect with Fluconazole. **Antibiotics**, v. 11, n. 9, p. 1165, 2022.

DUPONT, L.; LARSSON, M. Molecular packing of phenylpropanoids at the oil-water interface: Implications for Ostwald ripening in nanoemulsions. **Nature Communications**, v. 17, n. 1, p. 442, 2026.

DAS, S.; PRAKASH, B. Optimization of lemongrass essential oil nanoemulsion: stability and antifungal activity. **Journal of King Saud University - Science**, v. 37, 2024.

DURÁN, N. et al. Nanotoxicology of silver nanoparticles: A review of its impact on the environment and human health. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 16, p. 100516, 2021.

EIDT, G. et al. *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* biofilm interactions as a hub for health and disease. **Journal of Oral Microbiology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 2030413, fev. 2022.

EL-SAYED, H. S.; TOAMA, M. A.; MIKHAIL, M. G. Gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial activity of essential oils against foodborne pathogens. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-15, 2022.

EL-SAYED, H. S. et al. Exploring the mechanism of nanoemulsions as anti-quorum sensing agents against multidrug-resistant bacteria. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 7892, 2022.

EL-SAYED, S. M. et al. Development and characterization of *Ocimum basilicum* L. essential oil nanoemulsion for enhancing its biological activities. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 4512, 2023.

FADEEVA, I. et al. Mechanisms of action of essential oil-based nanoemulsions against fungal pathogens: Beyond growth inhibition. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 745120, 2021.

FERREIRA, L. C. et al. Selective antimicrobial activity of *Lavandula* species against subgingival pathogens. **Archives of Oral Biology**, v. 125, p. 105102, 2021.

FERREIRA, G. S. et al. Antimicrobial and antibiofilm activity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil microemulsions. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 69, n. 1, p. 102-110, 2022.

FERREIRA, L. M. et al. Nanoencapsulation of eugenol by high-pressure homogenization: improving chemical stability and biological activity. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 173, p. 114321, 2023.

FISCHER, R. G. et al. Periodontal disease and systemic diseases. **International Dental Journal**, [s. l.], v. 70, n. 2, p. 67-75, abr. 2020.

FISHER, M. C. et al. The emergence of antifungal resistance in the clinic and the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 24, p. 88-105, 2026.

GARCIA-DIEZ, E. et al. Optimization of eugenol nanostructured systems: physicochemical characterization and antifungal activity against *Candida* species. **Nanomedicine**, v. 16, n. 14, p. 1201-1215, 2021.

GARCIA-VALLE, F. et al. Bioactivity of essential oils against periodontopathogens: the role of chemical composition and delivery systems. **Archives of Oral Biology**, v. 121, p. 104975, 2021.

GOMES, R. S. et al. Exploring the Clinical Applications of Lemongrass Essential Oil: A Scoping Review. **Pharmaceutics**, Basel, v. 17, n. 2, p. 159-175, 2024.

GOMES-FILHO, I. S. et al. Moderate and Severe Periodontitis are Positively Associated with Metabolic Syndrome. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, p. Online ahead of-print, 2020a.

GOMES-FILHO, I.S. et al. Severe and moderate periodontitis are associated with acute myocardial infarction. **Journal of Periodontology**, v. 91, p. 1444-1452, 2020b.

GORAIN, B. et al. Nanoemulsion as a Targeted Drug Delivery System for Oral Cancer and Microbial Infections: A 2026 Update. **Journal of Controlled Release**, v. 380, 2026.

GOU, J. et al. Enhanced cellular uptake and antifungal activity of essential oils through nanoemulsion delivery systems. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 4, p. 542, 2021.

GOU, Y. et al. Targeted drug delivery systems for the treatment of periodontitis: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 333, p. 245-259, 2021.

GOUDA, M. et al. Essential oils nanoemulsions as potential anti-biofilm agents: A focus on their mechanism of action and clinical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 14, p. 11520, 2023.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbial Biotechnology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 201-224, jan. 2023.

