



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM REABILITAÇÃO ORAL



LORENA MOSCONI CLEMENTE

Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional

Ribeirão Preto

2023

LORENA MOSCONI CLEMENTE

Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional

Evaluation of risk factors for denture stomatitis and local and systemic biomarkers of inflammation – observational cross-sectional study

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia (Reabilitação Oral) da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cláudia Helena Lovato da Silva

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto

2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E
PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Clemente, Lorena Mosconi

Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional.

141p.: il.; 30cm

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Programa de Pós Graduação em Odontologia (Reabilitação Oral), apresentado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Orientador(a): Silva-Lovato, Cláudia Helena.

Versão corrigida da Dissertação. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

1. Estomatite sob Prótese. 2. Prótese Total. 3. Fatores de Risco. 4. Contagem de Colônia Microbiana. 5. Biomarcadores.

FOLHA DE APROVAÇÃO

LORENA MOSCONI CLEMENTE

Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia (Reabilitação Oral) da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre.

Data da defesa: ____ / ____ / 2023

BANCA EXAMINADORA

Presidente da Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais,

Mauro César Clemente e Alessandra Mosconi pelo amor incondicional e pela admirável arte de educar. Obrigada por me ensinar a caminhar seguindo os princípios de Deus e por terem me proporcionado uma vida repleta de felicidade. Agradeço a vocês por não medirem esforços para investir na minha educação e me incentivar a continuar estudando sempre. Obrigada pelo amor, segurança, apoio e compreensão que encontro em vocês e, principalmente, pelo porto seguro em momentos de dificuldade. Serei eternamente grata. Amo vocês!

AGRADEDECIMENTOS

À minha irmã, **Isadora Mosconi Clemente**, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e me incentivando a conquistar minhas metas e objetivos.

Aos meus amigos **Letícia Barbosa de Oliveira Paiva, Marcela Tarosso Réa, Allan Oliveira, Caroline Vieira Fortes, Marianna Borges e Camila Porto**, que nunca mediram esforços em me ajudar nesta jornada.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto**, sob direção do Prof. Dr. Paulo Nelson Filho, por permitir meu desenvolvimento acadêmico.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa (Processo nº: 88887.620265/2021-00).

À **FAPESP** (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo financiamento (Processo nº: 2020/06043-7) deste trabalho.

À Coordenadora da Pós-Graduação em Odontologia (Reabilitação Oral), **Profa. Dra. Andréia Cândido dos Reis**, pelo incentivo.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Ribeiro Faria**, por me acompanhar nesta jornada como relator pela Pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Evandro Watanabe**, pela contribuição científica.

À **Profa. Dra. Helena de Freitas Oliveira Paranhos**, por compartilhar seus conhecimentos e do seu interesse pelo meu desenvolvimento profissional.

À **Profa. Dra. Aline Barbosa Ribeiro**, pela disponibilidade e ensinamentos.

À **Viviane de Cássia Oliveira**, pela dedicação do desenvolvimento deste trabalho, por toda ajuda, motivação e paciência.

À **Ana Paula Macedo**, pelo processamento dos dados e estatística deste trabalho, pelo apoio e disponibilidade.

Ao **Prof. Dr. Hélio César Salgado**, pela coordenação do Projeto Temático.

À **Profa. Dra. Adriana Barbosa Ribeiro**, que desde do primeiro momento me acolheu, que sempre esteve comigo em todas as etapas deste trabalho. Agradeço toda as explicações, todo o compartilhamento de conhecimento, por me fazer ver o lado bom em momentos difíceis e sobretudo à sua paciência. Dri, você é uma mulher forte e guerreira, levo comigo todos os momentos dessa jornada e mais que isso, todos os ensinamentos de vida. Muito obrigada por tudo.

À minha orientadora **Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato**, que desde da graduação sempre soube que era um ser humano excepcional. Sorte a minha quando você me aceitou como sua orientada. Agradeço por transmitir seus conhecimentos e experiências profissionais, por me orientar além no âmbito acadêmico. Fica registrado aqui meu sincero agradecimento e meu profundo respeito, por tudo que a senhora me ofereceu. Muito obrigada pelo estímulo, gentileza, compreensão, tempo e atenção dedicados a mim para o meu desenvolvimento. Sinto que nesses anos de pós-graduação evolui como profissional e principalmente como pessoa, e isso se dá graças a você.

RESUMO

Clemente LM. **Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional.** Ribeirão Preto, 2023. 141p. Dissertação de Mestrado (Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

RESUMO

Objetivo. Avaliar fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese (ERP) e biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação, comparando indivíduos com e sem ERP. **Material e Métodos.** Para este estudo transversal observacional, 27 participantes sem ERP (Grupo 0), 24 com ERP moderada (Grupo 1) e 25 com ERP grave (Grupo 2) foram avaliados quanto a parâmetros sociodemográficos, comportamentais e clínicos, carga microbiana de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp. e enterobactérias, e níveis de citocinas e proteína C-reativa. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA, teste exato de Fisher, teste de Kruskal-Wallis, teste de Mann-Whitney, teste de Wilcoxon e teste de Qui-quadrado de Pearson ($\alpha=0,05$). **Resultados.** O Grupo 1 apresentou média de idade significativamente maior em relação aos demais grupos ($P=0,018$), mas não foi identificada correlação entre idade e ERP ($P=0,830$; $r=0,025$). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para outras características sociodemográficas e comportamentais. O Grupo 1 tinha próteses superiores e inferiores significativamente mais velhas; no entanto, não foi identificada correlação entre idade das próteses superiores ($P=0,522$; $r=0,075$) e inferiores ($P=0,143$; $r=0,195$) e ERP. Os grupos 1 e 2 apresentaram maior carga microbiana de *Candida albicans* nas próteses totais e *Candida* spp. no palato quando comparados ao grupo 0. A contagem de *Candida* spp. nas próteses dos grupos 1 e 2 foram similares entre si e maiores que as próteses do grupo 0. Não houve diferença significativa entre os grupos para a contagem de bactérias analisadas. O grupo 1 apresentou níveis salivares mais elevados de IL-6 e o grupo 2, níveis intermediários em comparação ao grupo 0. Não houve diferença nos níveis de proteína C-reativa entre os grupos. **Conclusões.** A carga microbiana de *Candida* spp. é o fator de maior relação com a ERP, com capacidade de sinalização local de inflamação por meio da IL-6.

Palavras-chave: 1. Estomatite sob Prótese. 2. Prótese Total. 3. Fatores de Risco. 4. Contagem de Colônia Microbiana. 5. Biomarcadores.

ABSTRACT

Clemente LM. **Evaluation of risk factors for denture stomatitis and local and systemic biomarkers of inflammation – observational cross-sectional study.** Ribeirão Preto, 2023. 141p. Masters Dissertation (Oral Rehabilitation). School of Dentistry of Ribeirao Preto, University of São Paulo.

ABSTRACT

Objective. Evaluate risk factors and local and systemic immunological biomarkers comparing individuals without or with Denture Stomatitis (DS). **Material and methods.** For this observational transversal study, 27 participants without DS (Group 0), 24 with moderate DS (Group 1), and 25 with severe DS (Group 2) were assessed for sociodemographic, behavioral, and clinical parameters, microbial load of *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., and enterobacteria, and cytokine and C-reactive protein levels. ANOVA, Fisher's exact, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, Wilcoxon and Pearson's chi-square tests were used for data analysis ($\alpha=0.05$). **Results.** Group 1 had a significantly higher mean age compared to the other groups ($P=0.018$), but no correlation was identified between age and DS ($P=0.830$; $r=0.025$). No significant differences were found among the groups for other sociodemographic and behavioral characteristics. Group 1 had significantly older upper and lower dentures; however, no correlation was identified between age of upper ($P=0.522$; $r=0.075$) and lower ($P=0.143$; $r=0.195$) dentures and DS. The microbial load of *Candida albicans* on dentures and *Candida* spp. on the palate of groups 1 and 2 was higher than group 0. *Candida* spp. on the dentures of group 1 and 2 was higher compared with group 0. There was no difference among groups for bacterial analyzed. Group 1 showed higher and group 2 intermediate salivary levels of IL-6 compared to group 0. There was no difference in the C-reactive protein levels among groups. **Conclusions.** Microbial load of *Candida* spp. is the factor with the strongest relationship with DS, with capacity for local signaling through IL-6.

Keywords: 1. Denture Stomatitis. 2. Complete Denture. 3. Risk Factors. 4. Microbial Colony Count. 5. Biomarkers.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

| | |
|--|------------|
| 1. CONTEXTUALIZAÇÃO | 27 |
| 1.1 INTRODUÇÃO | 29 |
| 1.2 OBJETIVOS..... | 33 |
| 1.2.1 OBJETIVOS GERAIS..... | 33 |
| 1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 33 |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS | 35 |
| 2.1 Delineamento do estudo | 37 |
| 2.2 Considerações éticas..... | 38 |
| 2.3 Seleção dos participantes | 38 |
| 2.4 Critérios de inclusão..... | 38 |
| 2.5 Critérios de Exclusão | 38 |
| 2.6 Avaliação e classificação da Estomatite Relacionada à Prótese | 39 |
| 2.7 Avaliação dos dados qualitativos e quantitativos sociodemográficos, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas como fatores de risco para ERP. | 40 |
| 2.8 Avaliação da carga microbiana de <i>Candida spp.</i>, <i>Staphylococcus spp.</i>, <i>Streptococcus mutans</i>, <i>Pseudomonas spp.</i>, e enterobactérias do biofilme da prótese e do palato como fator de risco para ERP | 41 |
| 2.9 Avaliação dos níveis salivares e plasmáticos de citocinas inflamatórias e níveis plasmáticos de proteína C-reativa. | 45 |
| 2.9.1 Quantificação da concentração dos níveis salivares e plasmáticos de citocinas | 45 |
| 2.9.2 Quantificação da concentração dos níveis plasmáticos de proteína C-reativa | 45 |
| 2.10 Análise dos dados | 46 |
| 3. ARTIGO | 47 |
| 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 71 |
| REFERÊNCIAS..... | 77 |
| APÊNDICES | 87 |
| ANEXOS..... | 121 |

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, espera-se que em 2060, 25,5% da população brasileira será composta por indivíduos com 65 anos ou mais (IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística do Brasil, 2018). Mundialmente, verifica-se que a média etária é de 71,35 anos (<https://www.populationpyramid.net/hnp/life-expectancy-at-birth-total-years/2015/>). Esse cenário é consequência do aumento da expectativa de vida e, inegavelmente é uma conquista social. Entretanto, apesar dos avanços científicos na Odontologia e melhora nos indicadores de saúde bucal no Brasil (Corassa et al., 2022), este cenário pode vir acompanhado de um aumento nas taxas de perda dental e edentulismo (Coelho et al., 2004; Emami et al., 2013) pela própria exposição dos elementos dentários ao risco e ainda, pelo baixo acesso de parte da população aos serviços odontológicos (Corassa et al., 2022).

A prevalência do edentulismo entre adultos com 65 anos ou mais é considerada alta em vários países, como o Canadá (58%), Arábia Saudita (31-46%), Grã-Bretanha (46%), China (11%) e Índia (19%) (Petersen et al., 2005). No Brasil, cerca de 15% dos brasileiros adultos são desdentados totais e, entre os idosos, esse índice atinge cerca de 41%. Entre os indivíduos com idade ≥ 18 anos que perderam os dentes, 45,9% fazem uso de prótese dentária (Ministério da Saúde, 2012; Corassa et al., 2022).

A reabilitação funcional e estética do sistema estomatognático de indivíduos desdentados totais é comumente realizada com prótese total convencional confeccionada em polimetilmetacrilato (Peracini et al., 2010; Regis et al., 2013; Li et al., 2022). Entretanto, o uso das próteses totais pode levar ao desenvolvimento de doenças inflamatórias bucais, sendo a estomatite relacionada à prótese (ERP) a mais prevalente (Gendreau; Loewy, 2011; Hilgert et al., 2016).

A ERP é uma inflamação crônica localizada na área de assentamento da prótese total, sendo mais comumente observada no palato (Arendorf; Walker, 1987; Coelho et al., 2004; Coco et al., 2008; Dorocka-Bobkowska et al., 2010; Gendreau; Loewy, 2011; Kossioni, 2011; Salerno et al., 2011; Kabawat et al., 2014; Badaró et al., 2017; Hannah et al., 2017; Perić et al., 2018; Taebunpakul; Jirawechwongsakul, 2021). Pode ser assintomática e seu principal sinal é a presença de eritema. Porém, o edema da mucosa, disgeusia e sensação de queimação/ardência podem ser observados (Gendreau; Loewy, 2011; Kossioni, 2011; Salerno et al., 2011, Perić et al., 2018; Moraes et al., 2022) e afetar a qualidade de vida (Coulthwaite; Verran 2007; Coco et

al., 2008) dos pacientes. Embora não considerada grave por muitos profissionais, a ERP tem sido considerada um fator de risco para o agravamento de doenças sistêmicas devido à sua associação com microrganismos (Fedele et al., 2011; Hilgert et al., 2016; Osmenda et al., 2017), podendo ter impacto importante na vida dos indivíduos idosos. Ainda, a ERP pode ser mais prevalente em indivíduos com diabetes mellitus (Martorano-Fernandes et al., 2020). O diagnóstico é realizado principalmente durante o exame clínico da mucosa oral e da prótese total, podendo ser complementado com a identificação e quantificação de *Candida* spp. (Perić et al., 2018), microrganismo prevalente no biofilme da prótese total.

A etiologia da ERP pode ser atribuída a uma associação de fatores diretamente dependentes do hospedeiro e a fatores dependentes da prótese, sendo eles sexo, idade, fluxo salivar alterado, uso de medicações, tabagismo, hábitos de higienização e, idade da prótese total, trauma causado pela falta de retenção e estabilidade, uso contínuo da prótese (noturno) (Petersen et al., 2005; Figueiral et al., 2007; Coco et al., 2008; Marcos-Arias et al., 2009; Emami et al., 2008; Gendreau; Loewy, 2011; Kossioni, 2011; Taebunpakul; Jirawechwongsakul, 2021; Sardari et al., 2021; Qiu et al., 2023) e presença de biofilme.

Com relação aos fatores ligados ao hospedeiro, indivíduos do sexo feminino são mais acometidas com ERP e a causa pode estar ligada às alterações hormonais (Baena-Monroy et al., 2005; Figueiral et al., 2007). Embora não há relação de causa/efeito entre idade avançada e ERP bem definida, a presença de comorbidades, imunossupressão relacionada à idade, alterações salivares e dificuldades motoras e visuais comuns em idosos, podem favorecer a presença da ERP (Ikebe et al., 2007; Gendreau; Loewy, 2011; Manikandan et al., 2022). Além disso, o uso de medicamentos e baixo fluxo salivar entre os idosos podem alterar a microbiota oral, favorecendo uma maior proliferação de *Candida* spp. (Altarawneh et al., 2013). O hábito de tabagismo pode resultar em alterações histopatológicas da mucosa oral e aumento da vulnerabilidade tecidual ao desenvolvimento da inflamação (Kossioni, 2011; Perić et al., 2018). Ainda, a maioria dos usuários de próteses totais relata a falta de orientação sobre higienização e uso adequado por parte do profissional da saúde (Peracini et al., 2010). O uso contínuo da prótese pode proporcionar um ambiente anaeróbico e de baixo pH na interface base protética e mucosa oral, o que também propicia a proliferação de microrganismos (Gendreau; Loewy, 2011).

Entre os fatores ligados à prótese, pode-se destacar a idade da mesma (tempo de uso de uma mesma prótese), pois, devido às alterações dos rebordos ao longo do tempo, há a tendência da diminuição da retenção e estabilidade das próteses com conseqüente traumatismo da mucosa oral. O uso de próteses instáveis tanto pela idade da prótese quanto pela má

adaptação (próteses recém instaladas) podem causar lesões na mucosa que facilitam a adesão e penetração dos microrganismos nos tecidos orais, favorecendo o desenvolvimento da ERP (Salerno et al., 2011; Perić et al., 2018). Ainda, a mesma prótese utilizada por longo período de tempo apresenta predisposição ao aumento de porosidades, o que dificulta a remoção efetiva do biofilme pelos pacientes (Perezous et al., 2006; Gendreau; Loewy, 2011; Hannah et al., 2017; Perić et al., 2018; Le Bars et al., 2022; D'Ambrosio et al., 2023).

O biofilme é uma estrutura complexa formada por glicoproteínas salivares, imunoglobulinas (0,5 a 1,5 μm de espessura), detritos orais (mucina, partículas de alimentos e células epiteliais descamadas) e principalmente bactérias e fungos, que interagem entre si, persistindo em superfícies bióticas ou abióticas (Shay, 2000; Todd; Peters, 2019; Rabin et al., 2015). Em indivíduos desdentados totais usuários de próteses, há prevalência de leveduras do gênero *Candida* de diferentes espécies (Sumi et al., 2022; Badaró et al., 2020; Araújo et al., 2021; Ribeiro et al., 2022) que se aderem tanto nos tecidos orais, quanto nas bases protéticas (Coco et al., 2008; Todd; Peters 2019). Dessa forma, a prótese atua como um reservatório de microrganismos que ficam em contato constante com os tecidos bucais.

Candida spp. é um microorganismo comum da microflora da cavidade bucal de humanos (Ghannoum et al., 2010; Quiu et al., 2023). *Candida albicans* é a espécie mais isolada na cavidade oral e na prótese de desdentados totais (Coco et al., 2008; Marcos-Arias et al., 2009; Zomorodian et al., 2011; Pereira et al., 2013), pois possui capacidade de adesão e proliferação nos tecidos da cavidade oral, podendo causar a modulação da resposta do hospedeiro e a predisposição ao desenvolvimento da ERP (Pereira-Cenci et al., 2008; Salerno et al., 2011).

Ainda, espécies não-*albicans* são isoladas em biofilme de próteses totais e, de acordo com a literatura, a combinação de diferentes espécies de *Candida* pode aumentar a patogenicidade do biofilme e a gravidade da ERP (Coco et al., 2008; Perić et al., 2018). Ademais, a associação entre *Candida* spp. e bactérias como *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp. e enterobactérias desempenha papel importante no estabelecimento e persistência da ERP (Sumi et al., 2003; Perezous et al., 2006; Coco et al., 2008; Altarawneh et al., 2013; Pereira et al., 2013; Morel et al., 2019; Todd, Peters, 2019; Quiu et al., 2023).

A presença desses microrganismos na cavidade oral de idosos é preocupante, pois a formação do biofilme multi-espécies pode agravar doenças sistêmicas como pneumonia aspirativa, artrite reumatoide, diabetes mellitus, infecções gastrointestinais e aumento do risco para doenças cardiovasculares (Senpuku et al., 2003; Gendreau; Loewy, 2011; Maciag et al., 2014; Hannah et al., 2017; Osmenda et al., 2017; D'Ambrosio et al., 2023). Desta maneira, o controle da carga microbiana da cavidade oral e da prótese total pode contribuir para a remissão

da inflamação local (De Souza et al., 2023) e, possivelmente, para a prevenção de doenças sistêmicas e infecciosas. Porém, estudos epidemiológicos e clínicos ainda são necessários para obtenção de respostas quanto à complexidade da doença (Perić et al., 2018) e suas relações com doenças sistêmicas, bem como quanto à indicação de métodos preventivos e de tratamento para a ERP (Coelho et al., 2004; Turker et al., 2009; Peracini et al., 2010; Li et al., 2022).

A relação da ERP com doenças sistêmicas pode ser verificada por meio da análise dos níveis de biomarcadores da inflamação. As citocinas desempenham a função de diferenciação e ativação de células imunes (Pesee, Arpornsuwan; 2015) desencadeando inflamação sistêmica com o consequente desenvolvimento e agravamento de distúrbios sistêmicos e cardiovasculares, como aterosclerose e hipertensão arterial (Maciag et al., 2014; Osmenda et al., 2017; Ribeiro et al., 2022). De acordo com a literatura, o mecanismo de acionamento da resposta imunológica tem início quando *C. albicans* deixa de ser comensal e se torna patogênico (Gasparoto et al., 2009), penetrando nos tecidos e desencadeando secreção de mediadores inflamatórios que são responsáveis pela ativação de células epiteliais e pela fase vascular da resposta inflamatória; dessa maneira pode haver um aumento de níveis de citocinas salivares e séricas na tentativa de combater os patógenos bucais invasivos (Pietruski et al., 2000; Netea et al., 2008; Gasparoto et al., 2011; Gasparoto et al., 2012; Ptasiewicz et al., 2022; Le Bars et al., 2022).

Outro biomarcador de resposta inflamatória sistêmica é a proteína C-reativa (Strandberg; Tilvis, 2000) que, dependendo do nível sérico, aumenta a predisposição a doenças crônicas, impactando na saúde geral do indivíduo (Luthra et al., 2023). A relação entre inflamações orais como a periodontite e altos níveis de proteína C-reativa tem sido objetivo de vários estudos clínicos, revisões sistemáticas e meta-análises (Gomes-Filho et al., 2011; Pejčić et al., 2011; Esteves-Lima et al., 2020; Schöffner et al., 2020; Machado et al., 2021; Luthra et al., 2023). Porém, a literatura é escassa e controversa quanto a análise da associação de níveis de proteína C-reativa e ERP (Ajwani et al., 2003; Maciag et al., 2014; Yeter et al., 2019).

Apesar de ser considerada de pouco impacto geral, em termos de mortalidade/morbidade, o diagnóstico e tratamento precoces da ERP é fundamental para evitar a potencialização da resposta imunológica sistêmica, visto que (Hannah et al., 2017; Maciag et al., 2014; Osmenda et al., 2017) a maioria dos usuários de próteses totais podem ser acometidos com ERP (Moraes et al., 2020) e grande parte deles não tem o conhecimento da presença da doença, o que, a longo prazo, pode favorecer o desenvolvimento de complicações (Coco et al., 2008). Dessa forma, a investigação dos fatores de risco associados à ERP se

justifica como forma de contribuição para o adequado manejo e tomada de decisão clínica para resolução das causas da ERP e manutenção da saúde bucal e geral dos indivíduos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar fatores de risco e marcadores de inflamação relacionados à estomatite relacionada à prótese, comparando indivíduos usuários de prótese total, sem e com ERP.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar dados qualitativos e quantitativos sociodemográficos, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas como fatores de risco para ERP.
2. Avaliar a carga microbiana de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., e enterobactérias do biofilme da prótese e do palato em indivíduos usuários de prótese total como fator de risco para ERP.
3. Avaliar os níveis salivares e plasmáticos de citocinas inflamatórias e níveis plasmáticos de proteína C-reativa.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo clínico observacional transversal com amostra de indivíduos desdentados totais usuários de prótese total convencional diagnosticados com ou sem Estomatite Relacionada à Prótese (ERP). As variáveis foram coletadas por uma equipe de trabalho em que cada membro foi responsável por procedimentos específicos, sendo eles:

- L.M.C.: coleta dos dados sociodemográficos, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas, exame clínico, atribuição dos escores da inflamação, coleta da amostra salivar, contagem de unidades formadoras de colônia.
- A.B.R.: formulação do questionário, coleta dos dados sociodemográficos, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas, coleta da amostra de sangue, obtenção de fotos do palato, aplicação do Índice de Kapur e Índice de biofilme, coleta do biofilme do palato, deslocamento das próteses para laboratório, coleta da amostra salivar, contagem de unidade formadoras de colônia.
- C.V.F.: coleta dos dados sociodemográficos, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas
- V.C.O.: codificação das amostras de biofilme da prótese e do palato, diluição e semeadura do biofilme em placas de Petri.
- A.B.R.²: quantificação de níveis de citocinas inflamatórias das amostras salivares e plasmáticas e quantificação dos níveis de proteína C-reativa plasmática.
- A.P.M.: análise estatística.
- C.H.S-L.: delineamento experimental, formulação do questionário, orientação da pesquisa, avaliação das fotos e atribuição dos escores da inflamação.

As variáveis de resposta foram coletadas a partir de informações sociodemográficas, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas, carga microbiana de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., e enterobactérias, níveis salivares e plasmáticos das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ e IL-17 e níveis plasmáticos de proteína C-reativa. Como fator de variação foi considerada a ERP em três níveis: ausente, grau moderado ou grau severo.

2.2 Considerações éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (CAAE: 93712418.1.0000.5419) (ANEXO A). Informações detalhadas foram fornecidas antes dos exames iniciais e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) foi pré-requisito para o recrutamento. Como cláusula do consentimento, foi garantido aos indivíduos o direito de desistir do estudo a qualquer momento. Todos os documentos relativos aos participantes, como termos de consentimento e dados clínicos, foram guardados em armário trancado a fim de garantir sua confidencialidade. Dados eletrônicos manipulados pelos pesquisadores continham códigos numéricos no lugar dos nomes.

2.3 Seleção dos participantes

O recrutamento dos participantes do estudo foi realizado entre agosto de 2021 a outubro de 2022 na clínica de Prótese total da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto. Os objetivos do estudo foram explicados aos indivíduos e, ao demonstrarem interesse em participar, os pesquisadores realizaram anamnese e exame clínico com base nos critérios de elegibilidade.

2.4 Critérios de inclusão

Foram incluídos indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, com bom estado geral de saúde, desdentados totais e usuários de próteses totais convencionais em ambos os arcos ou pelo menos no arco superior. As próteses deviam estar em bom estado para o uso e confeccionadas em resina acrílica termicamente polimerizada há pelo menos 12 meses.

2.5 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão foram presença de doenças crônicas não controladas como hipertensão arterial crônica, insuficiência cardíaca, diabetes mellitus, infarto prévio do miocárdio e doença de Parkinson; próteses com problemas na adaptação, reparos ou fraturas, presença de implantes e raízes residuais; presença de imunossupressão e/ou tratamento com quimioterapia e/ou radioterapia, com uso de antibióticos, anti-inflamatórios ou agentes antifúngicos nos últimos 3 meses anteriores ao início do estudo; presença de lesões na mucosa oral, tais como hiperplasia fibrosa induzida por dentadura, papilomas ou ulcerações traumáticas associadas às bases de prótese.

