

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

DEISE KWIATKOWSKI

COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE BEBÊS DURANTE OS
PRIMEIROS 24 MESES DE VIDA

Porto Alegre

2016

DEISE KWIATKOWSKI

COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE BEBÊS DURANTE OS
PRIMEIROS 24 MESES DE VIDA

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.Dr^ª. Sandra Liana Henz

Porto Alegre
2016

CIP - Catalogação na Publicação

Kwiatkowski, Deise
Colonização microbiana da cavidade oral de bebês
durante os primeiros 24 meses de vida / Deise
Kwiatkowski. -- 2016.
32 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, 2016.

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

Dedico este trabalho a meus amados pais, Renato e Romilda, que sempre me apoiaram nesta caminhada, incentivaram-me a lutar pelos meus sonhos e nunca mediram esforços para que eu chegasse até aqui. São minha base, meu exemplo e sinônimo de amor incondicional. O sonho pode ser meu, mas a conquista certamente é nossa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter colocado pessoas tão especiais no meu caminho e permitido que eu chegasse até aqui.

Agradeço aos meus pais pelos ensinamentos, apoio, incentivo, amor, por entenderem minhas ausências em certos momentos e por não medirem esforços para me ajudar nesta caminhada.

Agradeço à minha orientadora, professora Sandra, por acreditar em mim, pelos ensinamentos compartilhados, pela atenção, amizade, dedicação e por não medir esforços para a realização deste trabalho.

Agradeço aos componentes da banca, professora Adriela e professor Rodrigo, por aceitarem dividir comigo este momento tão importante da minha vida e por tudo que fizeram por mim ao longo da graduação.

Agradeço aos meus amigos, em especial à Elena, Samara, Fernanda, Camila, Waleska e Lilian, pela amizade, apoio, incentivo, momentos compartilhados e por contribuírem, de diferentes formas, para a realização deste trabalho.

Agradeço ao grupo do LABIM (graduandos, docentes, mestrandos e doutorandos) pelo incentivo e pelos momentos que juntos passamos. Mais do que um grupo, formamos a família LABIM.

Agradeço à Luisa Mercado pela amizade, incentivo, pelos inúmeros ensinamentos e por ter sido o meu braço direito para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Grupo Hospitalar Conceição, especialmente à equipe da Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias, pela parceria no projeto e por ceder o espaço físico para o acompanhamento das crianças.

Agradeço às crianças e seus familiares que confiaram em mim e participaram deste estudo.

Agradeço à UFRGS por fornecer um ensino gratuito e de excelência.

Agradeço à Vânia por ter realizado a análise estatística deste trabalho, pela extrema paciência, dedicação e atenção.

Enfim, agradeço a todos aqueles que me apoiaram, incentivaram e foram minha fonte de inspiração ao longo dessa caminhada, sendo fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.

Carl G. Jung

RESUMO

KWIATKOWSKI, Deise. **Colonização microbiana da cavidade oral de bebês durante os primeiros 24 meses de vida.** 2016. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

O objetivo deste estudo foi avaliar a colonização de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. na cavidade oral de bebês durante os primeiros 24 meses de vida. Quarenta e cinco bebês foram avaliados aos 0 (T1), 3 (T2), 6 (T3), 12 (T4) e 24 meses de idade (T5) 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 (materno ou fórmula) e higiene bucal. No exame intrabucal foi avaliado o número de dentes erupcionados e uma amostra de saliva foi coletada da cavidade bucal 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 analisados através das Equações de Estimação Generalizadas (GEE). As médias de \log_{10} UFC/mL de *Lactobacillus* spp. (T1 = $3,25 \pm 2,55$; T2 = $2,84 \pm 2,47$; T3 = $2,45 \pm 2,52$; T4 = $2,03 \pm 2,28$; T5 = $1,95 \pm 2,92$), *Streptococcus mutans* (T1 = $1,96 \pm 2,24$; T2 = $1,39 \pm 1,91$; T3 = $1,76 \pm 2,25$; T4 = $2,30 \pm 2,44$; T5 = $3,10 \pm 1,89$) e *Bifidobacterium* spp. (T1 = $2,65 \pm 2,74$; T2 = $2,21 \pm 2,61$; T3 = $3,12 \pm 2,85$; T4 = $2,89 \pm 2,75$; T5 = $2,57 \pm 2,60$) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ao longo dos períodos de acompanhamento. O sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento e presença de dentes erupcionados não foram estatisticamente ($P \leq 0,05$) associados com o aumento de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em cada período de acompanhamento. Renda familiar, grau de escolaridade do responsável pela criança e presença de higiene bucal sugerem associação ($P \leq 0,05$) com o aumento de UFC/mL dos micro-organismos analisados no estudo. Em conclusão, a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. dos bebês permaneceu estável durante os primeiros 24 meses de vida.

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

ABSTRACT

KWIATKOWSKI, Deise. **Microbial colonization of the oral cavity of babies during the first 24 months of life.** 2016. 32 p. Final Paper (Graduation in Dentistry) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

The aim of this study was to assess the colonization of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. in the oral cavity of babies during the first 24 months of life. Forty five babies were evaluated at 0 (T1), 3 (T2), 6 (T3), 12 (T4) and 24 months of age (T5) 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) and oral hygiene, and was answered by the responsible for each baby. In intraoral examination was rated 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. Data were analyzed using the Generalized Estimating Equations (GEE). Means of \log_{10} CFU / mL of *Lactobacillus* spp. (T1 = 3.25 ± 2.55 ; T2 = 2.84 ± 2.47 ; T3 = 2.45 ± 2.52 ; T4 = 2.03 ± 2.28 ; T5 = 1.95 ± 2.92), *Streptococcus mutans* (T1 = 1.96 ± 2.24 ; T2 = 1.39 ± 1.91 ; T3 = 1.76 ± 2.25 ; T4 = 2.30 ± 2.44 ; T5 = 3.10 ± 1.89) and *Bifidobacterium* spp. (T1 = 2.65 ± 2.74 ; T2 = 2.21 ± 2.61 ; T3 = 3.12 ± 2.85 ; T4 = 2.89 ± 2.75 ; T5 = 2.57 ± 2.60) were not statistically significantly different during the periods of follow-up. Sex, type of birth, breast or bottle milk feeding and presence of erupted teeth were not statistically ($P \leq 0,05$) associated with a greater number of CFU/mL of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* and *Bifidobacterium* spp. in each period of follow-up. Family income, level of education of the child's guardian and presence of oral hygiene suggest association ($P \leq 0,05$) 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 CFU/mL of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. of babies remained stable during the first 24 months of life.

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

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	12
3	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

O corpo humano apresenta de 10 a 100 trilhões de células microbianas que se encontram em simbiose com o mesmo (URSELL et al., 2012). O conjunto da diversidade genética de micro-organismos, bactérias, vírus, fungos, protozoários e arqueas, distribuídos nas várias partes do organismo, forma o microbioma (THE HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012). Este é único em cada indivíduo e, geralmente, é resistente e estável a perturbações, mas pode variar de acordo com o tempo e com a região corporal, no mesmo indivíduo e entre os indivíduos (PARFREY; KNIGHT, 2012).

A aquisição da microbiota residente é um processo pelo qual o corpo humano passa desde o nascimento. As superfícies do organismo expostas ao ambiente tornam-se colonizadas, sendo as propriedades físicas e biológicas de cada sítio muito importantes para determinar quais micro-organismos irão se estabelecer e predominar em cada local (FEJERSKOV; KIDD, 2011).

