

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GISELE MARCHETTI

AQUISIÇÃO DE MICRORGANISMOS COM POTENCIAL CARIOGÊNICO NOS  
PRIMEIROS MESES DE VIDA E FATORES ASSOCIADOS: ESTUDO DE COORTE  
COM CRIANÇAS PREMATURAS E NASCIDAS A TERMO.

CURITIBA

2023

GISELE MARCHETTI

AQUISIÇÃO DE MICRORGANISMOS COM POTENCIAL CARIOGÊNICO NOS  
PRIMEIROS MESES DE VIDA E FATORES ASSOCIADOS: ESTUDO DE COORTE  
COM CRIANÇAS PREMATURAS E NASCIDAS A TERMO.

Tese apresentada ao Programa de Pós- graduação em  
Odontologia, nível Doutorado, Setor de Ciências da  
Saúde, Universidade Federal do Paraná, como  
requisito à obtenção do título de Doutora em  
Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Reichert A. Zanon  
Coorientadora: Prof. Dra. Geisla Mary Silva Soares

CURITIBA

2023

Marchetti, Gisele

Aquisição de microrganismos com potencial cariogênico nos primeiros meses de vida e fatores associados: estudo de coorte com crianças prematuras e nascidas a termo [recurso eletrônico] / Gisele Marchetti. – Curitiba, 2023.

1 recurso online: PDF.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luciana Reichert A. Zanon

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Geisla Mary Silva Soares

1. Odontologia. 2. Recém-nascido prematuro. 3. Cárie dentária/etiologia. 4. RNA Ribossômico 16S. 5. Microbiota. 6. Alimentos. I. Zanon, Luciana Reichert A. II. Soares, Geisla Mary Silva. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 617.6



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ODONTOLOGIA -  
40001016065P8

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ODONTOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **GISELE MARCHETTI** intitulada: **Aquisição de microrganismos com potencial cariogênico nos primeiros meses de vida e fatores associados: estudo de coorte com crianças prematuras e nascidas a termo.**, sob orientação da Profa. Dra. LUCIANA REICHERT ASSUNÇÃO ZANON, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 13 de Dezembro de 2023.

Assinatura Eletrônica

14/12/2023 13:15:31.0

LUCIANA REICHERT ASSUNÇÃO ZANON

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

15/12/2023 18:30:20.0

RENATA RODRIGUES GOMES

Avaliador Externo (PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA- UFPR)

Assinatura Eletrônica

14/12/2023 11:25:40.0

VANIA APARECIDA VICENTE

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ )

Assinatura Eletrônica

18/12/2023 22:02:53.0

CRISTIANE DUQUE

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA )

## AGRADECIMENTO

À Deus, por sempre guiar meu caminho, me protegendo e fortalecendo nos momentos difíceis.

À minha mãe, Jussara Ferrari Marchetti, pelo amor e carinho incondicional, pelo exemplo de força para guiar nossa família, pela doação constante, por sempre acreditar em mim e por todo o esforço despendido em minha educação e formação, sem os quais não teria chego até aqui.

Aos meus irmãos e grandes amigos, André Marchetti e Rodrigo Marchetti, por todo amor e carinho, por sempre me apoiarem e incentivarem na busca dos meus sonhos.

Ao meu amor e grande companheiro, Leandro Augusto Sato, por todo apoio, incentivo, paciência e envolvimento neste trabalho, por todo cuidado e carinho que teve e tem comigo.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR) e ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPR, por me presentear com a oportunidade de fazer parte da sua história durante os anos de graduação e pós-graduação e por me proporcionar uma formação acadêmica de qualidade.

À minha orientadora, Luciana Reichert Assunção Zanon, pela oportunidade de crescimento científico, profissional e pessoal. Obrigada por ter confiado em mim, por seus valiosos ensinamentos, por sua paciência, dedicação e apoio em todos estes anos juntas.

À minha coorientador, Geisla Mary Silva Soares, pelo auxílio com este trabalho, por estar sempre à disposição para esclarecimentos e pelo apoio.

Aos Professores, Fabian Fraiz Calixto, José Vitor Nogara Borges de Menezes e Juliana Feltrin de Sousa, que juntamente com a minha orientadora desempenham um trabalho exemplar dentro da disciplina de Odontopediatria da UFPR. Obrigada pelo exemplo de dedicação, zelo, comprometimento e por todo conhecimento compartilhado nestes anos juntos.

Aos demais Professores do Programa de Pós-graduação em Odontologia UFPR, pelo exemplo de mestres e pelo suporte.

A equipe do Hospital de Clínicas da UFPR e das Unidades Básicas de Saúde em que atuamos. Obrigada por abrirem as portas para nosso estudo e por toda ajuda.

Ao Professor Alpdogan Kantarci e ao The Forsyth Institute pelas análises microbiológicas dos dados.

Ao Eduardo Henrique De Souza Oliveira, agradeço pelas análises dos dados microbiológicos e por todo apoio. Sem a tua ajuda, este estudo não teria sido possível.

Às minhas colegas de coleta, pela parceria e ajuda durante a execução deste estudo.

Aos participantes desta pesquisa, pela disposição e colaboração.

Obrigado a todos que de alguma forma contribuíram ou apoiaram este trabalho.

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo”

Nelson Mandela

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico aos 15, 30 e 90 dias de vida e correlacionar com variáveis perinatais, ambientais, alimentares e uso de antibiótico e glicose. Nove participantes foram selecionados, sendo seis bebês com nascimento prematuro e três com nascimento a termo. O estudo envolveu três fases: T0 (avaliação inicial - aos 15 dias de vida), T1 (30 dias de vida) e T2 (90 dias de vida). Dados de variáveis perinatais, ambientais, alimentares e de uso de antibiótico e glicose foram coletados por meio de formulários elaborados especialmente para este estudo. Amostras de saliva não estimulada foram obtidas em cada tempo de acompanhamento e analisadas quanto ao conteúdo microbiano pela técnica de sequenciamento genético 16S rRNA. Testes t de Student para amostras independentes e ANOVA de um critério foram utilizados para a análise das médias de percentual de abundância relativa (%mAR) dos microrganismos e as variáveis de interesse ( $\alpha=0,05$ ). A análise por sequenciamento genético revelou 6.905 variantes únicas da sequência de amplicon (ASVs). Destas, 84 gêneros bacterianos foram identificados, sendo 14 potencialmente cariogênicos. Destes, seis compuseram 90% do total dos gêneros nos três tempos de avaliação: *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Rothia*. Considerando a amostra total e daquelas de crianças prematuras, não houve relação entre %mAR e variáveis perinatais, ambientais, alimentares ou de uso de antibiótico ou glicose para nenhum microrganismo em T0. Maiores %mAR foram observados para *Streptococcus* (T1) em amostras de crianças extremo/muito prematuros e prematuros tardios em comparação às nascidas a termo. *Corynebacterium* (T1) apresentou maiores %mAR em amostras de crianças extremo/muito prematuros em comparação às nascidas a termo. *Streptococcus* (T1) apresentou maiores %mAR em amostras de crianças com baixo peso ao nascer. Considerando o total de amostra e as variáveis em T0 foram observadas as seguintes relações: estar em UTI neonatal (UTIN), utilizar sonda gástrica, necessidade de incubadora e uso de antibiótico com maiores %mAR para *Streptococcus* (T1); uso de antibiótico com maiores %mAR para *Bifidobacterium* (T1); uso de mamadeira com maiores %mAR para *Lactobacillus* (T2); amamentar no seio logo após o nascimento com menores %mAR para *Streptococcus*, *Rothia* e *Bifidobacterium* (T1) e *Bifidobacterium* (T2); receber colostro a maiores %mAR

para *Fusobacterium* (T1) e menores %mAR para *Bifidobacterium* (T1 e T2); aleitamento materno exclusivo com menores %mAR de *Streptococcus*, *Rothia* e *Bifidobacterium* (T1) e *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (T2); uso de fórmula infantil com maiores %mAR para *Lactobacillus* (T2). Considerando a amostra de prematuros e as variáveis em T0 foram observadas as seguintes relações: UTIN, sonda gástrica e uso de antibiótico com maiores %mAR para *Streptococcus* (T1); utilizar antibiótico com maiores %mAR para *Bifidobacterium* (T1); aleitamento somente no seio com menores %mAR para *Streptococcus*, *Corynebacterium* e *Bifidobacterium* (T1) e *Bifidobacterium* (T2); receber colostro com menores %mAR de *Bifidobacterium* (T1 e T2). Considerando o total de amostra e as variáveis em T1 foram observadas as seguintes relações: UTIN e sonda gástrica com maiores %mAR para *Streptococcus* e *Bifidobacterium* (T1); uso de glicose a maiores %mAR para *Lactobacillus* (T2); aleitamento exclusivo no seio com menores %mAR para *Streptococcus*, *Rothia* e *Bifidobacterium* (T1) e, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (T2); uso de fórmula infantil com maiores %mAR para estes mesmos gêneros. Considerando o grupo de prematuros e as variáveis em T1 foram observadas as seguintes relações: uso de sonda gástrica com maiores %mAR para *Streptococcus* (T1); UTIN e sonda gástrica com maiores %mAR para *Bifidobacterium* (T2); uso de glicose a maiores %mAR para *Lactobacillus* (T2). Considerando o total de amostra e as variáveis em T2 foram observadas as seguintes relações: uso de mamadeira com maiores %mAR para *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (T2); amamentação exclusiva no seio a menores %mAR para *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (T2); uso de fórmula infantil com maiores %mAR para estes mesmos gêneros. Com base nos resultados, pode-se concluir que a relação dos fatores analisados e a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico foi observada com maior frequência aos 30 dias de vida, sendo a idade gestacional, o baixo peso ao nascimento, estar em UTIN, utilizar incubadora e sonda gástrica, além de alimentar-se por fórmula infantil como fatores de risco à esta aquisição. Por outro lado, amamentar logo após o nascimento e por colostro, além de estar em amamentação exclusiva no seio foram associados a menores percentuais destes microrganismos.