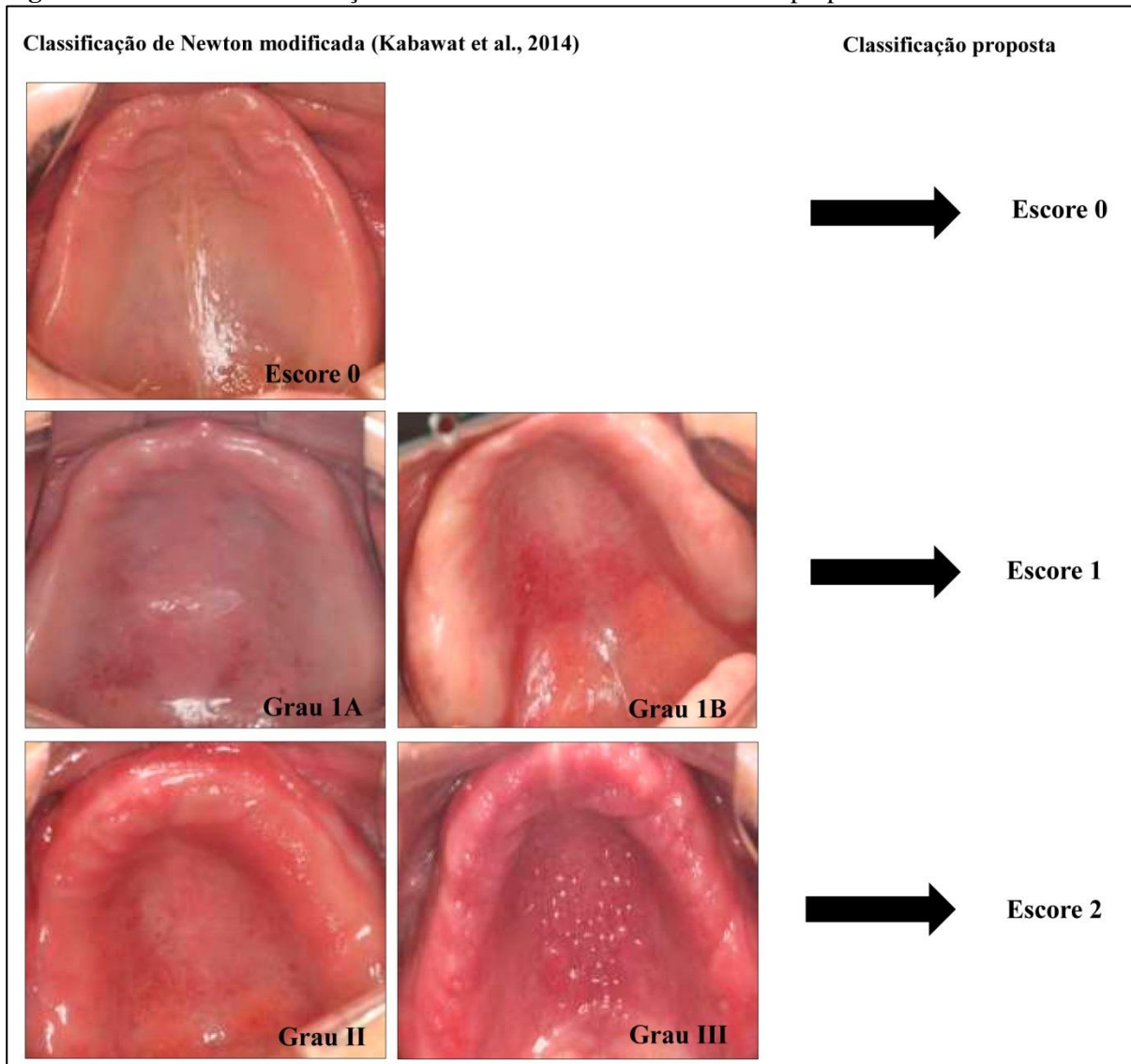
2.6 Avaliação e classificação da Estomatite Relacionada à Prótese

Os indivíduos foram examinados clinicamente (L.M.C.) para avaliação da mucosa palatina e classificação da ERP com base na classificação de Newton modificada (Kabawat et al., 2014). Em seguida, o pesquisador (A.B R.) realizou o registro fotográfico padronizado do palato (Câmera digital Canon EOS, Objetiva Canon EF Macro 100 mm/2:8 e Flash Circular Canon ML3) com o foco centralizado na região da rafe palatina (Figura 1). As imagens foram transferidas para o computador e um pesquisador cego (C.H.S-L) avaliou as imagens para atribuição dos escores. Os pesquisadores (C.H.S-L e L.M.C) foram previamente calibrados com valor de Kappa de 0,878.

Visando diminuir o número de grupos, equilibrar o tamanho dos mesmos e evitar erros de classificação por diferenças tênues entre os diferentes graus estabelecidos por Kabawat et al. (2014), os indivíduos foram reagrupados em 3 grupos, sendo grupo sem estomatite (escore 0; grupo 0), grupo com estomatite grau moderado (escore 1; grupo 1) formado pelos indivíduos com ERP grau IA e IB e grupo com grau severo (escore 2; grupo 2) formado por indivíduos com ERP grau II e III de Kabawat et al. (2014) (Tabela 1; Figura 1).

Tabela 1 – Classificação de escores da Estomatite Relacionada à Prótese proposta no estudo.

| Classificação proposta | Classificação de Newton modificada (Kabawat et al., 2014) | Características Clínicas |
|---------------------------------|--|---|
| Escore 0 – Sem ERP | Escore 0 | Mucosa saudável |
| Escore 1 – grau moderado | Escore 1 (Grau IA) | Mucosa palatal com presença de petéquias, geralmente encontradas ao redor dos orifícios dos dutos das glândulas da mucosa do palato |
| | Escore 2 (Grau IB) | Palato com áreas localizadas de inflamação na área recoberta pela prótese total; |
| Escore 2 – grau severo | Escore 3 (Grau II) | Palato com área generalizada de inflamação envolvendo a área recoberta pela prótese total; |
| | Escore 4 (Grau III) | Superfície hiperplásica do palato com inflamação da área recoberta pela prótese total. |

Figura 1- Escores da classificação da Estomatite relacionada à Prótese proposta no estudo

Fonte: Autoria Própria.

2.7 Avaliação dos dados qualitativos e quantitativos sociodemográficos, comportamentais, de condições de saúde geral e condições clínicas odontológicas como fatores de risco para ERP.

As informações foram coletadas a partir de entrevistas realizadas pessoalmente (L.M.C, A.B.R e C.V.F) empregando questionários específicos (APÊNDICE B) preparados por pesquisadores experientes (A.B.R e C.H.L-S) e exames clínicos orais. As informações coletadas foram:

- Informações sociodemográficas: idade, sexo, estado civil (solteiro, casado, divorciado, separado ou viúvo), com quem reside (sozinho, com amigo ou familiar), grau de escolaridade (analfabeto, ensino infantil completo, fundamental completo, médio completo, superior completo), renda mensal (1 a 3 salários-mínimos ou 4 a 7 salários-mínimos em moeda nacional (Real Brasileiro, R\$)).

- Informações comportamentais: relacionadas aos métodos de higiene utilizados (método mecânico ou mecânico/químico), uso noturno da prótese (dorme com a prótese, remove algumas vezes ou remove diariamente), uso de tabaco (não fumante, ex-fumante ou fumante), ingestão de álcool (não ingere bebidas alcólicas, ingere diariamente ou ingere às vezes) e frequência de higienização (quantas vezes ao dia).
- Informações de saúde oral e sistêmica: presença de sensação de queimação/ardência, fluxo salivar (mL/minuto) coletado, presença de comorbidades, identificação e quantificação dos medicamentos utilizados (anti-hipertensivos, antidiabéticos, antidepressivos, reposição hormonal, anticoagulantes, inibidores da bomba de prótons, estatinas e medicamentos vasodilatadores e venotônicos).
- Informações clínicas: presença de biofilme, quantificada pelo Índice Aditivo (Ambjørnsen, Rise; 1985), tempo de edentulismo em anos, idade das próteses totais superiores e inferiores e índice de Kapur (Kapur, 1967) para classificação do tipo de rebordos alveolares (rebordos reabsorvidos/deficientes com soma dos escores < 14; rebordos satisfatórios com soma dos escores entre 14 e 17 ou rebordos bons com soma dos escores > 17), retenção e estabilidade das próteses totais superiores (pobres com soma dos escores < 3; satisfatórias com soma dos escores 3 e 4 ou boas com soma dos escores > 4). Estas avaliações foram realizadas clinicamente por profissional experiente (A. B. R.).

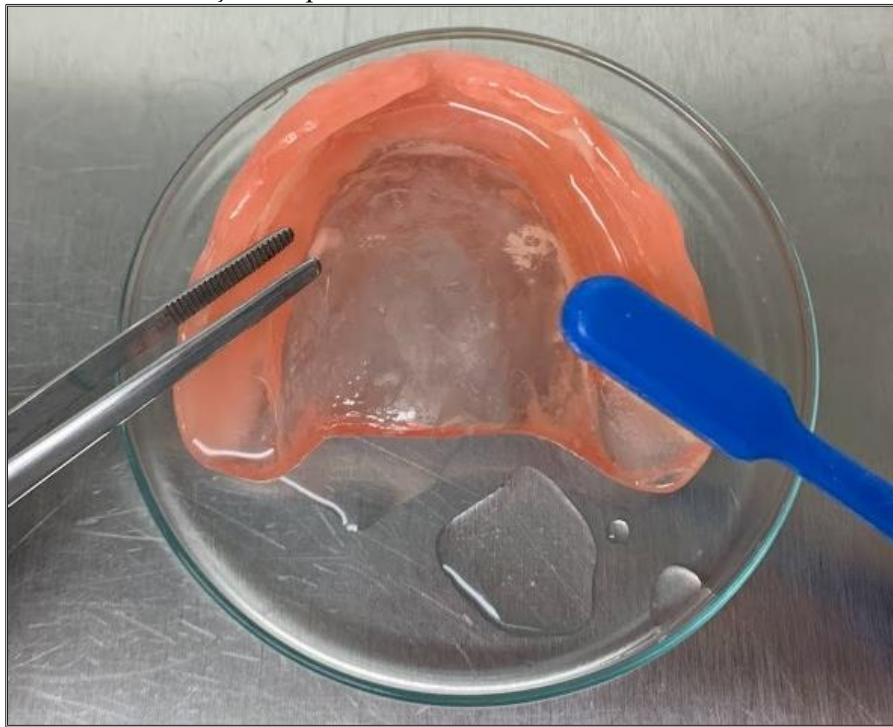
Para a quantificação do biofilme, as próteses foram removidas da cavidade bucal e a superfície interna foi dividida em cinco áreas, sendo elas: papila incisiva; duas áreas localizadas lateralmente a 1 cm da linha mediana e duas áreas posteriores (região de tuberosidade). Em seguida, as áreas foram visualmente limitadas, com um círculo de 1 cm de diâmetro e o exame foi realizado sob iluminação do refletor da cadeira odontológica para atribuição de escores para cada área: escore 0 = sem biofilme; escore 1 = biofilme visível ao raspar a superfície com instrumento rombo; escore 2 = acúmulo de biofilme moderado e escore 3 = acúmulo abundante de biofilme.

2.8 Avaliação da carga microbiana de *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., e enterobactérias do biofilme da prótese e do palato como fator de risco para ERP.

Para a quantificação da carga microbiana da prótese, esta foi removida da cavidade bucal dos participantes, colocada em um recipiente estéril identificado por código e transferida para o laboratório (A.B.R.), onde um pesquisador cego (V.C.O.) codificou as próteses e as colocou em placas de Petri, em zona asséptica, para dissolução do biofilme (Figura 2) utilizando escova esterilizada (Tek, Cerdas macias Johnson & Johnson do Brasil Indústria e Comércio de Produtos para Saúde Ltda., S. J. dos, SP, Brasil) com 10 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS). A solução obtida foi transferida, com auxílio de uma pipeta, para um tubo de

ensaio com pérolas de vidro, (Badaró et al., 2020, Araújo et al., 2021). As amostras do palato foram coletadas (A.B. R.) por fricção de uma escova esteril para citologia nas regiões palatinas acometidas pela estomatite relacionada à prótese (Kabawat et al., 2014) (Figura 3). Em seguida, a ponta ativa foi seccionada, e armazenada em tubo esteril contendo 1,5 mL de solução PBS.

Figura 2 - Coleta do biofilme da prótese total superior com escova esterilizada e solução tampão.



Fonte: Autoria Própria.

Figura 3 – Coleta do biofilme do palato com escova de citologia esteril para.



Fonte: Autoria Própria.

Os tubos com as amostras da prótese e do palato foram agitados por 1 minuto (Agitador Vórtex, Phoenix® – AP56, Ind. e Com. de Equipamentos Científicos Ltda., Araraquara, SP, Brasil) e 25 µL das soluções foram semeados (10^0). Na sequência, 25 µL foram diluídos em 225 µL de PBS de forma seriada (10^{-1} a 10^{-3}), semeados em placas de Petri com meio de cultura específico (Tabela 2) e as placas foram incubadas em estufa microbiológica (De Leo Equipamentos Laboratoriais, Porto Alegre, RS, Brasil) a 37°C durante 48h. *S. mutans* foi incubado em ambiente de microaerofilia em jarra de anaerobiose (Permutation, Curitiba, PR, Brasil).

Tabela 2 – Meios de cultura e procedência.

| Meio de Cultura | Procedência | Indicação |
|------------------------------|---|--|
| CHROMagar | CHROMagar™ Candida, Becton Dickinson, Paris, França | Isolamento e identificação as espécies de <i>Candida spp.</i> por meio das características morfotintoriais das colônias. |
| MacConkey Agar | Himedia Laboratories PVI Ltd., Mumbai, Índia | Isolamento de enterobactérias por meio da fermentação de lactose |
| Cetremide Ágar Base | Laboratórios Conda S.A., Torrejón de Ardoz, Espanha | Isolamento de <i>Pseudomonas spp.</i> |
| Manitol salgado Agar | Kasvi Imp. e Dist. de Prod. para Laboratórios Ltda., Curitiba, Brasil | Isolamento de <i>Staphylococcus spp.</i> |
| SB20 Agar Modificado* | Himedia Laboratories PVI Ltd, Mumbai, Índia | Isolamento de <i>Streptococcus mutans</i> |

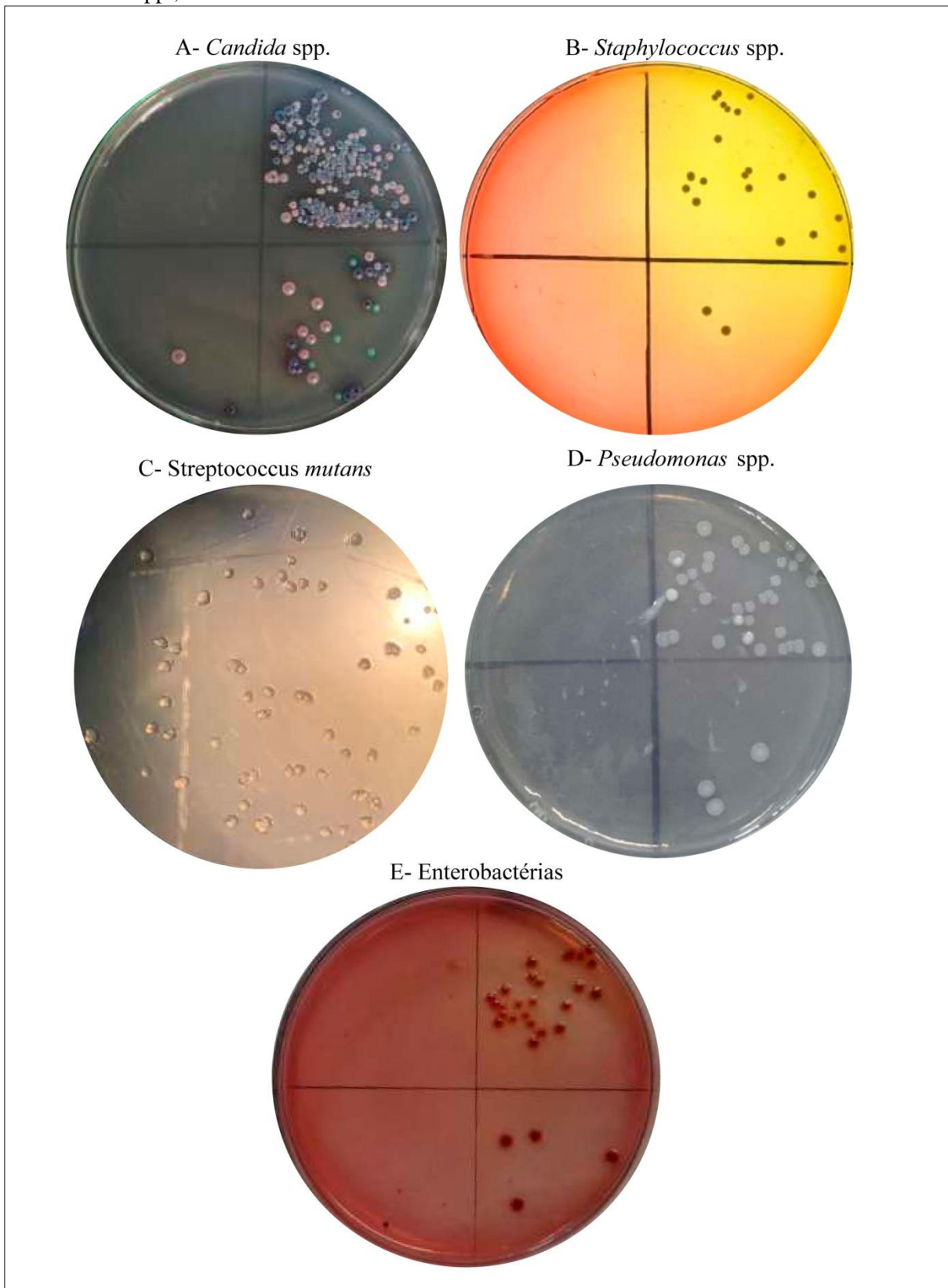
* casitona (Himedia Laboratories PVI Ltd, Mumbai, Índia), extrato de levedura (Himedia Laboratories PVI Ltd, Mumbai, Índia), L-cisteína (Vetec Química e Ina Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brasil), sulfito de sódio (Chemco Indústria e Comércio Ltda, Hortolândia, Brasil), bacitracina (Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri, EUA), acetato de sódio (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Diadema, SP, Brasil), açúcar cristal (LabSynth Produtos para Laboratórios Ltda., Diadema, SP, Brasil), Agar-agar (Kasvi Imp. e Dist. de Prod. para Laboratórios Ltda., Curitiba, PR, Brasil) e água (Saraiva et al. 2013).

Após o período de incubação, as pesquisadoras (A.B.R e L.M.C), cegos em relação aos códigos das placas, realizaram a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) para quantificação da carga microbiana (Figura 4). Para o cálculo de UFC/mL, foi considerada a diluição em que o número de UFC variou entre 0 e 300 colônias, empregando a fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \text{N}^\circ \text{ de colônias} \times 10^n / q$$

n: valor absoluto da diluição (0, 1, 2 ou 3); q: quantidade (mL) pipetada para cada diluição quando da semeadura (0,025).

Figura 4- Placa de Petri com meio de cultura específico: A - Crescimento de *Candida* spp.; B – Crescimento de *Staphylococcus* spp.; C - Crescimento de *Streptococcus mutans*; D - Crescimento de *Pseudomonas* spp.; E - Crescimento de enterobactérias.



Fonte: Autoria Própria.

2.9 Avaliação dos níveis salivares e plasmáticos de citocinas inflamatórias e níveis plasmáticos de proteína C-reativa.

Amostras de saliva não estimulada e de sangue foram coletadas entre 8 e 9 horas da manhã. As amostras de saliva foram coletadas (L. M. C. e A. B. R.) por 10 minutos, pelo método de cuspir, em tubos esterilizados. Os tubos com a saliva foram centrifugados (Centrifuge 5430 R, Eppendorf) a 169 rcf por 10 minutos a 4°C e, posteriormente, o sobrenadante foi aliquoteado em microtubos e estes foram armazenados em freezer a -80°C. As amostras de sangue foram coletadas (A. B. R) seguindo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute 2010 (CLSI) e as Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para Coleta de Sangue Venoso (Andriolo et al., 2010). Posteriormente as amostras de sangue foram centrifugadas a 1060 rcf a 4°C, e o plasma sanguíneo foi aliquoteado em microtubos, os quais foram armazenados a -80°C.

Para a quantificação dos níveis plasmáticos e salivares de citocinas e proteína C-reativa, no momento oportuno, as amostras salivares e plasmáticas foram descongeladas de maneira gradual. Inicialmente, elas foram transferidas do freezer -80°C para o freezer -20°C no dia anterior aos ensaios e depois o descongelamento total foi realizado em gelo.

2.9.1 Quantificação da concentração dos níveis salivares e plasmáticos de citocinas

A quantificação da concentração dos níveis salivares e plasmáticos de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ e IL-17 foi realizada por um pesquisador cego (A. B. R.²) utilizando o kit comercial da BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 (RRID: AB_2869353) Citocina (BD; San Jose, CA, EUA) em uma única amostra. O kit baseia-se na tecnologia Bead Array para detectar, simultaneamente, várias proteínas das citocinas nas amostras. A quantificação em pg/mL foi realizada seguindo as instruções do fabricante e como descrito em Ribeiro et al. (2022). Os resultados foram gerados em gráficos e tabelas, utilizando o software FCAP Array™.

2.9.2 Quantificação da concentração dos níveis plasmáticos de proteína C-reativa

Para mensuração dos níveis de proteína C-reativa em mg/mL (A. B. R.²), foram utilizadas amostras do plasma usando um kit de ensaio imunoenzimático (Human C-Reactive Protein ELISA kit for serum, plasma, and cell culture supernatants) de acordo com as instruções do fabricante (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO 63103, EUA). Resumidamente, as amostras, diluídas 20 mil vezes, e os padrões de curva foram pipetados em placas de 96 poços sensibilizadas com o anticorpo de captura. Após duas horas e meia, as placas foram lavadas 4

vezes e secadas. Um anticorpo de detecção foi adicionado e as placas foram incubadas novamente por uma hora sob suave agitação. A solução foi descartada, e as amostras lavadas novamente por 4 vezes e secadas. Em seguida, o conjugado estreptoavidina foi adicionado em cada poço. Após 45 minutos de incubação sob suave agitação, a solução foi descartada e os poços da placa foram lavados 4 vezes, secados e tetrametilbenzidina (TMB) foi adicionado para incubação por 30 minutos no escuro sob suave agitação. O processo do ensaio terminou com a adição de solução de parada e as leituras da placa em 405 nm foram mensuradas em um leitor de ELISA (Thermo Scientific™ Multiskan™ go Microplate Spectrophotometer, Waltham, MA, EUA).

2.10 Análise dos dados

Os dados qualitativos foram submetidos ao teste exato de Fisher. As variáveis quantitativas foram submetidas ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e teste de homogeneidade de variância (Levene). Uma vez atendidos estes critérios foram empregados os testes ANOVA e pós-teste de Tukey com ajuste de Bonferroni. Os resultados que não atenderam aos critérios de normalidade e homoscedasticidade foram analisados com teste de Kruskal-Wallis, Wilcoxon, Mann-Whitney e pós-teste de Dunn. Para as variáveis onde foram detectadas diferenças significativas entre os grupos, a análise de correlação foi realizada com o escore da ERP por meio do teste qui-quadrado de Pearson. Todos os testes foram realizados com o software estatístico SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) por um pesquisador cego (A. P. M.) com nível de significância de 5%.

Os apêndices de C a I correspondem às tabelas de dados originais.

3. ARTIGO

Esta dissertação de mestrado originou o artigo intitulado “**Assess risk factors and local and systemic immunological biomarkers in individuals healthy and with denture stomatitis**”, o qual foi submetido à revista **Archives of Oral Biology** (ANEXO B) com fator de impacto de 3 no dia 7 de julho de 2023 e se encontra nos status de “Under Review”.

Assess risk factors and local and systemic immunological biomarkers in individuals healthy and with denture stomatitis

ABSTRACT

Objective. Assess risk factors and local and systemic immunological biomarkers in healthy individuals and those with Denture Stomatitis (DS). **Design.** For this observational transversal study, 27 participants without DS (Group 0), 24 with moderate DS (Group 1), and 25 with severe DS (Group 2) were assessed for sociodemographic, behavioral, and clinical parameters, microbial load of *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., and enterobacteria, and cytokine and C-reactive protein levels. ANOVA, Fisher's exact, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, Wilcoxon and Pearson's chi-square tests were used for data analysis ($\alpha=0.05$). **Results.** Group 1 had a significantly higher mean age compared to the other groups ($P=0.018$), but no correlation was identified between age and DS ($P=0.830$; $r=0.025$). No significant differences were found among the groups for other sociodemographic and behavioral characteristics. Group 1 had significantly older upper and lower dentures; however, no correlation was identified between age of upper ($P=0.522$; $r=0.075$) and lower ($P=0.143$; $r=0.195$) dentures and DS. The microbial load of *Candida albicans* on dentures and *Candida* spp. on the palate of groups 1 and 2 was higher than group 0. *Candida* spp. on the dentures of group 1 and 2 was higher compared with group 0. There was no difference among groups for bacterial analyzed. Group 1 showed higher and group 2 intermediate salivary levels of IL-6 compared to group 0. There was no difference in the C-reactive protein levels among groups. **Conclusions.** Microbial load of *Candida* spp. is the factor with the strongest relationship with DS, with capacity for local signaling through IL-6.

Keywords: Stomatitis, Denture, Risk Factors, Microbial load, Biomarkers.

INTRODUCTION

Denture stomatitis (DS) is a chronic inflammation usually located in the upper denture seating area (Arendorf & Walker, 1987; Dorocka-Bobkowska et al., 2010; Kossioni, 2011; Kabawat et al., 2014; Badaró et al., 2017; Taebunpakul & Jirawechwongsakul, 2021; De Souza et al., 2023). It can be asymptomatic, however, some symptoms such as erythema and edema of the mucosa, dysgeusia, and a burning sensation may appear (Kossioni, 2011; Gendreau & Loewy, 2011; Salerno et al., 2011; Perić et al., 2018; Moraes et al., 2022). The etiology can be related to age (Coelho et al., 2004; Figueiral et al., 2007; Peracini et al., 2010; Morel et al., 2019) and sex of the individuals, use and age of the complete denture, hygiene habits, (Nevalainen et al., 1997; Andruciole et al., 2004; Turker et al., 2010) continuous and nocturnal use, trauma caused by the lack of retention and stability of the dentures, smoking, and salivary flow (Baena-Monroy et al., 2005; Emami et al., 2008; dos Santos et al., 2010; Salerno et al., 2011; Hannah et al., 2017; de Souza et al., 2017; Martorano-Fernandes et al., 2020; Galvan et al., 2021; Manikandan et al., 2022).