O mesmo ocorre na cavidade oral, onde é possível observar variadas interações microbianas em virtude do elevado número e variedade de micro-organismos que nela habitam (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 2001). Do ponto de vista ecológico, a cavidade oral é um sistema de crescimento aberto em que micro-organismos e nutrientes são constantemente introduzidos e removidos do sistema. Dessa forma, os micro-organismos necessitam possuir capacidade de aderência em tecidos moles ou duros ou capacidade de ficar retidos nos sítios para formar uma comunidade (JORGE, 2007).

A comunidade é formada por diferentes populações e cada população ocupa um nicho. Porém, o desenvolvimento da comunidade é um processo dinâmico e uma série de modificações ocorre no meio levando à sucessão microbiana (JORGE, 2007). Essa sucessão é resultado do balanço entre a microbiota e a relação com o hospedeiro e fatores internos e externos (FANARO et al., 2003; PENDERS et al., 2006). Os fatores internos para o estabelecimento da flora gastrointestinal incluem o estágio de desenvolvimento do trato gastrointestinal e fatores do hospedeiro (BENSON et al., 2010). Os fatores externos incluem o ambiente durante o nascimento, a microbiota da mãe, a alimentação do bebê, a idade, a hospitalização infantil e a utilização de antibióticos pela criança (PENDERS et al., 2006; FALLANI et al., 2010; NELSON et al., 2015).

Ao nascimento, o feto normalmente é asséptico. No entanto, o ambiente bucal estéril permite a implantação de micro-organismos e poucas horas após o nascimento vários micro-organismos já podem ser encontrados. No segundo dia de vida, aproximadamente 15% das

crianças ainda apresenta a cavidade bucal estéril e no terceiro mês de vida, há microbiota na boca de todas as crianças (JORGE, 2007). Segundo Baley (1991), a colonização inicial do recém-nascido ocorre através da contaminação pela pele, contato com secreção vaginal infectada no momento do parto e pelo contato com os cuidadores.

Crianças nascidas por meio de parto normal apresentam comunidades bacterianas semelhantes à microbiota vaginal da sua mãe, dominada por *Lactobacillus*, *Prevotella* ou *Sneathia* spp. e as crianças nascidas através de cesariana apresentam comunidades bacterianas semelhantes às da pele, com predomínio de *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* spp. (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010). Segundo Lif Holgerson et al. (2011), bebês nascidos por via vaginal apresentam maior diversidade taxonômica aos três meses de idade quando comparados com bebês nascidos por cesariana.

Recém-nascidos por cesariana adquiriram *Streptococcus mutans* quase um ano antes de bebês nascidos por parto normal (LI et al., 2005). O contato com os micro-organismos vaginais parece desempenhar um importante papel na proteção contra a colonização por patógenos, diminuindo o risco de doenças atópicas (alergias, asma) (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2011).

Barford et al. (2011) avaliou o tipo de parto e a composição da microbiota oral de 84 bebês entre seis e dez meses de idade. Verificou maior prevalência de cepas de estreptococos (*Streptococcus salivarius*) relacionadas com a saúde e lactobacilos (*Lactobacillus curvata*, *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus casei*) em recém-nascidos de parto normal quando comparados com recém-nascidos por cesariana. Micro-organismos cárie associados (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*) foram encontrados em 63% e 59% de todas as crianças, respectivamente (BARFORD et al., 2011).

O gênero *Lactobacillus* compreende um grupo heterogêneo de micro-organismos lácticos, Gram-positivos, não formadores de esporos e raramente apresentam mobilidade por flagelos peritríqueos. São anaeróbios facultativos ou microaerofílicos e apresentam crescimento mais acelerado em condições ligeiramente ácidas (AXELSSON, 2004; JORGE, 2007). Os *Lactobacillus* habitam o trato gastrointestinal de aves e mamíferos, a vagina de mamíferos e a cavidade bucal humana, sendo relacionados com a progressão de lesões de cárie, pois apresentam pouca adesão às superfícies lisas do dente e apresentam afinidade pela dentina (JORGE, 2007; AREIAS, 2011; MALTZ; PAROLO; JARDIM, 2012).

De acordo com Vestman et al. (2013) crianças alimentadas por fórmulas apresentam menor colonização da cavidade bucal por *Lactobacillus* quando comparadas às alimentadas com leite materno. Baixas contagens de unidades formadoras de colônias (UFC) da

Lactobacillus spp. e fluxo salivar adequado indicam baixo risco de desenvolvimento de cárie (PAIVA; FERREIRA, 2009). 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 (REIS; MELO, 2003).

O gênero *Bifidobacterium*, ou pequeno bastonete bífido, é composto por bacilos Gram-positivos, catalase-negativos, não formadores de esporos, imóveis e anaeróbios estritos, encontrados no biofilme humano e já isolados da cárie humana (JORGE, 2007). As bifidobactérias se comportam como micro-organismos cárie associados e foram detectadas em altos números em lesões de cárie em crianças. No entanto, o seu papel no processo de cárie e como marcador de risco requer uma investigação aprofundada (BECKER et al., 2002; BEIGHTON et al., 2010).

Os fatores bifidogênicos são substâncias prebióticas presentes no leite materno que têm a capacidade de estimular o crescimento de bactérias benéficas no intestino e inibir a proliferação de patógenos (MARTÍN et al., 2003; SAAD, 2006). Assim sendo, além de fornecer nutrição e fatores bioativos para garantir a saúde da criança, o leite materno influencia na fixação e crescimento de micro-organismos no intestino, estômago e cavidade oral (AIMUTIS, 2004; VESTMAN et al., 2013). Os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, são frequentemente empregados como suplementos probióticos para alimentos e têm sido isolados de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável (SAAD, 2006).

A erupção dos dentes introduz novos habitats e é possível observar a presença de *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mutans*. Aos poucos a microbiota aeróbia passa à anaeróbia facultativa. Mesmo crianças sem dentes, mas que possuam superfícies duras na cavidade oral, como aparelhos acrílicos usados para cobrir fendas palatinas, podem apresentar *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mutans* em tais placas (JORGE, 2007). Estudos de tipificação molecular têm identificado a transmissão vertical de estreptococos orais e espécies Gram-negativas. Li e Caulfield (1995) verificaram que em 71% dos 34 pares de mãe-filho os genótipos dos *Streptococcus mutans* encontrados nas crianças foram iguais aos das mães. A aquisição inicial ocorre em um período denominado "janela de infectividade" que coincide com erupção dentária e abrange o período de 19-31 meses de idade (CAUFIELD; CUTTER; DASANAYAKE, 1993).

Os estreptococos do grupo mutans (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*) são acidúricos, acidogênicos, sintetizam polissacarídeos insolúveis da sacarose e possuem capacidade de adesão em tecidos duros, tendo um importante papel na etiologia da cárie

dentária (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 2001; CARLETTO KÖRBER; CORNEJO; GIMÉNEZ, 2005; JORGE, 2007).

