

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

WALESKA TARZO

COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE BEBÊS DURANTE O
PRIMEIRO ANO DE VIDA: ESTUDO PILOTO

Porto Alegre

2015

WALESKA TARZO

COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE BEBÊS DURANTE O
PRIMEIRO ANO DE VIDA: ESTUDO PILOTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Prof^ª. Sandra Liana
Henz

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Tarzo, Waleska
COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE BEBÊS
DURANTE O PRIMEIRO ANO DE VIDA: ESTUDO PILOTO /
Waleska Tarzo. -- 2015.
25 f.

Orientadora: Sandra Liana Henz.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
Faculdade de Odontologia, Curso de Odontologia,
Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Lactobacillus spp.. 2. Streptococcus mutans.
3. Bifidobacterium spp.. 4. Bebês 5. Cavidade oral.
I. Henz, Sandra Liana, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

À professora Sandra Liana Henz pela oportunidade de aprendizado e dedicação nesses anos de estudo.

À minha família que sempre me apoia e está ao meu lado. Principalmente, agradeço à minha mãe, pois muito deste mérito devo a ela.

À colega Camila Mezzari Carlos que trabalhou no projeto desde o início, pois a sua ajuda foi muito importante para a realização desse trabalho.

À técnica de laboratório Luisa Mercado por contribuir no processo laboratorial e nos ensinamentos.

Ao Mauricio Moura por contribuir na análise de dados.

Aos trabalhadores da Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias (Porto Alegre, RS, Brasil) por cederem o espaço para a realização das coletas das amostras.

À UFRGS pela oportunidade de um ensino público e gratuito de alta qualidade.

RESUMO

TARZO, Waleska. **Colonização microbiana da cavidade oral de bebês durante o primeiro ano de vida:** estudo piloto. 2015. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia)- Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

O objetivo deste estudo foi avaliar a colonização de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. na cavidade oral de bebês durante o primeiro ano de vida. Doze bebês foram avaliados aos 0, 3, 6 e 12 meses de idade na Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Os respectivos responsáveis responderam a um questionário contendo perguntas sobre as características sociodemográficas, tipo de parto, tipo de aleitamento, tipo de alimentação e higiene bucal. No exame clínico foi avaliado o número de dentes erupcionados e coletada uma amostra de saliva da cavidade oral dos bebês com auxílio de alças microbiológicas estéreis calibradas. A amostra foi diluída e semeada em placas contendo os meios de cultura específicos. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de única via. As médias de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ao longo dos períodos de acompanhamento. O tipo de aleitamento, tipo de parto, sexo, renda familiar, tipo de alimentação, presença de higiene bucal e presença de dentes decíduos não foram estatisticamente ($P \leq 0,05$) associados com o aumento do número de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em cada período de acompanhamento. Em conclusão, a média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. de bebês permaneceu estável durante o primeiro ano de vida.

Palavras-chave: *Lactobacillus* spp. *Streptococcus mutans*. *Bifidobacterium* spp. Bebês. Cavidade oral.

ABSTRACT

TARZO, Waleska. **Microbial colonization of the oral cavity of babies during the first year of life** : pilot study. 2015. 25 p. Final Paper (Graduation Dentistry)- Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

The aim of this study was to assess the colonization of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. in the oral microbiota of babies during the first year of life. Twelve babies were evaluated at 0, 3, 6 and 12 months of age in the Family Healthy Center Parque dos Maias, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Questionnaires recorded data on sociodemographic characteristics, type of birth, type of milk feeding (breast or formula), type of feeding, and oral hygiene, and was answered by the responsible for each baby. Oral examination assessed the number of erupted teeth, and collected samples of saliva from the oral cavity of each baby using calibrated sterile microbiological loops. The sample was diluted and spread onto plates containing the specific culture media. One-way analysis of variance (ANOVA) was used for data analysis. Means of CFU/ml of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. were not statistically significantly different during the periods of follow-up. Type of birth, breast or bottle milk feeding, sex, family income, type of feeding, presence of oral hygiene, and presence of erupted teeth was not statistically significantly associated with a greater number of CFU/ml of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. in each period of follow-up. In conclusion, the mean of UFC/ml of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. of babies remained stable during the first year of life.

Keywords: *Lactobacillus* spp. *Streptococcus mutans*. *Bifidobacterium* spp. Babies. Oral cavity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	9
3	CONCLUSÃO.....	23
	REFERÊNCIAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

Na cavidade oral pode ser verificada uma série de fenômenos de interações microbianas, favorecidas pela grande variedade e quantidade de micro-organismos que nela habitam, bem como pelas suas características anatômicas e fisiológicas. Esses micro-organismos se aderem às superfícies da cavidade oral, sejam elas tecidos moles ou duros, crescem, proliferam e formam uma comunidade com várias populações diferentes, na qual cada população ocupa um nicho. À medida que ocorre o desenvolvimento da comunidade, têm-se mudanças nas características dos nichos e da microbiota bacteriana, fenômeno esse conhecido como sucessão (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 2001).

O estabelecimento da microbiota não ocorre simplesmente por uma sucessão pré-determinada de espécies, mas sim por um balanço de fatores externos e internos (FANARO et al., 2003; PENDERS et al., 2006). Os fatores externos para o estabelecimento da flora gastrointestinal incluem o ambiente durante o nascimento, a microbiota da mãe e o método de alimentação do bebê (FALLANI et al., 2010). Os fatores internos incluem o estágio de desenvolvimento do trato gastrointestinal e fatores do hospedeiro (BENSON et al., 2010).

Quanto à microbiota de bebês ao nascimento, o feto normalmente é asséptico; porém, após oito horas de vida, vários micro-organismos já podem ser encontrados (JORGE, 1998). A colonização inicial do recém-nascido ocorre por contaminações pela pele, deglutição ou aspiração de secreção vaginal infectada no momento do parto, e também pelo contato daqueles que cuidarão da criança (BALEY, 1991).