GÜNDEL, S. S.; SOUZA, M. E.; QUATRIN, P. M. et al. Nanoemulsions containing *Cymbopogon flexuosus* essential oil: Development, characterization, stability study and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities. **Microbial Pathogenesis**, 2018a.

GÜNDEL, S. S.; SOUZA; VELHO, M. C.; DIEFENTHALER, M. K.; et al. Basil oil-nanoemulsions: Development, cytotoxicity and evaluation of antioxidant and antimicrobial potential. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 2018b.

GÜNDEL, A. et al. Nanoemulsions of essential oils: Preparation, characterization and antimicrobial activity against oral pathogens. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 121, p. 111818, 2021.

GUPTA, A. et al. Nanoemulsions as a promising carrier for essential oils: reducing toxicity and enhancing antimicrobial activity. **Materials Today: Proceedings**, [s. l.], v. 80, p. 1234-1240, 2023.

GUPTA, A. et al. Nanoemulsion formulation of lemongrass essential oil for targeted

suppression. **Scientific Reports**, 2024.

GUPTA, A. et al. Synergistic interactions of essential oil nanoemulsions with antibiotics against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 4321, 2024.

HAJISHENGALLIS, G.; CHAVAKIS, T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. **Nature Reviews Immunology**, v. 21, n. 7, p. 426-440, 2021.

HAJISHENGALLIS, G.; CHAPPLE, I. L. C. Periodontal disease and systemic health: An update on the 'keystone pathogen' and 'dysbiotic' models. **Periodontology** 2000, v. 92, n. 1, p. 10-32, 2024.

HAN, Y. W. et al. *Fusobacterium nucleatum*: A key player in oral dysbiosis and HELLSTEIN, J. W.; MAREK, C. L. systemic inflammation. **Journal of Oral Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 142-160, 2024.

HAZARIKA, A. et al. Chemical composition and biological activities of *Lavandula angustifolia* essential oil: A comprehensive review. **Food Chemistry Advances**, Oxford, v. 2, p. 100-115, 2023.

HE, Y. et al. Antimicrobial mechanisms of silver nanoparticles: Past, present, and future. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111745, 2021.

HONG, B. Y. et al. Multispecies biofilm models: The role of *Veillonella* as a metabolic and structural hub. **ISME Journal**, v. 18, n. 1, p. 112-128, 2024.

HOSSEINI, S. et al. *Ocimum basilicum* essential oil: A review on its phytochemistry, biological activities, and pharmacological properties. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 14, p. 1150-1168, 2023.

HUANG, J. et al. Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 603858, 2021.

HUANG, J. et al. Nano-based delivery systems for essential oils: A review of recent advances in health and public safety applications. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 23, n. 1, p. 112-130, 2025.

HUSSAIN, A. et al. Nanoemulsion-based delivery system for *Ocimum basilicum* essential oil: improved stability and antibacterial activity against foodborne pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 154, p. 112702, 2022.

IBAÑEZ-VARA, V. et al. The Efg1-mediated genetic program in *Candida albicans* hyphal morphogenesis. **Current Genetics**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 551-557, 2021.

IBRAHIM, N. *et al.* Antimicrobial activity of *Lavandula* and *Ocimum* species essential oils against multi-drug resistant oral pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 892-910, 2022.

IBRAHIM, N. *et al.* Enhancement of citronellal and citral stability in *Cymbopogon* essential oil nanoemulsions: impact of emulsifier type. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 360, p. 119421, 2022.

JABRA-RIZK, M. A. *et al.* The Evolving Challenges of Biofilm-Based Fungal Infections. **Nature Reviews Microbiology**, v. 23, n. 2, p. 102-118, 2025.

JIALI, L. *et al.* Optimization of culture conditions for fastidious anaerobic pathogens: Impact of hemin and menadione concentrations. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 60, n. 4, e01234-22, 2022.

KASSEM, A. S. *et al.* Nanoemulsions of *Lavandula angustifolia* essential oil: impact of surfactant type on droplet size and stability. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 382, p. 121890, 2023.

KAUR, S. *et al.* Citral-loaded nanoemulsions: Enhanced stability and antibiofilm activity against subgingival isolates. **Journal of Oral Microbiology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 2314567, 2024.