**Palavras-chave:** Prematuridade; Cárie dentária; 16S rRNA; Microbiota; Amamentação; Etiologia.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the acquisition of microorganisms with cariogenic potential at 15, 30, and 90 days of life and correlate them with perinatal, environmental, dietary, antibiotic use, and glucose-related variables. Nine participants were selected, including six babies born prematurely and three born at term. The study involved three phases: T0 (initial evaluation - at 15 days of life), T1 (30 days of life), and T2 (90 days of life). Data on perinatal, environmental, dietary, antibiotic use, and glucose-related variables were collected through forms specially designed for this study. Unstimulated saliva samples were obtained at each follow-up time and analyzed for microbial content using the 16S rRNA genetic sequencing technique. Student's t-tests for independent samples and one-way ANOVA were used to analyze the means of the relative abundance percentage (%rAR) of microorganisms and variables of interest ( $\alpha=0.05$ ). Genetic sequencing analysis revealed 6,905 unique amplicon sequence variants (ASVs). Of these, 84 bacterial genera were identified, with 14 potentially cariogenic. Six of these comprised 90% of the total genera at all three evaluation times: Streptococcus, Corynebacterium, Lactobacillus, Bifidobacterium, Fusobacterium, and Rothia. Considering the total sample and premature infants, there was no relationship between %rAR and perinatal, environmental, dietary, or antibiotic or glucose-related variables for any microorganism at T0. Higher %rAR was observed for Streptococcus (T1) in samples from extremely/very premature and late preterm infants compared to full-term born infants. Corynebacterium (T1) showed higher %rAR in samples from extremely/very premature infants compared to full-term born infants. Streptococcus (T1) exhibited higher %rAR in samples from low birth weight infants. Considering the total sample and variables at T0, the following relationships were observed: being in the neonatal intensive care unit (NICU), using a gastric tube, needing an incubator, and antibiotic use with higher %rAR for Streptococcus (T1); antibiotic use with higher %rAR for Bifidobacterium (T1); bottle-feeding with higher %rAR for Lactobacillus (T2); breastfeeding immediately after birth with lower %rAR for Streptococcus, Rothia, and Bifidobacterium (T1), and Bifidobacterium (T2); receiving colostrum with higher %rAR for Fusobacterium (T1) and lower %rAR for Bifidobacterium (T1 and T2); exclusive breastfeeding with lower %rAR for Streptococcus, Rothia, and Bifidobacterium

(T1), and Bifidobacterium and Lactobacillus (T2); formula feeding with higher %rAR for Lactobacillus (T2). Considering premature infants and variables at T0, the following relationships were observed: NICU, gastric tube, and antibiotic use with higher %rAR for Streptococcus (T1); antibiotic use with higher %rAR for Bifidobacterium (T1); exclusive breastfeeding with lower %rAR for Streptococcus, Corynebacterium, and Bifidobacterium (T1), and Bifidobacterium (T2); receiving colostrum with lower %rAR for Bifidobacterium (T1 and T2). Considering the total sample and variables at T1, the following relationships were observed: NICU and gastric tube with higher %rAR for Streptococcus and Bifidobacterium (T1); glucose use with higher %rAR for Lactobacillus (T2); exclusive breastfeeding with lower %rAR for Streptococcus, Rothia, and Bifidobacterium (T1), and Bifidobacterium and Lactobacillus (T2); formula feeding with higher %rAR for these same genera. Considering premature infants and variables at T1, the following relationships were observed: gastric tube with higher %rAR for Streptococcus (T1); NICU and gastric tube with higher %rAR for Bifidobacterium (T2); glucose use with higher %rAR for Lactobacillus (T2). Considering the total sample and variables at T2, the following relationships were observed: bottle-feeding with higher %rAR for Lactobacillus and Bifidobacterium (T2); exclusive breastfeeding with lower %rAR for Bifidobacterium and Lactobacillus (T2); formula feeding with higher %rAR for these same genera. Based on the results, it can be concluded that the relationship between the analyzed factors and the acquisition of microorganisms with cariogenic potential was more frequently observed at 30 days of life, with gestational age, low birth weight, being in NICU, using an incubator and gastric tube, as well as formula feeding identified as risk factors for this acquisition. On the other hand, breastfeeding immediately after birth and by colostrum, as well as exclusive breastfeeding, were associated with lower percentages of these microorganisms.

**Keywords:** Prematurity; Dental caries; 16S rRNA; Microbiota; Breastfeeding; Etiology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1 -</b>	Fluxograma demonstrando as diferentes fases do estudo.....	35
<b>FIGURA 2 -</b>	Coletas de saliva realizadas em UTIN do HC - UFPR e na UBS Mãe Curitibana.....	37
<b>FIGURA 3 -</b>	Curva de rarefação da diversidade alfa nos grupos termo e prematuros (A) e nos tempos T0, T1 e T2 (B).....	43
<b>FIGURA 4 -</b>	Abundância relativa dos gêneros identificados nas amostras de saliva dos grupos termo e prematuros nos tempos de acompanhamento T0, T1 e T2.....	44
<b>FIGURA 5 -</b>	Médias da abundância relativa (%) dos gêneros ao longo dos três tempos de estudo para a amostra total.....	45
<b>FIGURA 6 -</b>	Médias da abundância relativa (%) dos gêneros ao longo dos três tempos de estudo para o grupo prematuro.....	45
<b>FIGURA 7 -</b>	Gêneros bacterianos associados a CPI identificados no total da amostra.....	46
<b>FIGURA 8 -</b>	Gêneros bacterianos associados a CPI identificados no amostra de prematuros.....	47
<b>FIGURA 9 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Streptococcus</i> em T1 para o grupo termo e prematuro dentro das suas classificações.....	48
<b>FIGURA 10 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Corynebacterium</i> em T1 para o grupo termo e prematuro dentro das suas classificações.....	49
<b>FIGURA 11 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Streptococcus</i> em T1 para o grupo termo e prematuro.....	50
<b>FIGURA 12 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Bifidobacterium</i> em T1 para o grupo termo e prematuro.....	51
<b>FIGURA 13 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Rothia</i> em T1 para o grupo termo e prematuro.....	52
<b>FIGURA 14 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Fusobacterium</i> em T1 para o grupo termo e prematuro.....	53
<b>FIGURA 15 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Bifidobacterium</i> em T2 para o grupo termo e prematuro.....	55
<b>FIGURA 16 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Lactobacillus</i> em T2 para o grupo termo e prematuro.....	56
<b>FIGURA 17 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Streptococcus</i> em T1 para o grupo prematuro.....	58
<b>FIGURA 18 -</b>	Médias da abundância relativa (%) para <i>Corynebacterium</i> em T1 para o grupo prematuro.....	59

<b>FIGURA 19</b> - Médias da abundância relativa (%) para <i>Bifidobacterium</i> em T1 para o grupo prematuro.....	59
<b>FIGURA 20</b> - Médias da abundância relativa (%) para <i>Bifidobacterium</i> em T2 para o grupo prematuro.....	61
<b>FIGURA 21</b> - Médias da abundância relativa (%) para <i>Lactobacillus</i> em T2 para o grupo prematuro.....	62

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Características socioeconômicas e demográficas do total da amostra de estudo. Curitiba, Brasil, 2023.....	40
<b>TABELA 2</b> - Variáveis perinatais e ambientais, e de uso de antibiótico e glicose em T0, T1 e T2 e suas respectivas distribuições no total da amostra e no grupo prematuro. Curitiba, Brasil, 2023.....	41
<b>TABELA 3</b> - Variáveis de alimentação em T0, T1 e T2 e suas respectivas distribuições no total da amostra e no grupo prematuro. Curitiba, Brasil, 2023.....	42

## LISTA DE SIGLAS

ABEP	- Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
APGAR	- Aparência, Pulso, Gesticulação, Atividade, Respiração
BPN	- Baixo peso ao nascer
CPI	- Carie na primeira infância
IG	- Idade gestacional
K	- Coeficiente Kappa
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PN	- Peso ao nascimento
RN	- Recém nascido
SPSS	- <i>Statistical Package for the Social Science</i>
DP	- Desvio Padrão
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
UTIN	- Unidade de terapia intensiva neonatal
WHO	- <i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	32
3.1 OBJETIVO GERAL .....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
4.1 ASPECTOS ÉTICOS .....	33
4.2 SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS.....	33
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	33
4.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	34
4.5 TREINAMENTO E CALIBRAÇÃO DOS INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA COLETA DE DADOS .....	35
4.6 DADOS NÃO CLÍNICOS.....	36
4.7 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	37
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	38
<b>5 RESULTADOS</b> .....	40
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	67
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	77
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	78
<b>APÊNDICES</b> .....	90
<b>ANEXOS</b> .....	96

## 1 INTRODUÇÃO

A cárie na primeira infância (CPI) representa uma condição bucal crônica e multifatorial, caracterizada pela destruição localizada e irreversível do tecido dentário em crianças com menos de seis anos de idade, impactando significativamente na qualidade de vida (GRIER et al., 2021). Uma revisão sistemática com metanálise avaliou 81 artigos que investigaram a prevalência de cárie dentária em 80.405 crianças em todo o mundo, observando uma prevalência global de 46,2% (KAZEMINIA et al., 2020).

Embora a etiologia da doença seja multifatorial, há um consenso na literatura que destaca a exposição frequente a carboidratos fermentáveis, especialmente ao açúcar, como o fator determinante para a sua ocorrência. As bactérias, por sua vez, desempenham um papel necessário para a ocorrência da doença, e assim, como resultado de uma disbiose induzida por um elemento-chave, o consumo excessivo de açúcares, resultando em um aumento do número de bactérias acidogênicas e acidúricas no meio bucal (TINANOFF et al., 2019).