O tipo de parto e o tipo de alimentação são fatores condicionantes do desenvolvimento do ecossistema intestinal e oral dos recém-nascidos. Estudo que avaliou o tipo de parto e a composição da microbiota oral observou maior prevalência de certas cepas de lactobacilos e estreptococos, bactérias que estão relacionadas com a saúde oral, em parto vaginal quando comparado com cesariana (BARFORD et al., 2011). Crianças nascidas por cesariana apresentam comunidades microbianas que se assemelham com a pele, havendo abundância de *Staphylococcus* spp., porém a exposição à microbiota vaginal pode ser um papel defensivo na colonização de patógenos (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010).

A composição da microflora intestinal dos recém-nascidos é devido à presença de substâncias no leite humano com efeito prebiótico, atribuído a baixa concentração de

proteínas e de fósforo, a presença de lactoferrina, lactose, nucleotídeos e oligossacarídeos (COPPA et al., 2006). Prebióticos são carboidratos não-digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem a proliferação e/ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon, além disso inibem a multiplicação de patógenos (SAAD, 2006). Entre as substâncias prebióticas presentes no leite materno, os chamados fatores bifidogênicos, podem estimular seletivamente o crescimento de um número limitado de bactérias benéficas no intestino (MARTÍN et al., 2003).

O leite materno proporciona nutrição para os recém-nascidos e seus componentes influenciam na fixação e crescimento bacteriano na boca, no estômago e no intestino, pois é um fluido dinâmico contendo nutrientes e fatores bioativos necessários para a saúde infantil (VESTMAN et al., 2013; AIMUTIS, 2004). Os componentes dominantes no leite materno são lipídios, lactose, oligossacarídeos e proteínas, e a principal fonte de energia são os triglicerídeos e outras gorduras (BALLARD; MORROW, 2013). Em estudo que quantificou os *Lactobacillus* em bebês alimentados por leite materno e por fórmula, houve maior colonização de *Lactobacillus* na cavidade bucal de crianças amamentadas com leite materno do que naquelas alimentadas por fórmula (VESTMAN et al., 2013).

As bactérias são os principais micro-organismos causadores das doenças orais mais prevalentes: a cárie e a doença periodontal. Nas bactérias relacionadas à cárie destacam-se os estreptococos do grupo mutans e os *Lactobacillus spp.*, pois essas espécies são acidúricas e acidogênicas e desempenham um papel importante para a etiologia da doença cárie (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 2001). Os lactobacilos apresentam pouca adesão às superfícies lisas do dente, entretanto possuem alta afinidade pela dentina. Por esta razão estão mais associados com a progressão do processo cariioso (AREIAS, 2011). Já as bifidobactérias podem ser consideradas como organismos cárie associados cujo papel no processo cárie e como marcador de risco requer investigação aprofundada (BEIGHTON et al., 2010).

Segundo Reis e Melo (2003), o aumento do número de *Lactobacillus spp.* na cavidade oral pode-se dar por hábitos dietéticos inadequados, baixa taxa de secreção e de tamponamento salivar, alterações de pH, presença de glicose na saliva e atividade cariiosa. Acredita-se que o reconhecimento do colágeno presente na dentina seja o fator que conduza estes micro-organismos às lesões de cárie. Quando há uma boa atividade do fluxo salivar, associada a baixas contagens de unidades formadoras de colônia (UFC)

de *Lactobacillus* spp., esperamos um baixo risco de desenvolvimento de cárie (PAIVA; FERREIRA, 2009).

Além disso, a erupção dentária provoca mudanças ecológicas significativas na cavidade oral. Este acontecimento fisiológico cria condições para o desenvolvimento de novas espécies de micro-organismos que podem se aderir a superfícies duras para colonizar, entre estes os estreptococos do grupo mutans (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*) (CARLETTO KÖRBER; CORNEJO; GIMÉNEZ, 2005). Evidências sugerem que a principal rota de transmissão de *Streptococcus mutans* em infecção oral precoce é a saliva no contato mãe e filho (AALTONEN; TENOVUO, 1994). A aquisição inicial ocorre durante um período de tempo específico denominado "janela de infectividade" que coincide com erupção dentária e abrange o período de 6-30 meses de idade (CAUFIELD; CUTTER; DASANAYAKE, 1993).

As bifidobactérias também podem desempenhar um papel no processo cariioso, pois foram detectadas em números elevados em lesões de cárie em crianças (BECKER et al., 2002). Bifidobactérias se comportam como organismos cárie associados, como previsto pela hipótese da placa ecológica (BEIGHTON et al., 2010). Por outro lado, os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, são frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos e têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável (SAAD, 2006).

A aquisição das bactérias orais na primeira infância é resultado principalmente da transmissão da mãe (KONONEN, 2000; TANNER et al., 2002). No entanto, há pouca informação sobre outros fatores que podem influenciar no estabelecimento desta microbiota. Por esse motivo, o trabalho analisou a média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. no primeiro ano de vida, associando com os fatores condicionantes: tipo de parto, tipo de alimentação, tipo de aleitamento, higiene bucal, sexo, renda familiar e dentes erupcionados.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE CRIANÇAS DURANTE O PRIMEIRO ANO DE VIDA: ESTUDO PILOTO

W Tarzo¹, CM Carlos¹, MS Moura¹, SL Henz¹

¹Departamento de Odontologia Preventiva e Social, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Título curto

Colonização microbiana da cavidade oral de bebês

Autor correspondente

Sandra Liana Henz

Departamento de Odontologia Preventiva e Social, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Rua Ramiro Barcelos, 2492, Bom Fim, Porto Alegre, RS, Brasil. CEP: 90035-003

Telefone: +55 51 99750010

Email: slhenz@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a colonização de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. na cavidade oral de bebês durante o primeiro ano de vida. Doze bebês foram avaliados aos 0, 3, 6 e 12 meses de idade na Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Os respectivos responsáveis responderam a um questionário contendo perguntas sobre as características sociodemográficas, tipo de parto, tipo de aleitamento, tipo de alimentação e higiene bucal. No exame clínico foi avaliado o número de dentes erupcionados e coletada uma amostra de saliva da cavidade oral dos bebês com auxílio de alças microbiológicas estéreis calibradas. A amostra foi diluída e semeada em placas contendo os meios de cultura específicos. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de única via. As médias de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ao longo dos períodos de acompanhamento. O tipo de aleitamento, tipo de parto, sexo, renda familiar, tipo de alimentação, presença de higiene bucal e presença de dentes decíduos não foram estatisticamente ($P \leq 0,05$) associados com o aumento do número de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em cada período de acompanhamento. Em conclusão, a média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. de bebês permaneceu estável durante o primeiro ano de vida.