The presence of *Candida* spp. and other bacteria are also considered important factors (Figueiral et al., 2007; Perezous et al., 2006; Coco et al., 2008; Emami et al., 2008; Marcos-Arias et al., 2009; Gendreau & Loewy, 2011; Kossioni, 2011; Pereira et al., 2013; Altarawneh et al., 2013; Morel et al., 2019; Taebunpakul & Jirawechwongsakul, 2021; Sardari et al., 2021; Sumi et al., 2002; Le Bars et al., 2022; De Souza et al., 2023; Qiu et al., 2023). The interactions between them can trigger local and systemic immune responses (Coulthwaite et al., 2007; Pereira-Cenci et al., 2008; Netea et al., 2008; Todd & Peters, 2019; Li et al., 2021). The diagnosis is performed mainly during the clinical examination of the oral mucosa and the complete denture and may be complemented with the identification and quantification of *Candida* spp. (Kabawat et al., 2014; Perić et al., 2018).

DS development is complex and the studies about etiology show diverse experimental designs that do not assess all the risk factors in homogeneous groups. Understanding the real risk factors is important since DS mainly affects elderly individuals who commonly have comorbidities that can be aggravated by the local inflammatory process in association with microorganisms (Maciąg et al., 2014).

Despite being considered of little general impact, in terms of mortality/morbidity, the early diagnosis and treatment of DS are fundamental to avoid the potentiation of the systemic immune response (Ribeiro et al., 2022). Therefore, the analysis of biomarker levels has been used through the analysis of the cytokines (Gasparoto et al., 2009; Pietruski et al., 2010, Gasparoto et al., 2011; Gasparoto et al., 2012), which perform the function of differentiation

and activation of immune cells (Peseet al., 2015; Le Bars et al., 2022), and can trigger systemic inflammation, a condition that precedes the development and aggravation of cardiovascular and systemic disorders, such as atherosclerosis and hypertension (Maciag et al., 2014; Osmenda et al., 2017; Ribeiro et al., 2022).

Another biomarker that occurs in response to systemic inflammation is the C-reactive protein level (Strandberg & Tilvis, 2000), which is linked to several chronic diseases, having an impact on the general health of the individual, and thus demands attention (Luthra et al., 2023). However, the literature is scarce and controversial regarding the analysis of the association between levels of C-reactive protein and DS (Ajwani et al., 2003; Pejcic et al., 2011; Gomes-Filho et al., 2011; Schöffner et al., 2012; Maciag et al., 2014; Yeter et al., 2019; Esteves-Lima et al., 2020; Machado et al., 2021). Therefore, this observational cross-sectional study aims to evaluate the risk factors of DS and to analyze the local and systemic levels of immunological biomarkers in individuals with healthy mucosa and those with different DS scores. It is expected that the results will confirm the risk factors presented in the literature and will allow for the verification of the presence of immunological biomarkers so that adequate attention to the prevention and treatment of DS can be instituted.

MATERIAL & METHODS

This observational and transversal study was conducted according to the Declaration of Helsinki. The protocol was approved by the local Research Ethics Committee (CAAE: 93712418.1.0000.5419). Participants were enrolled in the study after signing the informed consent form. Recruitment occurred from August 2021 to October 2022 from a convenience sample. Inclusion criteria were individuals of both sexes, age ≥ 18 years, completely edentulous, wearing the complete upper and lower dentures or only the complete upper denture, for at least 1 year with a satisfactory fit, with the absence or presence of DS. Exclusion criteria were no-controlled chronic diseases, autoimmune disease, cancer history, presence of implants, presence of residual roots, dentures unsuitable for wear, any oral mucosal lesion apart from DS, and use of antibiotics or steroidal or antifungal agents in the 3 months before the study.

A researcher (L.M.C.) examined the palate of the participants and the presence of the DS was characterized according to the modified Newton classification (Kabawat et al., 2014). Then, a new grouping was proposed based in the inflammation score as follows: Group 0 - score 0 for absence of DS; Group 1- score 1 (moderate inflammation) for Type IA and IB; and Group 2 - score 2 (severe inflammation) for Type II and Type III. Subsequently, standardized photographs of the palate were taken, all by the same researcher (A.B.R.), with the focus

centralized on the median raphe region (Ribeiro et al., 2022) (Canon EOS Digital Camera, Canon EF Macro 100 mm/2:8 Lens and Canon ML3 Round Flash) for later confirmation of inflammation scores by a blind experienced researcher (C.H.S-L). C.H.S-L. and L.M.C. were previously calibrated with a Kappa value of the 0.878.

Data collection involved face-to-face interviews and oral examinations by trained researchers (L.M.C, A.B.R. and C.V.F.). The interviews were performed with all questions read out loud and participants' answers were registered in a standardized questionnaire prepared by researchers (A.B.R and C.H.L-S).

Sociodemographic data included information regarding age, sex, marital status (single, married, divorced, separated, or widowed), who they live with (lived alone, with friends or family), level of education (illiterate, elementary, college or higher), monthly income (income from 1 to 3 minimum salaries or from 4 to 7 minimum salaries). Behavioral data included methods of denture hygiene (mechanical or mechanical and chemical methods), nocturnal use of the denture (not removing the denture to sleep, removing sometimes, or removing daily), smoking (non-smokers, previous smokers, and current smokers), alcohol (non-drinker, drinker or occasional drinker), and frequency of denture hygiene (times per day). Health data included self-reported information about the current use and the number of medications for each participant, the absence or presence of burning in the palatal mucosa, and unstimulated salivary flow rate (milliliters per minute) (Ribeiro et al., 2022).

Dental clinical information was collected based on the time of edentulism, the age of the dentures, the quality of the seating tissues and the dentures using the *Kapur* index (Kapur et al., 1967), as well as the presence of biofilm using the Additive index (Ambjørnsen & Rise, 1985).

To quantify the microbial load, a researcher (A.B.R.) removed the complete dentures and stored them in a sterile container. Then, a sterile brush was used to rub the palatal regions for cytology (A. B. R.) and the active tip was stored in a sterile tube containing 1.5 mL of PBS (Kabawat et al., 2014). Briefly, a blind researcher (V.C.O.) collected the biofilm of both sites in an aseptic area with the aid of the dissolution technique using a sterilized soft bristle brush (Tek, Johnson & Johnson do Brasil Indústria e Comércio de Produtos para Saúde Ltda.) with 10 mL of phosphate buffered saline solution (PBS). The resulted suspension was transferred to a tube with glass beads with the aid of a pipette (Badaró et al., 2020; Araujo et al., 2022). The suspension with the dentures and palate samples were stirred for 1 minute in a shaker (Phoenix – AP56, Ind. e Com. de Equipamentos Científicos Ltda.). Subsequently, 25 μL of the suspension (10^0) and serial dilutions of the 25 μL in 225 μL of PBS (10^{-1} to 10^{-3}) were seeded

in Petri dishes with specific culture medium for isolation and identification of *Candida* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., and enterobacteria. The dishes were incubated (De Leo Equipamentos Laboratoriais,) at 37°C for 48 hours. For *S. mutans* the procedure was carried out in a microaerophilic environment in an anaerobic jar (Permutation). Then, the researchers (A.B.R and L.M.C) counted the Colony Forming Units (CFU) to quantify the microbial load, according Araujo et al. (2022).

Unstimulated saliva and blood samples were collected between 8 and 9 am. Unstimulated saliva samples were collected by the method of spitting and then centrifuged (Centrifuge 5430 R, Eppendorf) at 169 rcf for 10 minutes at 4°C (Ribeiro et al., 2022). Blood samples collected by a qualified professional (A.B.R), according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), were centrifuged at 1060 rcf for 10 minutes at 4°C. The supernatant of both samples was aliquoted and stored at -80°C. Salivary and plasma concentrations (pg/mL) of cytokines IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , and IL-17 were measured by BD™ Cytometric Bead Array (CBA) using the Human Th1/Th2 /Th17 Cytokine Kit (Ribeiro et al., 2022). The C-reactive protein levels (mg/L) of the plasma samples were quantified by ELISA assay and an enzyme immunoassay kit (Human C-Reactive Protein ELISA) following the manufacturer's instructions (Sigma- Aldrich; Lab & Production Materials).

Qualitative data were submitted to Fisher's exact test. Quantitative variables were submitted to the normality test (Shapiro-Wilk) and variance homogeneity test (Levene). The tests used were ANOVA and Tukey's post-test with Bonferroni adjustment, Kruskal-Wallis, Wilcoxon, Mann-Whitney and Dunn's post-test. When a significant difference was found among the groups, correlation with DS was tested by Pearson's chi-square. All statistical tests were performed using SPSS Statistics 25.0 (IBM SPSS Statistics; IBM Corp) by a blind researcher (A. P. M.) considering $\alpha=0.05$.

RESULTS

The initial sample consisted of 114 individuals; 38 were excluded due to diverse factors (Figure 1), resulting in the final sample with 27 (35,52%) individuals without DS (group 0); 24 (31.57%) with moderate inflammation (group 1), and 25 (32.89%) with severe inflammation (group 2). Group 1 showed a higher mean age compared to the others ($P=0.018$); however, no correlation was identified between age and DS ($P=0.830$; $r=0.025$). No significant differences were found among the three groups for other sociodemographic characteristics (Table 1).

There was no significant difference among groups for behavioral characteristics and health data such as complaints of burning mouth, salivary flow, and medications used by participants (Tables 2 and 3). In regard to clinical dental characteristics, there were significant differences between the groups concerning the age of the upper and the lower dentures. Group 1 used their dentures for more time than group 0, which was similar to the group 2. However, no correlation was identified between age of upper ($P=0.522$; $r=0.075$) and lower ($P=0.143$; $r=0.195$) dentures and DS. For the other variables, there was no difference between groups (Table 4).

The CFU count of the *C. albicans* from the denture or *Candida* spp. of the palate was similar between groups 1 and 2, and significantly higher than group 0. Group 1 and 2 showed higher microbial load of *Candida* spp. than group 0. There was no significant difference in the CFU counts of *C. albicans* on the palate, and *C. glabrata*, and *C. tropicalis* on the denture and palate, regardless of the DS score. The CFU count of the dentures was significantly greater than that of the palate for all groups, except for *C. glabrata* and *C. tropicalis* in group 0 (Table 5).

Regarding *Staphylococcus* spp., *S. mutans*, *Pseudomonas* spp., and enterobacteria CFU count, there was no difference between groups for any of the species. There was a higher count of *Staphylococcus* spp. and enterobacteria in group 0, and higher counts of *S. mutans* in the dentures of all groups. There was no significant difference in the microbial load of *Pseudomonas* spp. in the dentures and palate, regardless of the group (Table 6). There was no significant difference in total microbial load (sum) of the denture or palate between groups (Table 7).

Group 1 showed higher salivary levels of interleukin-6 (IL-6) than group 0, and group 2 showed intermediate levels. For the other evaluated cytokines in the saliva samples, there was no difference between the groups. There was no difference in plasma cytokine levels (pg/mL) (Table 8) or difference in plasma levels (mg/L) of C-reactive protein between groups (Table 9).

DISCUSSION

This study proposed a reclassification of the severity of DS to mitigate possible errors among types of DS using modified Newton classification, since the difference in the 5 degrees is a thin line and can lead to error.

Concerning sociodemographic characteristics, most participants (64.46%) had DS, they had a mean age greater than 60 years, were female, married, living with their family, completed elementary education, and had low economic income, similar to other studies (Kossioni, 2011; Emami et al., 2013; Badaró et al., 2017; Ribeiro et al., 2022; Araujo et al.,

2022; de Souza et al., 2023). The age of group 1 was a higher mean age than the others. However, there was no correlation between age and DS, contrary to the hypothesis presented in many studies that age is a causative factor for DS (dos Santos et al., 2010; Morel et al., 2019; Taebunpakul & Jirawechwongsakul, 2021).

Comparison of the variables of burning complaints, hygiene methods, nocturnal use of the dentures, presence of biofilm, smoking habits, and drinking alcohol did not indicate a significant difference among the 3 groups, in line with other studies (Emami et al., 2008; Dorocka-Bobkowska et al., 2010; Kossioni, 2011; Taebunpakul & Jirawechwongsakul, 2021). However, these results are not a consensus; in recent studies, the use of dentures at night was considered a risk factor for DS (Galvan et al., 2021; Qiu et al., 2023), and also that DS can be twice as prevalent in cigarette smokers compared to non-smokers (Sardari et al., 2021). Few participants had any alteration in the salivary flow. Therefore, we can hypothesize that DS severity was not influenced by salivary flow which agrees with the literature and suggests that salivary flow plays a limited role in the development of DS (Altarawneh et al., 2013).

This study shows that neither age of dentures nor time of edentulism correlated with DS. However, the literature reported that more severe degrees of inflammation can be diagnosed in older individuals, who have been edentulous for longer, and with older dentures (Coelho et al., 2004; Figueiral et al., 2007; Peracini et al., 2010; Morel et al., 2019). One hypothesis is that older individuals may have more significant hygiene difficulties, which is associated with the degradation of the acrylic resin surface over time, contributing to the adhesion and proliferation of microorganisms (Perezous et al., 2006; Perić et al., 2018). However, this hypothesis was not confirmed in the present study. Although the low frequency of cleaning and presence of biofilm in its complexity are risk factors considered for greater severity of DS (Kossioni, 2011; Gendreau & Loewy, 2011), no difference was identified among groups (Nevalainen et al., 1997; Turker et al., 2010). The frequency may not indicate the effectiveness of hygiene and differences of the biofilm quantity do not necessarily decrease the degree of inflammation (Andrucioli et al., 2004).

The lack of stability and retention of complete dentures promote increased movement of the complete dentures during function, generating friction between the base of the dentures and the mucosa (Gendreau & Loewy, 2011; Kossioni, 2011, Taebunpakul & Jirawechwongsakul, 2021), however, it was impossible to correlate these factors with severity of DS, in agreement with Altarawneh et al. (2013).

Overall, in this study the microbial load of *Candida* spp. on the dentures was more significant in group 1 and 2 than group 0, probably due to the presence of local inflammation.

Thus, it is believed that complete dentures act as a reservoir of microorganisms sustaining and disseminating inflammation (Coulthwaite et al., 2007; Salerno et al., 2011; Kabawat et al., 2014). Taebunpakul & Jirawechwongsakul (2021) reported more significant colonization of *Candida* on the dentures in wearers with higher DS severity, despite not demonstrating a substantial difference in the palate, contrary to this study. An interesting finding was that there was no *C. tropicalis* in group 0. The hypothesis would be that the worsening and persistence of DS are linked to the pathogenicity of *C. tropicalis*. Perić et al. (2018) demonstrated that non-albicans *Candida* are more commonly isolated from individuals with higher DS severity and that this synergistic relationship between *Candida* spp. may increase potential pathogenic inflammation (Coco et al., 2008).

In this study, bacteria found in the biofilm of dentures were analyzed (Badaró et al., 2017; Ribeiro et al., 2022; Araujo et al., 2022). The CFU of *S. aureus* on the dentures and the palate were similar among the 3 groups. However, it can be assumed that there was a co-aggregation and a mutualistic relationship between *C. albicans* and *S. aureus*, promoting the adhesion of *S. aureus* on both surfaces, suggesting an increase in the pathogenic potential of the biofilm (Coco et al., 2008; Todd & Peters, 2019). In regard to *S. mutans*, the microbial load of the denture and palate was similar among the groups, however, the microbial load of the was significantly higher on the denture than on the palate (Baena-Monroy et al., 2005). The synergistic interaction between *C. albicans* and *S. mutans* probably enables the adhesion of the biofilm on abiotic surface making it more resistant to external stress (Li et al., 2022).

Identifying *Pseudomonas* spp. and enterobacteria in the biofilm of completely edentulous and elderly individuals is important because they are pathogens that cause respiratory and cardiac diseases in this population (Senpuku et al., 2003; Sumi et al., 2002). However, no difference was found between the microbial load of the groups, corroborating with the literature (Badaró et al., 2017). Although group 0 had a microbial load similar to groups 1 and 2, it should be noted that the individuals are over 60 years old and use several medications, indicating the presence of comorbidities and, consequently, susceptibility to infections. Thus, the indication of effective hygiene protocols is relevant to reduce the microbial load regardless of the presence of DS (Badaró et al., 2017; Badaró et al., 2020; Ribeiro et al., 2022; Araujo et al., 2022).

In plasma, there were no differences in the quantification of biomarkers between groups, suggesting that DS did not affect systemic levels. Nevertheless, higher levels of interleukin-6 (IL-6) were found in saliva of the groups with DS, corroborating with the literature (Gasparoto et al., 2012). This may have occurred because cytokine release is mediated by the

host's innate immunity (Netea et al., 2008). IL-6 is produced in large amounts by various cells, such as lymphocytes and neutrophils, in response to inflammatory and microbial stimuli, performing an essential role in protecting against *Candida* (Pietruski et al., 2000). The literature is controversial in this area because IL-6 and TNF- α levels were high in denture-wearing groups, regardless of the presence of DS (Pietruski et al., 2000), while a significant decrease in IL-6, IL-2, IFN- γ , and IL-10 was observed after hygiene protocol use that promoted improvement of DS and a reduction in systolic arterial pressure of 6 mmHg (Ribeiro et al., 2022).

To assess the possible systemic impact of DS, the quantification of C-Reactive protein was performed (Strandberg & Tilvis, 2000). The relationship between high C-Reactive protein levels and periodontitis is widely disseminated (Pejcic et al., 2011; Gomes-Filho et al., 2011; Schöffner et al., 2012; Machado et al., 2021; Esteves-Lima et al., 2022; Luthra et al., 2023). However, there was no significant difference in C-Reactive protein levels between groups, suggesting that DS does not cause expressive activation in the systemic inflammatory response, corroborating the literature (Maciąg et al., 2014). On the other hand, a cohort study with a 10-year follow-up concluded that DS was associated with high C-Reactive protein levels (Ajwani et al., 2003) and plasma levels of C-reactive protein were higher in individuals with *Candida* in the oral mucosa and dentures (Yeter et al., 2019). The differences between the results of the previously reported studies can be justified by the divergence in the design and methodology used in these studies.

Although this study has limitations inherent to its design, the results may indicate that the microbial load is the main etiological factor of DS, regardless of other factors linked to sociodemographic, behavioral, health, and clinical characteristics. Moreover, there is a need for controlled clinical studies comparing individuals before and after DS treatment with younger and dentate individuals so as to collect evidence on the relationship between edentulism, DS and systemic diseases.

CONCLUSIONS

The following conclusions were drawn:

1. DS severity was not influenced by sociodemographic variables.
2. The severity of DS was not influenced by behavioral habits and clinical characteristics evaluated in this study.
3. The microbial load was the most obvious risk factor for the severity of SD, especially for *Candida* spp., probably due to its capacity for local signaling through interleukin 6.

4. C-reactive protein quantification was not influenced by denture stomatitis.

ACKNOWLEDGMENTS

Supported by grant FAPESP 2020/06043-7 and scholarships from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

REFERENCES

- Arendorf TM, Walker DM. (1987). Denture stomatitis: a review. *Journal of Oral Rehabilitation*, 14, 217–227. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.1987.tb00713.x>.
- Ajwani S, Mattila KJ, Närhi TO, Tilvis RS, Ainamo A. (2003). Oral health status, C-reactive protein and mortality-a 10-year follow-up study. *Gerodontology*, 20, 32–40. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2003.00032.x>.
- Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S, Preisser J, Loewy ZG, Gendreau L, Offenbacher S. (2013). Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow, and dry mouth. *Journal of Prosthodontics*, 22, 13–22. <https://doi.org/10.1111/j.1532-849X.2012.00906.x>.
- Ambjørnsen E, Rise J. (1985). The effect of verbal information and demonstration on denture hygiene in elderly people. *Acta Odontologica Scandinavica*, 43, 19–24. <https://doi.org/10.3109/00016358509064135>.
- Andrucioli MC, de Macedo LD, Panzeri H, Lara EH, Paranhos HF. (2004). Comparison of two cleansing pastes for the removal of biofilm from dentures and palatal lesions in patients with atrophic chronic candidiasis. *Brazilian Dental Journal*, 15, 220–224. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402010000300013>.
- Araujo CB, Ribeiro AB, Fortes CV, Bueno FL, De Wever B, Oliveira VC, Macedo AP, Paranhos HFO, da Silva CHL. (2022). Effect of local hygiene protocols on denture-related stomatitis, biofilm, microbial load, and odor: A randomized controlled trial. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 128, 664–673. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.12.018>
- Badaró MM, Bueno FL, Arnez RM, Oliveira VC, Macedo AP, de Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. (2020). The effects of three disinfection protocols on *Candida* spp., denture stomatitis, and biofilm: A parallel group randomized controlled trial. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 124, 690–698. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.09.024>.
- Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF, Oliveira VC, Nascimento CD, Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. (2017). Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *Journal of Applied Oral Science*, 25, 324–334. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0222>.
- Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO. (2005). *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 10, 27–39.

CLSI. (2010). *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests*; Approved Guideline (4th ed.). CLSI document GPAA-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. (2008). Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. *Oral Microbiology and Immunology*, 23, 377–383. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2008.00439.x>.

Coelho CM, Sousa YT, Daré AM. (2004). Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. *Journal of Oral Rehabilitation*, 31, 135–139. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2004.01115.x>.

Coulthwaite L, Verran J. (2007). Potential pathogenic aspects of denture plaque. *British Journal of Biomedical Science*, 64, 180–189. <https://doi.org/10.1080/09674845.2007.11732784>.

De Souza RF, Khiyani MF, Chaves CA. L., Feine J., Barbeau J., Fuentes R., Borie E., Crizostomo L. C., Silva-Lovato C. H., Rompre P., Emami E. (2017). Improving practice guidelines for the treatment of denture-related erythematous stomatitis: a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 5, 18:211. <https://doi.org/10.1186/s13063-017-1947-y>.

De Souza R, Chaves C, Rohani K, Bouferguene S, Barbeau J, Borie E, Weber B, Fuentes R, Crizostomo L, Silva-Lovato C, Emami E. (2023). Palatal brushing for the treatment of denture stomatitis: A multicentre randomized controlled trial. *Journal of Prosthodontic Research*, 67, 93–102. https://doi.org/10.2186/jpr.JPR_D_21_00258.

Dorocka-Bobkowska B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Hedzelek W, Szumala-Kakol A, Budtz-Jørgensen E. (2010). *Candida*-associated denture stomatitis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 90, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2010.06.015>.

Dos Santos CM, Hilgert JB, Padilha DM, Hugo FN. (2010). Denture stomatitis and its risk indicators in south Brazilian older adults. *Gerodontology*, 27, 134–140. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2009.00295.x>.

Emami E, de Grandmont P, Rompré PH, Barbeau J, Pan S, Feine JS. (2008). Favoring Trauma as an Etiological Factor in Denture Stomatitis. *Journal of Dental Research*, 87, 440–444. <https://doi.org/10.1177/154405910808700505>.

Emami E, de Souza RF, Kabawat M, Feine JS. (2013). The impact of edentulism on oral and general health. *International Journal of Dentistry*, 2013, 498305. <https://doi.org/10.1155/2013/498305>.

Esteves-Lima RP, Reis CS, Santirocchi-Júnior F, Abreu LG, Costa FO. (2020). Association between periodontitis and serum c-reactive protein levels. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 12, 838–843. <https://doi.org/10.4317/jced.57041>.

Figueiral M H, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *Journal of Oral Rehabilitation*, 34, 448–455. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2007.01709.x>.

Galvan R, McBride M, Korioto TV, Garcia-Godoy F. (2021). Denture Hygiene as It Relates to Denture Stomatitis: A Review. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 42, 1–4.

Gasparoto TH, Sipert CR, de Oliveira CE, Porto VC, Santos CF, Campanelli AP, Lara VS. (2012). Salivary immunity in elderly individuals presented with Candida-related denture stomatitis. *Gerodontology*, 29, 331–399. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2011.00476.x>.

Gasparoto TH, Vieira NA, Porto VC, Campanelli AP, Lara VS. (2009). Ageing exacerbates damage of systemic and salivary neutrophils from patients presenting Candida-related denture stomatitis. *Immunity & Ageing*, 6, 3. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-6-3>.

Gasparoto TH, Vieira NA, Porto VC, Campanelli AP, Lara VS. (2011). Differences between salivary and blood neutrophils from elderly and young denture wearers. *Journal of Oral Rehabilitation*, 38, 41–51. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2010.02126.x>.

Gendreau L, Loewy ZG. (2011). Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *Journal of Prosthodontics*, 20, 251–260. <https://doi.org/>

Gomes-Filho IS, Freitas Coelho JM, da Cruz SS, Passos JS, Teixeira de Freitas CO, Aragão Farias NS, Amorim da Silva R, Silva Pereira MN, Lima TL, Barreto ML. (2011). Chronic periodontitis and C-reactive protein levels. *Journal of Periodontology*, 82, 969–978. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100511>.

Hannah VE, O'Donnell L, Robertson D, Ramage G. (2017). Denture Stomatitis: Causes, Cures and Prevention. *Primary Dental Journal*, 60, 46–51. <https://doi.org/10.1308/205016817822230175>.

Kabawat M, de Souza RF, Badaró MM, de Koninck L, Barbeau J, Rompré P, Emami E. (2014) Phase 1 clinical trial on the effect of palatal brushing on denture stomatitis. *The International Journal of Prosthodontics*, 27, 311–319. <https://doi.org/10.11607/ijp.3844>

Kapur KK. (1967). A clinical evaluation of denture adhesives. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 18, 550–558. [https://doi.org/10.1016/0022-3913\(67\)90221-1](https://doi.org/10.1016/0022-3913(67)90221-1).

Kossioni AE. (2011). The prevalence of denture stomatitis and its predisposing conditions in an older Greek population. *Gerodontology*, 28, 85–90. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2009.00359.x>.

Le Bars P, Kouadio AA, Bandiaky ON, Le Guéhennec L, de La Cochetière MF. (2022). Host's Immunity and Candida Species Associated with Denture Stomatitis: A Narrative Review. *Microorganisms*, 10, 1437. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071437>.