A compreensão acerca do momento exato da colonização da cavidade oral humana por bactérias cariogênicas e do desenvolvimento inicial do microbioma oral em crianças é, ainda, limitada (SULYANTO et al., 2019). Os neonatos, nos primeiros dias de vida, são expostos a bactérias a partir de uma variedade de fontes, incluindo: o parto, fatores ambientais como necessidade de internamento em unidade de intensiva neonatal, uso de antibióticos, além da alimentação (HOLGERSON et al., 2013; BROOKS et al., 2014; SOHN et al., 2016; DZIDIC et al., 2018). Outro fator que tem sido associado a diferenças na colonização da microbiota bucal é a idade gestacional da criança (YOUNGE et al., 2018; NOGUEIRA et al., 2012).

O nascimento prematuro, ou seja, com menos de 37 semanas de gestação, pode influenciar no perfil microbiológico bucal por diversas razões, como colonização por microrganismos advindos dos ambientes de unidade de terapia intensiva neonatal (BROOKS et al., 2014; SHIM et al., 2015); interrupção abrupta da nutrição placentária; contato com microrganismos por procedimentos

invasivos; imaturidade do sistema imunológico; ou mesmo pelo uso de antibióticos de amplo espectro (PIERSIGILLI et al., 2020).

Considerando a aquisição inicial de microrganismos com potencial cariogênico, os estudos desenvolvidos até o momento têm mostrado relação com o tipo de parto ( LI et al., 2018), o uso de chupeta (ERSIN et al., 2006), o uso de mamadeira (THAKUR et al., 2012), o uso de antibióticos (DZIDIC et al., 2018), uso de glicose (AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2013), receber colostro (ROMANO-KEELER et al., 2017), amamentar exclusivamente no seio ou utilizar fórmula (HOLGERSON et al., 2013) e com o nascimento prematuro (HENDRICKS-MUNOZ et al., 2015). Recentes revisões sistemáticas da literatura têm indicado que as crianças com nascimento prematuro apresentaram aumento significativo no risco de desenvolver CPI em comparação com aquelas nascidas a termo (SHI et al., 2020; TWETMAN et al., 2020).

Com base no exposto, é possível afirmar que o aprofundamento do conhecimento da aquisição inicial de microrganismos que podem estar relacionados à CPI é de extrema importância, uma vez que, a maior compreensão de tais fatores pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias de promoção da saúde bucal mais eficazes e garantir melhor entendimento das implicações da microbiota oral na saúde bucal (ZHANG et al., 2022). No entanto, a literatura é escassa quanto à colonização inicial de microrganismos com potencial cariogênico nos primeiros anos de vida, especialmente em crianças com nascimento prematuro.

O objetivo deste estudo foi avaliar a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico aos 15, 30 e 90 dias de vida em um estudo de coorte de crianças prematuras e nascidas a termo. Pretende-se, com os resultados deste estudo, melhorar o entendimento sobre a repercussão da prematuridade e todos os fatores envolvidos com esta condição na colonização microbiana na cavidade bucal de crianças, além de colaborar em estratégias de promoção de saúde bucal nos primeiros anos de vida da criança.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CLASSIFICAÇÃO DO RECÉM-NASCIDO (RN)

O bebê é considerado recém-nascido durante o período perinatal, que vai do nascimento até 28 dias de vida completos. O peso ao nascimento (PN) e idade gestacional (IG) são dois importantes indicadores para a classificação do recém-nascido (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). A idade gestacional é considerada como o tempo medido em semanas ou em dias completos decorridos desde o primeiro dia da última menstruação até a data do nascimento. O recém-nascido (RN) é considerado pré-termo quando apresenta o nascimento com menos de 37 semanas de gestação (ou menos de 259 dias completos). RN a termo, por sua vez, é considerado quando o nascimento ocorreu entre 37 semanas e 41 semanas e 6 dias de gestação (ou entre 259 e 293 dias completos). Já o RN pós-termo são aqueles nascidos com 42 semanas ou mais de gestação (ou 294 ou mais dias completos) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

De acordo com o peso ao nascer, os recém-nascidos podem ser classificados da seguinte forma: baixo peso (BPN) (peso de nascimento menor que 2.500g); muito baixo peso (peso de nascimento menor que 1.500g); extremo baixo peso (peso de nascimento menor que 1.000g). Esta classificação é realizada independentemente da idade gestacional do recém-nascido (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Além disso, o recém-nascido é também classificado quanto à adequação do peso à idade gestacional. Tal classificação permite identificar os bebês que têm um peso adequado para a sua IG, e os que são menores ou maiores do que deveriam ser. Essa classificação é dividida em três classes, sendo elas: adequado para a IG (AIG); pequeno para a idade gestacional (PIG); grande para a idade gestacional (GIG) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

O nascimento prematuro pode apresentar efeitos a longo prazo, tanto no desenvolvimento neurológico, quanto no elevado risco para o desenvolvimento de doenças crônicas na idade adulta (MWANIKI et al., 2012). Além disso, a prematuridade é considerada como a principal causa de mortalidade e morbidade perinatais em países desenvolvidos, com incidência estimada de 5% a 13% (MWANIKI et al., 2012). No Brasil, esta incidência chega a 18% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

## 2.2 CONCEITO DE PREMATURIDADE

O nascimento prematuro pode ser subdividido com base na idade gestacional da seguinte forma: extremamente prematuro (<28 semanas), muito prematuro (28 a 32 semanas) e pré-termo moderado a tardio (32 e 37 semanas) (WHO, 2022). Estas subdivisões são importantes, uma vez que a baixa idade gestacional está associada ao aumento da mortalidade, da incapacidade e da intensidade de cuidados neonatais necessários e, conseqüentemente, ao aumento de custos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

O nascimento prematuro é uma condição relacionada a diferentes fatores etiológicos, que pode ser amplamente classificada em dois grupos: (1) parto prematuro espontâneo e (2) parto prematuro iniciado pelo provedor (definido como indução do parto ou cesariana antes das 37 semanas completas de gestação por indicações maternas, fetais ou outras indicações não médicas) (GOLDENBERG et al., 2012). O nascimento prematuro espontâneo é um processo multifatorial, resultante da interação de fatores que alteram a quiescência do útero, gerando contrações ativas e conseqüentemente o nascimento antes das 37 semanas completas da gestação. A causa para tal situação não é facilmente identificada (MENON, 2008), sendo que, a história individual ou familiar pregressa de parto prematuro é considerada um importante fator de risco (PLUNKETT et al., 2008).

Além disso, outros fatores maternos têm sido associados ao aumento do risco de nascimento prematuro espontâneo, incluindo pacientes muito jovens ou idade materna avançada, intervalos curtos entre as gestações, baixo índice de massa corporal materna (IMC), gravidez múltipla e doenças não transmissíveis pré-existentes, como a anemia e o diabetes gestacional (GOLDENBERG et al., 2008; MUGLIA et al., 2010).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 15 milhões de crianças nascem prematuramente a cada ano, sendo que mais de 60% dos nascimentos prematuros ocorrem na região da África e do Sul da Ásia (OMS, 2022). Em média, 12% das crianças nascem prematuras em países de renda mais baixa, enquanto esse número é de 9% em países de renda mais alta (BLENCOWE et al., 2012). No Brasil, dados recentes do Ministério da Saúde, referentes ao ano de 2022, indicam que o número de

nascidos vivos prematuros atingiu 340 mil, equivalendo a 930 partos prematuros a cada 24 horas, ou seja, seis nascimentos pré-termo a cada 10 minutos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Informações provenientes dos sistemas de registros do Sistema Único de Saúde (SUS) mostram que, em 2019, 11% dos nascidos vivos no Brasil eram prematuros, enquanto em 2020 esse número aumentou para 11,31%, e em 2021 chegou a 12,19% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

O nascimento prematuro é frequentemente acompanhado do baixo peso, ou seja, com menos de 2500g ao nascimento (WHO, 2022). Neste sentido, a estimativa global da prevalência de baixo peso ao nascer foi de 14,6% em 2000 e aumentou para 17,5% em 2015 (BLENCOWE et al., 2019). Estima-se que 20,5 milhões de nascidos vivos em 2015 envolveram crianças com BPN, 91% das quais eram de países de baixa e média renda, principalmente no Sul da Ásia (48%) e África Subsaariana (24%) (BLENCOWE et al., 2019). No entanto, aproximadamente dois terços dos casos de baixo peso ao nascer estão associados ao parto prematuro, enquanto um terço ocorre em bebês nascidos a termo, considerados pequenos para a idade gestacional (KATZ et al., 2013).

Crianças prematuras e com BPN podem sofrer complicações em quase todos os sistemas orgânicos durante a vida extrauterina (BARRETO et al., 2020) e apesar das complicações, avanços nas intervenções perinatais e o imediato suporte à vida têm gradualmente melhorado a sobrevida de crianças nascidas pré-termo (HERBER-JONAT et al., 2006).

### 2.3 PREMATURIDADE E MICROBIOTA BUCAL

Estudos têm demonstrado que o nascimento prematuro influencia no perfil microbiológico, que pode ocorrer por diversas razões como colonização por microrganismos advindos dos ambientes de unidade de terapia intensiva neonatal (BROOKS et al., 2014; SHIM et al., 2015); interrupção abrupta da nutrição placentária; contato com microrganismos por procedimentos invasivos; imaturidade do sistema imunológico; ou mesmo pelo uso de antibióticos de amplo espectro (PIERSIGILLI et al., 2020). Além disso, os dispositivos médicos, como sondas gástricas, equipamentos para entubação, instalados em bebês pré-termo aumentam a probabilidade de formação de biofilme, que pode fornecer

uma fonte de bactérias resistentes a antibióticos, patogênicas e persistentes (PETERSEN et al., 2016).

Os neonatos, nos primeiros dias de vida, são expostos a bactérias de uma variedade de fontes ambientais fortemente influenciadas pelo tipo de alimentação e tempo de internação (BROOKS et al., 2014; SOHN et al., 2016). Em crianças com nascimento a termo, os primeiros microrganismos colonizadores são predominantemente *Staphylococcus sp.* e *Streptococcus sp.* (SAMPAIO-MAIA et al., 2014). Em bebês pré-termo, os gêneros pioneiros da colonização oral até os 30 dias de vida são predominantemente *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Gemella*, *Propionibacterium*, *Enterococcus* e *Cedecea* (HENDRICKS-MUNOZ et al., 2015).