Palavras-chave: *Lactobacillus* spp. *Streptococcus mutans*. *Bifidobacterium* spp. Bebês. Cavidade oral.

Abstract

The aim of this study was to assess the colonization of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. in the oral microbiota of babies during the first year of life. Twelve babies were evaluated at 0, 3, 6 and 12 months of age in the Family Healthy Center Parque dos Maias, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Questionnaires recorded data on sociodemographic characteristics, type of birth, type of milk feeding (breast or formula), type of feeding, and oral hygiene, and was answered by the responsible for each baby. Oral examination assessed the number of erupted teeth, and collected samples of saliva from the oral cavity of each baby using calibrated sterile microbiological loops. The sample was diluted and spread onto plates containing the specific culture media. One-way analysis of variance (ANOVA) was used for data analysis. Means of CFU/ml of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. were not statistically significantly different during the periods of follow-up. Type of birth, breast or bottle milk feeding, sex, family income, type of feeding, presence of oral hygiene, and presence of erupted teeth was not statistically significantly associated with a greater number of CFU/ml of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. in each period of follow-up. In conclusion, the mean of UFC/ml of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. of babies remained stable during the first year of life.

Keywords: *Lactobacillus* spp. *Streptococcus mutans*. *Bifidobacterium* spp. Babies. Oral cavity.

Introdução

A cavidade oral é colonizada por micro-organismos de diferentes espécies durante o nascimento por meio da passagem do recém-nascido pelo canal do parto¹. Esta exposição a uma comunidade bacteriana no início da vida pode ser decisiva para a manutenção da saúde bucal. Estudos mostram que as variações microbianas durante os primeiros anos de vida resultam no estabelecimento de um ecossistema estável no trato gastrointestinal, incluindo a boca². Geralmente, anaeróbios facultativos são os colonizadores iniciais, tais como os gêneros *Streptococcus* e *Actinomyces*, sucedidos por outras bactérias anaeróbias estritas, como Bifidobactérias no intestino, e Veilonelas e Fusobactérias na boca³.

O gênero *Lactobacillus* é um grupo heterogêneo de bactérias lácticas e Gram-positivas anaeróbias facultativas ou microaerofílicas que apresentam um crescimento acelerado em condições ligeiramente ácidas⁴. Em humanos, estas bactérias representam uma porção da microbiota normal da cavidade oral, do trato gastrointestinal e da vagina⁵. *Lactobacillus* spp. foram associados aos estágios de progressão da cárie dentária, enquanto que a espécie *Streptococcus mutans* está diretamente associada ao desenvolvimento inicial da lesão cariosa^{6,7}. Um estudo longitudinal em crianças de 3 a 24 meses indicou que a colonização precoce e persistente em níveis elevados de *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus mutans* na saliva aumenta o risco de desenvolvimento de lesões cariosas⁸. Ainda considerando os tipos de micro-organismos, espécies de bifidobactérias foram isoladas na saliva, biofilme supra-gengival, infecções endodônticas e dentina infectada⁹. Espécies de bifidobactérias e lactobacilos são frequentemente utilizadas em probióticos, que são constituídos por micro-organismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas¹⁰. Os probióticos apresentam um efeito benéfico na prevenção de cárie dentária e outras doenças bucais¹¹. No entanto, apesar do impacto que a presença de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. possam causar na saúde bucal, inexistem estudos de acompanhamento da colonização microbiana desde o início da vida e sua possível repercussão durante o crescimento de recém-nascidos.

Estudos relacionados aos indicadores de risco para a presença de micro-organismos na cavidade oral de crianças sugeriram o tipo de parto (vaginal ou cesária) como indutor de diferenças no desenvolvimento da microbiota, o que pode contribuir para variações fisiológicas ou na predisposição a doenças^{1,12}. O tipo de aleitamento também pode interferir na colonização da cavidade oral. Um recente estudo indicou que crianças alimentadas por leite materno apresentam maior colonização de *Lactobacillus* spp. quando comparadas a crianças com alimentação a base de fórmulas¹³. Ainda, variáveis como idade, número de dentes erupcionados e consumo de bebidas adoçadas na mamadeira foram associadas a uma maior colonização de *Streptococcus mutans* na cavidade oral de crianças de 6-24 meses¹⁴. Até o momento, inexistem

estudos que avaliam os indicadores de risco para a colonização de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em recém-nascidos até o primeiro ano de vida.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a colonização de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. na cavidade oral de bebês durante o primeiro ano de vida.

Materiais e Métodos

O presente estudo longitudinal incluiu 12 crianças que foram acompanhadas durante o seu primeiro ano de vida na Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. A avaliação dos recém-nascidos foi realizada aos 0, 3, 6 e 12 meses de idade. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo Hospitalar Conceição e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS – protocolo nº 137.207), obedecendo às exigências da Resolução nº 466/12¹⁷. Todos os responsáveis pelos recém-nascidos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídos do presente estudo os bebês que apresentaram doenças crônicas ou ingeriram qualquer tipo de medicação que pudesse interferir na qualidade da saliva durante o período de realização do estudo.