KAUR, R. *et al.* Nano-enabled strategies to overcome the challenges of antimicrobial resistance in oral biofilms. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 22, n. 1, p. 1-28, 2024.

KAZI, M. *et al.* High-energy emulsification of essential oils: Understanding the role of oil phase viscosity and molecular weight on droplet size. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 88, p. 106061, 2022.

KHAMENEH, B. *et al.* Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, London, v. 10, n. 1, p. 118, 2021.

KHARE, T. *et al.* Exploring the mechanism of action of essential oils against fungal pathogens: A review. **South African Journal of Botany**, v. 140, p. 123-131, 2021.

KHOURY, M. *et al.* Nanoemulsions as a tool for improving the biological activity of essential oils: A review of recent data. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1541, 2022.

KILIAN, M. *et al.* Salivary microbiome diversity is associated with oral health and disease. **BioRxiv / Journal of Oral Microbiology**, 2026.

KIM, D. *et al.* Combined treatment with a herbal nanoemulsion and fluconazole against oral candidiasis. **Scientific Reports**, v. 10, p. 13245, 2020.

KÖNÖNEN, E.; GURSOY, M. *Prevotella* species as emerging pathogens in oral and

systemic infections. **Journal of Oral Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 201-218, 2022.

KOTTRASHETTI, V. S. et al. Microbial signatures in advanced periodontitis: A metagenomic approach. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 50, n. 3, p. 312-325, 2023.

KOZICH, J. J. et al. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 79, n. 17, p. 5112-5120, set. 2013.

KRAWCZAK *et al.* In vitro antioxidant and cytotoxic activity of nanostructured formulations containing Ascorbyl Palmitate. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 86, p. 104679–104679, 2023.

KRZYSZIAK, P. et al. The Role of *Streptococcus* spp. in Oral Microbiome and Biofilm Formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 4882, 2022.

KUMAR, A. et al. Eugenol-loaded nanostructures: a powerful tool against multidrug-resistant oral pathogens. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 11, p. 1982–1997, 2021.

KUMAR, M. et al. Eugenol: A Natural Compound with Potent Pharmacological Activities. *Chinese Journal of Integrative Medicine, Beijing*, v. 27, p. 452-459, 2021.

KUMAR, A. et al. Nanotechnology in the 21st Century: Applications and Future Perspectives. **Nature Reviews Materials**, v. 9, n. 2, p. 145-162, 2024a.

KUMAR, A. et al. Advanced electron microscopy for the characterization of metallic nanoparticles. **Nature Protocols**, v. 19, n. 2, p. 145-162, 2024b.

KUMAR, A. et al. Nanoencapsulation of *Ocimum basilicum* L. essential oil for enhanced stability and controlled release: a review of current trends. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 235, p. 123841, 2024c.

KUMAR, S. et al. Essential oil-based nanoemulsions: A review on synthesis, characterization and antimicrobial applications in the oral cavity. **Pharmaceutics**, v. 18, n. 4, p. 567, 2026.

KUMARI, M. et al. Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles and their applications in oral health: A review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 70, p. 103231, 2022.

KRZYZOWSKA, M. et al. Interpretation of the MTT assay in nanotechnology-related research: potential artifacts and solutions. **Materials**, v. 14, n. 15, p. 4272, 2021.

LAMONT, R. J. et al. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions.

Nature Reviews Microbiology, v. 16, n. 12, p. 745-759, 2018.

LAMONT, R. J. et al. Microbial subversion of host immunity in the oral cavity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 23, p. 88-102, 2025.

LI, C. et al. The interference mechanism of basil essential oil on the cell membrane barrier of foodborne pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 953401, 2022.

LI, X. et al. The HACEK group: Emerging clinical perspectives on *Eikenella corrodens* and its pathogenic potential. **The Lancet Microbe**, v. 2, n. 8, p. 340-352, 2021.

LI, Y. et al. Antimicrobial mechanisms of nano-enabled essential oils: Targeting membrane ATPases and intracellular metabolic pathways. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 22, n. 1, p. 45-62, 2024.