Nogueira et al. (2012) realizaram um estudo transversal com 123 bebês brasileiros, sendo 70 com nascimento pré-termo e 53 com nascimento a termo, com o objetivo de avaliar as respostas dos anticorpos IgA salivares aos antígenos de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis* durante as primeiras 10 horas após o nascimento. Os autores verificaram que, os níveis salivares de IgA ao nascimento, foram 2,5 vezes menores em bebês nascidos prematuros quando comparados aos nascidos a termo, o que demonstra que o estabelecimento da microbiota oral pode ser influenciado pela prematuridade.

Além disso, o nascimento prematuro e o aumento na prevalência de infecções oportunistas são considerados um evento frequente (BENJAMIN et al., 2000). Tal relação é bem descrita por estudos da área da medicina (PINHAT et al., 2012), sendo um exemplo, a sepse fúngica, definida como o isolamento de *Candida spp.* em qualquer sítio estéril do corpo (GONDIM et al., 2009). A infecção fúngica do recém-nascido é um tema muito importante na neonatologia e presente no dia a dia das unidades neonatais. A sepse fúngica está comumente associada à mortalidade e morbidade em recém-nascidos pré-termo com idade gestacional <32 semanas e peso de nascimento <1.500g, principalmente naqueles de extremo baixo peso (<1.000g) (FIOCRUZ, 2020).

Mendiratta et al. (2006) conduziram um estudo abrangendo 203 crianças indianas, das quais 103 eram prematuras e 100 a termo. O objetivo principal da pesquisa era avaliar a colonização por *Candida spp.* em bebês prematuros e

identificar possíveis fatores de risco associados. Os resultados do estudo apontaram para uma colonização significativamente maior por *Candida* spp. nos bebês prematuros, sendo notável que essa colonização ocorreu de maneira mais precoce na mucosa oral. Fatores de risco significativos identificados em prematuros colonizados incluíam o sexo masculino, a administração de esteroides, o uso de antibióticos e a colonização vaginal das mães. Além disso, um estudo envolvendo 65 prematuros israelenses, conduzido com o propósito de investigar os efeitos da idade gestacional e da terapia antibacteriana na microbiota dessas crianças, observou a presença de *Candida* spp. ao analisar culturas orais obtidas do primeiro ao décimo dia de vida dos bebês internados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) (MAKHOUL et al., 2002). Esses achados enfatizam como o tratamento precoce com antibióticos pode impactar significativamente a composição da microbiota em desenvolvimento (DZIDIC et al., 2018).

Além da prematuridade, diversos outros fatores exercem influência na aquisição e colonização da microbiota oral, e essa temática ainda permanece em grande parte desconhecida. Aprofundar o conhecimento nesse campo é de extrema importância, uma vez que a compreensão mais aprofundada desses fatores é fundamental para desenvolver estratégias de promoção da saúde bucal mais eficazes e garantir um melhor entendimento das implicações da microbiota oral na saúde geral (ZHANG et al., 2022).

## 2.4 FORMAÇÃO DA MICROBIOTA INFANTIL

### 2.4.1 Período Pré-natal

A determinação exata do momento em que ocorre a colonização inicial microbiana na cavidade oral continua sendo um tema de intensa discussão (AZEVEDO et al., 2023). Observações acerca da microbiota da placenta, líquido amniótico, sangue do cordão umbilical e mecônio em gestações sem complicações questionaram o dogma convencional do útero estéril (PELZER et al., 2017; PEREZ-MUÑOZ et al., 2017).

Ademais, um estudo envolvendo análise de líquido amniótico de 46 gestações com parto prematuro e 16 gestações a termo, observou que a bactéria mais comum identificada no líquido amniótico de mulheres com parto prematuro

foi a *Fusobacterium nucleatum* (um microrganismo comum na cavidade oral de adultos) (HAN et al., 2009). Este aspecto reforça que saúde bucal materna pode afetar diretamente a colonização intraútero (KAAN et al., 2021).

Assim, existe uma sugestão de que, durante a gravidez, a placenta pode desempenhar um papel na exposição do feto a antígenos, com o propósito de estimular seu sistema imunológico e promover maior tolerância às bactérias maternas. Isso, por sua vez, poderia facilitar a colonização do recém-nascido com microrganismos da mãe após o parto (ZAURA et al., 2014). Essa situação indica que a exposição a uma microbiota desequilibrada durante a gestação pode prejudicar o desenvolvimento do sistema imunológico desde o início da vida e possivelmente influenciar a colonização microbiana após o nascimento. No entanto, ainda não está claro como a tolerância precoce do feto às espécies bacterianas orais maternas pode influenciar na colonização do recém-nascido nos primeiros estágios da vida (WANG et al., 2020).

Ainda, as evidências que sugerem a contaminação intrauterina são consideradas fracas, uma vez que se baseiam em estudos que utilizaram abordagens moleculares com limites de detecção e que não apresentavam evidências de viabilidade bacteriana, e ainda, sem métodos adequados para prevenir a contaminação (KAAN et al., 2021; PEREZ-MUÑOZ et al., 2017). As discrepâncias observadas na microbiota infantil em relação ao modo de parto, conforme descrito por Dominguez-bello et al. (2010), também desafiam a teoria da semente intrauterina. Portanto, mais estudos são necessários para investigar esses aspectos (KAAN et al., 2021).

#### 2.4.2 Período Perinatal

A hipótese mais amplamente aceita sugere que o processo de aquisição da microbiota oral tem início no momento do nascimento, com a ruptura das membranas amnióticas (WANG et al., 2020). Nesse cenário, a primeira transmissão de microrganismos para o bebê ocorre através da mãe durante o parto (BACKHED et al., 2015). É importante ressaltar que o contato microbiano durante o parto vaginal é distinto em relação ao parto por cesariana (DUNN et al., 2017; LI et al., 2018).

A microbiota de bebês nascidos por via vaginal geralmente se assemelha à microbiota vaginal de suas mães, com predominância de espécies como *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Sneathia*, enquanto bebês nascidos por cesariana tendem a ser colonizados por bactérias semelhantes à pele de suas mães, como *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010).

O parto cesariano é o tipo de parto mais realizado no Brasil, sendo efetuado em 70% dos casos (ANS, 2023). Este tipo de parto normalmente ocasiona uma separação da mãe e do recém-nascido por um tempo maior após o nascimento, tendo possíveis implicações na semeadura da microbiota neonatal (DUNN et al., 2017). Além disso, o maior contato com a equipe médica no ambiente de trabalho de parto e maior tempo de internação hospitalar, também podem influenciar na aquisição inicial de microrganismos (DUNN et al., 2017).

Li et al. (2018) investigaram os efeitos de diferentes modos de parto na microflora oral. Para tal, foi analisado dezoito bebês nascidos por cesariana e 74 por parto vaginal. O sequenciamento de alto rendimento do rRNA bacteriano 16S foi realizado em amostras orais coletadas imediatamente após o nascimento em recém-nascidos saudáveis. Diferentes bactérias orais foram encontradas entre os bebês nascidos de parto cesáreo em comparação ao grupo de parto normal. *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Bacteroides*, *Gardnerella* e *Ureaplasma* foram os gêneros mais abundantes no grupo com parto natural, enquanto *Petrimonas*, *Bacteroides*, *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Tepidmicrobium*, *VadinCA02* e *Bifidobacterium* foram dominantes no grupo com parto cesariana.

Boustedt et al. (2015) conduziram um estudo caso-controle envolvendo 149 crianças suecas, das quais 96 nasceram por parto vaginal e 53 por cesariana, a fim de avaliar diferenças na colonização salivar do recém-nascido comparando os dois tipos de partos. A coleta de amostras de saliva ocorreu dois dias após o nascimento e subsequentemente aos 1, 3 e 6 meses. Todas as amostras foram analisadas por meio de 13 sondas bacterianas previamente determinadas utilizando a técnica de *checkerboard* DNA-DNA *hybridization*. Os estreptococos gram-positivos (*S. mitis*, *S. salivarius*) apresentaram contagens mais elevadas em ambos os grupos, porém, no grupo de parto vaginal,

observou-se uma maior diversidade. Espécies como *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *F. nucleatum* e *L. salivarius* foram exclusivamente identificadas entre os bebês nascidos por via vaginal. A prevalência de *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *R. denticariosa* e *B. dentinum* aumentou com a idade em ambos os grupos, porém, foi significativamente menor no grupo de cesariana. Os resultados sugerem claramente que a composição microbiana da saliva difere significativamente de acordo com o método de parto durante os primeiros seis meses de vida.

Além do tipo de parto, o tipo de aleitamento também pode influenciar na aquisição inicial dos microrganismos. A amamentação materna exclusiva induz uma microbiota menos diversa em comparação com a alimentação com fórmula que é associado a uma maior diversidade de microrganismos (CILIEBORG et al., 2012). Um estudo piloto envolvendo 12 bebês de muito baixo peso ao nascer, verificou a mudança da microbiota oral a partir da administração de colostro via oral. Observou-se que o contato oral com o colostro influenciou na colonização da cavidade oral, sendo que a família de microrganismo dominante para o grupo caso (presença de colostro) foi *Planococcaceae* e para o grupo controle (ausência de colostro) foram as famílias de *Moraxellaceae* e *Staphylococcaceae* (SOHN et al., 2016).

Al-Shehri et al. (2016) realizaram um estudo observacional com 38 recém-nascidos australianos. Destes, 26 eram alimentados exclusivamente com leite materno, enquanto 12 recebiam fórmula infantil. O objetivo do estudo foi investigar a relação entre o tipo de alimentação e a composição da microbiota oral. Os resultados revelaram diferenças notáveis na composição da microbiota oral entre os grupos. Notadamente, os bebês alimentados com fórmula infantil exibiram uma proporção maior de espécies pertencentes ao filo *Bacteroidetes*, particularmente do gênero *Prevotella*, em comparação com os bebês amamentados exclusivamente com leite materno, o que indica a existência de um estabelecimento microbiano distinto com base no tipo de alimentação.