Coleta de Dados

Os responsáveis pelas crianças responderam a um questionário com perguntas sobre as características sociodemográficas, tipo de parto, tipo de aleitamento, tipo de alimentação e higiene bucal. No exame clínico, foi analisado o número de dentes erupcionados e coletadas amostras de saliva da cavidade oral de cada bebê com auxílio de 4 alças microbiológicas estéreis calibradas em 10µL. Estas amostras foram adicionadas a um frasco contendo 360 µL de meio de transporte reduzido (RTF) e mantidas em refrigeração por no máximo 2h até a etapa de processamento. No laboratório, procedeu-se a diluição da amostra e uma alíquota de 50 µL foi semeada pela técnica de espalhamento em superfície com auxílio de pérolas de vidro estéreis. Para o cultivo, foram utilizadas placas do tipo RODAC contendo os seguintes meios de cultura específicos: meio Rogosa SL Ágar (*Lactobacillus* spp.), meio Mitis salivarius Ágar complementado com Bacitracina e sacarose (*Streptococcus mutans*) e “Trypticase Phytone Yeast Extract Modified” (*Bifidobacterium* spp.). As placas foram cultivadas por cinco dias em anaerobiose a 37°C. Após este período, as unidades formadoras de colônia (UFC) foram identificadas por meio da coloração de Gram e contadas considerando a morfologia das colônias. Os resultados foram expressos em log₁₀ UFC/ml de saliva.

Análise estatística

A presente análise de dados utilizou a contagem das UFC/ml de cada tipo de gênero bacteriano como desfecho de estudo.

Tipo de parto foi dicotomizado em normal ou cesariana. Aleitamento materno foi dicotomizado em materno ou aleitamento por fórmulas. Renda familiar foi categorizada em ≤ 1500 , >1500 e <3000 , e ≥ 3000 reais. Alimentação sólida, higiene bucal e dentes erupcionados foram dicotomizadas em ausente ou presente.

A análise de dados foi realizada usando o software Stata (Stata 11.1 for Windows, Stata Corporation, College Station, Texas, USA). A análise de variância (ANOVA) de única via foi conduzida e diferenças entre as médias foram consideradas significativas para $P \leq 0,05$. Os dados foram reportados por meio de média \pm DP (desvio-padrão). Modelos de regressão linear foram aplicados para avaliar a associação entre o número de UFC/ml de cada tipo de gênero bacteriano e as variáveis explanatórias. Uma análise preliminar foi realizada por meio de modelos univariados, e variáveis apresentando associações com $P < 0,25$ foram adicionadas a um modelo multivariado.

Resultados

A distribuição das variáveis de acordo com a média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em cada período de acompanhamento está representada nas tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. De acordo com a Tabela 1, não houve diferença estatisticamente significativa entre a média de colônias de *Lactobacillus* spp. (T1 = $4,05 \pm 2,13$; T2 = $2,67 \pm 2,47$; T3 = $3,13 \pm 2,49$; T4 = $1,95 \pm 2,30$) nos diferentes períodos de acompanhamento. Da mesma forma, não houve diferença estatisticamente significativa entre a média de colônias de *Streptococcus mutans* (T1 = $3,00 \pm 2,40$; T2 = $1,40 \pm 1,92$; T3 = $2,15 \pm 2,39$; T4 = $2,89 \pm 2,62$ – Tabela 2) e de *Bifidobacterium* spp. (T1 = $3,11 \pm 2,87$; T2 = $3,24 \pm 2,51$; T3 = $4,27 \pm 2,67$; T4 = $3,06 \pm 2,75$ – Tabela 3).

As variáveis tipo de parto, tipo de aleitamento, sexo, renda familiar, tipo de alimentação, presença de higiene bucal e presença de dentes erupcionados não foram indicadores de risco para o aumento do número de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. nos diferentes períodos de acompanhamento (modelos de regressão linear, $P > 0,05$).

Discussão

O presente estudo conduziu um acompanhamento da colonização microbiana desde o nascimento até a erupção dos primeiros dentes decíduos. Não foram observadas diferenças entre a média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. nos diferentes períodos de acompanhamento. Ainda, não houve associação entre o número de UFC/ml de cada gênero bacteriano e as variáveis explanatórias em cada período de coleta de dados. Até o momento, inexistem estudos de avaliação da colonização microbiana de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. de recém-nascidos e os seus possíveis indicadores de risco.

Este estudo contemplou uma série de modificações em relação aos hábitos alimentares e introdução de novos nichos ecológicos na cavidade oral. Os micro-organismos *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. foram identificados na maioria dos bebês desde a primeira coleta de saliva, porém o número de UFC/ml não sofreu alteração com o decorrer do tempo. Um estudo longitudinal da colonização de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* spp. em crianças aos 3, 9, 12, 18 e 24 meses de idade, utilizando técnica tradicional de cultura, demonstrou uma colonização precoce com aumento da prevalência bacteriana de acordo com o aumento da idade⁸. Em estudo que analisou a microbiota de crianças em amostras de língua e de dente utilizando a técnica de checkerboard DNA, foram observadas espécies associadas à cárie dentária, incluindo *Streptococcus mutans*, em crianças de 18 a 36 meses de idade e *Actinomyces israelii* em crianças <18 meses de idade¹⁸. Becker et al. (2002)¹⁹ identificaram bifidobactérias em lesões cariosas profundas e cavitadas por meio da hibridização de DNA. O presente estudo não observou modificações na média de UFC/ml ao longo dos 12 meses de acompanhamento, podendo este resultado estar relacionado à técnica utilizada para detecção dos micro-organismos que foi a de cultura. Também, deve-se considerar a possibilidade de que realmente poucas modificações bacterianas ocorram após o estabelecimento da microbiota inicial.