Segundo Kononen (2000), a mãe é a principal fonte de transmissão das bactérias orais para as crianças. *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium spp.* podem estar presentes em condições de saúde e doença. Entretanto, não há muitas informações sobre os fatores que influenciam o estabelecimento desses micro-organismos na cavidade bucal de crianças. Assim sendo, este estudo objetivou analisar a colonização microbiana de *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium spp.* durante os primeiros 24 meses de vida e avaliar se há associação entre essa colonização e as variáveis: sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento, renda familiar, escolaridade do responsável pela criança, higiene bucal e dentes erupcionados.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

COLONIZAÇÃO MICROBIANA DA CAVIDADE ORAL DE BEBÊS DURANTE OS PRIMEIROS 24 MESES DE VIDA

D Kwiatkowski¹, W Tarzo¹, CM Carlos¹, 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 os primeiros 24 meses de vida. Quarenta e cinco bebês foram avaliados aos 0 (T1), 3 (T2), 6 (T3), 12 (T4) e 24 meses de idade (T5) 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 (materno ou fórmula) e higiene bucal. No exame intrabucal foi avaliado o número de dentes erupcionados e uma amostra de saliva foi coletada da cavidade bucal 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 analisados através das Equações de Estimação Generalizadas (GEE). As médias de \log_{10} UFC/mL de *Lactobacillus* spp. (T1 = $3,25 \pm 2,55$; T2 = $2,84 \pm 2,47$; T3 = $2,45 \pm 2,52$; T4 = $2,03 \pm 2,28$; T5 = $1,95 \pm 2,92$), *Streptococcus mutans* (T1 = $1,96 \pm 2,24$; T2 = $1,39 \pm 1,91$; T3 = $1,76 \pm 2,25$; T4 = $2,30 \pm 2,44$; T5 = $3,10 \pm 1,89$) e *Bifidobacterium* spp. (T1 = $2,65 \pm 2,74$; T2 = $2,21 \pm 2,61$; T3 = $3,12 \pm 2,85$; T4 = $2,89 \pm 2,75$; T5 = $2,57 \pm 2,60$) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ao longo dos períodos de acompanhamento. O sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento e presença de dentes erupcionados não foram estatisticamente ($P \leq 0,05$) associados com o aumento de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em cada período de acompanhamento. Renda familiar, grau de escolaridade do responsável pela criança e presença de higiene bucal sugerem associação ($P \leq 0,05$) com o aumento de UFC/mL dos micro-organismos analisados no estudo. Em conclusão, a média de UFC/ml de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. dos bebês permaneceu estável durante os primeiros 24 meses 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 cavity of babies during the first 24 months of life. Forty five babies were evaluated at 0 (T1), 3 (T2), 6 (T3), 12 (T4) and 24 months of age (T5) 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) and oral hygiene, and was answered by the responsible for each baby. In intraoral examination was rated 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. Data were analyzed using the Generalized Estimating Equations (GEE). Means of \log_{10} CFU / mL of *Lactobacillus* spp. (T1 = 3.25 ± 2.55 ; T2 = 2.84 ± 2.47 ; T3 = 2.45 ± 2.52 ; T4 = 2.03 ± 2.28 ; T5 = 1.95 ± 2.92), *Streptococcus mutans* (T1 = 1.96 ± 2.24 ; T2 = 1.39 ± 1.91 ; T3 = 1.76 ± 2.25 ; T4 = 2.30 ± 2.44 ; T5 = 3.10 ± 1.89) and *Bifidobacterium* spp. (T1 = 2.65 ± 2.74 ; T2 = 2.21 ± 2.61 ; T3 = 3.12 ± 2.85 ; T4 = 2.89 ± 2.75 ; T5 = 2.57 ± 2.60) were not statistically significantly different during the periods of follow-up. Sex, type of birth, breast or bottle milk feeding and presence of erupted teeth were not statistically ($P \leq 0,05$) associated with a greater number of CFU/mL of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* and *Bifidobacterium* spp. in each period of follow-up. Family income, level of education of the child's guardian and presence of oral hygiene suggest association ($P \leq 0,05$) 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 CFU/mL of *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans*, and *Bifidobacterium* spp. of babies remained stable during the first 24 months of life.

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

Introdução

A aquisição da microbiota é um processo pelo qual o corpo humano passa desde o nascimento. As superfícies do organismo expostas ao ambiente tornam-se colonizadas, sendo as propriedades físicas e biológicas de cada sítio muito importantes para determinar quais micro-organismos irão se estabelecer e predominar em cada local¹. A colonização inicial do recém-nascido ocorre através da contaminação pela pele, contato com secreção vaginal infectada no momento do parto e pelo contato com os cuidadores^{2,3}. Essa exposição inicial aos micro-organismos pode ser decisiva para a manutenção da saúde bucal, pois estudos mostram que o estabelecimento de um ecossistema estável no trato gastrointestinal, incluindo a boca, pode ser resultado das variações microbianas que ocorrem durante os primeiros anos de vida⁴.

O gênero *Lactobacillus* compreende um grupo heterogêneo de micro-organismos lácticos, Gram-positivos, anaeróbios facultativos ou microaerofílicos e apresentam crescimento mais acelerado em condições ligeiramente ácidas^{5,6}. Os *Lactobacillus* habitam o trato gastrointestinal de aves e mamíferos, a vagina de mamíferos e a cavidade bucal humana, representando uma porção da microbiota normal^{6,7}. Os *Lactobacillus* spp. são relacionados com a progressão de lesões de cárie, pois apresentam pouca adesão às superfícies lisas do dente e possuem afinidade pela dentina^{6,8,9,10}.

A erupção dos dentes introduz novos habitats e é possível observar a presença de *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mutans*. Aos poucos a microbiota aeróbia passa à anaeróbia facultativa⁶. Os estreptococos do grupo mutans (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*) são acidúricos, acidogênicos, sintetizam polissacarídeos insolúveis da sacarose e possuem capacidade de adesão em tecidos duros, tendo um importante papel na etiologia da doença cárie^{6,9,11,12,13}. A aquisição inicial ocorre em um período denominado "janela de infectividade" que coincide com erupção dentária e abrange o período de 19-31 meses de idade¹⁴.

O gênero *Bifidobacterium*, é composto por bacilos Gram-positivos, catalase-negativos, não formadores de esporos, imóveis e anaeróbios estritos, encontrados no biofilme humano e já isolados na saliva, infecções endodônticas e dentina infectada^{6,15}. As bifidobactérias se comportam como micro-organismos cárie associados e foram detectadas em altos números em lesões de cárie em crianças. No entanto, o seu papel no processo carioso e como marcador de risco requer uma investigação aprofundada^{15,16}. Os fatores bifidogênicos são substâncias prebióticas presentes no leite materno que têm a capacidade de estimular o crescimento de bactérias benéficas no intestino e inibir a proliferação de patógenos^{17,18}. Os gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, são frequentemente empregados como suplementos probióticos para alimentos, têm sido isolados de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável, conferem benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas e parecem apresentar um efeito benéfico na prevenção de cárie dentária e outras doenças bucais^{18,19}.

O tipo de parto (vaginal ou cesária) pode induzir diferenças no desenvolvimento da microbiota, o que pode contribuir para variações fisiológicas ou na predisposição a doenças^{3,20}. Bebês

nascidos por parto normal apresentam maior diversidade taxonômica aos três meses de idade²¹. O tipo de aleitamento também pode interferir na colonização da cavidade oral. Um recente estudo indicou que crianças com alimentação à base de fórmulas apresentam menor colonização de *Lactobacillus* spp. quando comparadas com crianças alimentadas com leite materno²². Ainda, variáveis como idade, número de dentes erupcionados, consumo de bebidas adoçadas na mamadeira, hospitalização infantil e utilização de antibióticos pela criança podem influenciar na sucessão microbiana^{23,24,25,26}. Até o momento inexistem estudos que avaliem possíveis fatores que influenciam a colonização de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. em recém-nascidos até os 24 meses de vida.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a colonização microbiana de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. durante os primeiros 24 meses de vida e analisar se essa colonização possui associação com as variáveis: sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento, renda familiar, escolaridade do responsável pela criança, higiene bucal e dentes erupcionados.