Li Y, Du J, Huang S, Wang S, Wang Y, Cai Z, Lei L, Huang X. (2021). Hydrogen peroxide potentiates antimicrobial photodynamic therapy in eliminating Candida albicans and Streptococcus mutans dual-species biofilm from denture base. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 37, 102691. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102691>.

Luthra S, Orlandi M, Hussain SB, Leira Y, Botelho J, Machado V, Mendes JJ, Marletta D, Harden S, D'Aiuto F. (2023). Treatment of periodontitis and C-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Clinical Periodontology*, 50, 45–60. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13709>.

- Machado V, Botelho J, Escalda C, Hussain SB, Luthra S, Mascarenhas P, Orlandi M, Mendes JJ, D'Aiuto F. (2021). Serum C-Reactive Protein and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in immunology*, 12, 706432. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.706432>.
- Maciąg J, Osmenda G, Nowakowski D, Wilk G, Maciąg A, Mikołajczyk T, Nosalski R, Sagan A, Filip M, Drózdź M, Loster J, Guzik TJ, Cześniakiewicz-Guzik M. (2014) Denture-related stomatitis is associated with endothelial dysfunction. *BioMed Research International*, 2014, 474016. <https://doi.org/10.1155/2014/474016>.
- Manikandan S, Vinesh E, Selvi DT, Kannan RK, Jayakumar A, Dinakaran J. (2022). Prevalence of *Candida* among denture wearers and nondenture wearers. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 14, S702-S705. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_781_21.
- Marcos-Arias C, Vicente JL, Sahand IH, Eguia A, De-Juan A, Madariaga L, Aguirre JM, Eraso E, Quindós G. (2009). Isolation of *Candida dubliniensis* in denture stomatitis. *Archives of Oral Biology*, 54, 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2008.09.005>.
- Martorano-Fernandes L, Dornelas-Figueira LM, Marcello-Machado RM, Silva RB, Magno MB, Maia LC, Del Bel Cury AA. (2020). Oral candidiasis and denture stomatitis in diabetic patients: Systematic review and meta-analysis. *Brazilian Oral Research*, 34, e113. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2020>.
- Moraes GS, Albach T, Sugio CY, de Oliveira FB, Neppelenbroek KH, Urban VM. (2022). Experimental animal models for denture stomatitis: A methodological review. *Laboratory animals*, 56, 331–343. <https://doi.org/10.1177/00236772211069249>.
- Morel LL, da Rosa Possebon AP, Faot F, de Rezende Pinto L. (2019). Prevalence of risk factors for denture stomatitis in complete denture wearers. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 18, 191414. <https://doi.org/10.20396/bjos.v18i0.8655147>.
- Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. (2008). An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 67–78. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1815>.
- Nevalainen MJ, Närhi TO, Ainamo A. (1997). Oral mucosal lesions and oral hygiene habits in the home-living elderly. *Journal of Oral Rehabilitation*, 24, 332–337. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2842.1997.d01-298.x>.
- Osmenda G, Maciąg J, Wilk G, Maciąg A, Nowakowski D, Loster J, Dembowska E, Robertson D., Guzik T., Cześniakiewicz-Guzik M. (2017). Treatment of denture-related stomatitis improves endothelial function assessed by flow-mediated vascular dilation. *Archives of Medical Science*, 13, 66–74. <https://doi.org/10.5114/aoms.2017.64715>.
- Pejcic A, Kesic LJ, Milasin J. (2011). C-reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 30, 407–414. <https://doi.org/10.1007/s10096-010-1101-1>.
- Peracini, A, Andrade IM, Paranhos HF, Silva CH, de Souza RF. (2010). Behaviors and hygiene habits of complete denture wearers. *Brazilian Dental Journal*, 21, 247–252. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402010000300013>.

Pereira CA, Toledo BC, Santos CT, Pereira Costa AC, Back-Brito GN, Kaminagakura E, Jorge AO. (2013). Opportunistic microorganisms in individuals with lesions of denture stomatitis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 76, 419–424. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.001>.

Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. (2008). Development of Candida-associated denture stomatitis: new insights. *Journal of Applied Oral Science*, 16, 86–94. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572008000200002>.

Perezous LF, Stevenson GC, Flaitz CM, Goldschmidt ME, Engelmeier RL, Nichols CM. (2006). The effect of complete dentures with a metal palate on candida species growth in HIV-infected patients. *Journal of Prosthodontics*, 15, 306–315. <https://doi.org/10.1111/j.1532-849X.2006.00127.x>.

Perić M, Živković R, Milić Lemić A, Radunović M, Miličić B, Arsić Arsenijević V. (2018). The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different Candida spp.. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology*, 126, 41–147. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2018.03.003>.

Pesee S, Arpornsuwan T. (2015). Salivary cytokine profile in elders with Candida-related denture stomatitis. *Gerodontology*, 32, 132–140. <https://doi.org/10.1111/ger.12064>

Pietruski JK, Pietruska MD, Jabłońska E, Sacha P, Zaremba M, Stokowska W. (2000). Interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and their soluble receptors in the blood serum of patients with denture stomatitis and fungal infection. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 48, 101–105.

Qiu J, Roza MP, Colli KG, Dalben YR, Maifrede SB, Valiatti TB, Novo VM, Cayô R, Grão-Velloso TR, Gonçalves SS. (2023). Candida-associated denture stomatitis: clinical, epidemiological, and microbiological features. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54, 841–848. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00952-0>.

Ribeiro AB, Ribeiro AB, de Araújo CB, Fortes CV, Clemente LM, Paranhos HFO, Watanabe E, Salgado HC, Silva-Lovato CH. (2022). Effect of a hygiene protocol on denture-related stomatitis remission, local inflammatory factors, and hemodynamic responses by arterial pressure. *Antibiotics (Basel)*, 11, 1320. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101320>.

Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, Guida, A, Petruzzi M, Serpico R. (2011). Candida-associated denture stomatitis. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 16, 139–143. <https://doi.org/10.4317/medoral.16.e139>.

Sardari F, Khalili P, Hakimi H, Mahmoudaghaei S, Abedi P. (2021). The prevalence of denture stomatitis in cigarette and hookah smokers and opium addicts: findings from Rafsanjan Cohort Study. *BMC Oral Health*, 21, 455. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01807-6>.

Schöffner C, Oliveira LM, Santi SS, Antoniazzi RP, Zanatta FB. (2012). C-reactive protein levels are associated with periodontitis and periodontal inflamed surface area in adults with end-stage renal disease. *Journal of Periodontology*, 92, 793–802. <https://doi.org/10.1002/JPER.20-0200>.

Senpuku H, Sogame A, Inoshita E, Tsuha Y, Miyazaki H, Hanada N. (2003). Systemic diseases in association with microbial species in oral biofilm from elderly requiring care. *Gerontology*, 49, 301–309. <https://doi.org/10.1159/000071711>.

Strandberg TE, Tilvis RS. (2000). C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20, 1057–1060. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.4.1057>.

Sumi Y, Miura H, Sunakawa M, Michiwaki Y, Sakagami N. (2002). Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Gerodontology*, 19, 25–29. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2002.00025.x>.

Taebunpakul P, Jirawechwongsakul P. (2021). Palatal Inflammation and the Presence of Candida in Denture-Wearing Patients. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 11, 272–280. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_368_20.

Todd OA, Peters BM. (2019). *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* pathogenicity and polymicrobial interactions: Lessons beyond Koch's Postulates. *Journal of Fungi (Basel)*, 5, 81. <https://doi.org/10.3390/jof5030081>.

Turker SB, Sener ID, Koçak A, Yılmaz S, Ozkan YK. (2010). Factors triggering the oral mucosal lesions by complete dentures. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 51, 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2009.09.001>.

Yeter HH, Erten Y, Sevmez H, Korucu B, Kalkanci A, Elbeg S, Altok K, Bali M, Yılmaz H. (2019) Oral Candida Colonization as a Risk Factor for Chronic Inflammation and Atherosclerosis in Hemodialysis Patients. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 23, 542–549. <https://doi.org/10.1111/1744-9987.12803>.

TABLES

Table 1. Sociodemographic characteristics [Mean (SD); Median (CI) or n (%)] of study participants.

| Outcomes | Groups | | | P |
|--------------------------------|---|--|--|----------|
| | 0 | 1 | 2 | |
| <i>Age</i> | 66.00 (SD 6.73) 67.00 (CI 63.36; 68.72) ^a | 70.70 (SD 6.64) 73.5 (CI 67.86; 73.47) ^b | 66.30 (SD 5.20) 65.00 (CI 64.17; 68.47) ^{ab} | 0.018* |
| <i>Sex</i> | | | | |
| Female | 18 (66.7%) | 17 (70.8%) | 20 (80.0%) | 0.558** |
| Male | 9 (33.3%) | 7 (29.2%) | 5 (20.0%) | |
| <i>Marital status</i> | | | | |
| Single | 2 (7.4%) | 3 (12.5%) | 1 (4.0%) | 0.286*** |
| Married | 17 (63.0%) | 16 (66.7%) | 14 (56.0%) | |
| Divorced | 5 (18.5%) | 1 (4.2%) | 4 (16.0%) | |
| Separated | 2 (7.4%) | 1 (4.2%) | 0 (0.0%) | |
| Widowed | 1 (3.7%) | 3 (12.5%) | 6 (24.0%) | |
| <i>Lives with</i> | | | | |
| Alone | 3 (11.1%) | 5 (20.8%) | 3 (12.0%) | 0.744*** |
| Friend | 1 (3.7%) | 1 (4.2%) | 0 (0.0%) | |
| Family | 23 (85.2%) | 18 (75.0%) | 22 (88.0%) | |
| <i>Education</i> | | | | |
| Illiterate | 3 (11.1%) | 3 (12.5%) | 1 (4.0%) | 0.362*** |
| Elementary school | 19 (70.4%) | 19 (79.2%) | 18 (72.0%) | |
| College or higher | 5 (18.5%) | 2 (8.3%) | 6 (24.0%) | |
| <i>Income (minimum salary)</i> | | | | |
| 1 to 3 salaries | 25 (92.6%) | 23 (95.8%) | 25 (100.0%) | 0.645** |
| 4 to 7 salaries | 2 (7.4%) | 1 (4.2%) | 0 (0.0%) | |

•National minimum salary of R\$ 1,212.00 (<https://www.gov.br>). *ANOVA test; **Fisher's exact test; ***Kruskal-Wallis test (P < 0.05); SD=Standard deviation. CI=Confidence interval

Table 2. Behavioral characteristics [n (%) or Mean (SD); Median (CI)] of study participants.

| Outcomes | Categories | Groups | | | P |
|--|-----------------------|--|--|--|---------|
| | | 0 | 1 | 2 | |
| Cleansing method | Mechanical | 26 (96.3%) | 23 (95.8%) | 25 (100.0%) | 0.763* |
| | Mechanic and chemical | 1 (3.7%) | 1 (4.2%) | 0 (0.0%) | |
| Denture removal at night | Never | 14 (53.8%) | 14 (58.3%) | 16 (64.0%) | 0.828* |
| | Sometimes | 1 (3.8%) | 2 (8.3%) | 2 (8.0%) | |
| | Always | 11 (42.3%) | 8 (33.3%) | 7 (28.0%) | |
| Smoking | Never | 10 (37.0%) | 10 (41.7%) | 5 (20.0%) | 0.229* |
| | Past | 11 (40.7%) | 12 (50.0%) | 12 (48.0%) | |
| | Current | 6 (22.2%) | 2 (8.3%) | 8 (32.0%) | |
| Alcohol consumption | Never | 8 (29.6%) | 11 (45.8%) | 10 (40.0%) | 0.476* |
| | Yes | 0 (0.0%) | 0 (0.0%) | 1 (4.0%) | |
| | Sometimes | 19 (70.4%) | 13 (54.2%) | 14 (56.0%) | |
| Frequency of denture cleansing per day | | 2.73 (SD 1.04) 3.00 (CI 2.31; 3.15) | 2.50 (SD 0.72) 3.00 (CI 2.19; 2.81) | 2.92 (SD 0.81) 3.00 (CI 2.58; 3.26) | 0.310** |

*Fisher's exact test (P < 0.05). **Kruskal-Wallis test (P<0.05). SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

Table 3. Health characteristics [n (%) or Mean (SD); Median (CI)] of study participants.

| <i>Outcomes</i> | <i>Groups</i> | | | <i>P</i> |
|--|---|--|--|----------|
| | <i>0</i> | <i>1</i> | <i>2</i> | |
| <i>Complaint of burning mouth</i> | | | | |
| No | 25 (96.2%) | 22 (91.7%) | 22 (88.0%) | 0.595* |
| Yes | 1 (3.8%) | 2 (8.3%) | 3 (12.0%) | |
| <i>Salivary flow rate</i> | 0.65 (SD 0.42) 0.50 (CI 0.48; 0.81) | 0.44 (SD 0.33) 0.30 (CI 0.30; 0.58) | 0.56 (SD 0.32) 0.50 (CI 0.42; 0.69) | 0.064** |
| <i>Medications</i> | | | | |
| Antihypertensive | 1.11 (SD 1.08) 1.00 (CI 0.68; 1.54) | 0.75 (SD 0.89) 1.00 (CI 0.37; 1.12) | 0.64 (SD 0.70) 1.00 (CI 0.35; 0.92) | 0.284** |
| Antidiabetics | 0.59 (SD 0.88) 0.00 (CI 0.24; 0.94) | 0.25 (SD 0.61) 0.00 (CI -0.01; 0.05) | 0.24 (SD 0.60) 0.00 (CI 0.006; 0.048) | 0.084** |
| Antidepressants | 0.30 (SD 0.72) 0.00 (CI 0.001; 0.58) | 0.21 (SD 0.51) 0.00 (CI -0.001; 0.42) | 0.44 (SD 0.71) 0.00 (CI 0.14; 0.073) | 0.370** |
| Hormones | 0.74 (SD 0.27) 0.00 (CI -0.31; 0.17) | 0.13 (SD 0.34) 0.00 (CI -0.02; 0.27) | 0.12 (SD 0.33) 0.00 (CI -0.17; 0.26) | 0.807** |
| Anticoagulants | 0.22 (SD 0.42) 0.00 (CI 0.05; 0.38) | 0.17 (SD 0.48) 0.00 (CI -0.03; 0.37) | 0.28 (SD 0.46) 0.00 (CI 0.90; 0.46) | 0.466** |
| Proton-pump inhibitors/ Omeprazole | 0.15 (SD 0.36) 0.00 (CI 0.005; 0.29) | 0.17 (SD 0.38) 0.00 (CI 0.006; 0.32) | 0.12 (SD 0.33) 0.00 (CI -0.010; 0.25) | 0.897** |
| Statins | 0.22 (SD 0.42) 0.00 (CI 0.05; 0.38) | 0.33 (SD 0.48) 0.00 (CI 0.13; 0.53) | 0.40 (SD 0.50) 0.00 (CI 0.19; 0.60) | 0.382** |
| Vasodilators/ Venotonics | 0.22 (SD 0.42) 0.00 (CI 0.05; 0.09) | 0.00 (SD-) 0.00 (CI-) | 0.08 (SD 0.28) 0.00 (CI -0.03; 0.19) | 0.160*** |
| Total Medications | 2.89 (SD 2.47) 2.00 (CI 1.91; 3.86) | 2.00 (SD 2.54) 1.00 (CI 0.92; 3.07) | 2.32 (SD 2.15) 2.00 (CI 1.43; 3.20) | 0.242** |

*Fisher's exact test ($P < 0.05$); ** Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$); ***Mann-Whitney test ($P < 0.05$), no patient in group 1 uses a vasodilator or takes venotonic medication, so this group did not participate in the statistical analysis of this variable; SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

Table 4. Dental clinical characteristics [Mean (SD); Median (CI)] of study participants.

| <i>Outcomes</i> | | <i>Groups</i> | | | <i>P</i> |
|---------------------------------------|--------|-------------------|--------------------|--------------------|----------|
| | | <i>0</i> | <i>1</i> | <i>2</i> | |
| Presence of Biofilm | Mean | 0.89 | 1.29 | 1.52 | 0.100** |
| | (SD) | 1.05 | 1.16 | 1.05 | |
| | Median | 0.00 | 1.00 | 2.00 | |
| | (CI) | (0.47; 1.30) | (0.80; 1.78) | (1.08; 1.95) | |
| Time of edentulism | Mean | 27.31 | 36.50 | 28.40 | 0.071* |
| | (SD) | 17.10 | 13.12 | 14.43 | |
| | Median | 21.50 | 40.0 | 28.0 | |
| | (CI) | (20.40; 34.22) | (30.96; 42.04) | (22.44; 34.36) | |
| Age of upper dentures | Mean | 8.00 | 18.79 | 10.16 | 0.010** |
| | (SD) | 8.56 | 16.18 | 9.84 | |
| | Median | 5.50 ^a | 15.00 ^b | 8.00 ^{ab} | |
| | (CI) | (4.54; 11.46) | (11.96; 25.62) | (6.10; 14.22) | |
| Age of lower dentures | Mean | 5.68 | 16.05 | 10.06 | 0.003** |
| | (SD) | 5.28 | 13.17 | 10.41 | |
| | Median | 3.50 ^a | 10.00 ^b | 8.00 ^{ab} | |
| | (CI) | (3.34; 8.02) | (9.71; 22.40) | (4.7; 15.41) | |
| <i>Kapur index</i> | | | | | |
| Type of Alveolar Ridge | Mean | 0.22 | 0.33 | 0.40 | 0.382** |
| | (SD) | 0.42 | 0.48 | 0.50 | |
| | Median | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (-0.02; .32) | (0.00; .41) | (0.57; 0.56) | |
| Upper denture retention and stability | Mean | 0.81 | 0.71 | 0.80 | 0.798** |
| | (SD) | 0.79 | 0.91 | 0.82 | |
| | Median | 1.00 | 0.00 | 1.00 | |
| | (CI) | (0.50; 1.29) | (0.34; 1.23) | (0.36; 1.25) | |

*ANOVA test ($P < 0.05$); **Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

Table 5. Colony Forming Units in Log10 (CFULog10) of *Candida* spp., *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Candida tropicalis* isolated from denture and palate biofilm.

| | | <i>Candida</i> spp. | | | <i>Candida albicans</i> | | | <i>Candida glabrata</i> | | | <i>Candida tropicalis</i> | | |
|-----|--------|---------------------|-------------------|--------------|-------------------------|---------------|--------------|-------------------------|----------------|--------------|---------------------------|---------------|--------------|
| | | Denture | Palate | P* | Denture | Palate | P* | Denture | Palate | P* | Denture | Palate | P* |
| 0 | Mean | 1.97 | 0.22 | | 1.76 | 0.13 | | 0.70 | 0.10 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (SD) | 2.35 | 0.65 | 0.002 | 2.16 | 0.47 | 0.002 | 1.72 | 0.52 | 0.800 | - | - | 0.080 |
| | Median | 0.00 ^a | 0.00 ^a | | 0.00 ^a | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (1.04; 2.90) | (-0.04; 0.48) | | (0.91; 2.62) | (-0.06; 0.32) | | (0.02; 1.38) | (-0.011; 0.31) | | - | - | |
| 1 | Mean | 4.01 | 0.76 | | 3.26 | 0.29 | | 1.95 | 0.32 | | 0.26 | 0.16 | |
| | (SD) | 2.13 | 1.36 | 0.000 | 2.36 | 0.67 | 0.000 | 2.41 | 0.91 | 0.005 | 0.90 | 0.76 | 0.005 |
| | Median | 4.49 ^b | 0.00 ^b | | 4.29 ^b | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (3.11; 4.91) | (0.19; 1.34) | | (2.27; 4.26) | (0.01; 0.57) | | (0.93; 2.97) | (-0.06; 0.70) | | (-0.12; 0.64) | (-0.17; 0.48) | |
| 2 | Mean | 3.93 | 1.33 | | 3.10 | 0.66 | | 1.58 | 0.46 | | 0.91 | 0.57 | |
| | (SD) | 2.07 | 1.51 | 0.000 | 2.46 | 1.12 | 0.001 | 2.24 | 1.09 | 0.008 | 1.71 | 1.22 | 0.008 |
| | Median | 4.47 ^b | 0.00 ^b | | 3.74 ^b | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (3.08; 4.78) | (0.70; 1.95) | | (2.09; 4.12) | (0.20; 1.12) | | (0.65; 2.50) | (0.01; 0.91) | | (0.21; 1.62) | (0.07; 1.08) | |
| P** | | 0.003 | 0.008 | | 0.035 | 0.107 | | 0.107 | 0.320 | | 0.120 | 0.106 | |

*Wilcoxon test (P < 0.05). **Kruskal-Wallis test (P < 0.05); SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

Table 6. Colony Forming Units in Log10 (CFULog10) of *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* spp., and enterobacteria isolated from denture and palate biofilm.

| Groups | <i>Staphylococcus</i> spp. | | | <i>Streptococcus mutans</i> | | | <i>Pseudomonas</i> spp. | | | Enterobacteria | | | |
|--------|----------------------------|--------------|--------------|-----------------------------|--------------|--------------|-------------------------|---------------|----------------|----------------|--------------|---------------|--------------|
| | Denture | Palate | P* | Denture | Palate | P* | Denture | Palate | P* | Denture | Palate | P* | |
| 0 | Mean | 2.45 | 1.99 | | 2.75 | 1.48 | | 0.31 | 0.20 | | 1.07 | 0.42 | |
| | (SD) | 0.92 | 1.07 | 0.032 | 3.05 | 1.64 | 0.009 | 0.88 | 0.74 | <i>0.068</i> | 2.02 | 1.12 | 0.024 |
| | Median | 2.51 | 2.38 | | 1.90 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (2.09; 2.82) | (1.56; 2.41) | | (1.54; 3.95) | (.83; 2.13) | | (-0.04; 0.65) | (-0.09; -0.49) | | (0.28; 1.87) | (-0.02; 0.86) | |
| 1 | Mean | 2.23 | 2.07 | | 3.23 | 1.67 | | 0.23 | 0.12 | | 0.70 | 0.63 | |
| | (SD) | 1.02 | 1.10 | <i>0.487</i> | 2.77 | 1.70 | 0.004 | 0.83 | 0.57 | <i>0.180</i> | 1.56 | 1.50 | <i>0.888</i> |
| | Median | 2.48 | 2.20 | | 3.33 | 1.84 | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (1.80; 2.66) | (1.61; 2.54) | | (2.06; 4.40) | (0.95; 2.39) | | (-0.13; .58) | (-0.12; 0.36) | | (0.05; 1.36) | (0.00; 1.27) | |
| 2 | Mean | 2.23 | 2.08 | | 3.85 | 1.17 | | 0.32 | 0.06 | | 0.80 | 0.57 | |
| | (SD) | 1.14 | 1.10 | <i>0.495</i> | 2.60 | 1.39 | 0.000 | 1.15 | 0.32 | <i>0.180</i> | 1.61 | 1.32 | <i>0.400</i> |
| | Median | 2.51 | 2.30 | | 4.29 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | |
| | (CI) | (1.77; 2.70) | (1.62; 2.53) | | (2.78; 4.93) | (0.60; 1.74) | | (-0.15; 0.80) | (-0.07; 0.20) | | (0.14; 1.47) | (0.02; 1.12) | |
| | P** | <i>0.688</i> | <i>0.967</i> | | <i>0.440</i> | <i>0.527</i> | | <i>0.729</i> | <i>0.811</i> | | <i>0.853</i> | <i>0.900</i> | |

*Wilcoxon test (P < 0.05), comparing the CFU count between denture and palate for each microorganism; **Kruskal-Wallis test (P<0.05), comparing the CFU count of the denture or palate between groups, for each microorganism; SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

Table 7. Total microbial load (CFULog10) of the microorganisms isolated from the denture and palate biofilm.

| | <i>Groups</i> | | | P* |
|--------|---------------|--------------|--------------|-----------|
| | 0 | 1 | 2 | |
| Mean | 4.91 | 5.26 | 5.37 | |
| SD | 1.69 | 1.30 | 1.40 | 0.460 |
| Median | 5.56 | 5.53 | 5.83 | |
| CI | (4.24; 5.58) | (4.72; 5.81) | (4.79; 5.95) | |

* Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$); SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

Table 8. Salivary and plasma levels (pg/mL) of inflammatory cytokines.

| | <i>Saliva</i> | | | <i>Plasma</i> | | | |
|--------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------|----------------|-------------|
| | <i>Group 0</i> | <i>Group 1</i> | <i>Group 2</i> | <i>Group 0</i> | <i>Group 1</i> | <i>Group 2</i> | |
| <i>IL-2</i> | Mean | 197 | 10 | 14 | 1000 | 262 | 1000 |
| | (SD) | 960 | 21 | 23 | 2041 | 1689 | 2041 |
| | Median | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | (CI) | (-183; 576) | (1; 19) | (4; 24) | (157; 1843) | (-87; 1339) | (157; 1843) |
| | P | | 0.986 | | | 0.914 | |
| <i>IL-4</i> | Mean | 190 | 4 | 5 | 1002 | 628 | 1002 |
| | (SD) | 961 | 11 | 13 | 2040 | 1688 | 2040 |
| | Median | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 |
| | (CI) | (-191; 570) | (-1; 8.00) | (0; 11) | (160; 1844) | (-85; 1341) | (160; 1844) |
| | P | | 0.319 | | | 0.910 | |
| <i>IL-6</i> | Mean | 217 | 147 | 266 | 1000 | 629 | 1002 |
| | (SD) | 957 | 298 | 874 | 2041 | 1688 | 2040 |
| | Median | 20 ^b | 61 ^a | 49 ^{ab} | 0 | 0 | 0 |
| | (CI) | (-161; 596.) | (21; 273) | (-103; 635) | (157; 1843) | (-83; 1342) | (160; 1844) |
| | P | | 0.023 | | | 0.873 | |
| <i>IL-10</i> | Mean | 190 | 5 | 7 | 1000 | 626 | 1000 |
| | (SD) | 961 | 12 | 17 | 2041 | 1689 | 2041 |
| | Median | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | (CI) | (-190; 571) | (0; 10) | (0; 14) | (157; 1843) | (-88; 1339) | (157; 1843) |
| | P | | 0.852 | | | 0.914 | |
| <i>TNF-α</i> | Mean | 201 | 20 | 62 | 1000 | 627 | 1000 |
| | (SD) | 959 | 28 | 137 | 2041 | 1688 | 2041 |
| | Median | 5 | 5 | 19 | 0 | 0 | 0 |
| | (CI) | (-178; 581) | (9; 32) | (4; 119) | (157; 1843) | (-110; 1694) | (158; 1843) |
| | P | | 0.308 | | | 0.813 | |
| <i>IFN-γ</i> | Mean | 195 | 8 | 17 | 1000 | 625 | 1000 |
| | (SD) | 961 | 20 | 34 | 2041 | 1689 | 2041 |
| | Median | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | (CI) | (-185; 575) | (0; 16) | (2; 31) | (157; 1843) | (-88; 1338) | (157; 1843) |
| | P | | 0.663 | | | 0.733 | |
| <i>IL-17</i> | Mean | 202 | 16 | 20 | 1014 | 637 | 1008 |
| | (SD) | 960 | 34 | 29 | 2034 | 1685 | 2037 |
| | Median | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | (CI) | (-177; 582) | (2; 31) | (8; 32) | (175; 1854) | (-74; 1348) | (167; 1849) |
| | P | | 0.580 | | | 0.695 | |

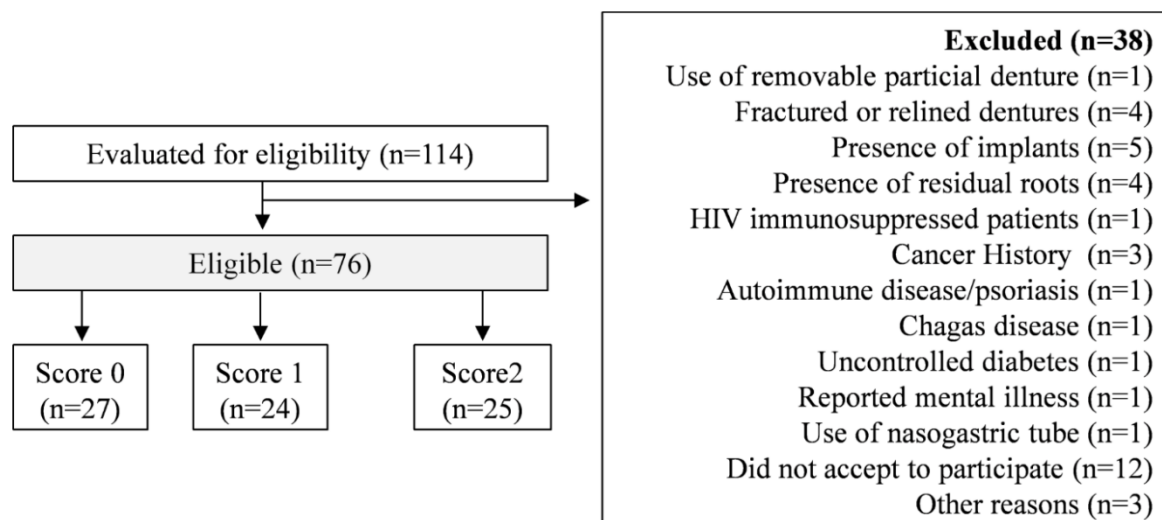
Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). SD=Standard deviation. CI=Confidence interval. Different letters indicate statistical difference.