Encontramos a colonização de *Streptococcus mutans* desde a primeira coleta de saliva (0 meses). Das 12 crianças analisadas, sete possuíam *Streptococcus mutans* com valores variando entre \log_{10} 2,6 e 5,8 UFC/ml. O risco de cárie em crianças pode ser dependente do início da colonização de *Streptococcus mutans*²⁰. Um estudo relata que a aquisição de *Streptococcus mutans* em recém-nascidos ocorre durante uma faixa-etária de 19 a 31 meses, a designada "janela de infectividade"²⁰. Outro estudo sobre a colonização de *Streptococcus mutans* em relação à alimentação, a idade e ao número de dentes em crianças de 6 a 30 meses de idade demonstrou que aquelas amamentadas com leite materno têm menores contagens bacterianas⁷. Entretanto, a colonização aumenta com a idade e com o número de dentes⁷. Este resultado está em desacordo com o presente estudo, pois não foram observadas modificações na

quantidade de UFC/ml de *Streptococcus mutans* pela presença de dentes decíduos. Interessantemente, a literatura reporta que crianças que foram colonizadas precocemente por *Streptococcus mutans* ou *Lactobacillus* spp. apresentaram maior número de dentes cariados do que daqueles que foram colonizadas tardiamente em sua vida⁸.

Neste estudo, o tipo de aleitamento não foi indicador de risco para aumento das UFC/ml dos gêneros analisados nos recém-nascidos. Entretanto, estudos comprovam a influência da amamentação na composição da microbiota^{21,22}. Os componentes do leite podem influenciar no crescimento e fixação bacteriana na boca, estômago e intestino²¹. Dentre as bactérias lácticas isoladas a partir de leite materno, duas espécies predominam: *Lactobacillus gasseri* e *Enterococcus faecium*, que são consideradas probióticas²². A possibilidade de bactérias não-cariogênicas colonizarem a cavidade oral durante o início da vida pode resultar em efeito benéfico a longo prazo. Nesse estudo não houve aumento da presença de *Lactobacillus* spp. na cavidade oral dos bebês avaliados e a identificação de diferentes espécies de *Lactobacillus* spp. não foi possível devido a não utilização de técnicas de abordagem molecular. Outro estudo indica que o colostro e o leite de mulheres saudáveis contêm estafilococos, estreptococos, corinebactérias, propionibactéria, bifidobactérias e bactérias produtoras de ácido láctico²³. Os estreptococos estão entre os filotipos dominantes no leite humano, sugerindo um potencial papel na formação da microbiota salivar²⁴. Em contraste, as crianças alimentadas com dieta à base de fórmulas possuem uma microbiota mais complexa, contendo bifidobactérias, bacteróides, clostrídias e estreptococos²⁵. Nas amostras analisadas nesse estudo não foi encontrada associação de *Streptococcus mutans*, *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. com aleitamento materno e fórmula.

Em comparação ao perfil da microbiota oral de crianças provenientes de parto vaginal e cesariana, foi observada uma maior prevalência de *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus curvata*, *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus casei* em crianças provenientes de parto vaginal¹. No presente estudo, o número de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. não diferiu em relação ao tipo de parto.

Estudos mostraram que a renda familiar influencia na experiência de cárie, havendo uma relação significativa entre grupo socioeconômico e proporção de crianças livres de cárie, ou seja, classes sociais mais altas mostraram ter menos experiência com cáries^{26,27}. Além disso, crianças que desenvolvem bons hábitos de higienização precocemente terão maiores chances de crescer com boas condições de saúde bucal²⁸. Recomenda-se a higienização bucal do bebê após alimentar-se ou no mínimo à noite, após a última amamentação²⁸. O presente estudo observou que a maioria dos responsáveis realizavam a higienização dos bebês desde a primeira coleta (0 meses) e que a renda familiar predominou na faixa de ≤1500, >1500 e <3000 reais. Para os responsáveis que não higienizavam a cavidade oral dos bebês, orientamos a molhar a ponta da

fralda ou de uma gaze em água filtrada ou fervida e realizar a limpeza bucal, limpando a parte interna da bochecha, gengivas e língua de forma a remover os resíduos da alimentação. Observamos a boa adesão dos responsáveis, tanto que na última coleta todos estavam higienizando a cavidade bucal dos bebês.

Conclusão

A média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. de bebês permaneceu estável durante o primeiro ano de vida. Não houve associação entre o número de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. com tipo de parto, tipo de aleitamento, sexo, renda familiar, tipo de alimentação, higiene bucal e presença de dentes decíduos. A execução de uma análise mais robusta como a biologia molecular pode permitir a identificação de diferentes espécies desses micro-organismos presentes na cavidade oral de recém-nascidos, possibilitando um maior conhecimento das modificações que ocorrem ao longo do tempo.

Agradecimentos

Aos trabalhadores da Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias por cederem o espaço físico para o acompanhamento dos recém-nascidos.

À PROPESQ pela bolsa de Iniciação Científica.

Referências

1. Nelun Barfod M, Magnusson K, Lexner MO, Blomqvist S, Dahlén G, Twetman S. Oral microflora in infants delivered vaginally and by caesarean section. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21(6):401-6.
2. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol.* 2014;5:427.
3. Könönen E. Development of oral bacterial flora in young children. *Ann Med.* 2000;32(2):107-12.
4. Axelsson L. Lactic Acid Bacteria: Classification and physiology. In *Lactic Acid Bacteria. Microbial and Functional Aspects*, 2004, pp. 1-66. Edited by S. Salminen, A. von Wright & A. Ouwehand. New York, USA: Marcel Dekker, Inc
5. Ahrné S, Nobaek S, Jeppsson B, Adlerberth I, Wold AE, Molin G. The normal *Lactobacillus* flora of healthy human rectal and oral mucosa. *J Appl Microbiol.* 1998;85(1):88-94.
6. Lapidattanakul J, Nakano K. Mother-to-child transmission of mutans streptococci. *Future Microbiol.* 2014;9(6):807-23.