Além disso, como mencionado anteriormente, a prematuridade está associada a fatores que podem influenciar a colonização microbiana. Essa colonização pode variar consideravelmente, dependendo de diversos elementos, incluindo o uso de antibióticos, o peso ao nascer, as práticas médicas

empregadas e o ambiente de cuidados neonatais (BROOKS et al., 2014; SHIM et al., 2015; PIERSIGILLI et al., 2020; HENDRICKS-MUNOZ et al., 2015).

#### 2.4.3 Período Pós-natal

A longo prazo, observa-se uma relação direta entre a diversidade microbiana e a idade (RAMADUGU et al., 2021). Em um estudo conduzido por Drell et al. (2017), envolvendo 7 mães e 9 bebês estonianos, buscou-se explorar como a composição da microbiota materna influencia a colonização da microbiota intestinal e oral dos bebês nos primeiros meses de vida. A análise abrangeu amostras provenientes do intestino, vagina, leite materno, cavidade oral e aréola mamária das mães, comparadas com as microbiotas intestinal e oral de seus bebês em três momentos distintos (48-72 horas após o nascimento, 6-8 semanas e 6 meses após o nascimento) ao longo dos primeiros seis meses após o parto. Este estudo utilizou sequenciamento do gene 16S rRNA. Os resultados revelaram que, nos pares mãe-bebê examinados, a microbiota intestinal infantil abriga uma comunidade microbiana distinta, exibindo baixa similaridade com a microbiota que coloniza o intestino, vagina, pele, leite materno e cavidade oral da mãe durante os primeiros seis meses de vida do bebê. Em contrapartida, a microbiota oral dos bebês, assim como a microbiota do leite materno, a microbiota da aréola mamária e a microbiota oral das mães, apresentou alta similaridade entre si. *Firmicutes* e *Proteobacteria* foram dominantes na microbiota intestinal dos bebês ao longo do estudo. *Firmicutes* também se destacou na microbiota oral dos bebês durante todo o período analisado. A microbiota oral dos bebês mostrou-se relativamente estável ao longo do estudo, apresentando notável semelhança entre os diferentes indivíduos.

Outro estudo investigou o estabelecimento de *Streptococcus* na cavidade oral e nasofaringe, assim como a produção estimulada de protease IgA1 por esses microrganismos em 50 bebês caucasianos saudáveis, nas idades de 2, 6, 12, 18 e 24 meses. Os resultados revelaram que os *Streptococcus* estavam presentes na cavidade oral de todos os lactentes em todas as ocasiões de amostragem, com destaque para o *Streptococcus mitis* biovar 1, observado em todas as faixas etárias. *S. salivarius* e *S. mitis* biovar 2 alcançaram sua maior prevalência durante o primeiro ano de vida, enquanto a prevalência de *S. oralis*

e *S. sanguinis* não apresentou aumento significativo antes dos 12 meses de idade. A produção de protease IgA1 por *Streptococcus* precoces era comum na infância, sendo que, na microflora de *Streptococcus* oral, *S. mitis biovar 1* (especialmente durante o primeiro ano de vida) e *S. oralis* e *S. sanguis* foram as principais espécies responsáveis por essa atividade enzimática. Na nasofaringe, a protease IgA1 foi produzida por *S. mitis biovar 1*, *S. oralis* e *S. pneumoniae*. Em conclusão, observou-se que a colonização por *Streptococcus* difere nesses dois habitats próximos no trato respiratório superior (KÖNÖNEN et al., 2002).

As respostas imunológicas do hospedeiro, ao inibir certas espécies bacterianas e favorecer o estabelecimento de outras, exercem influência na colonização bacteriana, exemplificando a evolução simbiótica entre o hospedeiro e os microrganismos (KAAN et al., 2021).

Ainda, é importante notar que o fluxo salivar pode desempenhar um papel significativo na organização espacial das comunidades microbianas na cavidade oral. Um estudo, que analisou mais de 9.000 amostras orais, observou que, independentemente do tipo de tecido (dentes, mucosa alveolar, gengiva queratinizada ou mucosa bucal), as bactérias associadas à superfície variam ao longo de um gradiente ecológico que se estende da frente para a parte posterior da boca (PROCTOR et al., 2018).

Gomez et al. (2017) conduziram um estudo de coorte envolvendo 485 gêmeos, sendo 205 deles monozigóticos e 280 dizigóticos, todos com idades compreendidas entre cinco e onze anos. O propósito deste estudo foi avaliar as contribuições do genótipo do hospedeiro na configuração do microbioma oral. Os resultados obtidos indicaram uma maior semelhança nos perfis microbianos entre os gêmeos monozigóticos em comparação com os gêmeos dizigóticos. Essa constatação sugere algum papel da variação genética do hospedeiro na composição da microbiota.

Além disso, Ersin et al. (2006) demonstraram, por meio de um estudo transversal envolvendo 101 crianças com idades entre 15 e 35 meses, que o uso de chupetas pode estar correlacionado com alterações na microbiota bucal. Neste estudo, amostras de saliva não estimulada foram coletadas para isolar *S. mutans*, *Lactobacilos* e *C. albicans*. A identificação das colônias de *S. mutans* baseou-se na morfologia, utilizando um microscópio óptico. Além disso, as

amostras foram plaqueadas em Rogosa agar16 e ágar *albicans* para estimar os níveis de *Lactobacilos* e *C. albicans*, respectivamente. Os resultados revelaram uma correlação positiva entre a duração do uso de chupetas e as contagens de *Lactobacilos*.

Ademais, a erupção dentária pode ser considerada um marco crucial no desenvolvimento das comunidades microbianas, uma vez que cria uma superfície única e não deslizante propícia ao acúmulo de biofilme supra e subgingival, resultando em um aumento significativo na diversidade microbiana (RAMADUGU et al., 2021; ZHANG et al., 2022). Além da superfície dentária, os sulcos gengivais e os espaços interproximais fornecem uma ampla variedade de nichos, que contribuem para o desenvolvimento de uma microbiota altamente complexa (WELCH et al., 2020).

Zhang et al. (2022) realizaram um estudo que envolveu a coleta de amostras de saliva de recém-nascidos, tanto os nascidos a termo (n = 24) quanto os prematuros (n = 31), em dois momentos distintos: 30 dias após o nascimento e após a erupção dos dois incisivos decíduos inferiores. Por meio do sequenciamento Illumina MiSeq do gene 16S rRNA, o estudo teve como objetivo investigar as dinâmicas de alterações na microbiota de recém-nascidos durante esses dois estágios. Os resultados revelaram que o microbioma nos bebês prematuros em estágio inicial foi caracterizado por 15 biomarcadores microbianos, incluindo *Pseudomonas ssp.*, *Rothia mucilaginosa* e *Neisseria flavescens*. Além disso, foram identificadas 15 espécies bacterianas, como *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus spp.* e *Gemella spp.*, que eram mais abundantes nas amostras de recém-nascidos a termo antes da erupção dentária. Nos bebês prematuros edêntulos a proporção de *S. salivarius* representou mais de 3,80% da microbiota total, reduzindo significativamente para 0,76% após a erupção dentária. Da mesma forma, espécies de *Pseudomonas*, *R. mucilaginosa*, *Veillonella atypica* e *N. flavescens* também apresentaram redução no grupo de bebês prematuros que possuíam em comparação com aqueles em estágio pré-dentado. Esses resultados destacam as mudanças na microbiota oral durante os primeiros estágios de vida e sua relação com o desenvolvimento dentário, especialmente em bebês prematuros.

## 2.5 BACTÉRIAS ENVOLVIDAS COM A CÁRIE NA PRIMEIRA INFÂNCIA

A saúde bucal é importante em todas as fases da vida, mas nos primeiros anos a atenção à saúde oral é de extrema importância, já que a cárie dentária na infância é um problema prevalente e pode ter implicações importantes no desenvolvimento oral e geral da criança (XIANYIN et al., 2023).

A cárie na primeira infância (CPI) é caracterizada pela presença de uma ou mais superfícies dentárias afetadas, sejam elas cavidadas ou não, bem como por dentes perdidos ou restaurados devido à cárie, em crianças com idade inferior a seis anos. A etiologia da CPI é complexa, influenciada por diversos fatores comportamentais, dietéticos, imunológicos, genéticos e socioeconômicos. Embora esses diferentes fatores possam influenciar no desenvolvimento da doença, é consenso na literatura atual que a exposição aos carboidratos fermentáveis, em especial ao açúcar, é o fator determinante para a sua ocorrência, ou seja, bactérias isoladamente não são suficientes para causar a doença (TINANOFF et al., 2019).

O aparecimento da cavidade da lesão cariosa resulta da desmineralização do esmalte dentário, que é um processo diretamente vinculado à atividade de bactérias acidogênicas que fermentam os carboidratos presentes na dieta. Esse fenômeno resulta em um pH mais baixo, que favorece um desequilíbrio na microbiota oral, ou seja, uma disbiose, caracterizada pelo aumento de espécies acidogênicas no biofilme. A exposição frequente ao açúcar e carboidratos presentes na dieta, principalmente a sacarose, desencadeia a produção sustentada de ácido por essas bactérias acidogênicas e acidúricas, culminando na desmineralização da estrutura dentária (TINANOFF et al., 2019).

Espécies bacterianas consideradas colonizadoras iniciais condicionam a colonização subsequente, o que levará a ecossistemas complexos e estáveis na idade adulta. Estudos sobre a interação entre microrganismos colonizadores primários e a CPI são considerados de grande importância, uma vez que auxiliam no desenvolvimento de estratégias para promover a saúde bucal desde a infância (DASHPER et al., 2019).