Materiais e Métodos

O presente estudo longitudinal incluiu 45 crianças que foram acompanhadas durante os seus primeiros 24 meses 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 (T1), 3 (T2), 6 (T3), 12 (T4) e 24 meses de idade (T5). 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 466/12²⁷. Todos os responsáveis pelos recém-nascidos assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foram excluídos do estudo os bebês que apresentavam doenças crônicas ou utilizavam 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 e higiene bucal. No exame intrabucal analisou-se o número de dentes erupcionados e presença de lesões de cárie visíveis. Amostras de saliva da cavidade oral de cada bebê foram coletadas com auxílio de quatro 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 duas horas até a etapa de processamento. No laboratório procedeu-se a diluição da amostra em RTF, quando necessário, e uma alíquota de 50 µL foi semeada pela técnica de espalhamento em superfície com o auxílio de pérolas de

vidro estéreis. Para o cultivo, foram utilizadas placas do tipo RODAC contendo meios de cultura específicos: meio Rogosa SL Ágar (*Lactobacillus* spp.), meio Mitis salivarius Ágar complementado com Bacitracina e sacarose (*Streptococcus mutans*), “Trypticase Phytone Yeast Extract Modified” (*Bifidobacterium* spp.) e Ágar sangue (contagem total de micro-organismos). As placas foram cultivadas por cinco dias em anaerobiose a 37°C. Após esse período, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram identificadas através da coloração de Gram e contadas considerando a sua morfologia. Os resultados foram expressos em \log_{10} 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.

Sexo foi dicotomizado em feminino e masculino, tipo de parto foi dicotomizado em normal ou cesariana e aleitamento foi dicotomizado em materno ou aleitamento por fórmulas. Renda familiar foi categorizada em ≤ 1500 , >1500 e < 3000 , e ≥ 3000 reais. Escolaridade do responsável pela criança foi categorizada em ≤ 8 anos de estudo, > 8 e ≤ 11 anos de estudo, e >11 anos de estudo. Higiene bucal e dentes erupcionados foram dicotomizados em ausente ou presente.

A análise de dados foi realizada usando o software SPSS versão 18. Utilizou-se o teste de Equações de Estimação Generalizadas (GEE) e para localizar interações significativas foram utilizados testes de comparações múltiplas com ajuste de Bonferroni, havendo significância para $P \leq 0,05$. Os dados foram reportados por meio de média \pm DP (desvio-padrão).

Resultados

Nas tabelas 1, 2 e 3 está representada a distribuição das variáveis de acordo com a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp., respectivamente, em cada período de acompanhamento. De acordo com a Tabela 1, não houve diferença estatisticamente significativa entre a média de colônias de *Lactobacillus* spp. (T1 = 3,25 \pm 2,55; T2 = 2,84 \pm 2,47; T3 = 2,45 \pm 2,52; T4 = 2,03 \pm 2,28; T5 = 1,95 \pm 2,92) no período analisado. Da mesma forma, não houve diferença estatisticamente significativa entre a média de colônias de *Streptococcus mutans* (T1 = 1,96 \pm 2,24; T2 = 1,39 \pm 1,91; T3 = 1,76 \pm 2,25; T4 = 2,30 \pm 2,44; T5 = 3,10 \pm 1,89 – Tabela 2) e de *Bifidobacterium* spp. (T1 = 2,65 \pm 2,74; T2 = 2,21 \pm 2,61; T3 = 3,12 \pm 2,85; T4 = 2,89 \pm 2,75; T5 = 2,57 \pm 2,60 – Tabela 3) nos diferentes períodos de acompanhamento.

As variáveis tipo de parto, tipo de aleitamento e presença de dentes decíduos erupcionados não foram relacionadas com o número de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. nos períodos avaliados. A variável sexo não apresentou interação significativa com a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. O comportamento foi semelhante ao longo das coletas e crianças do sexo feminino apresentaram mais UFC/mL deste micro-organismo. A média de UFC/mL

de *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. não apresentou diferença de distribuição entre os sexos, não apresentando relação com a variável sexo (Tabelas 2 e 3, respectivamente).

A média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. apresentou diferença estatisticamente significativa quando avaliada a variável renda familiar. Bebês cuja renda familiar estava entre >1500 e <3000 reais apresentaram maior média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. quando comparados com os que possuíam renda familiar ≥ 3000 reais aos três meses de idade (Tabela 1). Não houve diferença estatisticamente significativa nas demais coletas para a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. Em contrapartida, as crianças com maior renda familiar apresentaram, aos 24 meses de idade, média de UFC/mL de *Streptococcus mutans* superior à média dos demais grupos (Tabela 2) e não houve diferença significativa nas outras coletas para a média de UFC/mL de *Streptococcus mutans*. Na primeira coleta (0 meses) houve diferença estatisticamente significativa para a média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. Recém-nascidos com menor renda familiar apresentaram maior média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. (Tabela 3). Não houve diferença significativa do número de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. nos demais períodos analisados. Porém, deve-se analisar com cautela tais dados pois alguns grupos eram compostos por poucas crianças.

A variável escolaridade dos responsáveis teve interação com as coletas e apresentou diferenças estatisticamente significativas para o número de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp., sugerindo associação. No primeiro período de acompanhamento os recém-nascidos cujo responsável possuía ≤ 8 anos de estudo tiveram maior média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. que os recém-nascidos cujos responsáveis apresentavam >8 e ≤ 11 anos de estudo e não houve diferença significativa quando comparados com recém-nascidos cujos responsáveis possuíam >11 anos de estudo (Tabela 1). Na terceira coleta (6 meses) a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. foi menor no grupo de crianças cujos responsáveis possuíam ≤ 8 anos de estudo e não se verificou diferença estatisticamente significativa nos demais grupos (Tabela 1). Aos 24 meses de idade a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. foi maior nas crianças com responsáveis com >11 anos de estudo que nas crianças dos demais grupos (Tabela 1). No entanto, na terceira e na quinta coleta alguns grupos eram formados por poucos bebês e, em virtude disso, tais resultados devem ser analisados com prudência.

A média de UFC/mL de *Streptococcus mutans* aos 12 meses de idade foi menor nas crianças cujos responsáveis possuíam ≤ 8 anos de estudo quando comparadas às crianças cujos responsáveis possuíam >8 e ≤ 11 anos de estudo e não houve diferença significativa para com o grupo em que os responsáveis pelas crianças apresentavam maior nível de escolaridade (>11 anos de idade) (Tabela 2). Aos 24 meses de idade as crianças que possuíam responsáveis com >11 anos de estudo apresentaram menor número de UFC/mL de *Streptococcus mutans* quando comparadas com as crianças cujos responsáveis possuíam menor grau de escolaridade (≤ 8 ; >8 e ≤ 11 anos de estudo) (Tabela 2). O grupo de bebês cujos responsáveis possuíam nível de escolaridade intermediário (>8 e ≤ 11 anos de

estudo) apresentou menor média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. aos 24 meses de idade (Tabela 3). Nos demais períodos de acompanhamento não houve diferenças estatisticamente significativas para a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. quando avaliada a variável escolaridade dos responsáveis. Entretanto, aos 24 meses, os grupos cujos responsáveis pelos bebês possuíam menor e maior nível de escolaridade eram compostos por apenas uma criança. Assim sendo, tais resultados devem ser avaliados com cautela.

A variável higiene bucal apresentou interação com os períodos de acompanhamento. Crianças que possuíam a cavidade oral higienizada pelos responsáveis apresentaram menores médias de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. e de *Streptococcus mutans* (Tabelas 1 e 2, respectivamente) e maior média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. (Tabela 3) aos 12 meses de idade. Porém, apenas uma criança não possuía a cavidade oral higienizada aos 12 meses. No primeiro período avaliado (0 meses) a média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. foi maior no grupo de bebês que não realizavam higiene bucal (Tabela 3). Não foi possível fazer uma comparação entre as crianças com 24 meses de idade que realizavam higiene bucal e as que não realizavam porque nesse período de acompanhamento todas as crianças realizavam higiene bucal. Considerando a variável higiene bucal não houve diferença estatisticamente significativa para a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. nos demais períodos de acompanhamento.