7. Sharma R, Prabhakar A, Gaur A. Mutans Streptococci Colonization in Relation to Feeding Practices, Age and the Number of Teeth in 6 to 30-Month-Old Children: An in vivo Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2012;5(2):124-31.
8. Teanpaisan R, Thitasomakul S, Piwat S, Thearmontree A, Pithpornchaiyakul W, Chankanka O. Longitudinal study of the presence of mutans streptococci and lactobacilli in relation to dental caries development in 3-24 month old Thai children. *International Dental Journal.* 2007;57(6):445-51.
9. Beighton D, Al-Haboubi M, Mantzourani M, Gilbert SC, Clark D, Zoitopoulos L, et al. Oral Bifidobacteria: caries-associated bacteria in older adults. *J Dent Res.* 2010;89(9):970-4.
10. Saad Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006;42(1):1-16.
11. Jindal G, Pandey RK, Singh RK, Pandey N. Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2012;2(2):110-5.
12. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(26):11971-5.
13. Vestman NR, Timby N, Holgersson PL, Kressirer CA, Claesson R, Domellöf M, et al. Characterization and in vitro properties of oral lactobacilli in breastfed infants. *BMC Microbiol.* 2013;13:193.
14. Mohan A, Morse DE, O'Sullivan DM, Tinanoff N: The relationship between bottle usage/content, age, and number of teeth with mutans streptococci colonization in 6–24-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26: 12–20.
15. Moynihan, P. J.; Holt, R. D. The national diet and nutrition survey of 1,5 to 4,5 year old children: summary of the findings of the dental survey. *Br. Dent. J.*, 1996; 181(9): 328-332.
16. Souza Filho M D et al. Diet and cavities in preschool children at the age group from 36 to 68 months. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP,* 2006; 31(3): 47-60.
17. Brasil. Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde. Resolução 466/12 Aprova as Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html
18. Tanner AC, Milgrom PM, Kent R, Mokeem SA, Page RC, Riedy CA, et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. *J Dent Res.* 2002;81(1):53-7.
19. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol.* 2002;40(3):1001-9.

20. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res.* 1993;72(1):37-45.
21. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr.* 2004;134(4):989-95.
22. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr.* 2003;143(6):754-8.
23. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69(1):1-10.
24. Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation? *Adv Nutr.* 2014;5(6):779-84.
25. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr.* 1999;46:353-82.
26. Tinanoff N. Dental caries risk assessment and prevention. *Dent Clin North Am.* 1995;39:709-19.
27. Freire MC, Melo RB, Silva SA. Dental caries prevalence in relation to socioeconomic status of nursery school children in Goiânia-GO, Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol* 1996;24:357-61.
28. Faustino-Silva DD, Ritter F, Nascimento IM, Fontanive PVN, Persici S, Rossoni E. Cuidados em saúde bucal na primeira infância: percepções e conhecimentos de pais ou responsáveis de crianças em um centro de saúde de Porto Alegre, RS. *Rev Odonto Ciênc.* 2008;23(4):375-79.

Tabela 1. Média e desvio-padrão de \log_{10} UFC/mL de *Lactobacillus* spp. de acordo com as variáveis demográficas, socioeconômicas, comportamentais e clínicas nos diferentes períodos de acompanhamento.

Variáveis	n (%)	T1	n (%)	T2	n (%)	T3	n (%)	T4
Sexo								
Feminino	05 (41,67)	4,20±2,50	05 (41,67)	2,77±2,69	05 (41,67)	4,75±1,38	05 (41,67)	3,09±2,19
Masculino	07 (58,33)	3,95±2,04	07 (58,33)	2,60±2,51	07 (58,33)	1,98±2,52	07 (58,33)	1,13±2,16
Tipo de parto								
Normal	07 (58,33)	4,26±2,12	07 (58,33)	2,63±2,57	07 (58,33)	4,08±2,12	07 (58,33)	2,21±2,34
Cesariana	05 (41,67)	3,77±2,36	05 (41,67)	2,73±2,61	05 (41,67)	1,79±2,53	05 (41,67)	1,58±2,47
Tipo de aleitamento								
Materno	06 (50,00)	3,50±2,82	02 (16,67)	2,66±3,76	0	-	0	-
Fórmula	06 (50,00)	4,61±1,16	10 (83,33)	2,68±2,42	12 (100,00)	3,13±2,49	12 (100,00)	1,95±2,30
Renda familiar								
≤1500	05 (41,67)	2,93±2,75	05 (41,67)	1,71±2,47	05 (41,67)	2,67±2,77	05 (41,67)	1,31±1,92
>1500 e <3000	05 (41,67)	5,10±1,19	05 (41,67)	4,04±2,29	05 (41,67)	3,05±2,78	05 (41,67)	1,78±2,63
≥3000	02 (16,67)	4,26±1,58	02 (16,67)	1,69±2,39	02 (16,67)	4,50±1,21	02 (16,67)	3,96±2,35
Tipo de alimentação								
Ausente	12 (100,00)	4,05±2,13	07 (58,33)	3,16±2,34	0	-	0	-
Presente	0	-	05 (41,67)	1,99±2,74	12 (100,00)	3,13±2,49	12 (100,00)	1,95±2,30
Higiene bucal								
Ausente	05 (41,67)	3,79±2,40	04 (33,33)	3,47±2,54	01 (8,33)	2,30	0	-
Presente	07 (58,33)	4,25±2,09	08 (66,67)	2,28±2,50	11 (91,67)	3,21±2,59	12 (100,00)	1,95±2,30
Número de dentes								
Ausente	12 (100,00)	4,05±2,13	11 (91,67)	2,92±2,43	07 (58,33)	2,37±2,45	01 (08,33)	0
Presente	0	-	01 (08,33)	0	05 (41,67)	4,19±2,36	11 (91,67)	2,12±2,32
Total	12 (100,00)	4,05±2,13 ^a	12 (100,00)	2,67±2,47 ^a	12 (100,00)	3,13±2,49 ^a	12 (100,00)	1,95±2,30 ^a

T1 = 0 meses; T2 = 3 meses; T3 = 9 meses; T4 = 12 meses.