Um estudo de coorte prospectivo buscou determinar qual seria esse conjunto de colonizadores iniciais. Dashper et al. (2019) coletaram amostras de

saliva de 134 crianças em seis diferentes idades, em um período que compreendeu os dois meses até quatro anos de idade. Para a análise, foi realizado sequenciamento do gene 16S rRNA. Como resultado verificou-se que com o tempo houve um aumento no número médio de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) de bactérias na saliva dos bebês. Inicialmente, aos 1,9 meses de idade, observou-se uma baixa diversidade bacteriana, com uma média de  $31 \pm 11$  OTUs. Essa diversidade aumentou significativamente, atingindo uma média de  $84 \pm 16$  OTUs aos 39 meses de idade, permanecendo estável até os 48,6 meses de idade. Aos 1,9 meses, sete espécies bacterianas, *Streptococcus mitis*, *Gemella haemolysans*, *Streptococcus salivarius*, *Rothia mucilaginosa*, *Staphylococcus caprae*, *Haemophilus parainfluenzae* e *Campylobacter concisus*, eram os microrganismos mais prevalentes.

Ao longo do mesmo estudo, o número de espécies detectadas aumentou, chegando a 14 OTUs aos 7,7 meses de idade, e o microbioma central da saliva continuou a evoluir, atingindo 28 espécies aos 13,2 meses e 32 espécies aos 19,7 meses. Essa diversidade manteve-se relativamente estável até os 48,6 meses de idade. Nas crianças com doença cárie clinicamente detectável as espécies bacterianas *Streptococcus mutans*, *Leptotrichia shahii*, *Scardovia wiggsiae* e *Leptotrichia 1040* foram associadas à CPI ao longo do estudo (DASHPER et al., 2019).

Em um estudo longitudinal 90 crianças foram acompanhadas aos 3, 6, 12, 24 meses e 7 anos de idade, com o propósito de avaliar o estabelecimento da microbiota oral. Amostras de saliva foram coletadas e submetidas a análises por sequenciamento genético. Foi observado que a composição bacteriana salivar mudou ao longo do tempo, iniciando com os colonizadores primários, incluindo *Streptococcus* e *Veillonella*, outros gêneros bacterianos, como *Neisseria*, estabeleceram-se após 1 ou 2 anos de idade. E ao final, a espécie bacteriana *Streptococcus cristatus* pareceu estar associada a um risco aumentado de desenvolvimento de cárie dentária, e, portanto, foi considerada um potencial biomarcador de risco de cárie (DZIDIC et al., 2018).

Xianyin et al. (2023) avaliaram a composição do biofilme dental por meio de sequenciamento genético em 20 crianças com CPI e 20 crianças saudáveis, sem a manifestação clínica da doença (CH). No grupo saudável, foram

identificados gêneros como *Neisseria*, *Leptotrichia*, *Porphyromonas* e *Gemella*. Já no grupo CPI, foi observada as predominâncias de *Lactobacillus*, *Veillonella* e *Prevotella*. Quando avaliaram a microbiota oral de locais saudáveis das crianças com CPI, os gêneros *Actinomyces*, *Bifidobacterium* e *Abiotrophia* foram descritos como cruciais na transição dos estados de saúde para CPI.

Grier et al. (2021) acompanharam 56 crianças, inicialmente livres de cárie e com idades entre um e três anos, ao longo de um período de 24 meses. Durante o estudo, 36 crianças desenvolveram CPI, enquanto 20 permaneceram livres de cárie. Amostras de saliva foram coletadas a casa seis meses e avaliadas por sequenciamento genético quanto a composição microbiana. Na amostra total, o gênero *Streptococcus* foi o mais prevalente, representando 61,7% da abundância geral, seguido por *Veillonella* (9,2%), *Neisseria* (4,1%), *Granulicatella* (3,7%) e um gênero pertencente à família Gemellaceae (3,7%). As espécies relacionadas à saúde, como *Peptostreptococcus sp.*, *Veillonella parvula*, *Oribacterium sp.* e *Pseudomonas sp.*, apresentaram uma diminuição em estados pré carie ou ativos de cárie. Em contrapartida, as espécies *Kingella sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Selenomonas sp.* e *Rothia mucilaginosa* prevaleceram nos estados pré cárie ou ativos de cárie. Dessa forma, o estudo caracterizou a microbiota oral de acordo com condição de saúde bucal na infância.

No estudo realizado por Hurley et al. (2019), foi avaliado o microbioma presente em três condições: 1) lesões dentinárias profundas de dentes decíduos em crianças afetadas por cárie na primeira infância, 2) saliva não estimulada dessas mesmas crianças, e 3) saliva não estimulada de crianças livres de cárie. A pesquisa envolveu crianças com idade inferior a 60 meses, sendo 68 crianças com cárie ativa e 70 crianças sem cárie. Nas lesões de cárie foi identificada alta abundância relativa de microrganismos pertencentes às famílias *Prevotellaceae*, *Veillonellaceae*, *Bifidobacteriaceae* e *Streptococcaceae*. Além disso, tanto em saliva quanto nas lesões cariosas de crianças com CPI foi detectada a predominância dos gêneros bacterianos *Streptococcus*, *Prevotella* e *Neisseria*.

Wang et al. (2019), em um estudo transversal, compararam o microbioma da saliva de crianças com idades entre 3 e 5 anos com CPI (n=25), e livres de cárie (n=19). As análises metagenômicas revelaram diferenças substanciais na microbiota entre os dois grupos estudados. O grupo livre de cárie exibiu maior

abundância do gênero bacteriano *Nitrospira* e um aumento relativo das espécies *Neisseria lactamica* e *Streptococcus australis*, em comparação com o grupo com CPI. Em contraste, o grupo com CPI apresentou maior predominância de gêneros como *Prevotella*, e níveis elevados de cerca de 20 espécies, incluindo *Streptococcus mutans*, *Prevotella* spp., *Prevotella amnii*, *Shuttleworthia satelles*, *Olsenella uli* e *Anaeroglobus geminatus*.

## 2.6 CARIE NA PRIMEIRA INFÂNCIA E PREMATURIDADE

Como mencionado anteriormente, vários são os fatores de risco que influenciam no desenvolvimento da CPI (TINANOFF et al., 2019). Nos últimos anos, algumas pesquisas têm sido desenvolvidas para avaliar se a prematuridade também pode ser considerada um fator de risco para a maior experiência da doença (SHI et al., 2020; TWETMAN et al., 2020).

Shi et al. (2020) realizaram uma revisão sistemática com metanálise com o objetivo de investigar se a prematuridade e o baixo peso ao nascer (BPN) estavam associados a maior prevalência de cárie na primeira infância. A análise abrangeu um total de 16 estudos, sendo 7 estudos caso-controle e 9 estudos transversais, envolvendo um total de 21.279 participantes com idades iguais ou inferiores a 6 anos. Os resultados da revisão indicaram que as crianças prematuras apresentaram um aumento significativo no risco de desenvolver CPI em comparação com aquelas nascidas a termo.

Uma outra revisão sistemática com metanálise foi realizada no mesmo ano por Twetman et al. (2020), com o propósito de analisar a associação entre o nascimento prematuro moderado a tardio e a prevalência de cárie na primeira infância. Esta revisão abrangeu 14 estudos que englobaram um total de 210.691 crianças. Esses estudos, publicados entre 2007 e 2020, incluíram diversas abordagens, como coortes de nascimento, estudos transversais, baseados em registros e de caso-controle. Os resultados da análise apontaram para uma maior prevalência de cárie na primeira infância em crianças nascidas prematuras moderadas a tardias, quando comparadas com aquelas nascidas a termo.

Os artigos que sustentam a associação entre o parto prematuro e a CPI, descrevem como fatores causais a prevalência aumentada de defeitos de esmalte em crianças com nascimento prematuro (COSTA et al., 2017). Defeitos

de esmalte predispõem ao desenvolvimento de cárie (PIERCE et al., 2019). Além disso, a prematuridade pode estar associada a maiores dificuldades para a prática do aleitamento materno, e como consequência, à maior frequência de aleitamento artificial (HARDING et al., 2009). Os substitutos do leite materno, contém quantidades maiores de açúcar o que predispões ao desenvolvimento da cárie dentária (PERERA et a., 2014).

Adicionalmente, crianças prematuras podem apresentar uma maior probabilidade de se alimentar frequentemente durante o dia e a noite, como parte de um esforço dos pais para atingir um ganho de peso desejado, o que representa um fator de risco negativo para a saúde bucal (TSANG et al., 2016).

Ademais, o parto prematuro pode estar associado a um sistema imunológico deficiente, e, conseqüentemente, à maior suscetibilidade à infecções por microrganismos como o *Streptococcus mutans* e outras cepas cariogênicas (WAN et al., 2001; MERGLOVA et al., 2014). Adicionalmente, o contato com microrganismos devido a procedimentos invasivos e o uso de antibióticos de amplo espectro podem alterar a composição da microbiota em desenvolvimento, resultando em desequilíbrios na abundância de gêneros comensais (PIERSIGILLI et al., 2020).

Após o exposto, observa-se uma tendência da literatura mais recente em reportar uma maior experiência de CPI em crianças prematuras comparado àquelas nascidas a termo. No entanto, há poucos estudos sobre as características específicas da colonização microbiana oral inicial, especialmente aquelas consideradas cariogênicas, em bebês prematuros. Diante dessa lacuna, ressalta-se a importância de conduzir pesquisas adicionais, que busquem avaliar o impacto do nascimento pré-termo no desenvolvimento da microbiota oral. Esta abordagem não apenas aprimorará o entendimento sobre os elementos relacionados à prematuridade que influenciam na aquisição de microrganismos, mas também fornecerá conhecimentos fundamentais para a formulação de estratégias preventivas e intervenções eficazes na promoção da saúde bucal em crianças nascidas prematuramente.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo deste estudo foi avaliar a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico aos 15, 30 e 90 dias de vida, em uma coorte de crianças prematuras e nascidas a termo, e sua associação com variáveis perinatais, ambientais, alimentares e de uso de antibiótico e glicose.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico aos 15, 30 e 90 dias de vida e fatores associados em crianças prematuras e nascidas a termo;
- Avaliar a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico aos 15, 30 e 90 dias de vida e fatores associados em crianças prematuras;
- Comparar as diferenças de aquisição de microrganismos com potencial cariogênico nos três diferentes tempos de avaliação em crianças nascidas a termo e naquelas prematuras;

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo seguiu os parâmetros da Declaração de Helsinki (WMA, 2013) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná – processo número 34787320.4.0000.0102 (ANEXO 1), Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Guarulhos- processo número 34787320.4.3004.5506 (ANEXO 2), Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba-PR- processo número 34787320.4.3002.0101 (ANEXO 3) e Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná - processo número 34787320.4.3001.0096 (ANEXO 4). O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi assinado por todos os responsáveis legais das crianças prematuras (APÊNDICE 1) e a termo incluídas (APÊNDICE 2).