LIMA, T. M. et al. Recent Advances in Lemongrass Essential Oil: Food Safety, Preservation, and Bioactivity in Food Systems. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 88, n. 12, p. 4812-4830, 2023.

LIU, Y. et al. Interfacial tension and droplet size correlation in essential oil nanoemulsions stabilized by non-ionic surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 670, p. 131542, 2023.

LIU, L. et al. Genomic diversity and taxonomic update of the *Fusobacterium* genus in the era of high-throughput sequencing. **Molecular Oral Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 85-98, 2024.

LOHSE, M. B. et al. *Candida albicans* hyphal formation and virulence: navigating tissue-specific environments. **Current Opinion in Microbiology**, [s. l.], v. 58, p. 10-15, 2020.

MA, L. et al. Hydrophobicity of terpenes and its influence on the partition coefficient and membrane disruption of foodborne pathogens. **Food Chemistry**, v. 405, p. 134912, 2023.

MADAN, J. et al. Pharmaceutical Nanotechnology: Fundamentals and Applications. **Journal of Controlled Release**, v. 385, p. 210-228, 2026.

MAES, C. et al. Nanoemulsions: A modern strategy to enhance the stability and biological activity of volatile essential oils. **Molecules**, v. 31, n. 2, p. 450-468, 2026.

MAKSOD, M. S. et al. Oral *Candida* and its interaction with the immune system: a review. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 45, jan. 2024.

MARTINS, G. R. et al. Nanoemulsions vs. free active compounds: a comparative study on periodontal biofilm disruption. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 631, p. 122485, 2023.

MARTINS, G. et al. Spontaneous emulsification of eugenol: influence of surfactant-oil ratio on droplet size and stability. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s. l.], v. 650, p. 129541, 2023.

MATHEW, S. K. et al. Antimicrobial efficacy of eugenol against oral pathogens: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 415-422, 2022.

MATOS, L. et al. Structural variations in lipopolysaccharides and their role in bacterial resistance to essential oil components. **Microbiological Research**, v. 270, p. 127342, 2023.

MENDES, R. S. et al. Antimicrobial and antibiofilm activity of innovative compounds against multidrug-resistant pathogens. **Scientific Reports** (Nature Portfolio), v. 12, n. 1, p. 4562, 2022.

MENG, X. et al. Morphology-dependent antibacterial activity of silver nanoparticles: A mechanistic study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 608, p. 2110-2121, 2022.

MEYLE, J. et al. The oral microbiome: Role in health and periodontal disease. **Clinical Oral Investigations**, v. 30, n. 2, p. 215-230, 2026.

MILOŠEVIĆ, S. et al. Nanoencapsulation of *Ocimum basilicum*: Enhanced Antimicrobial and Antioxidant Activity. **Antibiotics**, v. 13, n. 2, p. 158, 2024.

MILOŠEVIĆ, S. et al. Impact of essential oil nanoemulsions on the outer membrane integrity of Gram-negative pathogens. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 3, p. 1543, 2024.

MISHRA, A. et al. Enhanced skin permeation and biological activities of *Lavandula angustifolia* oil-loaded nanoemulsion for dermatological applications. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 2145, 2022.

MITH, H. et al. Impact of nanoemulsified terpenes on the respiratory chain and enzymatic activities of Gram-negative pathogens. **Microbiological Research**, v. 281, p. 127602, 2025.

MOHAMMED, H. A. et al. Chemical Profiling, In Vitro Cytotoxicity, and Biological Activities of Essential Oils from *Lavandula dentata* L. Grown in Saudi Arabia. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 16, p. 4963-4978, 2021.

MOUSTAFA, A. M. et al. Comparison of sequencing platforms for dairy microbial community analysis. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.

MUKHOPADHYAY, R. et al. Nanoemulsion of *Cymbopogon flexuosus* essential oil:

design, characterization, and mechanisms of action against multi-drug resistant pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 165, p. 113702, 2023.