Discussão

O presente estudo analisou a colonização microbiana da cavidade oral de bebês desde o nascimento até os 24 meses de idade, contemplando modificações de hábitos e a introdução de novos nichos ecológicos na cavidade bucal. Foram analisadas variáveis que poderiam estar associadas à essa colonização, como sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento, renda familiar, grau de escolaridade do responsável pela criança, presença de higiene bucal e presença de dentes decíduos erupcionados. As médias de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. mantiveram-se estáveis nos diferentes períodos de acompanhamento.

Foram identificados *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. na cavidade oral da maioria dos recém-nascidos desde a primeira coleta de saliva (0 meses), porém o número de UFC/mL não sofreu alteração significativa ao longo do tempo. Um estudo longitudinal que avaliou a colonização de *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus mutans* na cavidade oral de crianças de 3 a 24 meses de idade, utilizando técnica tradicional de cultura, demonstrou uma colonização precoce e aumento da prevalência bacteriana com o aumento da idade. A colonização precoce e persistente em níveis elevados de *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus mutans* na saliva aumenta o risco de desenvolvimento de lesões de cárie²⁸. Um estudo analisou a microbiota de 171 crianças entre 6 e 36 meses de idade em amostras de língua e de dente utilizando a técnica de checkerboard DNA. Nele foram observadas espécies associadas à cárie dentária, incluindo *Streptococcus mutans*, em crianças de 18 a 36 meses de idade e *Actinomyces israelii* em crianças com menos de 18 meses de idade²⁹.

Bifidobactérias foram identificadas em lesões profundas de cárie por meio da hibridização de DNA¹⁶. Entretanto, o papel destes micro-organismos no processo cariioso e como marcador de risco requer uma investigação aprofundada^{15,16}. O presente estudo não observou modificações na média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. ao longo dos 24 meses de acompanhamento, podendo esse resultado estar relacionado à utilização da técnica de cultura para a detecção desses micro-organismos.

O leite materno fornece nutrição e fatores bioativos para garantir a saúde da criança, influencia na fixação e crescimento de micro-organismos no intestino, estômago e cavidade oral^{22,30}. O colostro e o leite de mulheres saudáveis contêm estafilococos, estreptococos, corinebactérias, propionibactéria, bifidobactérias e bactérias produtoras de ácido láctico³¹. Em contrapartida, crianças alimentadas com dieta à base de fórmulas possuem uma microbiota mais complexa, contendo bifidobactérias, bacteróides, coliformes e enterococos³². Um estudo que analisou a relação entre a colonização de *Streptococcus mutans* e alimentação, idade e número de dentes erupcionados em crianças de 6 a 30 meses de idade demonstrou que crianças amamentadas com leite materno possuem menores contagens desse micro-organismo. Além disso, a colonização aumentou com a idade e número de dentes erupcionados³³.

A erupção dos dentes introduz novos habitats e aos poucos a microbiota aeróbia passa à anaeróbia facultativa. Mesmo crianças sem dentes, mas que possuam superfícies duras na cavidade oral, como aparelhos acrílicos usados para cobrir fendas palatinas, podem apresentar *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus mutans* em tais placas⁶. Estudos de tipificação molecular têm identificado a transmissão vertical de estreptococos orais e espécies Gram-negativas. 71% dos 34 pares de mãe-filho os genótipos dos *Streptococcus mutans* encontrados nas crianças foram iguais aos das mães³⁴. Outro estudo verificou que a aquisição de *Streptococcus mutans* em recém-nascidos ocorre durante uma faixa-etária de 19 a 31 meses, chamada "janela de infectividade" e o risco à cárie pode depender do início dessa colonização¹⁴.

Os resultados do presente estudo vão de encontro a esses resultados, pois *Streptococcus mutans* foram identificados nas amostras salivares das crianças desde a primeira coleta de saliva e o tipo de aleitamento e a presença de dentes decíduos erupcionados não apresentaram associação com o número de UFC/mL de *Streptococcus mutans*, *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. Diferentemente do resultado verificado neste estudo, crianças alimentadas por fórmulas apresentaram menor colonização da cavidade bucal por *Lactobacillus* quando comparadas às alimentadas com leite materno em estudo que avaliou 133 crianças entre 2009 e 2012²². A literatura reporta que crianças que foram colonizadas precocemente por *Lactobacillus* spp. ou *Streptococcus mutans* apresentaram maior número de dentes cariados do que as crianças colonizadas tardiamente por esses micro-organismos²⁸.

Crianças nascidas por meio de parto normal apresentam comunidades bacterianas semelhantes à microbiota vaginal da sua mãe, dominada por *Lactobacillus*, *Prevotella* ou *Sneathia* spp. e as crianças nascidas através de cesariana apresentam comunidades bacterianas semelhantes às da pele, com predomínio de *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* spp.²⁰. Bebês nascidos

por parto normal apresentam maior diversidade taxonômica aos três meses de idade quando comparados com bebês nascidos por cesariana²¹. O contato com os micro-organismos vaginais parece desempenhar um importante papel na proteção contra a colonização por patógenos, diminuindo o risco de doenças atópicas (alergias, asma)³⁵. Um estudo que avaliou o tipo de parto e a composição da microbiota oral de 84 bebês entre 6 e 10 meses de idade verificou maior prevalência de cepas de estreptococos (*Streptococcus salivarius*) relacionadas com a saúde e lactobacilos (*Lactobacillus curvata*, *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus casei*) em recém-nascidos de parto normal quando comparados com recém-nascidos por cesariana. Micro-organismos cárie associados (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*) foram encontrados em 63% e 59% de todas as crianças, respectivamente³⁶. Outro estudo verificou que recém-nascidos por cesariana adquiriram *Streptococcus mutans* quase um ano antes de bebês nascidos por parto normal³⁷. Entretanto, no presente estudo, o número de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. não diferiu em relação ao tipo de parto.

No presente estudo a variável renda familiar sugere associação com o número de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. nos bebês acompanhados. Crianças com renda familiar intermediária (>1500 e < 3000) apresentaram maior média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp. aos 3 meses de idade. Aos 24 meses de idade a média de UFC/mL de *Streptococcus mutans* foi superior no grupo com maior renda familiar (≥ 3000). Entretanto, apenas uma criança fazia parte deste grupo neste período, sendo necessário ter cautela para avaliar este resultado. A média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. foi maior nos recém-nascidos com menor renda familiar (≤ 1500) aos 0 meses de idade. Esses dados contradizem os resultados encontrados em um estudo que comparou a frequência de isolamento de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, lactobacilos e leveduras da saliva de crianças com 12 meses de idade e a influência do contexto socioeconômico no isolamento de bactérias e frequência de cárie. Estes pesquisadores verificaram maior presença de cárie em crianças com menor nível socioeconômico e não encontraram associação entre a frequência de isolamento dos micro-organismos com o contexto socioeconômico³⁸. Outros 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, sendo menor a experiência de cárie em classes sociais mais elevadas^{39,40}.

Indivíduos com maior grau de instrução apresentam mais oportunidades de acesso a informações sobre saúde. Assim sendo, crianças que convivem com adultos nessa condição estão sujeitas a hábitos mais saudáveis de saúde bucal e possuem menos cáries⁴¹. Estudo realizado no município de Vila Velha, ES, com 160 crianças entre 0 e 36 meses de idade, verificou que 71% dos responsáveis não higienizavam a cavidade oral da criança⁴². Em nosso estudo, a maioria dos responsáveis higienizava a cavidade oral das crianças (44,44% aos 0 meses e 100% aos 24 meses de idade). Além disso, as crianças que possuíam a cavidade oral higienizada apresentaram, aos 12 meses,

menores médias de UFC/mL de de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e maior média de UFC/mL de *Bifidobacterium* spp. Entretanto, apenas uma criança não possuía a cavidade oral higienizada aos 12 meses de idade, sendo necessário prudência para avaliar este resultado.