Letras iguais indicam ausência de significância estatística (ANOVA, $P>0,05$).

Tabela 2. Média e desvio-padrão de \log_{10} UFC/mL de *Streptococcus mutans* de acordo com as variáveis demográficas, socioeconômicas, comportamentais e clínicas nos diferentes períodos de acompanhamento.

Variáveis	n (%)	T1	n (%)	T2	n (%)	T3	n (%)	T4
Sexo								
Feminino	05 (41,67)	2,17±2,99	05 (41,67)	1,61±2,42	05 (41,67)	2,02±2,86	05 (41,67)	3,00±2,75
Masculino	07 (58,33)	3,60±1,91	07 (58,33)	1,25±1,67	07 (58,33)	2,23±2,23	07 (58,33)	2,81±2,74
Tipo de parto								
Normal	07 (58,33)	2,68±2,70	07 (58,33)	1,15±2,12	07 (58,33)	2,73±2,63	07 (58,33)	2,93±2,76
Cesariana	05 (41,67)	3,46±2,12	05 (41,67)	1,75±1,76	05 (41,67)	1,33±1,96	05 (41,67)	2,82±2,72
Tipo de aleitamento								
Materno	06 (50,00)	2,49±2,78	02 (16,67)	1,30±1,83	0	-	0	-
Fórmula	06 (50,00)	3,52±2,08	10 (83,33)	1,42±2,03	12 (100,00)	2,15±2,39	12 (100,00)	2,89±2,62
Renda familiar								
≤1500	05 (41,67)	1,87±2,59	05 (41,67)	1,09±2,43	05 (41,67)	2,93±2,77	05 (41,67)	1,94±2,66
>1500 e <3000	05 (41,67)	4,72±1,27	05 (41,67)	1,81±1,79	05 (41,67)	1,76±2,43	05 (41,67)	3,98±2,43
≥3000	02 (16,67)	1,57±2,22	02 (16,67)	1,15±1,62	02 (16,67)	1,15±1,62	02 (16,67)	2,53±3,58
Tipo de alimentação								
Ausente	12 (100,00)	3,00±2,40	07 (58,33)	1,62±1,64	0	-	0	-
Presente	0	-	05 (41,67)	1,09±2,43	12 (100,00)	2,15±2,39	12 (100,00)	2,89±2,62
Higiene bucal								
Ausente	05 (41,67)	1,67±2,55	04 (33,33)	2,01±2,59	01 (8,33)	0	0	-
Presente	07 (58,33)	3,95±1,92	08 (66,67)	1,09±1,61	11 (91,67)	2,34±2,40	12 (100,00)	2,89±2,62
Número de dentes								
Ausente	12 (100,00)	3,00±2,40	11 (91,67)	1,52±1,96	07 (58,33)	0,95±1,73	01 (08,33)	4,65
Presente	0	-	01 (08,33)	0	05 (41,67)	3,83±2,27	11 (91,67)	2,73±2,68
Total	12 (100,00)	3,00±2,40 ^a	12 (100,00)	1,40±1,92 ^a	12 (100,00)	2,15±2,39 ^a	12 (100,00)	2,89±2,62 ^a

T1 = 0 meses; T2 = 3 meses; T3 = 9 meses; T4 = 12 meses.

Letras iguais indicam ausência de significância estatística (ANOVA, $P > 0,05$).

Tabela 3. Média e desvio-padrão de \log_{10} UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. de acordo com as variáveis demográficas, socioeconômicas, comportamentais e clínicas nos diferentes períodos de acompanhamento.

Variáveis	n (%)	T1	n (%)	T2	n (%)	T3	n (%)	T4
Sexo								
Feminino	05 (41,67)	3,38±3,10	05 (41,67)	3,59±2,19	05 (41,67)	5,55±0,91	05 (41,67)	2,96±2,74
Masculino	07 (58,33)	2,91±2,92	07 (58,33)	3,00±2,86	07 (58,33)	3,35±3,20	07 (58,33)	3,13±2,98
Tipo de parto								
Normal	07 (58,33)	3,57±2,62	07 (58,33)	3,16±2,28	07 (58,33)	4,67±2,20	07 (58,33)	3,05±2,93
Cesariana	05 (41,67)	2,47±3,38	05 (41,67)	3,36±3,08	05 (41,67)	3,71±3,43	05 (41,67)	3,07±2,82
Tipo de aleitamento								
Materno	06 (50,00)	2,82±3,10	02 (16,67)	5,01±0,66	0	-	0	-
Fórmula	06 (50,00)	3,49±2,88	10 (83,33)	2,89±2,61	12 (100,00)	4,27±2,67	12 (100,00)	3,06±2,75
Renda familiar								
≤1500	05 (41,67)	3,30±3,03	05 (41,67)	2,15±2,97	05 (41,67)	3,25±3,04	05 (41,67)	3,89±2,23
>1500 e <3000	05 (41,67)	4,17±2,68	05 (41,67)	3,69±2,33	05 (41,67)	4,62±2,75	05 (41,67)	3,45±3,19
≥3000	02 (16,67)	0	02 (16,67)	4,85±0,44	02 (16,67)	5,94±0,02	02 (16,67)	0
Tipo de alimentação								
Ausente	12 (100,00)	3,11±2,87	07 (58,33)	3,83±2,65	0	-	0	-
Presente	0	-	05 (41,67)	2,42±2,30	12 (100,00)	4,27±2,67	12 (100,00)	3,06±2,75
Higiene bucal								
Ausente	05 (41,67)	2,40±3,01	04 (33,33)	2,59±3,00	01 (8,33)	4,38	0	-
Presente	07 (58,33)	4,11±2,92	08 (66,67)	3,57±2,38	11 (91,67)	4,26±2,81	12 (100,00)	3,06±2,75
Número de dentes								
Ausente	12 (100,00)	3,11±2,87	11 (91,67)	3,26±2,63	07 (58,33)	4,12±2,92	01 (08,33)	4,19
Presente	0	-	01 (08,33)	3,07	05 (41,67)	4,47±2,61	11 (91,67)	2,95±2,86
Total	12 (100,00)	3,11±2,87 ^a	12 (100,00)	3,24±2,51 ^a	12 (100,00)	4,27±2,67 ^a	12 (100,00)	3,06±2,75 ^a

T1 = 0 meses; T2 = 3 meses; T3 = 9 meses; T4 = 12 meses.