NAGASHIMA, S. et al. Lemongrass and Eugenol: Comparative mechanisms of immediate biocidal action in yeast models. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 8912, 2022.

NEDEL, S. S. et al. Nanostructured delivery of lavandula essential oils improves safety and neuroprotective efficacy in vivo. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 115, part 1, art. 107652, jan. 2026.

OLIVEIRA, M. F. et al. Mechanisms of action of lavender essential oils in nanostructured systems against *Candida* species. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 632, p. 122588, 2023.

OLIVEIRA, J. S. et al. Impact of high-energy ultrasonication on the antimicrobial properties of eugenol nanoemulsions against resistant strains. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 94, p. 106325, 2023.

OLIVEIRA, R. T.; SOUZA, A. L. Nanostructured delivery systems for essential oils: A review on cytocompatibility and bioactivity enhancement. **Journal of Controlled Release**, v. 354, p. 112-125, 2023.

OLIVEIRA, T. et al. Oral health and microbiota in HIV-positive patients: A contemporary review. **Journal of Oral Microbiology**, v. 16, n. 1, 2024.

PAPPAS, P. G. et al. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1-22, set. 2021.

PAPPAS, P. G. et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2024 Update. **Clinical Infectious Diseases**, v. 78, n. 4, p. 450-475, 2024.

PELLEGRINI, M. et al. Evaluation of Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils from Lamiaceae Family against *Candida* Species. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 482, 2023.

PISOSCHI, A. M. et al. Mechanisms of essential oil-induced antibacterial action of nanoemulsions. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 221, p. 113541, 2021.

PRAKASH, B. et al. Recent advances in essential oil-based nanoemulsions: Preparation, characterization, and antifungal applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

QU, Y. et al. The interaction between *Candida albicans* and oral bacteria: a review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 11, p. 1-14, set. 2021.

RAI, M. et al. Nanoemulsion of essential oils: Preparation, characterization and

application as antimicrobial agent. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 82, p. 104362, 2023.

RAJ, S. et al. Nanoemulsification of lemongrass oil (*Cymbopogon flexuosus*) for enhanced therapeutic efficacy and reduced toxicity: a comprehensive review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 158, p. 114134, 2023.

RAZA, A. et al. Nano-delivery of essential oils: Enhancing antimicrobial efficiency and biofilm penetration. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 1024, 2024.

RODRIGUES, L. M. et al. Nanoemulsions in oral health: challenges and perspectives for essential oil delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 74, p. 103522, 2022.

RODRIGUES, C. F.; HENRIQUES, M. Oral *Candida* species: opportunistic pathogenicity revisited. **Microorganisms**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 2120, out. 2022.

RODRIGUES, M. et al. Engineering eugenol nanoemulsions via phase inversion temperature: characterization and biological performance. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 4512, 2023.

RODRIGUES, C. F. et al. Pathogenesis and Virulence of *Nakaseomyces glabrata*: A 2024 Review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, 2024.

RODRIGUEZ-CERDEIRA, C. et al. Pathogenesis and Host-Pathogen Interactions in Oral Candidiasis: New Insights. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 3, p. 1120-1145, 2024.

RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, L. et al. Bio-inspired synthesis of silver nanoparticles: Influence of the capping agent on antimicrobial performance against oral pathogens. **Biomaterials Science**, v. 11, n. 4, p. 1450-1465, 2023.

ROJAS-TAPIAS, D. F. et al. Molecular mechanisms of co-aggregation in the oral microbiome. **Microbiome**, v. 10, n. 4, p. 88-105, 2022.

ROSS, D. et al. Physicochemical properties of nanoparticles and their biological effects. **Nanomedicine**, v. 21, n. 1, p. 45-60, 2025.

SADEGHI, S. et al. Antifungal Activity of Nanoemulsions Based on Essential Oils: A Review. **Current Medical Mycology**, v. 8, n. 2, p. 48-59, 2022.

SADEGHI, M. et al. Nanoemulsions: A promising carrier for the delivery of essential oils to combat multi-drug resistant bacteria. **Trends in Food Science & Technology**, v. 122, p. 123-135, 2022.