Table 9. Comparison of plasma levels of C-reactive protein (mg/L) of groups without and with DS (scores 1 and 2).

| | <i>Groups</i> | | |
|--------|----------------|----------------|----------------|
| | 0 | 1 | 2 |
| Mean | 0.266 | 0.249 | 0.286 |
| (SD) | 0.270 | 0.182 | 0.235 |
| Median | 0.128 | 0.215 | 0.190 |
| (CI) | (0.159; 0.373) | (0.172; 0.326) | (0.189; 0.383) |
| P | 0.707 | | |

Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). SD=Standard deviation. CI=Confidence interval.

FIGURES

Figure 1. Study flowchart.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura tem empregado diferentes índices de classificação da estomatite relacionada à prótese como a Classificação de Newton (Andrucioli et al., 2004), Classificação de Newton modificada (Kabawat et al., 2014; Badaró et al., 2020; Araújo et al., 2021; Nepeleembroek et al., 2022). No nosso entendimento, estas classificações contribuem para o diagnóstico clínico, mas apresentam limitações como subjetividade e experiência clínica dos profissionais. Assim, para o presente estudo, a Classificação de Newton modificada por Kabawat em 2014 foi empregada para categorização inicial dos participantes e em seguida, os mesmos foram reagrupados em 3 grupos com a proposta equilibrar os grupos.

A maioria dos participantes (64,46%) apresentaram ERP, média etária maior que 60 anos, eram do sexo feminino, casada, residindo com a família, com ensino médio completo e baixa renda econômica, corroborando com a literatura (Emami et al., 2008; Kossioni, 2011; Badaró et al., 2017; Araújo et al., 2021; Ribeiro et al., 2022; De Souza et al., 2023). Os três grupos apresentaram características sociodemográficas semelhantes, exceto para a idade do grupo 1, o qual mostrou média etária maior que o grupo 0 e semelhante ao grupo 2. Porém, não houve correlação entre idade e grau da estomatite, contrariando a literatura (Dos Santos et al., 2010; Morel et al., 2019).

A comparação das variáveis queixas de ardência, métodos de higiene, uso noturno da prótese, presença de biofilme, hábitos de fumar e ingerir bebidas alcoólicas não indicou diferença significativa entre os grupos e estes resultados estão de acordo com a literatura (Emami et al., 2008; Dorocka-Bobkowska et al., 2010; Kossioni, 2011; Taebunpakul; Jirawechwongsakul, 2021). Porém, os resultados ainda são controversos, uma vez que estudo recente indicou que o uso noturno da prótese pode ser um fator de risco para ERP (Galvan et al., 2021; Qiu et al., 2023) e ainda, que a ERP pode ser duas vezes mais prevalente em indivíduos fumantes de cigarro em comparação aos não fumantes (Saradari et al., 2021). Poucos participantes tinham hipossalivação indicando que a severidade da ERP não foi influenciada pelo fluxo salivar (Altarawneh et al., 2013).

A literatura relata que graus mais severos de inflamação podem ser diagnosticados em indivíduos mais idosos, edêntulos a mais tempo e com próteses mais antigas Peracini et al., 2010; Morel et al., 2019). Uma hipótese para este resultado é que indivíduos mais velhos podem apresentar maior dificuldade de higiene que, associada à degradação da superfície da resina acrílica ao longo do tempo e adesão e proliferação dos microrganismos (Perezous et al., 2006; Perić et al., 2018). Entretanto, esta hipótese não se confirmou no presente estudo, uma vez que

o grupo 1 apresentou média de idade das próteses superior e inferior maior que o grupo sem estomatite (escore 0) e o grupo com maior grau de inflamação (grupo 2) apresentou valores médios intermediários; ainda, não houve diferença estatística entre os grupos para o tempo médio de edentulismo em anos.

Embora a baixa frequência da higienização seja um fator de risco considerado para maior gravidade da ERP (Gendreau; Loewy, 2011; Kossioni, 2011), não foram identificadas diferenças na frequência de higienização entre os grupos (Nevalainen et al., 1997; Turker et al., 2009). A frequência pode não indicar efetividade da higiene. Andrucioi et al. (2004) mostraram que a correlação entre as porcentagens de biofilme e escores de ERP foi baixa, sugerindo que uma diminuição na quantidade de biofilme não é necessariamente seguida por uma diminuição no grau de inflamação.

Outros fatores de risco para ERP são a falta de estabilidade e retenção das próteses totais por promoverem o aumento do movimento do aparelho protético durante a função, gerando atrito entre a base da prótese e a mucosa (Gendreau; Loewy, 2011; Kossioni, 2011; Taebunpakul; Jirawechwongsakul, 2021). De acordo com o índice de Kapur (Kapur, 1967) não foi possível identificar influência destes fatores sobre a gravidade da ERP, concordando com Altarawneh et al. (2013). As diferenças nos resultados podem estar relacionadas às diferentes metodologias e instrumentos de avaliação das variáveis.

Ainda, a literatura aponta que a presença de *Candida albicans* e espécies não *albicans* (Figueiral et al., 2007) em interação com bactérias, em forma de biofilme, é um fator de alto risco para ERP (Pereira-Cenci et al., 2008; Gendreau; Loewy, 2011;). Este estudo indicou que a carga microbiana de *Candida* spp. e *C. albicans* presente na prótese é significativamente maior que no palato (Badaró et al., 2020; Araújo et al., 2021; Taebunpakul; Jirawechwongsakul, 2021). Dessa forma, confirma-se que as próteses totais atuam como reservatório de microrganismos sustentando a inflamação (Coulthwaite; Verran 2007; Salerno et al., 2011; Kabawat et al., 2014). A contagem de *Candida* spp. na prótese foi maior no grupo 1 e 2 quando comparado ao grupo 0, justificando a presença de inflamação local. Outro fator a ser destacado é o maior tempo de uso das próteses nestes grupos (Coco et al., 2008; Perić et al., 2018).

A carga microbiana de *C. albicans* na prótese dos grupos 1 e 2 foi igual entre si e maior que a do grupo 0, sugerindo que a presença da ERP está relacionada à presença de *C. albicans*. Para *C. glabrata* e *C. tropicalis*, não houve diferença entre os grupos, tanto na prótese quanto no palato. Porém, um achado interessante foi que não houve crescimento de *C. tropicalis* no grupo 0 e a hipótese seria que o agravamento e persistência de ERP esteja ligada à patogenicidade de *C. tropicalis*. De maneira semelhante outros estudos destacaram a maior

frequência de *C. albicans*, seguidos de *C. glabrata* e *C. tropicalis* (Marcos-Arias et al., 2009; Zomorodian et al., 2011, Qiu et al., 2023).

As bactérias isoladas no presente estudo são comuns no biofilme de próteses totais (Badaró et al., 2017; Araújo et al., 2022; Ribeiro et al., 2022) e os resultados indicaram que a carga microbiana das bactérias foi semelhante entre os grupos, independente do sítio de coleta, sugerindo que a contagem de UFC de bactérias não apresenta relação direta com ERP.

Comparando a carga microbiana das próteses e palato, observasse que nos grupos 1 e 2, o crescimento de *Staphylococcus* spp. foi semelhante entre prótese e palato, sugerindo uma relação mutualística entre *C. albicans* e *Staphylococcus* spp. promovendo a adesão de *Staphylococcus* spp. tanto à mucosa oral quanto à superfície da prótese, sugerindo o aumento do potencial patogênico (Coco et al., 2008; Todd; Peters, 2019). Com relação ao microrganismo *S. mutans*, a carga microbiana foi semelhante entre os 3 grupos. (Baena-Monroy et al., 2005) indicando que esta espécie é importante para a formação do biofilme na prótese. Ainda, em interação com *C. albicans* pode tornar os microrganismos mais tolerantes ao estresse externo (Li et al., 2022).

A identificação de *Pseudomonas* spp. e enterobactérias no biofilme de indivíduos totalmente desdentados e idosos é preocupante por serem patógenos causadores de problemas respiratórios e cardíacos (Sumi et al., 2002; Senpuku et al., 2003). No entanto, não foi verificada diferença na carga microbiana entre os grupos, corroborando com a literatura (Badaró et al., 2017). Embora o grupo 0 tenha apresentado carga microbiana semelhante aos grupos 1 e 2, cabe destacar que os indivíduos apresentam mais de 60 anos e usam diversos medicamentos, indicando a presença de comorbidades e conseqüentemente, susceptibilidade às infecções. Assim, é relevante o uso de protocolos de higienização eficazes com o objetivo de diminuir a carga microbiana independente da presença da DS (Badaró et al., 2017 e 2020; Araújo et al., 2021; Ribeiro et al., 2022).

A literatura indica que a ERP está intimamente ligada com a imunidade inata e adaptativa do hospedeiro (Le Bars et al., 2022) e alterações nos níveis de biomarcadores de inflamação podem ser identificadas. No presente estudo, a investigação foi realizada na saliva e no plasma. No plasma, não houve diferença na quantificação dos biomarcadores entre os grupos, indicando que a ERP não impactou os níveis sistêmicos. Já na saliva, o grupo 1 apresentou níveis mais elevados de interleucina-6 (IL-6), seguido do grupo 2, quando comparados ao grupo 0. Isso pode ter ocorrido pelo fato de a liberação de citocinas ser mediada pela imunidade inata do hospedeiro por meio de neutrófilos e macrófagos locais, respondendo de maneira aguda (Netea et al., 2008). As IL-6 são produzidas em grandes quantidades por vários tipos de células, como linfócitos e neutrófilos em resposta a estímulos inflamatórios e

microbianos, performando função importante na proteção contra *Candida* (Pietruski et al., 2000). Ao avaliar os níveis de citocinas salivares em indivíduos idosos com ou sem ERP e jovens, Gasparoto et al. (2012) relataram altos níveis de IL-6 em idosos com ERP. Por outro lado, Pietruski et al. (2000) relataram que os níveis de IL-6 e TNF- α foram altos nos usuários de prótese, independente da presença de ERP. Ribeiro et al. (2022), após implementarem protocolo de higienização das próteses totais em indivíduos com ERP relataram diminuições significativas de IL-6, IL-2, IFN γ e IL-10.

Gasparoto et al. (2009) ao avaliarem as características funcionais e fenotípicas dos neutrófilos de idosos usuários de próteses relataram diversas alterações nos neutrófilos sanguíneos e salivares, no qual apresentaram atividade fagocitária prejudicada quando comparados aos grupos jovens, sendo a hipótese de que o envelhecimento diminui a capacidade dos neutrófilos de combater o patógeno. Assim, a imunossenescência pode estar associada a persistência da ERP em indivíduos idosos (Gasparoto et al., 2011).

Ainda, com o intuito de avaliar possível impacto sistêmico da ERP, a quantificação de proteína C-Reativa (PCR), preditor de doenças cardíacas, foi realizada (Strandberg; Tilvis, 2000). Porém, não houve diferença significativa nos níveis de PCR entre os grupos, sugerindo que a ERP não causa ativação expressiva na resposta inflamatória sistêmica, corroborando com a literatura (Maciag et al., 2014). Por outro lado, Ajwani et al. (2003) concluíram que a ERP foi associada a níveis elevados de PCR, no entanto, esta associação foi influenciada pelo estado da prótese total superior. Yeter et al. (2019) verificaram que os níveis plasmáticos de PCR foram maiores nos indivíduos em que o *Candida* foi isolado da mucosa oral e da prótese. As diferenças entre os resultados dos últimos estudos relatados, podem ser justificadas pela divergência no delineamento utilizado pelos pesquisadores.

Apesar das limitações inerentes ao desenho do estudo, foi possível concluir que a gravidade da ERP não foi influenciada por variáveis sociodemográficas, comportamentais, de saúde e clínicas avaliadas neste estudo. A carga microbiana foi o fator de risco mais evidente para o desenvolvimento da ERP, principalmente para *Candida* spp. e especialmente, *C. albicans* provavelmente devido à sua capacidade de sinalização local por meio da quantificação de interleucina 6. Ainda assim, sugere a necessidade de estudo clínico controlado comparando indivíduos antes e após o tratamento da ERP com indivíduos mais jovens e dentados para evidências sobre a relação entre edentulismo, ERP e doenças sistêmicas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Ajwani S, Mattila KJ, Närhi TO, Tilvis RS, Ainamo A. Oral health status, C-reactive protein and mortality--a 10 year follow-up study. *Gerodontology*. 2003 Jul;20(1):32-40.
2. Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S, Preisser J, Loewy ZG, Gendreau L, Offenbacher S. Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow, and dry mouth. *J Prosthodont*. 2013 Jan;22(1):13-22.
3. Ambjørnsen E, Rise J. The effect of verbal information and demonstration on denture hygiene in elderly people. *Acta Odontol Scand*. 1985 Mar;43(1):19-24.
4. Andriolo A, Martins AR, Ballarati CAF, et al. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso – 2. ed.* Barueri, SP: Minha Editora. 2010.
5. Andruccioli MC, de Macedo LD, Panzeri H, Lara EH, Paranhos Hde F. Comparison of two cleansing pastes for the removal of biofilm from dentures and palatal lesions in patients with atrophic chronic candidiasis. *Braz Dent J*. 2004 Mar; 15(3):220-24.
6. Araujo CB, Ribeiro AB, Fortes CV, Bueno FL, De Wever B, Oliveira VC, Macedo AP, Paranhos HFO, da Silva CHL. Effect of local hygiene protocols on denture-related stomatitis, biofilm, microbial load, and odor: A randomized controlled trial. *J Prosthet Dent*. 2022 Oct;128(4):664-73.
7. Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil*. 1987 May;14(3):217-27.
8. Badaró MM, Bueno FL, Arnez RM, Oliveira VC, Macedo AP, de Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. The effects of three disinfection protocols on *Candida spp.*, denture stomatitis, and biofilm: A parallel group randomized controlled trial. *J Prosthet Dent*. 2020 Dec;124(6):690-98.
9. Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF, Oliveira VC, Nascimento CD, Souza RF, Paranhos HFO, Silva-Lovato CH. Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *J Appl Oral Sci*. 2017 May-Jun;25(3):324-34.
10. Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barríos B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005 Apr 1;10 Suppl1:E27-39.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
12. CLSI. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline – Fourth Edition.* CLSI document GP44-44. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.

13. Coco BJ, Bagg J, Cross LJ, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Oct;23(5):377-83.
14. Coelho CM, Sousa YT, Daré AM. Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. *J Oral Rehabil*. 2004 Feb;31(2):135-39.
15. Corassa RB, Silva, CJDP, Paula JSD, Aquino ÉCD, Sardinha LMV, Alves PAB. (2022). Condições de saúde bucal autorrelatadas entre adultos brasileiros: resultados das Pesquisas Nacionais de Saúde de 2013 e 2019. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 31.
16. Coulthwaite L, Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. *Br J Biomed Sci*. 2007;64(4):180-89.
17. D'Ambrosio F, Santella B, Di Palo MP, Giordano F, Lo Giudice R. Characterization of the Oral Microbiome in Wearers of Fixed and Removable Implant or Non-Implant-Supported Prosthesis in Healthy and Pathological Oral Conditions: A Narrative Review. *Microorganisms*. 2023 Apr 16;11(4):1041.
18. De Souza R, Chaves C, Rohani K, Bouferguene S, Barbeau J, Borie E, Weber B, Fuentes R, Crizostomo L, Silva-Lovato C, Emami E. Palatal brushing for the treatment of denture stomatitis: A multicentre randomized controlled trial. *J Prosthodont Res*. 2023 Jan 6;67(1):93-102.
19. de Souza RF, Khiyani MF, Chaves CAL, Feine J, Barbeau J, Fuentes R, Borie E, Crizostomo LC, Silva-Lovato CH, Rompre P, Emami E. Improving practice guidelines for the treatment of denture-related erythematous stomatitis: a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2017 May 5;18(1):211.
20. Dorocka-Bobkowska B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Hedzelek W, Szumala-Kakol A, Budtz-Jørgensen E. *Candida*-associated denture stomatitis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Oct;90(1):81-6.
21. dos Santos CM, Hilgert JB, Padilha DM, Hugo FN. Denture stomatitis and its risk indicators in south Brazilian older adults. *Gerodontology*. 2010 Jun;27(2):134-40.
22. Emami E, de Grandmont P, Rompré PH, Barbeau J, Pan S, Feine JS. Favoring trauma as an etiological factor in denture stomatitis. *J Dent Res*. 2008 May;87(5):440-44.
23. Emami E, de Souza RF, Kabawat M, Feine JS. The impact of edentulism on oral and general health. *Int J Dent*. 2013;2013:498305.
24. Esteves-Lima RP, Reis CS, Santirocchi-Júnior F, Abreu LG, Costa FO. Association between periodontitis and serum c-reactive protein levels. *J Clin Exp Dent*. 2020 Sep 1;12(9):e838-e843.
25. Fedele S, Sabbah W, Donos N, Porter S, D'Aiuto F. Common oral mucosal diseases, systemic inflammation, and cardiovascular diseases in a large cross-sectional US survey. *Am Heart J*. 2011 Feb;161(2):344-50.

26. Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *J Oral Rehabil.* 2007 Jun;34(6):448-55
27. Galvan R, McBride M, Koriath TV, Garcia-Godoy F. Denture Hygiene as It Relates to Denture Stomatitis: A Review. *Compend Contin Educ Dent.* 2021 Apr;42(4):e1-e4.
28. Gasparoto TH, Sipert CR, de Oliveira CE, Porto VC, Santos CF, Campanelli AP, Lara VS. Salivary immunity in elderly individuals presented with Candida-related denture stomatitis. *Gerodontology.* 2012 Jun;29(2):e331-9.
29. Gasparoto TH, Vieira NA, Porto VC, Campanelli AP, Lara VS. Ageing exacerbates damage of systemic and salivary neutrophils from patients presenting Candida-related denture stomatitis. *Immun Ageing.* 2009 Mar 28;6:3.
30. Gasparoto TH, Vieira NA, Porto VC, Campanelli AP, Lara VS. Differences between salivary and blood neutrophils from elderly and young denture wearers. *J Oral Rehabil.* 2011 Jan;38(1):41-51.
31. Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont.* 2011 Jun;20(4):251-60.
32. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, Gillevet PM. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog.* 2010 Jan 8;6(1):e1000713.
33. Gomes-Filho IS, Freitas Coelho JM, da Cruz SS, Passos JS, Teixeira de Freitas CO, Aragão Farias NS, Amorim da Silva R, Silva Pereira MN, Lima TL, Barreto ML. Chronic periodontitis and C-reactive protein levels. *J Periodontol.* 2011 Jul;82(7):969-78
34. Hannah VE, O'Donnell L, Robertson D, Ramage G. Denture Stomatitis: Causes, Cures and Prevention. *Prim Dent J.* 2017 Dec 1;6(4):46-51.
35. Hilgert JB, Giordani JM, de Souza RF, Wendland EM, D'Avila OP, Hugo FN. Interventions for the Management of Denture Stomatitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Geriatr Soc.* 2016 Dec;64(12):2539-45.
36. Ikebe K, Matsuda K, Morii K, Wada M, Hazeyama T, Nokubi T, Ettinger RL. Impact of dry mouth and hyposalivation on oral health-related quality of life of elderly Japanese. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 Feb;103(2):216-22.
37. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Brasil: Estatísticas Sociais; 2018. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/21837-projecao-da-populacao-2018-numero-de-habitantes-dos-pais-devem-parar-de-crescer-em-2047>.
38. Kabawat M, de Souza RF, Badaró MM, de Koninck L, Barbeau J, Rompré P, Emami E. Phase 1 clinical trial on the effect of palatal brushing on denture stomatitis. *Int J Prosthodont.* 2014 Jul-Aug;27(4):311-19.
39. Kapur KK. A clinical evaluation of denture adhesives. *J Prosthet Dent.* 1967 Dec;18(6):550-58.

40. Kossioni AE. The prevalence of denture stomatitis and its predisposing conditions in an older Greek population. *Gerodontology*. 2011 Jun;28(2):85-90.
41. Le Bars P, Kouadio AA, Bandiaky ON, Le Guéhenec L, de La Cochetière MF. Host's Immunity and Candida Species Associated with Denture Stomatitis: A Narrative Review. *Microorganisms*. 2022 Jul 16;10(7):1437.
42. Li Y, Du J, Huang S, Wang S, Wang Y, Cai Z, Lei L, Huang X. Hydrogen peroxide potentiates antimicrobial photodynamic therapy in eliminating *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* dual-species biofilm from denture base. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022 Mar;37:102691.
43. Life expectancy at birth, total (years). PopulationPyramid.net; 2015. Disponível em: <https://www.populationpyramid.net/hnp/life-expectancy-at-birth-total-years/2015/>
44. Luthra S, Orlandi M, Hussain SB, Leira Y, Botelho J, Machado V, Mendes JJ, Marletta D, Harden S, D'Aiuto F. Treatment of periodontitis and C-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Clin Periodontol*. 2023 Jan;50(1):45-60.
45. Machado V, Botelho J, Escalda C, Hussain SB, Luthra S, Mascarenhas P, Orlandi M, Mendes JJ, D'Aiuto F. Serum C-Reactive Protein and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol*. 2021 Jul 28;12:706432.
46. Maciąg J, Osmenda G, Nowakowski D, Wilk G, Maciąg A, Mikołajczyk T, Nosalski R, Sagan A, Filip M, Drózdź M, Loster J, Guzik TJ, Cześniakiewicz-Guzik M. Denture-related stomatitis is associated with endothelial dysfunction. *Biomed Res Int*. 2014;2014:474016.
47. Manikandan S, Vinesh E, Selvi DT, Kannan RK, Jayakumar A, Dinakaran J. Prevalence of *Candida* among Denture Wearers and Nondenture Wearers. *J Pharm Bioallied Sci*. 2022 Jul;14(Suppl 1):S702-S705.
48. Marcos-Arias C, Vicente JL, Sahand IH, Eguia A, De-Juan A, Madariaga L, Aguirre JM, Eraso E, Quindós G. Isolation of *Candida dubliniensis* in denture stomatitis. *Arch Oral Biol*. 2009 Feb;54(2):127-31.
49. Martorano-Fernandes L, Dornelas-Figueira LM, Marcello-Machado RM, Silva RB, Magno MB, Maia LC, Del Bel Cury AA. Oral candidiasis and denture stomatitis in diabetic patients: Systematic review and meta-analysis. *Braz Oral Res*. 2020 Sep 21;34:e113.
50. Moraes GS, Albach T, Sugio CY, de Oliveira FB, Neppelenbroek KH, Urban VM. Experimental animal models for denture stomatitis: A methodological review. *Lab Anim*. 2022 Aug;56(4):331-43.
51. Morel LL, Possebon AP da R, Faot F, Pinto L de R. Prevalence of risk factors for denture stomatitis in complete denture wearers. *Braz. J. Oral Sci*. 2019 Apr 18:e191414.
52. Neppelenbroek KH, Falcão Procópio AL, Gurgel Gomes AC, Campos Sugio CY, Maia Neves Garcia AA, Porto VC, Urban VM. A modified Newton classification for denture stomatitis. *Prim Dent J*. 2022 Jun;11(2):55-8.

53. Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nat Rev Microbiol*. 2008 Jan;6(1):67-78.
54. Nevalainen MJ, Närhi TO, Ainamo A. Oral mucosal lesions and oral hygiene habits in the home-living elderly. *J Oral Rehabil*. 1997 May;24(5):332-37.
55. Osmenda G, Maciąg J, Wilk G, Maciąg A, Nowakowski D, Loster J, Dembowska E, Robertson D, Guzik T, Cześnikiewicz-Guzik M. Treatment of denture-related stomatitis improves endothelial function assessed by flow-mediated vascular dilation. *Arch Med Sci*. 2017 Feb 1;13(1):66-74.
56. Pejčić A, Kesic LJ, Milasin J. C-reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011 Mar;30(3):407-14.
57. Peracini A, Andrade IM, Paranhos Hde F, Silva CH, de Souza RF. Behaviors and hygiene habits of complete denture wearers. *Braz Dent J*. 2010;21(3):247-52.
58. Pereira CA, Toledo BC, Santos CT, Pereira Costa AC, Back-Brito GN, Kaminagakura E, Jorge AO. Opportunistic microorganisms in individuals with lesions of denture stomatitis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 Aug;76(4):419-24.
59. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci*. 2008 Mar-Apr;16(2):86-94.
60. Perezous LF, Stevenson GC, Flaitz CM, Goldschmidt ME, Engelmeier RL, Nichols CM. The effect of complete dentures with a metal palate on *Candida* species growth in HIV-infected patients. *J Prosthodont*. 2006 Sep-Oct;15(5):306-15.
61. Perić M, Živković R, Milić Lemić A, Radunović M, Miličić B, Arsić Arsenijević V. The severity of denture stomatitis as related to risk factors and different *Candida* spp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018 Mar 22:S2212-4403(18)30841-1.
62. Pesee S, Arpornsuwan T. Salivary cytokine profile in elders with *Candida*-related denture stomatitis. *Gerodontology*. 2015 Jun;32(2):132-40.
63. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ*. 2005 Sep;83(9):661-69.
64. Pietruski JK, Pietruska MD, Jabłońska E, Sacha P, Zaremba M, Stokowska W. Interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and their soluble receptors in the blood serum of patients with denture stomatitis and fungal infection. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2000;48(2):101-05.
65. Ptasiewicz M, Grywalska E, Mertowska P, Korona-Główniak I, Poniewierska-Baran A, Niedźwiedzka-Rystwej P, Chałas R. Armed to the Teeth-The Oral Mucosa Immunity System and Microbiota. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 14;23(2):882.
66. Qiu J, Roza MP, Colli KG, Dalben YR, Maifrede SB, Valiatti TB, Novo VM, Cayô R, Grão-Velloso TR, Gonçalves SS. *Candida*-associated denture stomatitis: clinical, epidemiological, and microbiological features. *Braz J Microbiol*. 2023 Jun;54(2):841-48.

67. Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem.* 2015;7(4):493-512. Erratum in: *Future Med Chem.* 2015;7(10):1362.
68. Regis RR, Cunha TR, Della Vecchia MP, Ribeiro AB, Silva-Lovato CH, de Souza RF. A randomised trial of a simplified method for complete denture fabrication: patient perception and quality. *J Oral Rehabil.* 2013 Jul;40(7):535-45.
69. Ribeiro AB, Ribeiro AB, de Araújo CB, Fortes CV, Clemente LM, Paranhos HFO, Watanabe E, Salgado HC, Silva-Lovato CH. Effect of a hygiene protocol on denture-related stomatitis remission, local inflammatory factors, and hemodynamic responses by arterial pressure. *Antibiotics (Basel).* 2022 Sep 28;11(10):1320.
70. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, Guida A, Petruzzi M, Serpico R. Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011 Mar 1;16(2):e139-43.
71. Sardari F, Khalili P, Hakimi H, Mahmoudaghaei S, Abedi P. The prevalence of denture stomatitis in cigarette and hookah smokers and opium addicts: findings from Rafsanjan Cohort Study. *BMC Oral Health.* 2021 Sep 17;21(1):455.
72. Schöffler C, Oliveira LM, Santi SS, Antoniazzi RP, Zanatta FB. C-reactive protein levels are associated with periodontitis and periodontal inflamed surface area in adults with end-stage renal disease. *J Periodontol.* 2021 Jun;92(6):793-802.
73. Senpuku H, Sogame A, Inoshita E, Tsuha Y, Miyazaki H, Hanada N. Systemic diseases in association with microbial species in oral biofilm from elderly requiring care. *Gerontology.* 2003 Sep-Oct;49(5):301-09.
74. Shay K. Denture hygiene: a review and update. *J Contemp Dent Pract.* 2000 Feb 15;1(2):28-41.
75. Strandberg TE, Tilvis RS. C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Apr;20(4):1057-60.
76. Sumi Y, Miura H, Sunakawa M, Michiwaki Y, Sakagami N. Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Gerodontology.* 2002 Jul;19(1):25-9.
77. Taebunpakul P, Jirawechwongsakul P. Palatal Inflammation and the Presence of Candida in Denture-Wearing Patients. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2021 Jun 10;11(3):272-80.
78. Todd OA, Peters BM. Candida albicans and Staphylococcus aureus Pathogenicity and Polymicrobial Interactions: Lessons beyond Koch's Postulates. *J Fungi (Basel).* 2019 Sep 4;5(3):81.
79. Turker SB, Sener ID, Koçak A, Yilmaz S, Ozkan YK. Factors triggering the oral mucosal lesions by complete dentures. *Arch Gerontol Geriatr.* 2010 Jul-Aug;51(1):100-04.

80. Yeter HH, Erten Y, Sevmez H, Korucu B, Kalkanci A, Elbeg S, Altok K, Bali M, Yilmaz H. Oral Candida Colonization as a Risk Factor for Chronic Inflammation and Atherosclerosis in Hemodialysis Patients. *Ther Apher Dial.* 2019 Dec;23(6):542-49.
81. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, Sedaghat F, Vosoghi M. Assessment of Candida species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Med Mycol.* 2011 Feb;49(2):208-11.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Capítulo IV, itens 1 a 3 da Resolução 466/2012 – Conselho Nacional de Saúde)

Convidamos você _____,

RG _____, a participar como voluntário da pesquisa “Relação da Estomatite Relacionada à Prótese (ERP) com risco cardiovascular e efeito da desinfecção de prótese comparada ao tratamento local na remissão da ERP e risco cardíaco – Estudo clínico tipo caso-controle, transversal, sem intervenção associado a estudo clínico controlado, aleatorizado e duplo-cego” desenvolvida sob a responsabilidade da Prof.^a Dr.^a Cláudia Helena Lovato da Silva. Após receber todas as explicações necessárias para a participação da pesquisa, cabe a você decidir, de livre e espontânea vontade, se quer participar e assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com a finalidade de autorizar a sua participação na referida pesquisa. Os pesquisadores responsáveis por lhe apresentar esse documento e obter seu consentimento serão Profa. Dra. Adriana Barbosa Ribeiro, Pós-graduanda Caroline Vieira Fortes e Pós-graduanda Lorena Mosconi Clemente, sendo que a Prof.^a Dr.^a Cláudia Helena Lovato da Silva será a responsável pelo desenvolvimento da pesquisa.

A presença da dentadura na cavidade bucal pode ser um reservatório de microrganismos, especialmente *Candida* spp. que causam uma doença inflamatória/infecciosa na mucosa chamada Estomatite relacionada à prótese (ERP). Esta inflamação pode aumentar o risco de doença do coração. Por isso, este estudo tem o objetivo avaliar se a ERP aumenta o risco de doença do coração em indivíduos idosos usuários de prótese total e, uma vez identificado o aumento desse risco, avaliar se o tratamento da ERP realizado por meio higiene de prótese com escovação e imersão ou por escovação associada à medicação tópica diminui o risco.

Você está sendo convidado, dentre os pacientes que já estão em tratamento na clínica de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP (FORP) e que se enquadram no objetivo deste estudo, a participar da pesquisa. Independentemente de aceitar participar ou não, você continuará o tratamento que lhe foi proposto na clínica da FORP sem nenhuma alteração ou prejuízo no seu atendimento.

Para participar desta pesquisa, você precisará ter ou não a ERP e comparecer na faculdade de medicina para realizar os exames para avaliar o risco de doença do coração (eletrocardiograma, avaliação da pressão arterial, exame de sangue, ecocardiograma e de deformação miocárdica), e na faculdade de odontologia para realizarmos a coleta de material da dentadura superior e do céu da boca, com auxílio de cotonetes, além de tirar fotos da cavidade oral e da dentadura, e será coletada saliva pelo método de cuspir. Estas análises não lhe trarão complicações nem prejuízos, uma vez que não causam dor ou ferimentos. Se você tiver ERP e for identificada relação da inflamação da boca com o risco cardíaco, você deverá seguir as orientações para o tratamento da estomatite, podendo ser apenas a higiene da prótese ou o uso de medicamento antifúngico que é a Nistatina. Você receberá todos os materiais necessários para o tratamento durante a realização da pesquisa.

Este estudo não tem nenhuma relação com o seu tratamento na FORP. Você participante que aceitar participar deste projeto de pesquisa não terá nenhum custo adicional. Todos os gastos relacionados à realização deste estudo (materiais para a coleta da placa bacteriana, análise clínica e análises microbiológicas) serão custeados por nós pesquisadores.

Os riscos e desconfortos em participar deste estudo são mínimos, como exemplo, a possibilidade de ferir o céu da boca caso realize uma escovação muito forte. Porém, se você sentir algum desconforto diante da utilização dos produtos oferecidos, você poderá interromper a qualquer momento a utilização dos mesmos e o possível efeito será avaliado pelos pesquisadores. Como benefício, o tratamento da estomatite e higienização das dentaduras irão lhe proporcionar mais saúde e alívio dos sintomas relacionados a Estomatite. Além disso, você fará uma avaliação completa sobre a saúde do seu coração, pelos exames que serão realizados.

Todos os exames serão realizados em dias e horários de acordo com sua disponibilidade ou nos dias que você vier à clínica da FORP para tratamento. Caso necessário, seus custos com o deslocamento serão ressarcidos.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Você terá acompanhamento e assistência dos pesquisadores durante toda a realização do estudo, inclusive no caso de necessidade de interrupção da pesquisa, e também garantia de indenização diante de eventuais danos recorrentes da pesquisa.

Todos os dados relacionados com você serão confidenciais e sua identidade será mantida em sigilo. A divulgação dos resultados será realizada, preservando a sua identidade, pois não serão publicados nomes e/ou documentos dos participantes em reuniões científicas ou artigos a serem publicados. As fotografias necessárias serão apenas da cavidade oral e da prótese total superior, garantindo a preservação da sua identidade. Os dados obtidos serão exclusivos desta pesquisa, e caso possam ser utilizados em outra pesquisa, você será novamente comunicado.

A sua participação não é obrigatória, e você poderá desistir a qualquer momento, retirando o seu consentimento. A não participação neste projeto de pesquisa não trará prejuízo algum em sua relação com os pesquisadores ou com a Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, caso esteja em tratamento.

Você receberá uma via deste termo, com o e-mail e telefone dos pesquisadores e da secretária do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FORP/USP. Caso tenha alguma dúvida você poderá entrar em contato.

Você pode entrar em contato com a Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP (Designado pelo CONEP para acompanhamento ético desta pesquisa), caso necessite de algum esclarecimento ou reclamação. Telefone: (16) 3315-0493, e-mail: cep@forp.usp.br e horário de atendimento: das 8h às 12h, de segunda a sexta-feira (exceto feriados e pontos facultativos). Você deverá se identificar, porém a sua identidade será mantida em sigilo.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 20 ____.

Cláudia Helena Lovato da Silva

Prof.ª Dr.ª Cláudia Helena Lovato da Silva
 Telefones para contato: (16) 3315-4006
 E-mail: chl@forp.usp.br

Caroline Vieira Fortes

Pós-graduanda Caroline Vieira Fortes
 Telefones para contato: (16) 3315-4800
 E-mail: cvieirafortes@gmail.com

Adriana Barbosa Ribeiro

Profa. Dra. Adriana Barbosa Ribeiro
 Telefones para contato: (16) 3315-4800
 E-mail: adrianabarbosa84@bol.com.br

Lorena Mosconi Clemente

Pós-graduanda Lorena Mosconi Clemente
 Telefones para contato: (16) 3315-4800
 E-mail: lmosconiclemente@gmail.com

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

 Participante da pesquisa

RG: _____

Telefone: (____) _____

Endereço: _____

APÊNDICE B - Ficha de anamnese e de exame clínico dos pacientes.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional.

RIBEIRÃO PRETO

2021/2022

Ficha de Anamnese

Data: ____ / ____ / ____

Código de identificação: _____

Nome: _____

INFORMAÇÕES SOCIODEMOGRÁFICAS

1. Idade: _____ anos.

2. Sexo: Feminino Masculino

3. Qual é o seu status de relacionamento:

- Solteiro (a) – Nunca casou Separado (a)
 Casado (a) / Relacionamento estável Viúvo (a)
 Divorciado (a) Outro: _____

4. Com quem você vive?

- Sozinho Com outros adultos Com a família

5. Qual o seu nível de escolaridade?

- Analfabeto Ensino Médio
 Ensino infantil (primário) E Ensino Superior
 Ensino fundamental

6. Qual a renda mensal do seu lar?

- 1 a 3 salários mínimos 15 a 20 salários mínimos
 4 a 7 salários mínimos Acima de 20 salários mínimos
 7 a 10 salários mínimos

ESTILO DE VIDA

1. Você já fumou um total de 100 cigarros durante a sua vida?

- Sim Não

2. Quantos anos você tinha quando começou a fumar regularmente?

R: _____ anos.

3. Você ainda fuma cigarros regularmente?

Sim Não

4. Se não, quantos anos você tinha quando parou de fumar?

R: _____ anos.

5. Você ingere bebidas alcoólicas?

Nunca
 Já ingeri, mas atualmente não
 Sim

HISTÓRIA MÉDICA

1. Você diria que, em geral, sua saúde é:

Excelente Boa Ruim
 Muito boa Razoável

2. Exame de saúde.

Verifique quais das doenças abaixo você já teve e há quanto tempo.

| DOENÇA | SIM | NÃO | TEMPO |
|--|-----|-----|-------|
| Câncer (Tipo: _____) | | | |
| Anemia | | | |
| Problema de coagulação | | | |
| Oligoptyalism (decrease in the production of saliva) | | | |
| Diabetes | | | |
| Problema na Tireóide | | | |
| Neutropenia | | | |
| Hipoparatiroidismo | | | |
| Doença de Addison | | | |
| Depressão | | | |
| Hepatite (A, B ou C) | | | |
| Infecção por HIV | | | |
| AIDS | | | |
| Outros: _____ | | | |

3. Por favor, verifique se você está atualmente tomando algum destes medicamentos:

| Medicamento | SIM | NÃO | TEMPO |
|---|-----|-----|-------|
| Antibiótico (Amoxicilina, Clindamicina, Eritromicina) | | | |
| Corticosteroides (Prednisona, Betametasona,) | | | |
| Analgésicos / Anti-inflamatórios não esteróides | | | |
| Antifúngicos (Nistatina, Fluconazol) | | | |
| Psicotropos (Clorpromazina, carbonato de lítio) | | | |
| Laxantes | | | |
| Antialérgicos (Loratadina) | | | |
| Drogas anti-hipertensivas (Losartana) | | | |
| Anti-coagulantes (Eparina, ASS, Warfarina) | | | |
| Terapia hormonal (Estrógeno) | | | |
| Imunossuppressores (Metotrexato, Azatioprina) | | | |
| Anti-epiléticos (Carbamazepina, Fenitoína) | | | |
| Anticolinérgicos (Biperideno, prociclidina) | | | |
| Outros: _____ | | | |

4. Você já fez quimioterapia ou radioterapia para tratar um câncer ou um tumor?

Sim Não

Se sim, desde quando? _____

HISTÓRIA DENTAL

Você está enfrentando um ou mais dos seguintes problemas?

1. Ardência no palato:

Não Sim

2. Queimação na língua:

Não Sim

3. Dor suave:

Não Sim

4. Halitose:

Não Sim

5. Boca seca:

Não Sim

PRÓTESES TOTAIS

1. Por quantos anos você é desdentado? _____ anos.

2. Qual a idade da(s) sua(s) prótese(s) atual (is)?

Prótese superior: _____ anos.

Prótese inferior: _____ anos.

HIGIENE ORAL E DAS PRÓTESES

1. Quantas vezes por dia ou por semana você limpa sua prótese?

_____ vezes por dia

_____ vezes por semana

2. Como você limpa sua prótese? (1 ou mais respostas)

Lavo apenas, sem escovar

Outro (especificar):

Escovo sem pasta

Escovo com pasta

—

Uso um higienizador de dentadura

3. Você usa enxaguatório bucal?

Sim Não

4. Você remove suas dentaduras à noite?

Prótese superior: Sim Não Às vezes

Prótese inferior: Sim Não Às vezes

5. Se sim, onde você guarda suas próteses?

Secas a céu aberto

Molhadas ao ar livre

Em um recipiente cheio apenas de água

Em um recipiente de água com um agente de limpeza (efervescente)

Outro (especificar): _____



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação de fatores de risco para estomatite relacionada à Prótese e de biomarcadores locais e sistêmicos de inflamação – estudo transversal observacional.

RIBEIRÃO PRETO

2021/2022

Avaliação Clínica

Data: ____ / ____ / ____

Código de identificação: _____

AVALIAÇÃO CLÍNICA

1. Outras condições

Queilite angular

Outra(s): _____

2. Saliva

Hipossalivação (<0,1 mL)

Baixo Fluxo (0,1-0,24 mL)

Normal (>0,25 mL)

CLASSIFICAÇÃO DOS TECIDOS DE SUPORTE

1. Formato do palato duro

Raso (1)

Em forma de V (3)

Profundo (2)

Em forma de U (4)

2. Formato do rebordo residual maxilar

Flácido (1)

Formato entre U e V (3)

Formato de V (2)

Formato de U (4)

3. Formato do rebordo residual mandibular

Flácido (1)

Formato entre U e V (3)

Formato de V (2)

Formato de U (4)

4. Resiliência do tecido mucoso do rebordo residual maxilar

Tecido flácido (1)

Tecido resiliente (2)

Tecido firme (3)

5. Resiliência do tecido mucoso do rebordo residual mandibular

Tecido flácido (1)

Tecido resiliente (2)

Tecido firme (3)

6. Inserção dos tecidos periféricos maxilares

 Baixa (1) Média (2) Alta (3)

7. Inserção dos tecidos periféricos mandibulares

 Baixa (1) Média (2) Alta (3)

Escala de pontos segundo a classificação de Kapur

| Arco | Categorias | Pontos |
|----------------|----------------------------------|--------|
| Superior | Formato do rebordo residual | |
| | Resiliência do tecido mucoso | |
| | Inserção dos tecidos periféricos | |
| Inferior | Formato do rebordo residual | |
| | Resiliência do tecido mucoso | |
| | Inserção dos tecidos periféricos | |
| Soma | | |
| Classificação* | | |

Classificação de Kapur

Mau: <14

Satisfatório: 14 a 17

Bom: >17

AVALIAÇÃO DAS PRÓTESES

1. Higiene das próteses

 Sem biofilme Biofilme visível ao raspar a superfície com instrumento rombo Acúmulo de biofilme moderado Acúmulo abundante de biofilme

2. Retenção das próteses maxilares

 Sem retenção / retenção mínima Boa retenção Ótima retenção

3. Retenção das próteses mandibulares

- Sem retenção / retenção mínima
- Boa retenção
- Ótima Retenção

4. Estabilidade das próteses maxilares

- Sem estabilidade
- Alguma estabilidade
- Estabilidade suficiente

5. Estabilidade das próteses mandibulares

- Sem estabilidade
- Alguma estabilidade
- Estabilidade suficiente

APÊNDICE C

Tabela C. Resultados das características Sociodemográficas dos participantes.

| <i>Idade</i> | <i>Sexo</i> | <i>Relacionamento</i> | <i>Convívio</i> | <i>Escolaridade</i> | <i>Renda</i> |
|--------------|-------------|-----------------------|-----------------|---------------------|--------------|
| 70 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 72 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 56 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 57 | 1 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 67 | 0 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 62 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 70 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| 62 | 1 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 75 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 62 | 1 | 5 | 3 | 3 | 1 |
| 76 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 65 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 57 | 0 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 59 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 52 | 1 | 1 | 3 | 3 | 1 |
| 70 | 1 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 66 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 67 | 0 | 4 | 1 | 3 | 1 |
| 68 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 67 | 1 | 3 | 1 | 3 | 1 |
| 73 | 0 | 4 | 3 | 5 | 1 |
| 71 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 75 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 61 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 75 | 1 | 2 | 3 | 5 | 2 |
| 57 | 0 | 2 | 3 | 5 | 1 |
| 71 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 52 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 74 | 1 | 5 | 1 | 3 | 1 |
| 73 | 0 | 2 | 3 | 3 | 2 |
| 65 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 75 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 70 | 0 | 2 | 3 | 5 | 1 |
| 65 | 0 | 4 | 1 | 3 | 1 |
| 76 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 75 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 75 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 77 | 1 | 5 | 1 | 3 | 1 |
| 77 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 77 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 75 | 0 | 3 | 3 | 4 | 1 |
| 69 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| 74 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 |
| 69 | 1 | 1 | 3 | 2 | 1 |
| 74 | 0 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 66 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 82 | 1 | 5 | 3 | 3 | 1 |
| 64 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 63 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 63 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |

| | | | | | |
|----|---|---|---|---|---|
| 66 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 51 | 1 | 3 | 3 | 4 | 1 |
| 73 | 1 | 5 | 3 | 5 | 1 |
| 69 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 65 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 76 | 1 | 5 | 3 | 3 | 1 |
| 70 | 1 | 5 | 3 | 2 | 1 |
| 65 | 1 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| 65 | 0 | 3 | 1 | 4 | 1 |
| 75 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 68 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 64 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 65 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 72 | 0 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 65 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| 63 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 67 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 66 | 0 | 3 | 3 | 2 | 1 |
| 63 | 1 | 5 | 1 | 3 | 1 |
| 73 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 65 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 62 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| 63 | 1 | 5 | 1 | 3 | 1 |
| 62 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |
| 63 | 1 | 5 | 3 | 3 | 1 |
| 68 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 |

Idade: Número absoluto;

Sexo: 0= homem, 1= mulher;

Relacionamento: 1= solteiro (a), 2= casado (a)/Relacionamento estável, 3= Divorciado (a), 4= Separado (a), 5= Viúvo (a);

Convívio: 1= Sozinho (a), 2= Reside com outros adultos, 3= Reside com a família;

Escolaridade: 1 = Analfabeto, 2= Ensino Infantil, 3= Ensino Fundamental, 4= Ensino Médio, 5= Ensino Superior.

Renda: 1= 1 a 3 salários mínimos, 2= 4 a 7 salários mínimos, 3= 7 a 10 salários mínimos, 4= 15 a 20 salários mínimos, 5= Acima de 20 salários mínimos.

APÊNCIDE D

Tabela D. Resultados das características comportamentais dos participantes.

| <i>Métodos de Higieneização</i> | <i>Remoção Noturna</i> | <i>Hábito de Fumar</i> | <i>Bebidas Alcoólicas</i> | <i>Frequência de Higieneização</i> |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| 1 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 1 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 1 | 2 | 2 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 2 | 2 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 4 |
| 1 | 2 | 0 | 0 | 4 |
| 1 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 2 | 0 | 2 | 2 |
| 1 | 2 | 2 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 2 | 2 | 4 |
| 1 | | 0 | 0 | |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 2 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 4 |
| 1 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 4 |
| 1 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 1 | 0 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| 1 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 1 | 0 | 2 | 4 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 2 | 2 | 0 | 2 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| 2 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 1 | 2 | 0 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 2 | 2 | 0 | 3 |
| 1 | 2 | 1 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 2 | 1 | 0 | 3 |
| 1 | 0 | 2 | 2 | 4 |
| 1 | 0 | 2 | 0 | 5 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 1 | 0 | 2 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 2 | 0 | 3 |
| 1 | 1 | 1 | 2 | 4 |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 1 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| 1 | 0 | 2 | 1 | 4 |
| 1 | 0 | 2 | 2 | 4 |
| 1 | 2 | 0 | 2 | 3 |

Métodos de Higienização: 0 = Químico, 1 = Mecânico, 2 = Associado;

Remoção Noturna: 0 = Não, 1 = Às Vezes, 2 = Sim;

Hábito de Fumar: 0= Não fumante, 1= Ex-fumante, 2= Fumante;

Ingestão de bebidas alcoólicas: 0= Nunca ingeriu bebidas alcoólicas, 1= Já ingeriu, mas atualmente não ingere mais, 2= Ingere bebidas alcoólicas regularmente.

Frequência de Higienização: Número absoluto da quantidade que foi realizada a higienização das próteses totais

| | | | | | | | | | | | |
|---|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0,30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0,50 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 4 |
| 0 | 1,25 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 4 |
| 0 | 0,80 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 6 |
| 0 | 0,50 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0 | 0,70 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0,45 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| 0 | 0,50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 |
| 0 | 0,06 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 6 |
| 0 | 1,50 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 5 |
| 1 | 0,70 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 1 | 0,50 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0 | 0,33 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0,30 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0 | 0,50 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 0 | 0,30 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 8 |
| 0 | 0,25 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0 | 0,90 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 0 | 0,25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 0 | 0,75 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| 1 | 0,50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Ardência: 0 = Não, 1 = Sim;

Fluxo Salivar: Volume coletado em mL durante 10 minutos (mL/minuto);

Anti-Hipertensivo: Quantidade de medicamentos por classe;

Antidiabéticos: Quantidade de medicamentos por classe;

Antidepressivo: Quantidade de medicamentos por classe;

Hormônios: Quantidade de medicamentos por classe;

Anticoagulantes: Quantidade de medicamentos por classe;

Inibidores da bomba de prótons (Omeprazol): Quantidade de medicamentos por classe;

Estatinas (Colesterol): Quantidade de medicamentos por classe;

Medicamentos Vasodiladores/Venotônicos: Quantidade de medicamentos por classe;

Total: Quantidade total de medicamentos utilizados por paciente.