O presente estudo não observou modificações na média de UFC/mL dos micro-organismos em análise ao longo dos 24 meses de acompanhamento, podendo este resultado estar relacionado à utilização da técnica de cultura para a detecção destes micro-organismos. Deve-se considerar, também, a possibilidade de que realmente poucas modificações bacterianas ocorram após o estabelecimento da microbiota inicial.

Conclusão

Durante os primeiros 24 meses de vida a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. dos bebês permaneceu estável. Não houve associação entre o número de UFC/mL dos micro-organismos analisados no estudo e as variáveis sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento e presença de dentes decíduos erupcionados. As variáveis renda familiar, grau de escolaridade do responsável pela criança e presença de higiene bucal foram sugestivas de associação com o número de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. No entanto, alguns grupos eram compostos por poucas crianças, o que pode ter prejudicado a análise. Espera-se aumentar a amostra para verificar se os resultados obtidos serão mantidos e novos estudos são necessários para produzir mais informações acerca das variáveis analisadas referentes a esse período de vida. A realização de uma análise mais aprofundada, como a utilização de biologia molecular, pode proporcionar maior conhecimento sobre as modificações da microbiota que ocorrem ao longo do tempo, uma vez que permite identificar diferentes espécies desses micro-organismos.

Agradecimentos

Aos trabalhadores da Unidade de Saúde da Família Parque dos Maias por cederem o espaço físico para o acompanhamento das crianças.

Às crianças e seus familiares por participarem do estudo.

À PROPESQ pela bolsa de Iniciação Científica.

À UFRGS por proporcionar um ensino gratuito e de excelência.

Referências

1. Fejerskov O, Kidd E. Cárie Dentária: a doença e seu tratamento clínico. 2. ed. São Paulo: Santos; 2011.
2. Baley JE. Neonatal candidiasis: the current challenge. Clin Perinatol. 1991June; 18(2):263-280.
3. 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.

4. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol.* 2014;5:427.
5. Axelsson L. Lactic Acid Bacteria: Classification and physiology. In *Lactic Acid Bacteria. Microbial and Functional Aspects.* Edited by S. Salminen, A. von Wright & A. Ouwehand. New York, USA: Marcel Dekker, Inc; 2004. p. 1-66.
6. Jorge AOC. *Microbiologia bucal.* 3. ed. São Paulo: Liv. Santos; 2007.
7. 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.
8. Areias CM. Efeito da composição da saliva na prevalência da cárie dentária em crianças com trissomia 21 [dissertação]. Porto: Universidade do Porto, Faculdade de Medicina Dentária; 2011.
9. Maltz M, Parolo CCF, Jardim JJ. *Cariologia Clínica.* In: Toledo OA. *Odontopediatria: fundamentos para a prática clínica.* Rio de Janeiro: Medbook; 2012. p. 115-164.
10. Marsh P, Martin MV. *Microbiologia oral.* 4. ed. São Paulo: Liv. Santos Editora; 2005.
11. Thylstrup A, Fejerskov O. *Ecologia oral e a cárie dentária.* In: Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia clínica.* São Paulo: Liv. Santos; 2011. p. 45-69.
12. Carletto Körber FP, Cornejo LS, Giménez MG. Early acquisition of *Streptococcus mutans* for children. *Acta Odontol Latinoam.* 2005; 18(2):69-74.
13. Lapidattanakul J, Nakano K. Mother-to-child transmission of *mutans streptococci*. *Future Microbiol.* 2014;9(6):807-23.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Saad Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006;42(1):1-16.
19. 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.
20. 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.

21. Lif Holgerson P, Harnevik L, Hernell O, Tanner ACR, Johansson I. Mode of birth delivery affects oral microbiota in infants. *J Dent Res*. 2011 Oct; 90(10):1183-1188.
22. Vestman NR, Timby N, Holgerson 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.
23. Penders J. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. Springfield. 2006; 118(2): 511-521.
24. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R 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. 2010 July; 51(1):77-84.
25. Nelson MH, Diven MA, Huff LW, Paulos CM. Harnessing the Microbiome to Enhance Cancer Immunotherapy. *J Immunol Res*. [Internet]. 2015 May [acesso 2016 June 10]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4458560/>
26. 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.
27. Brasil. Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde. Resolução 466/12 Aprova as Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos [Internet]. [acesso em 2016 mar 30]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html.
28. 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.
29. 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.
30. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr*. 2004;134(4):989-95.
31. 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.
32. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr*. 1999;46:353-82.
33. 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.

34. Li Y, Caulfield PW. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent Res.* 1995 Feb; 74(2):681-5.
35. Dominguez-Bello M, Blaser M, Ley R, Knight R. Development of the Human Gastrointestinal Microbiota and Insights. *Gastroenterology.* 2011 May; 140(6):1713-9.
36. Barfod M. N. et al. Oral microflora in infants delivered vaginally and by caesarean section. *Int J Pediatric Dent.* Oxford 2011 Nov; 21(6):401-6.
37. Lif Holgerson P, Harnevik L, Hernell O, Tanner ACR, Johansson I. Mode of birth delivery affects oral microbiota in infants. *J Dent Res.* 2011 Oct; 90(10):1183-1188.
38. Radford RJ, Ballantyne HM, Nugent Z, Beighton D, Robertson M, Longbottom C et al. Caries-associated micro-organisms in infants from different socio-economic backgrounds in Scotland. *Journal of Dentistry* 2000 June; 26(5):307-312.
39. Tinanoff N. Dental caries risk assessment and prevention. *Dent Clin North Am.* 1995;39:709-19.
40. Freire MC, Melo RB, Silva SA. Dental caries prevalence in relation to socioeconomic status of nursery school children in Goiânis-GO, Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1996; 24:357-61.
41. Schou L, Uitenbroek D. Social and behavioural indicators of caries experience in 5-year-old children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1995; 23:276-81.
42. Aguiar AD, Santos JA, Bönecker MJ16. Avaliação dos Hábitos de Higiene Bucal de Crianças de 0 a 36 Meses do Município de Vila Velha-ES. *JPB – J Bras Odontopediatr Odontol Bebê* 1999; 2:111-8.