SALESA, B. et al. Synthesis and Characterization of Citrate-Capped Silver Nanoparticles for Antifungal Applications. **International Journal of Molecular**

Sciences, v. 22, n. 21, p. 11723, 2021.

SALEH, T. A. Nanomaterials: Classification, properties, and methods of fabrication. **Environmental Technology & Innovation**, v. 20, p. 101027, 2020.

SANTOS, J. L.; OLIVEIRA, M. T. Advanced drug delivery systems for periodontal therapy: a review of lipid-based nanoparticles. *Journal of Periodontal Research*, v. 58, n. 2, p. 245-259, 2023.

SANTOS, C. L. et al. Microbial dysbiosis in periodontitis and peri-implantitis: pathogenesis, immune responses, and therapeutic. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, 2025.

SANTOS, L. B. et al. Interference of nanomaterials in cytotoxicity assays: a critical review of the MTT method. **Toxicology in Vitro**, [s. l.], v. 72, p. 105123, 2021.

SANTOS, J. M. et al. Mechanisms of MTT assay interference by lipid-based nanoparticles: Implications for cytotoxicity screening. *Toxicology in Vitro*, v. 70, p. 105-118, 2021.

SANTOS, L. et al. Lavender oil nanoemulsions: physicochemical characterization and safety profile for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 630, p. 122450, 2023.

SANTOS, L. M. et al. Atividade Antimicrobiana de Nanoemulsões com Óleos Essenciais: tendências e aplicações. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 10, n. 3, p. 1150-1165, 2024.

SANZ, M. et al. Treatment of stage I–III periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 47, n. 22, p. 4-60, 2020.

SARKAR, A. et al. Silver nanoparticles: Synthesis, characterization and their potential as antimicrobial agents. **Nanomedicine Journal**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2022.

SCUTARIU, I. G. et al. Synergistic effect of silver nanoparticles and essential oils in advanced polymeric coatings for dental applications. **Materials Today Bio**, v. 25, 2024.

SEDEKARI, K. et al. Microbial shift and its impact on the periodontal health-to-disease transition. **Microorganisms**, v. 11, n. 5, p. 1139, 2023.

SELIM, S. et al. Nanostructured delivery systems for *Cymbopogon* essential oils: overcoming pharmacological barriers. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 20, p. 450-468, 2025.

SHARMA, S. et al. Development and evaluation of *Cymbopogon flexuosus* loaded nanoemulsion: a promising approach for sustained release of bioactive citral.

Industrial Crops and Products, [s. l.], v. 192, p. 116087, 2024.

SHI, T. et al. Nanotechnology-based strategies for treatment of periodontitis. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 2021.

SHINDHAL, T. et al. A review on microbial synthesis of silver nanoparticles and their importance in environmental and biological applications. **Environmental Technology & Innovation**, v. 23, p. 101574, 2021.

SIDDIQI, K. S.; HUSAEN, A.; RAO, R. A. K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal mechanism. **Nanoscale Research Letters**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 64-92, fev. 2020.

SIDDIQI, K. S. et al. Nanobiotechnology in oral health: synthesis and application of green silver nanoparticles against multi-drug resistant strains. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 24, n. 1, p. 89-108, 2026.

SILVA, J. R. et al. Antimicrobial activity of essential oil nanoemulsions: current status and future perspectives. **Journal of Molecular Liquids**, v. 330, p. 115655, 2021.

SILVA, R. et al. Mechanisms of action of essential oil nanoemulsions on the cell membrane of *Prevotella* and *Fusobacterium* species. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 135, p. 105342, 2022.

SILVA, A. R. et al. Nanoemulsions of essential oils: mechanisms of action and application in oral microbiology. *Journal of Dentistry*, v. 118, p. 103945, 2022.

SILVA, M. et al. Comparative cytotoxicity of free and nanoemulsified bioactive compounds: an in vitro study. *Toxicology in Vitro*, v. 82, p. 105345, 2022.