Letras iguais indicam ausência de significância estatística (ANOVA, $P>0,05$).

3 CONCLUSÃO

A média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. de bebês permaneceu estável durante o primeiro ano de vida. As variáveis tipo de parto, tipo de aleitamento, sexo, renda familiar, tipo de alimentação, presença de higiene bucal e presença de dentes erupcionados não foram indicadores de risco para o aumento do número de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. nos diferentes períodos de acompanhamento. Novas investigações são necessárias, uma vez que há poucos dados na literatura com acompanhamento nesse primeiro ano de vida para comparar com nossos resultados em relação às variáveis analisadas.

REFÊNCIAS

- AALTONEN, A. S.; TENOVUO, J. Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children: a cohort study. **Pediatr. Dent.**, Chicago, v. 16, no. 2, p. 110-116, 1994 Mar./Apr. 1994.
- AIMUTIS, W. R. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. **J. Nutr.**, Rockville, M.D., v. 134, no. 4, p. 989S-995S, Apr. 2004.
- AREIAS, C. M. **Efeito da composição da saliva na prevalência da cárie dentária em crianças com trissomia 21.** 2011. 97 f. Dissertação (Doutorado em Odontopediatria)-Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto, Porto.
- BALEY, J. E. Neonatal candidiasis: the current challenge. **Clin Perinatol.**, Cleveland, v. 18, n. 2, p. 263-80, June 1991.
- BALLARD, O.; MORROW, A. L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. **Pediatr. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 60, no. 1, p. 49-74, Feb. 2013.
- BARFOD, M. N. et al. Oral microflora in infants delivered vaginally and by caesarean section. **Int. J. Pediatric Dent.**, Oxford, v. 21, no. 6, p. 401-406, Nov. 2011.
- BECKER, M. R. et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. **J Clin Microbiol.**, Washington, v. 40, n. 3, p. 1001-1009, Mar. 2002.
- BEIGHTON, D. et al. Oral Bifidobacteria: caries-associated bacteria in older adults. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 89, no. 9, p. 970-974, Sept. 2010.
- BENSON, A. K. et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v. 107, no. 44, p. 18933-18938, Nov. 2010.
- CARLETTO KÖRBER, F. P.; CORNEJO, L. S.; GIMÉNEZ, M. G. Early acquisition of *Streptococcus mutans* for children. **Acta Odontol. Latinoam.**, Buenos Aires, v. 18, no. 2, p. 69-74, 2005.
- CAUFIELD, P. W.; CUTTER, G. R.; DASANAYAKE, A. P. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 72, no. 1, p. 37-45, Jan. 1993.
- COPPA, G. V. et al. Prebiotics in human milk: a review. **Dig. Liver Dis.**, Amsterdam, v. 38, Suppl. 2, p. S291-S294, Dec. 2006.
- DOMINGUEZ-BELLO, M. G. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v. 107, no. 26, p. 11971-11975, June 2010.
- FALLANI, M. et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. **J. Pediatr.**

Gastroenterol. Nutr., New York, v. 51, no. 1, p. 77-84, July 2010.

FANARO, S. et al. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. **Acta Paediatr. Suppl.**, Stockolm, v. 91, no. 441, p. 48-55, Sept. 2003.

JORGE, A. O. C. Ecologia bucal. In: _____. **Microbiologia bucal**. 2. ed. São Paulo: Liv. Santos, 1998. Cap.1, p.1-20.

KÖNÖNEN, E. Development of oral bacterial flora in young children. **Ann. Med.**, London, v. 32, no. 2, p. 107-112, Mar. 2000.

PAIVA, E.; FERREIRA, L. P. Avaliação do risco de cárie em odontopediatria: a sua utilidade como meio de prevenção. **Acta Pediátr. Port.**, Porto, v. 40, n. 2, p. 59-64, fev. 2009.

MARTIN, R. et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. **J. Pediatr.**, St. Louis, v. 143, no. 6, p. 754-758, Dec. 2003.

PAIVA, E.; FERREIRA, L. P. Avaliação do risco de cárie em odontopediatria: A sua utilidade como meio de prevenção. **Acta Pediátrica Portuguesa**, Porto, v. 40, n. 2, p. 59-64, fev. 2009.

PENDERS, J. et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. **Pediatrics**, Springfield, v. 118, no. 2, p. 511-521, Aug. 2006.

REIS, J.; MELO, P. A cárie dentária, uma doença infecciosa. **Rev. Port. Saúde Pública**, Lisboa, v. 21, n. 1, p. 35-40, jan./jun. 2003.

SAAD, I. M. S. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **RBCF, Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, São Paulo, v. 42, n. 1, jan./mar. 2006.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Ecologia oral e a cárie dentária. In: _____. **Cariologia clínica**. 3. ed. São Paulo: Liv. Santos, 2001. Cap. 3, p. 45-69.

TANNER, A. C. et al. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. **J. Dent Res.**, Chicago, v. 81, n. 1, p. 53-7, Jan. 2002.

VESTMAN, N. R. et al. Characterization and in vitro properties of oral lactobacilli in breastfed infants. **BMC Microbiol.**, London, v. 13, p. 193, 2013.