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	n(%)	T5
Sexo										
Feminino	22 (48,49)	4,03±2,37 ^a	09 (39,13)	3,12±2,58 ^a	07 (36,84)	2,66±2,72 ^a	09 (45,00)	3,12±2,12 ^a	04 (44,44)	2,92±3,37 ^a
Masculino	23 (51,11)	2,51±2,54 ^a	14 (60,87)	2,66±2,47 ^a	12 (63,16)	2,33±2,50 ^a	11 (55,00)	1,14±2,09 ^a	05 (55,56)	1,17±2,61 ^a
Tipo de parto										
Normal	26 (57,78)	2,86±2,59 ^a	17 (73,91)	2,71±2,47 ^a	12 (63,16)	3,13±2,48 ^a	13 (65,00)	2,08±2,17 ^a	04 (44,44)	2,92±3,37 ^a
Cesariana	19 (42,22)	3,79±2,45 ^a	06 (26,09)	3,23±2,63 ^a	07 (36,84)	1,29±2,25 ^a	07 (35,00)	1,94±2,66 ^a	05 (55,56)	1,17±2,61 ^a
Tipo de aleitamento										
Materno	24 (53,33)	2,53±2,64 ^a	09 (39,13)	2,63±2,60 ^a	0	-	0	-	0	-
Fórmula	21 (46,67)	4,08±2,23 ^a	14 (60,87)	2,98±2,47 ^a	19 (100,00)	2,38±2,57	20 (100,00)	2,03±2,28	09 (100,00)	1,95±2,92
Renda familiar										
≤1500	24 (53,33)	2,85±2,53 ^a	10 (43,48)	2,71±2,45 ^a	08 (42,11)	2,97±2,69 ^a	09 (45,00)	1,87±2,37 ^a	04 (44,44)	1,48±2,96 ^a
>1500 e <3000	17 (37,78)	4,08±2,47 ^a	09 (39,13)	3,88±2,38 ^a	08 (42,11)	1,73±2,42 ^a	08 (40,00)	1,60±2,34 ^a	04 (44,44)	2,90±3,34 ^a
≥3000	04 (08,89)	2,13±2,63 ^a	04 (17,39)	0,85±1,69 ^b	03 (15,78)	3,00±2,74 ^a	03 (15,00)	3,67±1,74 ^a	01 (11,12)	0 ^a
Escolaridade do Responsável										
≤ 8 anos	06 (13,33)	5,16±0,90 ^a	0	-	02 (10,53)	0,00 ^b	02 (10,00)	1,54±2,18 ^a	01 (11,11)	0,00 ^a
>8 anos e ≤ 11 anos	31 (68,89)	2,67±2,54 ^b	18 (78,26)	2,75±2,41 ^a	12 (63,16)	3,03±2,44 ^a	15 (75,00)	2,35±2,45 ^a	07 (77,78)	1,67±2,84 ^a
>11 anos	08 (17,78)	4,09±2,67 ^a	05 (21,74)	3,16±2,92 ^a	05 (26,31)	2,05±2,81 ^a	03 (15,00)	0,77±1,33 ^a	01 (11,11)	5,84 ^b
Higiene bucal										
Ausente	25 (55,56)	3,08±2,67 ^a	06 (26,09)	3,08±2,52 ^a	02 (10,53)	3,48±1,67 ^a	01 (05,00)	5,64 ^a	0	-
Presente	20 (44,44)	3,47±2,44 ^a	17 (73,91)	2,76±2,52 ^a	17 (89,47)	2,25±2,67 ^a	19 (95,00)	1,84±2,18 ^b	09 (100,00)	1,95±2,92
Número de dentes										
Ausente	45 (100,00)	3,25±2,55	23(100,00)	2,84±2,45	12 (63,16)	2,46±2,53 ^a	02 (10,00)	2,82±3,98 ^a	0	-
Presente	0	-	0	-	07 (36,84)	2,26±2,83 ^a	18 (90,00)	1,94±2,19 ^a	09 (100,00)	1,95±2,92
Total	45 (100,00)	3,25±2,55 ^a	23 (51,10)	2,84±2,47 ^a	19 (42,20)	2,45±2,52 ^a	20 (44,40)	2,03±2,28 ^a	9 (20,00)	1,95±2,92 ^a

T1 = 0 meses; T2 = 3 meses; T3 = 6 meses; T4 = 12 meses; T5 = 24 meses.

Letras iguais indicam ausência de significância estatística e letras diferentes indicam presença de significância estatística (GEE, $P \leq 0,05$).

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	n(%)	T5
Sexo										
Feminino	22 (48,49)	1,72±2,22 ^a	09 (39,13)	1,35±2,15 ^a	07 (36,84)	1,36±2,45 ^a	09 (45,00)	2,55±2,46 ^a	04 (44,44)	2,89±2,00 ^a
Masculino	23 (51,11)	2,20±2,28 ^a	14 (60,87)	1,41±1,82 ^a	12 (63,16)	1,99±2,20 ^a	11 (55,00)	2,09±2,52 ^a	05 (55,56)	3,27±2,01 ^a
Tipo de parto										
Normal	26 (57,78)	2,01±2,36 ^a	17 (73,91)	1,36±2,01 ^a	12 (63,16)	1,98±2,51 ^a	13 (65,00)	2,42±2,42 ^a	04 (44,44)	2,88±2,00 ^a
Cesariana	19 (42,22)	1,89±2,13 ^a	06 (26,09)	1,46±1,74 ^a	07 (36,84)	1,39±1,83 ^a	07 (35,00)	2,07±2,65 ^a	05 (55,56)	3,27±2,00 ^a
Tipo de aleitamento										
Materno	24 (53,33)	1,64±2,10 ^a	09 (39,13)	1,25±1,95 ^a	0	-	0	-	0	-
Fórmula	21 (46,67)	2,33±2,39 ^a	14 (60,87)	1,47±1,95 ^a	19 (100,00)	1,86±2,27	20 (100,00)	2,30±2,44	09 (100,00)	3,10±1,89
Renda familiar										
≤1500	24 (53,33)	1,57±2,20 ^a	10 (43,48)	1,16±2,01 ^a	08 (42,11)	2,87±2,51 ^a	09 (45,00)	2,22±2,19 ^a	04 (44,44)	3,52±0,68 ^a
>1500 e <3000	17 (37,78)	2,57±2,34 ^a	09 (39,13)	1,99±2,04 ^a	08 (42,11)	1,03±1,94 ^a	08 (40,00)	2,61±2,82 ^a	04 (44,44)	2,19±2,54 ^a
≥3000	04 (08,89)	1,72±2,00 ^a	04 (17,39)	0,58±1,15 ^a	03 (15,78)	0,77±1,33 ^a	03 (15,00)	1,69±2,93 ^a	01 (11,12)	5,03 ^b
Escolaridade do Responsável										
≤ 8 anos	06 (13,33)	1,35±2,36 ^a	0	-	02 (10,53)	1,54±2,18 ^a	02 (10,00)	0,00 ^a	01 (11,11)	3,26 ^a
>8 anos e ≤ 11 anos	31 (68,89)	1,98±2,28 ^a	18 (78,26)	1,54±1,94 ^a	12 (63,16)	2,14±2,39 ^a	15 (75,00)	2,69±2,38 ^b	07 (77,78)	3,52±1,71 ^a
>11 anos	08 (17,78)	2,36±2,20 ^a	05 (21,74)	0,83±1,86 ^a	05 (26,31)	0,95±2,13 ^a	03 (15,00)	1,85±3,21 ^{a,b}	01 (11,11)	0,00 ^b
Higiene bucal										
Ausente	25 (55,56)	1,56±2,26 ^a	06 (26,09)	1,34±2,27 ^a	02 (10,53)	2,25±3,18 ^a	01 (05,00)	3,64 ^a	0	-
Presente	20 (44,44)	2,47±2,20 ^a	17 (73,91)	1,40±1,84 ^a	17 (89,47)	1,81±2,27 ^a	19 (95,00)	2,23±2,49 ^b	09 (100,00)	3,10±1,89
Número de dentes										
Ausente	45 (100,00)	1,96±2,24	23(100,00)	1,39±1,91	12 (63,16)	1,74±2,12 ^a	02 (10,00)	4,15±0,72 ^a	0	-
Presente	0	-	0	-	07 (36,84)	2,04±2,66 ^a	18 (90,00)	2,09±2,48 ^a	09 (100,00)	3,10±1,89
Total	45 (100,00)	1,96±2,24 ^a	23 (51,10)	1,39±1,91 ^a	19 (42,20)	1,76±2,25 ^a	20 (44,40)	2,30±2,44 ^a	09 (20,00)	3,10±1,89 ^a

T1 = 0 meses; T2 = 3 meses; T3 = 6 meses; T4 = 12 meses; T5 = 24 meses.

Letras iguais indicam ausência de significância estatística e letras diferentes indicam presença de significância estatística (GEE, $P \leq 0,05$).