APÊNDICE F

Tabela F. Resultados das características clínicas dos participantes.

| <i>A</i> | <i>B</i> | <i>C</i> | <i>D</i> | <i>E</i> | <i>F</i> | <i>G</i> | <i>H</i> | <i>I</i> | <i>J</i> | <i>K</i> | <i>L</i> | <i>M</i> | <i>N</i> |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0 | 45 | 5 | 5 | 3 | 4 | 3 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 0 | 51 | 5 | 5 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 |
| 3 | 23 | 23 | | 3 | 4 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | 39 | 1 | 1 | 4 | 4 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 12 | 6 | | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 2 | 40 | 40 | | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| 0 | 51 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 40 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 35 | 3 | 3 | 3 | 4 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 2 | 20 | 20 | 20 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| 2 | 20 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 |
| 0 | 48 | 10 | | 3 | 4 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| 1 | 8 | 8 | 8 | 4 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| 2 | 20 | 10 | 10 | 3 | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | | | | 3 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| 0 | 16 | 3 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 3 | 19 | 14 | 19 | 4 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 15 | 7 | 7 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 2 | 23 | 10 | 10 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 0 | 50 | 7 | 7 | 3 | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 0 | 10 | 10 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 0 | 16 | 7 | 7 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 1 | 54 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 0 | 4 | 4 | 4 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 46 | 1 | 1 | 3 | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 30 | 25 | 25 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 3 | 50 | 50 | | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 55 | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 30 | 6 | 6 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | 30 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 45 | 25 | 25 | 3 | 4 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 |
| 1 | 40 | 40 | | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 51 | 20 | 20 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 3 | 25 | 25 | 25 | 3 | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 2 | 42 | 30 | 42 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 1 | 40 | 10 | | 4 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 3 | 56 | 56 | | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 30 | 20 | 20 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 46 | 6 | 6 | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 2 | 40 | 2 | | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 45 | 20 | 20 | 4 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 20 | 10 | 10 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | 22 | 6 | 6 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|----|----|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 34 | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 43 | 8 | 8 | 3 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 40 | 28 | 28 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 1 | 14 | 8 | 8 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | 45 | 45 | 45 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 3 | 2 |
| 2 | 29 | 15 | 15 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 0 | 54 | 6 | 6 | 3 | 4 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 40 | 10 | 10 | 4 | 4 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 15 | 15 | | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 2 | 46 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 0 | 15 | 15 | 15 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 3 | 15 | 11 | 11 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 |
| 1 | 10 | 10 | | 3 | 4 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 35 | 4 | 4 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 2 | 8 | 8 | 8 | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| 3 | 46 | 46 | 46 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 3 | 20 | 16 | 16 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 0 | 40 | 30 | | 4 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 3 | 9 | 9 | | 4 | 4 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 | 3 | 2 | 2 |
| 1 | 28 | 5 | 10 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | 38 | 13 | | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 1 | 6 | 6 | | 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 24 | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| 1 | 43 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 43 | 3 | | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 1 |
| 1 | 20 | 2 | | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 |
| 2 | 39 | 8 | 8 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| 3 | 18 | 1 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 2 | 23 | 10 | 10 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 0 | 46 | 2 | 2 | 3 | 4 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 3 | 2 | 2 |

A) Presença de biofilme: 0=Sem biofilme, 1=Biofilme visível ao raspar a superfície com instrumento rombo, 2=Acúmulo de biofilme moderado, 3=Acúmulo abundante de biofilme;

B) Tempo de edentulismo: em anos;

C) Idade das próteses totais superiores: em anos;

D) Idade das próteses totais inferiores: em anos;

E) Formato do residual maxilar: 1= Flácido, 2= Formato de V, 3= Formato entre U e V, 4= Formato em U;

F) Formato do residual mandibular: 1= Flácido, 2= Formato de V, 3= Formato entre U e V, 4= Formato em U;

G) Resiliência tecidual maxilar: 1= Tecido Flácido, 2= Tecido Resiliente, 3= Tecido Firme;

H) Resiliência tecidual mandibular: 1= Tecido Flácido, 2= Tecido Resiliente, 3= Tecido Firme;

I) Inserção de tecidos periféricos maxilares: 1= Baixa, 2= Média, 3= Alta;

J) Inserção de tecidos periféricos mandibulares: 1= Baixa, 2= Média, 3= Alta;

K) Índice de Kapur (Rebordo Alveolar): 0= Rebordos reabsorvidos/deficientes com soma dos escores < 14, 1=Rebordos satisfatórios com soma dos escores entre 14 e 17, 2= Rebordos bons com soma dos escores > 17;

L) Retenção das Próteses Maxilares: 0= Sem retenção, 1= Retenção Mínima, 2= Retenção moderada, 3=Boa retenção,

M) Estabilidade das Prótese Maxilares: 0= Sem estabilidade, 1= Alguma estabilidade, 2= Estabilidade suficiente,

N) Índice de Kapur (Retenção e estabilidade das próteses totais superiores): 0= pobres com soma dos escores < 3, 1= satisfatórias com soma dos escores 3 e 4, 2= boas com soma dos escores > 4.

APÊNDICE G - Resultados da contagem das unidades formadoras de colônias (UFCLog10).

Tabela G1. Contagem das Unidades Formadoras de Colônias em Log10 (UFCLog10) de *Candida* spp., *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis* isolados do palato e da prótese nos participantes.

| N | Escore da Inflamação | <i>Candida</i> spp. | | <i>C. albicans</i> | | <i>C. glabrata</i> | | <i>C. tropicalis</i> | |
|----|-------------------------|---------------------|---------|--------------------|---------|--------------------|---------|----------------------|---------|
| | | Palato | Prótese | Palato | Prótese | Palato | Prótese | Palato | Prótese |
| 1 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 0 | 2,51 | 5,13 | 0,00 | 2,30 | 2,72 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3 | 0 | 0,00 | 5,23 | 0,00 | 4,91 | 0,00 | 3,94 | 0,00 | 0,00 |
| 4 | 0 | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 6 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 7 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 8 | 0 | 0,00 | 3,00 | 0,00 | 3,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 9 | 0 | 1,90 | 4,24 | 1,90 | 4,24 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 10 | 0 | 1,60 | 5,43 | 1,60 | 6,02 | 0,00 | 5,59 | 0,00 | 0,00 |
| 11 | 0 | 0,00 | 4,16 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 4,16 | 0,00 | 0,00 |
| 12 | 0 | 0,00 | 5,40 | 0,00 | 3,40 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 13 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 14 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 15 | 0 | 0,00 | 4,15 | 0,00 | 4,15 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 16 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 17 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 18 | 0 | 0,00 | 3,81 | 0,00 | 3,81 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 19 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 20 | 0 | 0,00 | 6,13 | 0,00 | 6,09 | 0,00 | 5,08 | 0,00 | 0,00 |
| 21 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 22 | 0 | 0,00 | 2,60 | 0,00 | 2,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 23 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 24 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 25 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 26 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 27 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 28 | 1 | 0,00 | 4,60 | 0,00 | 4,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 29 | 1 | 0,00 | 3,11 | 0,00 | 3,11 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 30 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 31 | 1 | 2,08 | 6,16 | 0,00 | 6,16 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 32 | 1 | 0,00 | 4,38 | 0,00 | 4,38 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 33 | 1 | 0,00 | 1,60 | 0,00 | 1,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 34 | 1 | 0,00 | 4,72 | 0,00 | 4,72 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 35 | 1 | 0,00 | 4,31 | 0,00 | 4,30 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,83 |
| 36 | 1 | 0,00 | 5,78 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,78 | 0,00 | 0,00 |
| 37 | 1 | 1,90 | 5,92 | 1,90 | 5,92 | 0,00 | 5,09 | 0,00 | 0,00 |
| 38 | 1 | 0,00 | 5,62 | 0,00 | 5,62 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 39 | 1 | 0,00 | 5,85 | 0,00 | 4,85 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 40 | 1 | 4,60 | 5,07 | 0,00 | 4,27 | 1,60 | 4,99 | 0,00 | 0,00 |
| 41 | 1 | 3,93 | 6,84 | 1,90 | 6,26 | 3,49 | 6,48 | 3,73 | 0,00 |
| 42 | 1 | 1,60 | 5,05 | 0,00 | 5,01 | 0,00 | 3,98 | 0,00 | 0,00 |
| 43 | 1 | 2,60 | 4,04 | 1,60 | 0,00 | 2,60 | 4,04 | 0,00 | 0,00 |

| | | | | | | | | | |
|----|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 44 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 45 | 1 | 0,00 | 5,13 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,13 | 0,00 | 0,00 |
| 46 | 1 | 0,00 | 4,36 | 0,00 | 4,36 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 47 | 1 | 0,00 | 3,68 | 0,00 | 3,68 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 48 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 49 | 1 | 0,00 | 5,89 | 0,00 | 5,77 | 0,00 | 5,26 | 0,00 | 0,00 |
| 50 | 1 | 1,60 | 0,00 | 1,60 | 0,00 | 0,00 | 4,09 | 0,00 | 0,00 |
| 51 | 1 | 0,00 | 4,05 | 0,00 | 3,72 | 0,00 | 3,88 | 0,00 | 3,49 |
| 52 | 2 | 4,39 | 3,67 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,35 | 4,39 | 3,39 |
| 53 | 2 | 0,00 | 5,30 | 0,00 | 4,67 | 0,00 | 5,19 | 0,00 | 0,00 |
| 54 | 2 | 3,37 | 4,83 | 3,37 | 0,00 | 0,00 | 4,83 | 0,00 | 0,00 |
| 55 | 2 | 2,90 | 3,45 | 2,20 | 6,02 | 2,30 | 6,18 | 2,64 | 5,45 |
| 56 | 2 | 2,68 | 1,90 | 2,68 | 1,90 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 57 | 2 | 0,00 | 4,27 | 0,00 | 4,27 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 58 | 2 | 0,00 | 5,34 | 0,00 | 5,34 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 59 | 2 | 2,60 | 4,91 | 2,60 | 4,91 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 60 | 2 | 1,60 | 5,74 | 1,60 | 3,74 | 0,00 | 3,31 | 0,00 | 0,00 |
| 61 | 2 | 1,60 | 5,74 | 1,60 | 3,74 | 0,00 | 3,31 | 0,00 | 0,00 |
| 62 | 2 | 2,86 | 5,81 | 0,00 | 5,74 | 2,86 | 5,03 | 0,00 | 0,00 |
| 63 | 2 | 2,45 | 5,81 | 2,45 | 5,81 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 64 | 2 | 0,00 | 2,64 | 0,00 | 5,72 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 65 | 2 | 0,00 | 6,33 | 0,00 | 6,33 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 66 | 2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 67 | 2 | 3,57 | 5,03 | 0,00 | 1,60 | 3,57 | 5,03 | 0,00 | 0,00 |
| 68 | 2 | 2,83 | 5,96 | 0,00 | 0,00 | 2,78 | 3,26 | 2,68 | 3,86 |
| 69 | 2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 70 | 2 | 0,00 | 3,23 | 0,00 | 3,23 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 71 | 2 | 0,00 | 4,47 | 0,00 | 3,47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 72 | 2 | 0,00 | 5,78 | 0,00 | 5,77 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,60 |
| 73 | 2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 74 | 2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 75 | 2 | 0,00 | 4,27 | 0,00 | 5,30 | 0,00 | 0,00 | 2,30 | 3,76 |
| 76 | 2 | 2,30 | 3,76 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,30 | 3,76 |

Tabela G2. Contagem das Unidades Formadoras de Colônias em Log10 (UFCLog10) de *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas spp.* e enterobactérias isolados do palato e prótese dos participantes.

| N | Escore da Inflamação | <i>Staphylococcus spp.</i> | | <i>S. mutans</i> | | <i>Pseudomonas spp.</i> | | Enterobactérias | |
|----|-------------------------|----------------------------|---------|------------------|---------|-------------------------|---------|-----------------|---------|
| | | Palato | Prótese | Palato | Prótese | Palato | Prótese | Palato | Prótese |
| 1 | 0 | 2,68 | 2,45 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 2 | 0 | 1,60 | 2,51 | 1,90 | 1,90 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3 | 0 | 1,60 | 0,00 | 0,00 | 5,59 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 4 | 0 | 2,51 | 3,19 | 0,00 | 2,38 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5 | 0 | 1,90 | 2,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 6 | 0 | 2,68 | 3,54 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 7 | 0 | 1,60 | 2,38 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 8 | 0 | 2,68 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 9 | 0 | 0,00 | 1,90 | 3,72 | 5,53 | 0,00 | 0,90 | 0,00 | 2,72 |
| 10 | 0 | 0,00 | 2,45 | 3,58 | 6,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,60 |
| 11 | 0 | 0,00 | 1,90 | 2,96 | 6,44 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,90 |
| 12 | 0 | 0,00 | 1,60 | 3,48 | 8,08 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,96 |
| 13 | 0 | 2,86 | 2,83 | 2,64 | 6,09 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 14 | 0 | 3,77 | 3,47 | 0,00 | 0,00 | 3,33 | 3,70 | 3,60 | 5,61 |
| 15 | 0 | 2,51 | 1,90 | 4,32 | 6,94 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 16 | 0 | 2,98 | 2,20 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,60 | 5,59 |
| 17 | 0 | 2,72 | 3,17 | 0,00 | 2,20 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 18 | 0 | 2,38 | 2,30 | 2,68 | 5,57 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 19 | 0 | 2,94 | 3,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 20 | 0 | 2,30 | 3,26 | 2,86 | 3,33 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 21 | 0 | 2,75 | 3,81 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 22 | 0 | 2,60 | 2,56 | 1,60 | 0,00 | 0,00 | 1,08 | 0,00 | 0,00 |
| 23 | 0 | 1,90 | 1,60 | 3,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 24 | 0 | 0,00 | 2,88 | 3,09 | 7,21 | 0,00 | 0,00 | 1,90 | 0,00 |
| 25 | 0 | 2,08 | 2,30 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 26 | 0 | 2,45 | 3,08 | 0,00 | 0,00 | 2,08 | 2,61 | 4,28 | 7,04 |
| 27 | 0 | 2,20 | 3,35 | 3,49 | 6,19 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,60 |
| 28 | 1 | 3,60 | 2,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 29 | 1 | 1,60 | 1,60 | 0,00 | 3,39 | 0,00 | 0,00 | 3,60 | 0,00 |
| 30 | 1 | 2,94 | 2,20 | 3,88 | 5,90 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 31 | 1 | 1,60 | 2,20 | 3,41 | 6,63 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 32 | 1 | 2,20 | 0,00 | 2,30 | 6,34 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 33 | 1 | 2,78 | 2,51 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,00 | 0,00 |
| 34 | 1 | 2,38 | 2,81 | 2,38 | 5,08 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 35 | 1 | 1,90 | 3,24 | 1,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 36 | 1 | 3,60 | 0,00 | 3,63 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 37 | 1 | 2,68 | 3,82 | 0,00 | 0,00 | 2,78 | 3,83 | 3,24 | 6,71 |
| 38 | 1 | 2,86 | 1,60 | 0,00 | 3,90 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 39 | 1 | 2,08 | 2,30 | 0,00 | 2,51 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 40 | 1 | 3,51 | 2,64 | 4,07 | 6,88 | 0,00 | 1,60 | 0,00 | 1,60 |
| 41 | 1 | 0,00 | 3,61 | 4,85 | 7,68 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2,20 |
| 42 | 1 | 2,20 | 3,00 | 2,51 | 5,65 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 43 | 1 | 2,78 | 3,13 | 0,00 | 3,27 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 44 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,60 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 45 | 1 | 0,00 | 2,56 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabela G3. Somatória da contagem das Unidades Formadoras de Colônias em Log10 (UFCLog10) dos microrganismos isolados do palato e da prótese dos participantes.

| <i>N</i> | <i>Score da Inflamação</i> | <i>UFCLog10</i> |
|----------|----------------------------|-----------------|
| 1 | 0 | 7,04 |
| 2 | 0 | 2,88 |
| 3 | 0 | 5,13 |
| 4 | 0 | 5,75 |
| 5 | 0 | 4,08 |
| 6 | 0 | 2,68 |
| 7 | 0 | 3,60 |
| 8 | 0 | 2,45 |
| 9 | 0 | 3,17 |
| 10 | 0 | 5,56 |
| 11 | 0 | 6,72 |
| 12 | 0 | 6,44 |
| 13 | 0 | 8,09 |
| 14 | 0 | 6,09 |
| 15 | 0 | 5,63 |
| 16 | 0 | 6,95 |
| 17 | 0 | 5,59 |
| 18 | 0 | 3,33 |
| 19 | 0 | 5,58 |
| 20 | 0 | 3,27 |
| 21 | 0 | 6,14 |
| 22 | 0 | 3,85 |
| 23 | 0 | 3,08 |
| 24 | 0 | 3,61 |
| 25 | 0 | 7,21 |
| 26 | 0 | 2,51 |
| 27 | 0 | 6,19 |
| 28 | 1 | 5,78 |
| 29 | 1 | 5,63 |
| 30 | 1 | 5,18 |
| 31 | 1 | 6,78 |
| 32 | 1 | 4,65 |
| 33 | 1 | 5,96 |
| 34 | 1 | 3,89 |
| 35 | 1 | 5,86 |
| 36 | 1 | 1,60 |
| 37 | 1 | 5,13 |
| 38 | 1 | 4,47 |
| 39 | 1 | 5,58 |
| 40 | 1 | 4,49 |
| 41 | 1 | 6,89 |
| 42 | 1 | 7,74 |
| 43 | 1 | 6,84 |
| 44 | 1 | 5,75 |
| 45 | 1 | 4,18 |
| 46 | 1 | 4,93 |

| | | |
|----|---|------|
| 47 | 1 | 5,91 |
| 48 | 1 | 5,47 |
| 49 | 1 | 6,02 |
| 50 | 1 | 3,72 |
| 51 | 1 | 3,90 |
| 52 | 2 | 5,75 |
| 53 | 2 | 5,87 |
| 54 | 2 | 6,75 |
| 55 | 2 | 6,35 |
| 56 | 2 | 5,61 |
| 57 | 2 | 3,29 |
| 58 | 2 | 5,24 |
| 59 | 2 | 3,74 |
| 60 | 2 | 2,38 |
| 61 | 2 | 6,31 |
| 62 | 2 | 5,83 |
| 63 | 2 | 5,87 |
| 64 | 2 | 6,32 |
| 65 | 2 | 3,19 |
| 66 | 2 | 7,16 |
| 67 | 2 | 6,81 |
| 68 | 2 | 6,34 |
| 69 | 2 | 7,13 |
| 70 | 2 | 6,77 |
| 71 | 2 | 4,16 |
| 72 | 2 | 6,48 |
| 73 | 2 | 3,81 |
| 74 | 2 | 4,35 |
| 75 | 2 | 5,23 |
| 76 | 2 | 3,56 |

APÊNDICE H - Concentração de citocinas inflamatórias em [pg/mL] dos participantes.**Tabela H1.** Concentração das citocinas inflamatórias em [pg/mL] da saliva.

| <i>N</i> | <i>Score da Inflamação</i> | IL-2 | IL-4 | IL-6 | IL-10 | TNF-α | IFN-γ | IL-17 |
|----------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------|
| 1 | 0 | 9,61 | 0,00 | 40,57 | 1,71 | 8,96 | 12,57 | 23,61 |
| 2 | 0 | 0,91 | 0,00 | 58,05 | 0,00 | 12,54 | 0,00 | 8,08 |
| 3 | 0 | 6,18 | 1,98 | 0,00 | 0,44 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 4 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,38 | 0,96 | 0,00 |
| 5 | 0 | 98,02 | 57,79 | 166,50 | 76,57 | 92,46 | 111,21 | 231,55 |
| 6 | 0 | 0,00 | 0,00 | 14,79 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 8,32 |
| 7 | 0 | 0,00 | 0,93 | 2,31 | 0,00 | 2,35 | 0,00 | 8,81 |
| 8 | 0 | 4,41 | 0,98 | 12,16 | 0,00 | 0,84 | 0,00 | 0,00 |
| 9 | 0 | 2,99 | 0,00 | 15,07 | 0,80 | 1,16 | 0,00 | 0,00 |
| 10 | 0 | 11,81 | 6,20 | 63,74 | 4,05 | 14,99 | 16,98 | 0,00 |
| 11 | 0 | 47,68 | 22,97 | 48,43 | 26,76 | 18,04 | 37,65 | 62,81 |
| 12 | 0 | 0,00 | 0,00 | 7,45 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 13 | 0 | 1,22 | 0,00 | 27,41 | 1,28 | 2,41 | 3,25 | 0,00 |
| 14 | 0 | 0,00 | 0,00 | 41,63 | 0,00 | 82,57 | 0,00 | 0,00 |
| 15 | 0 | 0,00 | 0,00 | 11,66 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 16 | 0 | 0,00 | 0,00 | 152,35 | 0,00 | 25,02 | 5,96 | 0,00 |
| 17 | 0 | 8,19 | 1,59 | 9,34 | 0,00 | 1,81 | 7,42 | 6,44 |
| 18 | 0 | 63,53 | 17,68 | 70,65 | 8,44 | 32,93 | 34,94 | 55,16 |
| 19 | 0 | 0,00 | 0,00 | 26,02 | 0,00 | 0,00 | 2,93 | 0,00 |
| 20 | 0 | 34,35 | 12,33 | 38,50 | 17,19 | 38,25 | 19,22 | 31,04 |
| 21 | 0 | 3,13 | 0,00 | 19,61 | 1,49 | 14,39 | 2,93 | 20,00 |
| 22 | 0 | 0,62 | 0,00 | 4,51 | 0,00 | 8,68 | 0,00 | 0,00 |
| 23 | 0 | 0,53 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 24 | 0 | 15,01 | 1,28 | 20,93 | 3,98 | 71,35 | 5,02 | 6,44 |
| 25 | 0 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 26 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 27 | 0 | 0,00 | 0,00 | 20,26 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 28 | 1 | 29,87 | 13,72 | 70,65 | 9,40 | 25,33 | 11,39 | 33,71 |
| 29 | 1 | 0,00 | 0,00 | 28,01 | 0,00 | 0,00 | 4,77 | 0,00 |
| 30 | 1 | 2,12 | 0,00 | 25,64 | 0,00 | 0,00 | 1,35 | 0,00 |
| 31 | 1 | 0,00 | 4,78 | 58,05 | 2,43 | 10,40 | 14,03 | 0,00 |
| 32 | 1 | 0,00 | 0,00 | 106,70 | 0,00 | 76,77 | 0,00 | 0,00 |
| 33 | 1 | 0,35 | 0,00 | 111,25 | 1,03 | 8,68 | 0,00 | 0,00 |
| 34 | 1 | 13,98 | 0,00 | 371,62 | 32,38 | 36,96 | 11,01 | 16,97 |
| 35 | 1 | 0,00 | 0,00 | 10,70 | 0,00 | 0,33 | 0,00 | 0,00 |
| 36 | 1 | 5,67 | 0,47 | 1461,29 | 0,00 | 69,86 | 11,20 | 44,02 |
| 37 | 1 | 93,61 | 53,90 | 133,76 | 50,48 | 87,84 | 80,96 | 140,48 |
| 38 | 1 | 0,01 | 0,00 | 63,01 | 2,25 | 20,25 | 0,00 | 0,00 |
| 39 | 1 | 0,26 | 0,00 | 8,90 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

| | | | | | | | | |
|----|---|-------|-------|---------|-------|--------|--------|--------|
| 40 | 1 | 2,00 | 0,00 | 32,30 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 41 | 1 | 4,26 | 0,00 | 47,25 | 0,35 | 0,13 | 0,00 | 0,00 |
| 42 | 1 | 0,00 | 0,00 | 41,63 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 43 | 1 | 2,61 | 0,00 | 183,58 | 0,65 | 16,68 | 0,00 | 0,00 |
| 44 | 1 | 4,26 | 0,00 | 4,51 | 2,87 | 0,00 | 0,08 | 0,00 |
| 45 | 1 | 0,00 | 0,00 | 392,63 | 2,82 | 0,00 | 0,00 | 28,84 |
| 46 | 1 | 7,25 | 0,00 | 69,85 | 3,14 | 30,33 | 0,00 | 0,00 |
| 47 | 1 | 3,54 | 0,00 | 34,59 | 0,00 | 50,60 | 0,00 | 0,00 |
| 48 | 1 | 0,44 | 0,00 | 14,24 | 3,73 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 49 | 1 | 4,26 | 0,00 | 103,40 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 50 | 1 | 5,84 | 0,00 | 6,10 | 0,00 | 0,00 | 4,64 | 50,00 |
| 51 | 1 | 52,05 | 13,36 | 155,40 | 13,98 | 52,29 | 57,07 | 78,60 |
| 52 | 2 | 14,75 | 0,00 | 86,23 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 53 | 2 | 6,88 | 0,00 | 15,63 | 0,00 | 24,72 | 0,08 | 4,66 |
| 54 | 2 | 11,12 | 0,00 | 32,30 | 0,00 | 1,96 | 0,00 | 68,21 |
| 55 | 2 | 40,18 | 10,73 | 119,59 | 11,72 | 48,95 | 44,38 | 65,48 |
| 56 | 2 | 19,83 | 6,31 | 79,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 21,31 |
| 57 | 2 | 1,43 | 0,00 | 65,98 | 17,40 | 74,40 | 0,00 | 0,00 |
| 58 | 2 | 0,00 | 0,00 | 596,33 | 0,00 | 30,33 | 0,00 | 0,00 |
| 59 | 2 | 2,12 | 0,00 | 4,51 | 1,63 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 60 | 2 | 0,00 | 0,00 | 4,34 | 0,00 | 7,07 | 3,80 | 0,00 |
| 61 | 2 | 85,25 | 47,76 | 129,76 | 65,61 | 107,67 | 83,79 | 100,06 |
| 62 | 2 | 0,81 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 9,51 | 0,00 | 0,00 |
| 63 | 2 | 71,65 | 37,27 | 411,00 | 51,57 | 611,09 | 52,42 | 63,34 |
| 64 | 2 | 3,40 | 0,00 | 59,44 | 5,20 | 40,95 | 0,00 | 0,00 |
| 65 | 2 | 11,12 | 0,00 | 146,41 | 0,00 | 0,62 | 0,54 | 0,00 |
| 66 | 2 | 0,00 | 0,00 | 31,28 | 0,00 | 14,44 | 0,00 | 0,00 |
| 67 | 2 | 0,00 | 0,00 | 52,76 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 48,50 |
| 68 | 2 | | | | | | | |
| 69 | 2 | 0,91 | 0,00 | 3,37 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 70 | 2 | 0,00 | 0,00 | 33,59 | 0,00 | 3,37 | 0,00 | 0,00 |
| 71 | 2 | 0,00 | 0,00 | 45,99 | 0,00 | 43,63 | 0,00 | 21,89 |
| 72 | 2 | 0,00 | 0,00 | 27,61 | 0,00 | 24,12 | 0,00 | 0,00 |
| 73 | 2 | 0,00 | 0,00 | 4317,07 | 3,21 | 343,09 | 136,44 | 43,39 |
| 74 | 2 | 39,71 | 1,91 | 62,28 | 8,00 | 10,1 | 36,86 | 25,65 |
| 75 | 2 | 23,69 | 21,93 | 43,26 | 5,20 | 25,95 | 39,26 | 17,27 |
| 76 | 2 | 0,00 | 0,00 | 18,17 | 0,00 | 55,36 | 0,00 | 0,00 |