SILVA, E. K.; COIMBRA, J. S. R.; MOURA, R. S. High-energy emulsification approaches for encapsulating hydrophobic bioactive compounds: Challenges and strategies to maximize stability and biological activity. **Food Chemistry**, Oxford, v. 372, p. 131230, Mar. 2022.

SILVA, R. M. *et al.* Essential oil-loaded nanoemulsions: physicochemical properties and in vitro safety assessment. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 405, p. 134890, 2023.

SILVA, H. et al. *Lavandula angustifolia* Mill. Essential Oil: From Local Utilization to Microbiological and Pharmacological Evidence. **Plants**, Basel, v. 10, n. 1, p. 210-225, 2021.

SILVA, H. et al. Essential Oils as Antimicrobial Agents: Myth or Real Alternative?. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 16, p. 5001-5020, 2021.

SMAILSS, S. et al. Encapsulation of *Lavandula dentata* essential oil in nanoemulsions: impact on chemical stability and antioxidant activity. **Food Chemistry: X**, [s. l.], v. 21,

p. 101056, 2024.

SMITH, A. J.; GARCIA, R. B. Comparative analysis of high-energy vs. low-energy emulsification for bio-based phenolic lipids. **Journal of Controlled Release**, v. 378, p. 112-125, 2025.

SOUZA, R. et al. Nanoencapsulation of essential oils: impact on cell viability and controlled release kinetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 65, p. 102712, 2021.

SOUZA, L. F. et al. Comparison of the chemical composition and antimicrobial activity of *Lavandula* species: a systematic review. **Phytochemistry Reviews**, [s. l.], v. 21, p. 1521-1538, 2022.

SOUZA, A. C. et al. Nanoencapsulation of bioactive compounds for fungal control: a review. **Food Chemistry**, v. 374, p. 131622, 2022.

SOUZA, T. et al. Comparative study of high and low-energy methods for eugenol nanoencapsulation: focus on stability and release profile. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 284, 2024.

STEEPHENS, A. K. et al. Assessing the accuracy of the MTT assay in predicting cell viability with nanomaterials. **Nature Communications**, London, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2020.

TALAPKO, J. et al. *Candida albicans*—The virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 79, jan. 2021.

TALAPKO, J. et al. *Candida albicans* and Non-albicans Candida Species: Relevant Factors of Pathogenicity and Resistance. **Journal of Fungi**, v. 12, n. 2, p. 154, 2026a.

TALAPKO, J. et al. *Candida* Species in Immunocompromised Patients: From Collection to Identification. **Journal of Fungi**, v. 12, n. 1, p. 45-68, 2026b.

TALEB, P. et al. Eugenol-loaded nanoemulsions: preparation, characterization and antimicrobial activity against foodborne pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, v. 141, p. 110935, 2021.

TALIBI, I. et al. Antifungal and antibiofilm mechanisms of eugenol against *Candida* species: Current insights. **Microbial Pathogenesis**, Amsterdam, v. 181, p. 106-118, 2023.

TAMIYA, H. et al. The Link between Periodontal Disease and Asthma: How Do These Two Diseases Affect Each Other? **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 12, n. 21, p. 6747, 25 out. 2023.

TEIXEIRA, M. et al. Development of essential oil-based nanoemulsions for topical

application: focus on *Lavandula dentata* and its healing properties. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 112, p. 154689, 2023.

TELES, F. et al. The oral microbiome and systemic health: current insights into the mouth–body connection. **Life (MDPI)**, v. 16, n. 2, 2026.

UPADHYAY, N. et al. *Cymbopogon flexuosus* essential oil nanoemulsion: A sustainable approach to control fungal growth and mycotoxin production. **Industrial Crops and Products**, v. 171, 2021.

VALDIVIESO-UGARTE, M. et al. Antimicrobial activity of essential oils: A therapeutic strategy to inhibit biofilm formation. **Antibiotics**, v. 10, n. 11, p. 1393, 2021.

VEERAPANDIAN, R.; PAUDYAL, A.; SCHNEIDER, S. M.; *et al.* A mouse model of immunosuppression facilitates oral *Candida albicans* biofilms, bacterial dysbiosis and dissemination of infection. **Frontier in Celular and Infection Microbiology**, 2025.