A execução deste estudo seguiu as recomendações da Iniciativa STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology) para estudos observacionais de coorte (VANDENBROUCKE et al., 2007).

### 4.2 SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS

A seleção de indivíduos foi realizada por duas mestrandas e duas doutorandas em Odontologia, com áreas de concentração em Odontopediatria e clínica odontológica. Foram selecionados seis bebês com nascimento prematuro na unidade de tratamento intensivo neonatal, alojamento conjunto e no ambulatório de pediatria preventiva (SAM 11), do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), no município de Curitiba-PR e três bebês com nascimento à termo assistidos na Unidade Básica de Saúde (UBS) Mãe Curitibana da Secretaria Municipal de Saúde, no município de Curitiba-PR.

### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos bebês com nascimento prematuro, ou seja com menos de 37 semanas completas de gestação, e aqueles nascidos a termo, ou seja, entre a 37<sup>a</sup> a 41 semanas e 6 dias de gestação.

Foram excluídas as crianças portadores de síndromes, doença neurológicas e de fissuras labiopalatais, com óbito materno, que vieram a óbito

durante a internação ou durante o acompanhamento médico, os que foram transferidos para outros locais de atendimento e os lactentes institucionalizados. Também foram excluídos bebês cujas mães apresentassem alguma alteração neurológica ou cognitiva que impedisse a realização das entrevistas ou com idade inferior a 18 anos.

#### 4.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Neste estudo do tipo coorte prospectivo com amostra composta por dois grupos, o grupo exposto é constituído por crianças com nascimento prematuro (idade gestacional <37 semanas), sendo subclassificadas em: extremamente prematuro (<28 semanas), muito prematuro (28 a < 32 semanas) e pré-termo moderado a tardio (32 a < 37 semanas), e o grupo não exposto é composto por crianças nascidas a termo (idade gestacional de 37 a  $\leq$ 42 semanas).

O estudo foi conduzido em três fases (FIGURA 1):

- T0: avaliação inicial realizada dentro dos primeiros 15 dias de vida do bebê. Nesta etapa, foi realizado a coleta de amostra de saliva dos bebês. Dados não clínicos também foram registrados e incluíram um questionário sobre características socioeconômicas e demográficas. Além disso, foi realizado coleta de informações sobre condições de saúde ao nascimento, condições de saúde perinatais (ver item 4.6) em prontuários médicos e carteiras de saúde das crianças (APÊNDICE 3).
- T1: aos 30 dias vida do bebê. Nesta etapa, foi realizado coleta de amostra de saliva dos bebês, aplicação de questionários sobre condições de saúde pós-natais (APÊNDICE 4). Dados não clínicos (ver item 4.6) foram registrados a partir de prontuários médicos e carteiras de saúde das crianças.
- T2: aos 3 meses de vida do bebê. Realizado coleta de amostras de saliva dos bebês, e as mães responderam questionários sobre condições de saúde pós-natais (APÊNDICE 4). Dados não clínicos (ver item 4.6) foram registrados a partir de prontuários médicos e carteiras de saúde das crianças.

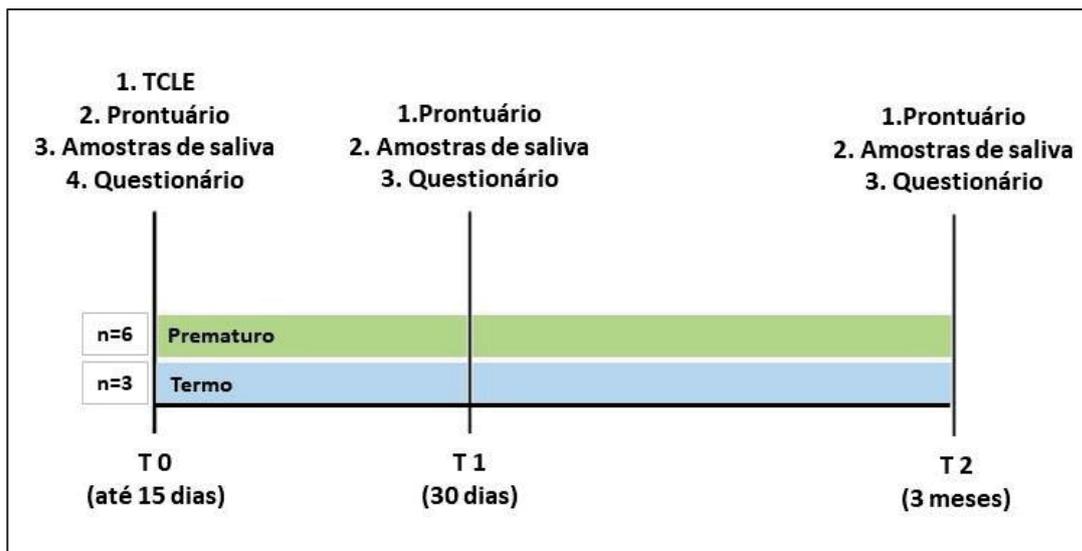


FIGURA 1: Fluxograma demonstrando as diferentes fases do estudo.

O período para o recrutamento dos participantes foi de julho de 2021 a janeiro de 2022. Os métodos utilizados para o acompanhamento dos participantes entre as diferentes fases do estudo foram mensagem via WhatsApp, sendo elas padronizadas: mensagem de boas vindas a pesquisa, mensagem de aviso quanto a data de retorno com 7 dias de antecedência e mensagem lembrete 24 horas antes da consulta. Além disso, o retornos foram programados para serem juntos com o atendimento médico do bebê.

A amostragem foi não probabilística, por conveniência.

#### 4.5 TREINAMENTO DOS INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA COLETA DE DADOS

##### 4.5.1 Estudo piloto

Um estudo piloto foi realizado com o objetivo de testar a adequação e aplicabilidade metodológica dos instrumentos utilizados. Esta etapa permitiu verificar a dinâmica de aplicação dos instrumentos e o tempo médio despendido com cada participante. Para a sua realização, foram selecionadas 10 binômios mães-bebês assistidos no Ambulatório de Pediatria Preventiva no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, os quais não foram incluídos no estudo principal. O desenho metodológico se mostrou adequado, porém, alguns termos do questionário foram modificados a fim de possibilitar maior compreensão por parte das mães.

## 4.6 DADOS NÃO CLÍNICOS

### 4.6.1 Características socioeconômicas e demográficas

Os responsáveis legais pelos participantes responderam um questionário (APÊNDICE 3) contendo informações socioeconômicas e demográficas. A avaliação socioeconômica seguiu os critérios da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP, 2021). Nesta classificação, foram atribuídas pontuações segundo o grau de escolaridade do chefe da família e a posse de itens domésticos a partir de uma lista previamente elaborada (ANEXO 5). Ao final, os indivíduos foram categorizados em 8 classes econômicas que variavam de A1 (classe econômica mais alta) até E (classe econômica mais baixa).

### 4.6.2 Variáveis perinatais

Na primeira etapa do estudo (baseline/T0), foram coletadas informações relacionadas às variáveis perinatais, incluindo: sexo, idade gestacional, peso ao nascer e tipo de parto (APÊNDICE 3).

### 4.6.3 Variáveis ambientais, uso de antibiótico e glicose

Em T0, T1 e T2 foram coletados os seguintes dados considerados como variáveis ambientais: internação em UTIN, necessidade de incubadora, uso de sonda gástrica, uso de chupeta e uso de mamadeira. Além disso, foram registrados nos três tempos de avaliação se a criança fez uso de antibiótico e/ou glicose. A administração de glicose era administrada exclusivamente na UTIN via oral. Os dados foram coletados por meio dos prontuários médicos, carteiras de saúde da criança e questionários desenvolvidos especialmente para este estudo (APÊNDICE 4).

### 4.6.4 Variáveis de alimentação

Nas três fases do estudo foram coletadas variáveis relacionadas à alimentação incluindo: se a criança mamou logo após o nascimento (sendo considerado dentro da primeira hora), se a criança recebeu colostro; amamentação exclusiva no seio; uso de fórmula infantil (considerando a utilização de fórmulas exclusiva ou associado às outras modalidades de aleitamento, como o leite proveniente de bancos de leite ou ordenhado pela mãe, bem como a amamentação direta no seio) e o consumo de açúcar de adição.

Entende – se por açúcar de adição aquele adicionado aos alimentos e bebidas pelo fabricante, cozinheiros ou pelo consumidor durante a refeição (WHO, 2015).

Os dados foram coletados por meio dos prontuários médicos, carteiras de saúde da criança e questionários confeccionados especialmente para a presente pesquisa (APÊNDICE 4).

#### 4.7 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

##### 4.7.1 Coleta de amostras de saliva das crianças prematuras e nascidas a termo

Amostras de saliva não estimulada foram obtidas em cada tempo de acompanhamento (FIGURA 2) por meio de *swabs* tipo cotonetes esterilizados. Para a coleta, foi utilizado quatro cotonetes inseridos separadamente nas seguintes regiões: um embaixo da língua, um na superfície dorsal da língua e dois em contato com a face interna das bochechas, um de cada lado, até que se observasse os cotonetes úmidos (NG et al., 2013). Após a coleta, as extremidades dos cotonetes foram colocadas em um tubo tipo falcon contendo 500µL de solução tampão TE (10 mM Tris-HCL Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), e rapidamente armazenadas em gelo seco para posteriormente serem armazenadas em freezer a -80°C até serem analisadas quanto ao conteúdo microbiano pela técnica de sequenciamento.