Tabela H2. Concentração das citocinas inflamatórias em [pg/mL] do plasma sanguíneo.

| <i>N</i> | <i>Score da Inflamação</i> | IL-2 | IL-4 | IL-6 | IL-10 | TNF-α | IFN-γ | IL-17 |
|----------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------|
| 1 | 0 | 0,00 | 7,77 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 78,98 |
| 2 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 3 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 4 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 5 | 0 | 0,00 | 7,17 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 77,54 |
| 6 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 7 | 0 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 8 | 0 | 0,00 | 9,39 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 58,56 |
| 9 | 0 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 10 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 11 | 0 | 0,00 | 2,37 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 12 | 0 | 0,00 | 1,10 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 13 | 0 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 14 | 0 | 0,00 | 1,86 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 27,36 |
| 15 | 0 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 16 | 0 | | | | | | | |
| 17 | 0 | 0,00 | 0,12 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 62,04 |
| 18 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 27,36 |
| 19 | 0 | 0,00 | 1,39 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 20 | 0 | 0,00 | 3,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 21 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 23,49 |
| 22 | 0 | | | | | | | |
| 23 | 0 | 0,00 | 8,89 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 24 | 0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 25 | 0 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 26 | 0 | 0,00 | 0,70 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 27 | 0 | 0,00 | 5,14 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 28 | 1 | 29,33 | 21,18 | 40,97 | 13,52 | 47,82 | 0,00 | 0,00 |
| 29 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 24,92 |
| 30 | 1 | 0,00 | 4,65 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 44,35 |
| 31 | 1 | 0,00 | 4,65 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 32 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 33 | 1 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 34 | 1 | 0,00 | 1,47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 62,04 |
| 35 | 1 | 0,00 | 8,40 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 36 | 1 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 | 5000,00 |
| 37 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 50,84 |
| 38 | 1 | 0,00 | 2,65 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 39 | 1 | 0,00 | 1,47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 57,16 |
| 40 | 1 | 0,00 | 4,89 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 50,84 |
| 41 | 1 | 0,00 | 4,30 | 47,72 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 42 | 1 | 0,00 | 0,45 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

APÊNDICE I

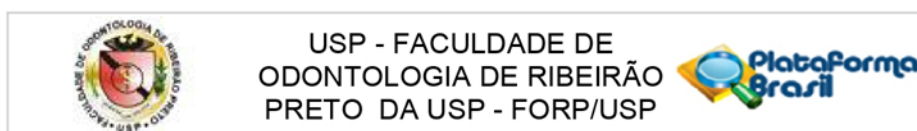
Tabela I. Resultados da concentração de Proteína C-Reativa em [mg/mL].

| <i>N</i> | <i>Score da Inflamação</i> | <i>[mg/mL]</i> |
|----------|--------------------------------|----------------|
| 1 | 0 | 25,58 |
| 2 | 0 | 31,64 |
| 3 | 0 | 78,46 |
| 4 | 0 | 124,42 |
| 5 | 0 | 1000,00 |
| 6 | 0 | 306,24 |
| 7 | 0 | 688,06 |
| 8 | 0 | 591,57 |
| 9 | 0 | 360,69 |
| 10 | 0 | 480,35 |
| 11 | 0 | 39,72 |
| 12 | 0 | 421,77 |
| 13 | 0 | 263,84 |
| 14 | 0 | 49,07 |
| 15 | 0 | 61,90 |
| 16 | 0 | 0,00 |
| 17 | 0 | 651,44 |
| 18 | 0 | 101,89 |
| 19 | 0 | 784,83 |
| 20 | 0 | 83,02 |
| 21 | 0 | 128,37 |
| 22 | 0 | 138,64 |
| 23 | 0 | 98,16 |
| 24 | 0 | 70,70 |
| 25 | 0 | 274,67 |
| 26 | 0 | 276,23 |
| 27 | 0 | 55,67 |
| 28 | 1 | 748,88 |
| 29 | 1 | 23,24 |
| 30 | 1 | 71,56 |
| 31 | 1 | 232,38 |
| 32 | 1 | 227,79 |
| 33 | 1 | 372,99 |
| 34 | 1 | 55,11 |
| 35 | 1 | 57,44 |
| 36 | 1 | 50,42 |
| 37 | 1 | 314,55 |
| 38 | 1 | 67,04 |
| 39 | 1 | 347,12 |

| | | |
|----|---|---------|
| 40 | 1 | 500,00 |
| 41 | 1 | 176,31 |
| 42 | 1 | 65,48 |
| 43 | 1 | 513,30 |
| 44 | 1 | 457,20 |
| 45 | 1 | 219,16 |
| 46 | 1 | 395,09 |
| 47 | 1 | 170,23 |
| 48 | 1 | 210,58 |
| 49 | 1 | 316,68 |
| 50 | 1 | 175,32 |
| 51 | 1 | 211,04 |
| 52 | 2 | 92,86 |
| 53 | 2 | 94,39 |
| 54 | 2 | 194,77 |
| 55 | 2 | 500,00 |
| 56 | 2 | 524,09 |
| 57 | 2 | 182,02 |
| 58 | 2 | 500,00 |
| 59 | 2 | 65,98 |
| 60 | 2 | 46,20 |
| 61 | 2 | 249,15 |
| 62 | 2 | 70,06 |
| 63 | 2 | 257,90 |
| 64 | 2 | 37,56 |
| 65 | 2 | 500,00 |
| 66 | 2 | 500,00 |
| 67 | 2 | 500,00 |
| 68 | 2 | 151,40 |
| 69 | 2 | 149,66 |
| 70 | 2 | 185,81 |
| 71 | 2 | 190,16 |
| 72 | 2 | 500,00 |
| 73 | 2 | 1000,00 |
| 74 | 2 | 103,32 |
| 75 | 2 | 500,00 |
| 76 | 2 | 66,16 |

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Relação da Estomatite Relacionada à Prótese (ERP) com risco cardiovascular e efeito da desinfecção de prótese comparada ao tratamento local na remissão da ERP e risco cardíaco ; Estudo clínico tipo caso-controle, transversal, sem intervenção associado a estudo clínico controlado, aleatorizado e duplo-cego.

Pesquisador: Cláudia Helena Lovato da Silva

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 93712418.1.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.690.815

Apresentação do Projeto:

A apresentação da presente emenda é devido à necessidade de responder as Pendências apontadas na lista de inadequações emitidas em 15/09/2022.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Examinar possíveis alterações de variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e pressão arterial em subgrupos de pacientes com ERP da amostra elegível, por meio do registro eletrocardiográfico e medida da pressão arterial, ecocardiograma e função cardíaca, a fim de se determinar um possível desbalanço autonômico (simpatovagal), associado, ou não, às alterações da pressão arterial, citocinas pro-inflamatórias e Proteína C-Reativa (PCR)

Objetivo Secundário:

Comparar diferentes protocolos de prevenção/tratamento da ERP quanto à capacidade de diminuição do risco cardíaco, remissão da Estomatite Relacionada à Prótese, remoção de biofilme da superfície interna da prótese total superior, diminuição da carga microbiana, alteração do odor bucal e das próteses; e comparar a influência dos protocolos de higiene sobre a identificação e quantificação da expressão de MUC1 na saliva total estimulada e não estimulada dos pacientes, bem como sobre viscosidade, pH e fluxo salivar.

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala K,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-0493 **E-mail:** cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 5.690.815

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme apresentado no projeto inicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não há.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide o item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Pendências e respostas da pesquisadora:

No item 1) foi apontada a seguinte inadequação: "A prorrogação de prazo está aprovada, no entanto, a pesquisadora deverá esclarecer qual o prazo pretendido para prorrogação da pesquisa. Inicialmente na emenda solicita 18 meses e na justificativa da mesma emenda 24 meses".

Resposta do pesquisador responsável: O prazo foi alterado na emenda e na justificativa para 30 meses, a contar, a partir da data de emissão do parecer referente a emenda em 15/09/2022.

No item 2) foi apontada a seguinte inadequação: "O arquivo PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2005023_E4.pdf informa 200 participantes na pesquisa, já na Emenda 100 participantes. A pesquisadora deverá esclarecer qual é o número de participantes na pesquisa.

Resposta do pesquisador responsável: O número final de participantes é 200. Porém, a fim de esclarecimentos, na emenda enviada para solicitar alteração de metodologia foi informada a necessidade de inclusão de mais 100 participantes adicionais aos primeiros 100 participantes que foram atendidos entre 2018-2020. Os participantes que deverão ser incluídos serão 50 participantes para formação de um grupo controle (G6, ou seja, sem estomatite relacionada à prótese); e a inclusão de 50 participantes com estomatite relacionada à prótese (sendo 25 participantes do grupo G5 e 25 participantes adicionais ao grupo G1).

No item 3) foi apontada a seguinte inadequação: "A pesquisadora deverá apresentar nova emenda com os devidos esclarecimentos".

Resposta do pesquisador responsável: A presente emenda tem a finalidade de apresentar os devidos esclarecimentos solicitados.

No item 4) foi apontada a seguinte inadequação: "Caso haja mudanças no projeto, apresentar as

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala k,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-0493 **E-mail:** cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 5.690.815

devidas justificativas, o número de participantes, grupos e ou mudanças na metodologia".

Resposta do pesquisador responsável: Não houve alterações na pesquisa para justificar esta emenda. As últimas mudanças no projeto foram informadas na submissão em 22 de abril de 2021.

No item 5) foi apontada a seguinte inadequação: "As alterações deverão ser feitas também no arquivo PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2005023_E4, favor destacar as alterações realizadas e atualizar o cronograma conforme a prorrogação de prazo. IMPORTANTE – as modificações solicitadas só poderão ser implementadas após aprovação pelo CEP".

Resposta do pesquisador responsável: A alteração quanto ao tempo de prorrogação para a entrega do relatório final do projeto de pesquisa foi alterada no cronograma conforme a prorrogação de prazo solicitada. A solicitação da justificativa para prorrogação de prazo de 30 meses baseia-se na necessidade de finalizar as coletas clínicas. Em função dos critérios de elegibilidade dos participantes na pesquisa ainda não foi possível completar a amostra e analisar todas as variáveis propostas. Até a presente data, dos 100 participantes adicionais solicitados na emenda de alteração de metodologia submetida em 22 de abril de 2021, temos a coleta de 60 indivíduos, faltando, portanto, 40 participantes para completar a amostra total. Após essas coletas, serão realizadas as análises estatísticas, interpretação de dados e redação final do relatório e artigos científicos.

Conclusão: Emenda sem pendências. Prorrogação de prazo aprovado (30 meses, a contar, a partir da data de emissão do parecer referente a emenda em 15/09/2022).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:

Emenda aprovada conforme deliberado na 263ª Reunião Ordinária do CEP/FORP de 06/10/2022.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------------|--------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2005023_E4.pdf | 20/09/2022 10:11:46 | | Aceito |
| Outros | Formulario_EMENDA_Final_20_09_22.docx | 20/09/2022 10:10:14 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Cronograma | cronograma_atualizado_2.docx | 20/09/2022 | Cláudia Helena | Aceito |

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala K,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-0493 **E-mail:** cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 5.690.815

| | | | | |
|---|--|------------------------|-----------------------------------|--------|
| Cronograma | cronograma_atualizado_2.docx | 10:09:24 | Lovato da Silva | Aceito |
| Cronograma | cronograma_atualizado_.docx | 20/09/2022 10:09:11 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Cronograma | Emenda_23_08_22.docx | 23/08/2022 16:42:24 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Cronograma | cronograma_atualizado_05_2021.docx | 11/05/2021 15:14:47 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_atualizado_emenda.pdf | 11/05/2021 15:11:06 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Folha de Rosto | folhaDeRosto_emenda.pdf | 30/04/2021 14:32:37 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Declaração de concordância | OFICIO_CONCORDANCIA_A_FORP.pdf | 29/04/2021 21:58:36 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Autorizacao_infraestrutura_Documento_da_Chefia_Dep_ClinicaMedica.pdf | 29/04/2021 21:56:33 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Outros | relatorio_parcial_04_2021.docx | 23/04/2021 16:34:28 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Orçamento | Orcamento_04_2021.docx | 23/04/2021 16:32:12 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PO_alterado_emenda.docx | 23/04/2021 16:25:40 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Outros | Formulario_EMENDA_Final.pdf | 22/04/2021 16:18:13 | Cláudia Helena Lovato da Silva | Aceito |
| Outros | Relatorio_parcial_CEP_2019.pdf | 24/10/2019 01:22:06 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |
| Outros | formulario_emenda.pdf | 28/03/2019 11:37:49 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |
| Outros | relatorio_alteracoes.pdf | 28/03/2019 11:37:08 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | tcle_projeto_camila.pdf | 28/03/2019 11:36:57 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | projeto_pesquisa_cep.pdf | 28/03/2019 11:36:43 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | DMDP.pdf | 29/06/2018 18:38:43 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Supervisao_de_clinicas.pdf | 29/06/2018 18:38:30 | CAMILA BORBA DE ARAUJO | Aceito |

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala k,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-0493 **E-mail:** cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 5.690.815

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 07 de Outubro de 2022

Assinado por:

Simone Cecilio Hallak Regalo
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala k,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-0493 **E-mail:** cep@forp.usp.br

ANEXO B – Author Information Pack.



ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY
A Multidisciplinary Journal of Oral & Craniofacial Sciences

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

- **Description** p.1
- **Audience** p.1
- **Impact Factor** p.1
- **Abstracting and Indexing** p.2
- **Editorial Board** p.3
- **Guide for Authors** p.4



ISSN: 0003-9969

DESCRIPTION

Archives of Oral Biology is an international journal which aims to publish papers of the highest scientific quality in the oral and craniofacial sciences including:

Developmental biologyCell and molecular biologyMolecular geneticsImmunologyPathogenesisMicrobiologyBiology of dental caries and periodontal diseaseForensic dentistryNeuroscienceSalivary biologyMastication and swallowingComparative anatomyPaeleodontology*Archives of Oral Biology* will also publish expert reviews and articles concerned with advancement in relevant methodologies. The journal will only consider clinical papers where they make a significant contribution to the understanding of a disease process.

AUDIENCE

Oral biologists, physiologists, anatomists, pathologists.

IMPACT FACTOR

2021: 2.640 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2022

AUTHOR INFORMATION PACK 6 Jul 2023

www.elsevier.com/locate/archoralbio

1

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief

P.M. Castelo, Federal University of São Paulo, Institute of Environmental, Chemical and Pharmaceutical Sciences, Diadema, Brazil

F. T. Lundy, Queen's University Belfast, BT7 1NN, Belfast, United Kingdom

Associate Editors

G.N. Belibasakis, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

D. Grenier, Laval University, Québec, Québec, Canada

Lei Mei, University of Otago, Faculty of Dentistry, Dunedin, New Zealand

M.Q. Wang, Fudan University, Shanghai, China

Editorial Board

O. Andrukhov, Wien, Austria

V. Arana-Chavez, SAO PAULO, Brazil

Z. Bian, Wuhan, China

G. H. Carpenter, London, United Kingdom

J-h Chen, Xian, China

K. Cogo-Müller, SAO PAULO, Brazil

X. Duan, Xian, China

M.B.D. Gavião, CAMPINAS, Brazil

H. van der Glas, Utrecht, Netherlands

S. Herring, Seattle, United States of America

Y. Jin, Xian, China

C. P. McArthur, Kansas City, United States of America

Lei Mei, Dunedin, New Zealand

J. Y. Ro, Baltimore, United States of America

C. Robinson, Leeds, United Kingdom

L. P. Samaranayake, Hong Kong, Hong Kong

B.J. Sessle, Toronto, Canada

P.T. Sharpe, London, United Kingdom

A.J. Smith, Birmingham, United Kingdom

D Steinberg, Jerusalem, Israel

H. Suda, Bunkyo-Ku, Japan

K. Tanne, Higashihiroshima, Japan

L. Walsh, Brisbane, Australia

Editor-In-Chief Emeritus

S.W. Cadden, Dundee, United Kingdom

B. Proctor, London, United Kingdom

GUIDE FOR AUTHORS

Editors-in-Chief:

Professor S W Cadden, Dundee, Scotland
Dr Fionnuala T. Lundy, Northern Ireland, UK

Archives of Oral Biology is an international journal which aims to publish papers of the highest scientific quality reporting new knowledge from the orofacial region including:

- developmental biology
- cell and molecular biology
- molecular genetics
- immunology
- pathogenesis
- microbiology
- biology of dental caries and periodontal disease
- forensic dentistry
- neuroscience
- salivary biology
- mastication and swallowing
- comparative anatomy
- paleodontology

Archives of Oral Biology will also publish expert reviews and articles concerned with advancement in relevant methodologies. The journal will consider clinical papers only where they make a significant contribution to the understanding of a disease process.

These guidelines generally follow the [Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals](#)

Types of Contribution

Original papers and review articles are welcomed. There will be no differentiation on the basis of length into full or short communications. Editorial commentaries will also be considered but only by invitation. All submissions will be refereed.

Page charges

This journal has no page charges.

Submission checklist

You should use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check all relevant sections in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts (where applicable)

Highlights (mandatory)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa

- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made
- Declarations of authors' contributions have been made if there are four or more authors
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#)

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association \(Declaration of Helsinki\)](#) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms **sex** and **gender** should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Research Council's [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Declaration of generative AI in scientific writing

The below guidance only refers to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process.

Where authors use generative artificial intelligence (AI) and AI-assisted technologies in the writing process, authors should only use these technologies to improve readability and language. Applying the technology should be done with human oversight and control, and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. AI and AI-assisted technologies should not be listed as an author or co-author, or be cited as an author. Authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans, as outlined in Elsevier's [AI policy for authors](#).

Authors should disclose in their manuscript the use of AI and AI-assisted technologies in the writing process by following the instructions below. A statement will appear in the published work. Please note that authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.

Disclosure instructions

Authors must disclose the use of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process by adding a statement at the end of their manuscript in the core manuscript file, before the References list. The statement should be placed in a new section entitled 'Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process'.

Statement: During the preparation of this work the author(s) used [NAME TOOL / SERVICE] in order to [REASON]. After using this tool/service, the author(s) reviewed and edited the content as needed and take(s) full responsibility for the content of the publication.

This declaration does not apply to the use of basic tools for checking grammar, spelling, references etc. If there is nothing to disclose, there is no need to add a statement.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically, without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article is likely to be checked by the originality detection service CrossCheck.

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Reporting sex- and gender-based analyses

Reporting guidance

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER guidelines checklist](#). These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

Definitions

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based

solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous—thus it is important for authors to define the manner in which they are used. In addition to this definition guidance and the SAGER guidelines, the [resources on this page](#) offer further insight around sex and gender in research studies.

Author contributions

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted. If any individual contributed to a paper but did not meet all three of these criteria, they should be mentioned in an Acknowledgements section but must not be listed as an author (see Acknowledgements section below).

For transparency, and to show that they met the above criteria, authors should submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review and editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. More details and an example. [More details and an example.](#)

Changes to Authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and to provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the Journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated [Scientific Managing Editor](#), a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. [More information.](#)

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If

excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

PREPARATION

Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

REVISED SUBMISSIONS

When submitting the revised manuscript, please make sure that you upload the final version of the paper with the changes highlighted. Please remove the old version(s) of the manuscript before submitting the revised version.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To minimize unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Manuscript Structure

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Materials & Methods, Results, Discussion for an original paper), Acknowledgments, Appendix, References, Tables and then Figure Captions. Do not import the Figures or Tables into your text. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be identified with superscript Arabic numbers.

Introduction

This should be a succinct statement of the problem investigated within the context of a brief review of the relevant literature. Literature directly relevant to any inferences or argument presented in the Discussion should in general be reserved for that section. The introduction may conclude with the reason for doing the work but should not state what was done nor the findings.

Materials and Methods

Enough detail must be given here so that another worker can repeat the procedures exactly. Where the materials and methods were exactly as in a previous paper, it is not necessary to repeat all the details but sufficient information must be given for the reader to comprehend what was done without having to consult the earlier work.

Authors are requested to make plain that the conditions of animal and human experimentation are as outlined in the "Ethics" and "Studies on Animals" sections above

Results or Findings

These should be given clearly and concisely. Care should be taken to avoid drawing inferences that belong to the Discussion. Data may be presented in various forms such as histograms or tables but, in view of pressure on space, presentation of the same data in more than one form is unacceptable.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is occasionally appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion section.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-

case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

As titles frequently stand alone in indexes, bibliographic journals etc., and indexing of papers is, to an increasing extent, becoming computerized from key words in the titles, it is important that titles should be as concise and informative as possible. Thus the animal species to which the observations refer should always be given and it is desirable to indicate the type of method on which the observations are based, e.g. chemical, bacteriological, electron-microscopic, histochemical, etc. A "running title" of not more than 40 letters and spaces must also be supplied. A keyword index must be supplied for each paper.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Structured abstract

The paper should be prefaced by an abstract aimed at giving the entire paper in miniature. Abstracts should be no longer than 250 words and should be structured as per the guidelines published in the Journal of the American Medical Association (JAMA 1995; 273: 27-34). In brief, the abstract should be divided into the following sections: (1) Objective; (2) Design - if clinical, to include setting, selection of patients, details on the intervention, outcome measures, etc.; if laboratory research, to include details on methods; (3) Results; (4) Conclusions.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

As Archives of Oral Biology is a journal with a multidisciplinary readership, abbreviations, except those universally understood such as mm, g, min. u.v., w/v and those listed below, should be avoided if possible. Examples of abbreviations which may be used without definition are: ADP, AMP, ATP, DNA, RNA, EDTA, EMG, tris.

Other abbreviations used to improve legibility should be listed as a footnote on the title page as well as being defined in both the abstract and the main text on first usage. Chemical symbols may be used for elements, groups and simple compounds, but excessive use should be avoided. Abbreviations other than the above should not be used in titles and even these should be avoided if possible.

Statistical analysis

Authors should ensure that the presentation and statistical testing of data are appropriate and should seek the advice of a statistician if necessary. A number of common errors should be avoided, e.g.:

- Use of parametric tests when non-parametric tests are required
- Inconsistencies between summary statistics and statistical tests such as giving means and standard deviations for data which were analysed with non-parametric tests.

- Multiple comparisons undertaken with multiple t tests or non-parametric equivalents rather than with analysis of variance (ANOVA) or non-parametric equivalents.
- Post hoc tests being used following an ANOVA which has yielded a non-significant result.
- Incomplete names for tests (e.g. stating "Student's t test" without qualifying it by stating "single sample", "paired" or "independent sample")
- n values being given in a way which obscures how many independent samples there were (e.g. stating simply n=50 when 10 samples/measurements were obtained from each of 5 animals/human subjects).
- Stating that P=0.000 (a figure which is generated by some computer packages). The correct statement (in this case) is P<0.0005.
- Bar charts should only be used to show frequencies (absolute or relative/%); for means and SD, use dot plots and/or error bars.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.) but who did not meet all the criteria for authorship (see Authorship section above).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Bacterial nomenclature

Organisms should be referred to by their scientific names according to the binomial system. When first mentioned the name should be spelt in full and in italics. Afterwards the genus should be abbreviated to its initial letter, e.g. '*S. aureus*' not 'Staph. aureus'. If abbreviation is likely to cause confusion or render the intended meaning unclear, the names of microbes should be spelt in full. Only those names which were included in the Approved List of Bacterial Names, *Int J Syst Bacteriol* 1980; 30: 225-420 and those which have been validly published in the *Int J Syst Bacteriol* since 1 January 1980 have standing in nomenclature. If there is good reason to use a name that does not have standing in nomenclature, the names should be enclosed in quotation marks and an appropriate statement concerning the nomenclatural status of the name should be made in the text (for an example see *Int J Syst Bacteriol* 1980; 30: 547-556). When the genus alone is used as a noun or adjective, use lower case Roman not italic, e.g. 'organisms were staphylococci' and 'streptococcal infection'. If the genus is specifically referred to use italics e.g. 'organisms of the genus *Staphylococcus*'. For genus in plural, use lower case roman e.g. 'salmonellae'; plurals may be anglicized e.g. 'salmonellas'. For trivial names, use lower case Roman e.g. 'meningococcus'

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image

may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables should be placed on separate page(s) towards the end of the manuscript (see Manuscript Structure, above). Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies

will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Seventh Edition, ISBN 978-1-4338-3215-4, copies of which may be [ordered online](#).

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications*, 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2018). The art of writing a scientific article. *Heliyon*, 19, Article e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style* (4th ed.). Longman (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). E-Publishing Inc.

Reference to a website:

PowerTech Systems. (2015). *Lithium-ion vs lead-acid cost analysis*. Retrieved from <http://www.powertechsystems.eu/home/tech-corner/lithium-ion-vs-lead-acid-cost-analysis/>. Accessed January 6, 2016

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., & Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to a conference paper or poster presentation:

Engle, E.K., Cash, T.F., & Jarry, J.L. (2009, November). *The Body Image Behaviours Inventory-3: Development and validation of the Body Image Compulsive Actions and Body Image Avoidance Scales*. Poster session presentation at the meeting of the Association for Behavioural and Cognitive Therapies, New York, NY.

Reference to software:

Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S. (2020, March 25). *Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88)*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article.

When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#). For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Research Elements

This journal enables you to publish research objects related to your original research – such as data, methods, protocols, software and hardware – as an additional paper in a [Research Elements Journal](#).

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the [Research Elements page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this

stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or [find out when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>