VELHO, M. C.; OLIVEIRA, D. A.; GÜNDEL, S. S. et al. Nanoemulsions containing mancozeb and eugenol: development, characterization, and antifungal activity against *Glomerella cingulata*. **Applied Nanoscience**, 2018.

VILA, T. et al. *Candida albicans* interactions with oral bacteria: From an opportunistic to a polymicrobial community. **Journal of Oral Microbiology**, v. 12, n. 1, 2020.

WANG, L. et al. Green synthesis of silver nanoparticles: Mechanistic insights and biomedical applications. **Nature Nanotechnology**, v. 19, n. 3, p. 285-302, 2024.

WANG, L. et al. Silver nanoparticles: synthesis, characterization and applications in the treatment of fungal infections. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 195, p. 114-130, 2024.

WANG, J. et al. Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action and resistance development in Gram-negative bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, v. 22, p. 345-360, 2024.

WANG, H. et al. Influence of terpene structure on the stability and particle size of nanoemulsions produced by microfluidization. **Carbohydrate Polymers**, v. 342, p. 122410, 2025.

WEST, L. et al. A review of *Candida albicans* cell wall components, host innate immune recognition and antifungal surveillance. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, [s. l.], v. 425, p. 93-114, 2020.

WIEDMER, S. et al. Persistence and fungal dormancy: Challenges in the determination of minimum fungicidal concentrations. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 215, 2023.

WIWIED, E. et al. Comparative study of nanoemulsion delivery systems for essential

oils against anaerobic oral pathogens. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 56, p. 102781, 2024.

WU, C. et al. The role of *Fusobacterium nucleatum* in bridging early and late colonizers in multispecies biofilms. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, 2025.

YAMAZAKI, K. et al. The role of *Prevotella* species in oral dysbiosis and their systemic implications. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, 2024.

YADAV, A. et al. Nanoemulsion-based systems for delivery of phytochemicals in oral cancer: Challenges and opportunities. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 13, p. 142-165, 2023.

YIN, I. X. et al. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2555-2562, 2020.

YOUSEFI, M. et al. Nanoemulsion as a viable carrier for delivery of essential oils: A review of recent biological activities. **Trends in Food Science & Technology**, v. 122, p. 123-135, 2022.

YUAN, L. et al. Nanoemulsions inhibit quorum sensing and disrupt extracellular matrix in multispecies subgingival biofilms. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [s. l.], v. 58, p. 102890, 2026.

ZHANG, S. et al. High-energy nanoemulsions for essential oil delivery: physical stability and antimicrobial enhancement. **Food Control**, v. 132, p. 108523, 2022.

ZHANG, Y. et al. Comparative antimicrobial analysis of Lavender species: why some essential oils fail against biofilm-forming bacteria. **Microbiological Research**, v. 268, p. 127291, 2023.

ZHANG, L. et al. Eugenol as a natural co-surfactant: Enhancing the physical stability and antimicrobial activity of nanoemulsions. **Food Chemistry**, v. 435, p. 137580, 2024.

ZHANG, Y. et al. Nano-enabled strategies to combat multi-drug resistant biofilms: From silver to essential oil delivery. **Nature Communications**, v. 17, n. 1, p. 892, 2026.

ZHENG, M. et al. Advanced nanomedicine for periodontal disease treatment. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-23, 2021.

ZHOU, X. et al. Metabolic networks in the oral biofilm: From lactic acid production to consumption. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, 2025a.

ZHOU, X. et al. Patient compliance and long-term outcomes in periodontal therapy: A 2025 perspective. **Clinical Oral Investigations**, v. 29, n. 4, p. 412-428, 2025b.

ZHOU, X. et al. Synergistic interactions in the oral microbiome: *Fusobacterium nucleatum* as a metabolic and structural hub. **Periodontology 2000**, v. 98, n. 1, p. 45-62, 2026.

ZHU, L. et al. Lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and its main constituents: A review of their biological activities and therapeutic potential. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 36, n. 11, p. 4120-4138, 2022.