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	n(%)	T5
Sexo										
Feminino	22 (48,49)	3,11±2,60 ^a	09 (39,13)	1,66±2,50 ^a	07 (36,84)	4,28±2,17 ^a	09 (45,00)	2,89±2,79 ^a	04 (44,44)	2,90±3,35 ^a
Masculino	23 (51,11)	2,20±2,85 ^a	14 (60,87)	2,57±2,72 ^a	12 (63,16)	2,44±3,05 ^a	11 (55,00)	2,88±2,86 ^a	05 (55,56)	2,30±2,21 ^a
Tipo de parto										
Normal	26 (57,78)	2,85±2,80 ^a	17 (73,91)	1,70±2,41 ^a	12 (63,16)	3,39±2,63 ^a	13 (65,00)	2,77±2,77 ^a	04 (44,44)	2,90±3,35 ^a
Cesariana	19 (42,22)	2,37±2,70 ^a	06 (26,09)	3,64±2,84 ^a	07 (36,84)	2,66±3,34 ^a	07 (35,00)	3,09±2,92 ^a	05 (55,56)	2,30±2,21 ^a
Tipo de aleitamento										
Materno	24 (53,33)	2,50±2,83 ^a	09 (39,13)	2,32±2,78 ^a	0	-	0	-	0	-
Fórmula	21 (46,67)	2,81±2,69 ^a	14 (60,87)	2,14±2,61 ^a	19 (100,00)	3,29±2,82	20 (100,00)	2,89±2,75	09 (100,00)	2,57±2,60
Renda familiar										
≤1500	24 (53,33)	2,94±2,84 ^a	10 (43,48)	1,98±2,59 ^a	08 (42,11)	2,75±2,99 ^a	09 (45,00)	3,25±2,55 ^a	04 (44,44)	2,28±2,77 ^a
>1500 e <3000	17 (37,78)	2,85±2,66 ^a	09 (39,13)	2,37±2,85 ^a	08 (42,11)	3,17±2,84 ^a	08 (40,00)	2,80±3,02 ^a	04 (44,44)	2,73±3,17 ^a
≥3000	04 (08,89)	0,00 ^b	04 (17,39)	2,43±2,82 ^a	03 (15,78)	3,96±3,43 ^a	03 (15,00)	2,04±3,53 ^a	01 (11,12)	3,08 ^a
Escolaridade do Responsável										
≤ 8 anos	06 (13,33)	3,40±2,94 ^a	0	-	02 (10,53)	1,54±2,18 ^a	02 (10,00)	3,11±4,39 ^a	01 (11,11)	5,64 ^a
>8 anos e ≤ 11 anos	31 (68,89)	2,39±2,74 ^a	18 (78,26)	2,06±2,69 ^a	12 (63,16)	3,19±2,86 ^a	15 (75,00)	3,00±2,60 ^a	07 (77,78)	1,79±2,40 ^b
>11 anos	08 (17,78)	3,09±2,80 ^a	05 (21,74)	2,75±2,52 ^a	05 (26,31)	3,58±3,35 ^a	03 (15,00)	2,18±3,78 ^a	01 (11,11)	4,95 ^a
Higiene bucal										
Ausente	25 (55,56)	3,54±2,80 ^a	06 (26,09)	1,73±2,68 ^a	02 (10,53)	2,19±3,10 ^a	01 (05,00)	0,00 ^a	0	-
Presente	20 (44,44)	1,53±2,26 ^b	17 (73,91)	2,38±2,65 ^a	17 (89,47)	3,43±2,87 ^a	19 (95,00)	3,04±2,74 ^b	09 (100,00)	2,57±2,60
Número de dentes										
Ausente	45 (100,00)	2,65±2,74	23(100,00)	2,21±2,61	12 (63,16)	3,15±3,08 ^a	02 (10,00)	2,10±2,97 ^a	0	-
Presente	0	-	0	-	07 (36,84)	3,51±2,59 ^a	18 (90,00)	2,98±2,81 ^a	09 (100,00)	2,57±2,60
Total	45 (100,00)	2,65±2,74 ^a	23 (51,10)	2,21±2,61 ^a	19 (42,20)	3,12±2,85 ^a	20 (44,40)	2,89±2,75 ^a	9 (20,00)	2,57±2,60 ^a

T1 = 0 meses; T2 = 3 meses; T3 = 6 meses; T4 = 12 meses; T5 = 24 meses.

Letras iguais indicam ausência de significância estatística e letras diferentes indicam presença de significância estatística (GEE, $P \leq 0,05$).

3 CONCLUSÃO

Ao longo dos primeiros 24 meses de vida os bebês mantiveram constantes a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. As variáveis sexo, tipo de parto, tipo de aleitamento e presença de dentes decíduos erupcionados não foram relacionadas com o número de UFC/mL dos micro-organismos analisados no estudo nos diferentes períodos de acompanhamento. As variáveis renda familiar, grau de escolaridade do responsável pela criança e presença de higiene bucal foram sugestivas de associação para com a média de UFC/mL de *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* e *Bifidobacterium* spp. Entretanto, este resultado deve ser avaliado com cautela pois alguns grupos eram compostos por poucas crianças, o que ter prejudicado a análise. É necessário aumentar a amostra para avaliar se os resultados obtidos serão mantidos e novos estudos podem produzir mais informações acerca das variáveis analisadas referentes a esse período de vida. A realização de uma análise mais aprofundada, como a utilização de biologia molecular, pode proporcionar maior conhecimento sobre as modificações da microbiota dos bebês que ocorrem ao longo do tempo, uma vez que permite identificar diferentes espécies de micro-organismos.

REFÊNCIAS

- 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.
- AXELSSON, L. Lactic acid bactéria: classification and physiology. In: **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects.** 3. ed. Edited by S. Salminen, A. von Wright & A. Ouwehand. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., 2004. Cap. 1, p. 1-66.
- BALEY, J. E. Neonatal candidiasis: the current challenge. **Clin. Perinatol.** Cleveland, v. 18, no. 2, p. 263-280, June 1991.
- 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, no. 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.
- 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.
- DOMINGUEZ-BELLO, M. G. et al. Development of the human gastrointestinal microbiota and insights. **Gastroenterology**, v. 140, no.6, p.1713-1719, May 2011.
- 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.

FEJERSKOV, O; KIDD, E. **Cárie Dentária: a doença e seu tratamento clínico**. 2. Ed. São Paulo: Santos, 2011. 616 p.

HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. A framework for human microbiome research. **Nature**, London, v.486, no.7402, p.215-21, June 2012.

JORGE, A. O. C. **Microbiologia bucal**. 3. ed. São Paulo: Liv. Santos, 2007. 198 p.

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

LI, Y.; CAULFIELD, P. W. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 74, no. 2, p. 681-685, Feb. 1995.

LI, Y. et al. Mode of delivery and other maternal factors influence the acquisition of *Streptococcus mutans* in infants. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 84, no. 9, p. 806-811, Sept. 2005.

LIF HOLGERSON, P. et al. Mode of birth delivery affects oral microbiota in infants. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 90, no. 10, p. 1183-1188, Oct. 2011.

MALTZ, M.; PAROLO, C. C. F.; JARDIM, J. J. Cariologia clínica. In: TOLEDO, O. A. . **Odontopediatria: fundamentos para a prática clínica**. Rio de Janeiro: Medbook, 2012. Cap.7, p. 115-164.

MARTÍN, 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.

NELSON, M.H. et al. Harnessing the Microbiome to enhance cancer immunotherapy. **J. Immunol. Res.**, May 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4458560/>. Acesso em: 10 jun. 2016.

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

PARFREY, J.; KNIGHT, R. Spatial and temporal variability of the human microbiota. **Clin. Microbiol. Infect.**, London, v. 18, Suppl. 4, p. S5-S7, July 2012.

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. Sau. Pub.**, Lisboa, v. 21, n. 1, p. 35-40, jan./jun. 2003.

SAAD, I. M. S. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **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.

URSELL, L. et al. Defining the human microbiome. **Nutr. Rev.**, Oxford, v.70, Suppl. 1, p. S38-S44, Aug. 2012.

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