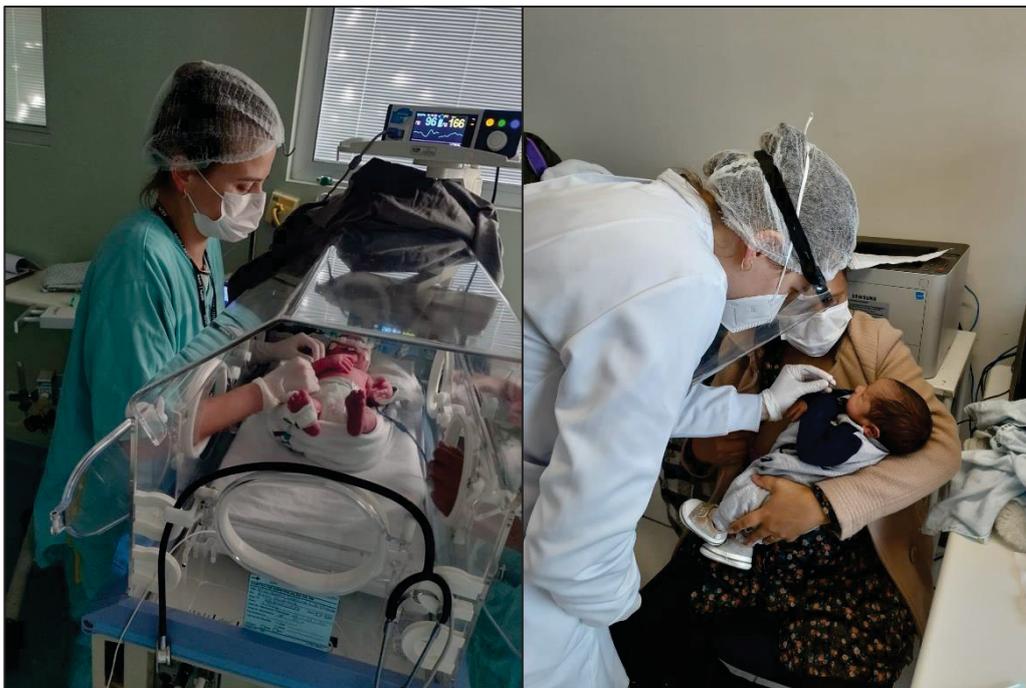


FIGURA 2: Coletas de saliva realizadas em UTIN do HC - UFPR e na UBS Mãe Curitibaana.

#### 4.7.2 Processamento laboratorial e análise microbiológica

O DNA das amostras foi isolado de acordo com as instruções do fabricante utilizando kit de extração MasterPure™ DNA Purification (Epicentre, Madison, WI, EUA). Foi incluída uma incubação a 37 °C durante o período de uma noite com 1 µL de solução de lizozima Ready-Lyse em cada amostra para garantir o isolamento do DNA de todas as cepas. A pureza e as concentrações do DNA foram determinadas por meio de um espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA).

A região variável V3 - V4 do gene 16S rRNA foi amplificada por PCR usando código de barras para os primers 16S 341F e 806R (Caporaso et al. 2012) e os produtos do PCR foram purificados (AMPure beads Beckman Coulter) e quantificados (Quant-iT™ PicoGreen®). Quantidades iguais de cada biblioteca foram reunidas, purificadas em gel, analisadas e quantificadas (2100 Bioanalyzer, DNA High Sensitivity chip; Agilent Technologies). A seguir, a mistura das bibliotecas foi corrida no sequenciador MiSeq (Illumina). Foi utilizado um kit para 500 ciclos de acordo com as recomendações do fabricante.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise descritiva dos resultados foi realizada por meio da média e desvio padrão para variáveis quantitativas, e segundo os valores absolutos e relativos para variáveis qualitativas.

A análise inferencial foi realizada por meio de testes não paramétricos para variáveis categóricas e variáveis quantitativas sem distribuição normal. Testes paramétricos foram utilizados para variáveis quantitativas com distribuição normal. A normalidade foi testada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo a variável considerada com distribuição normal quando  $P > 0,05$ .

As diferenças entre as características socioeconômicas e demográficas entre o grupo prematuro e à termo foi realizada por meio de teste exato de Fischer, U de Mann-Whitney e teste t de Student para amostras independentes.

O percentual de abundância relativa das leituras de cada grupo taxonômico (OTUs) presente nas amostras foi determinada utilizando o programa QIIME. O programa USEARCH foi empregado para identificação e eliminação das sequências encontradas em baixa frequência, com menos de

200 nucleotídeos, e sem identidade exata (quimeras). As sequências selecionadas foram alinhadas com a base de dados Human Oral Microbiome Database (HOMD) para identificação filogenética de cada OTU.

As diferenças das médias de percentual de abundância relativa considerando cada microrganismo e os diferentes tempos de avaliação foi realizado através do teste de ANOVA para medidas repetidas. A esfericidade foi testada por meio do teste Mauchly. Caso o resultado fosse significativo, o post teste Bonferroni seria empregado.

No caso das diferenças entre as médias de percentual de abundância relativa dos microrganismos selecionados para este estudo e os fatores perinatais, ambientais, de uso de antibiótico e glicose, e de alimentação foram utilizados os testes de ANOVA um critério com post teste de Tukey para grupos com três categorias, e teste t de Student para amostras independentes para grupos com duas categorias.

As análises foram realizadas através do *software* SPSS versão 20,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). O nível de significância adotado para todas as análises foi de 5%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 DADOS NÃO CLÍNICOS

Foram incluídos no estudo 9 participantes, sendo 6 bebês prematuros (um extremo prematuro; dois muito prematuros e três pré-termo moderados a tardios) e 3, nascidos a termo. Quatro (66,7%) no grupo prematuro e 2 (66,7%) no grupo a termo eram do sexo feminino. Os grupos se mostraram homogêneos quanto a classe econômica, renda, escolaridade e idade materna (TABELA 1). As médias de idade (em dias) para cada momento de avaliação foram: T0 de 4,56 dias (desvio padrão; DP: 2,55), de 33,22 dias para T1 (DP: 7,87), e de 89,67 dias (DP:7,15) em T2.

Tabela 1 – Características socioeconômicas e demográficas do total da amostra de estudo. Curitiba, Brasil, 2023.

Variável	Prematuros (n = 6)	A termo (n = 3)	Valor de P
<b>Sexo (n,%)</b>			
Masculino	2 (33,3)	1 (33,3)	1,000*
Feminino	4 (66,7)	2 (66,7)	
<b>Classe econômica (n,%)</b>			
≥ B	1 (33,3)	2 (66,7)	0,226*
≤ C	5 (83,3)	1 (16,7)	
<b>Renda familiar mensal per capita em reais (média, DP)</b>	1418,65 (792,8)	1277,78 (481,1)	0,789**
<b>Escolaridade materna (n,%)</b>			
> 8 anos	2 (50,0)	2 (50,0)	0,524*
≤ 8 anos	4 (80,0)	1 (20,0)	
<b>Idade materna (média, DP)</b>	30,33 (8,3)	32,67 (7,5)	0,905***

\* Teste exato de Fisher

\*\* Teste t de student para amostras independentes

\*\*\* Teste U de Mann-Whitney

Do total da amostra, observou-se que três participantes com nascimento por meio de cesariana, todos os quais eram bebês prematuros. O baixo peso ao nascer foi identificado em cinco bebês, sendo todos prematuros.

Entre os fatores ambientais analisados em T0, quatro bebês necessitaram de internamento em UTIN e de uso de sonda gástrica, sendo todos prematuros.

Da mesma forma, cinco bebês prematuros necessitaram do uso da incubadora após o nascimento. Em T1, três bebês prematuros foram internados em UTIN e receberam sonda. Dois bebês prematuros necessitaram de uso de incubadora. Não foi observado nenhuma ocorrência de internamento em UTIN, uso de sonda gástrica e necessidade de uso de incubadora em T2 (TABELA 2).

Ainda em relação às variáveis ambientais, em T0, apenas um bebê nascido a termo utilizava a chupeta, enquanto dois faziam uso da mamadeira, sendo um prematuro e um nascido a termo. Em T1, um bebê nascido a termo utilizava a chupeta; três faziam uso da mamadeira, sendo destes, dois prematuros. Em T2, quatro bebês utilizavam a chupeta, dos quais dois eram prematuros; seis bebês faziam uso da mamadeira, sendo cinco prematuros.

Quanto ao uso de antibióticos e glicose, em T0, 3 participantes faziam uso de antibiótico, sendo todos prematuros; um bebê prematuro utilizou a glicose neste mesmo período (TABELA 2). Em T1, três participantes faziam uso de antibiótico, sendo todos prematuros; dois bebês fizeram uso de glicose, sendo os dois com nascimento prematuro. Já em T2, não foi observado o uso de antibióticos ou glicose por nenhum participante (TABELA 2).

Tabela 2 – Variáveis perinatais e ambientais, e de uso de antibiótico e glicose em T0, T1 e T2 e suas respectivas distribuições no total da amostra e no grupo prematuro. Curitiba, Brasil, 2023.

Variáveis	Total da amostra (n=9)			Prematuros (n=6)		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
Internamento em UTIN	4	3	0	4	3	0
Uso de sonda gástrica	4	3	0	4	3	0
Necessidade de incubadora	5	2	0	5	2	0
Uso de chupeta	1	1	4	0	0	2
Uso de mamadeira	2	3	6	1	2	5
Uso de antibiótico	3	3	0	3	3	0
Uso de glicose	1	2	0	1	2	0
Tipo de parto - Vaginal / Cesariano	6 / 3	-	-	3 / 3	-	-
Baixo Peso ao nascimento	5	-	-	5	-	-

A Tabela 3 mostra a distribuição do total da amostra e do grupo de crianças prematuras quanto às variáveis de alimentação. Em T0, observou-se que quatro bebês foram amamentados no seio logo após o nascimento, sendo

dois prematuros. Neste mesmo período, dos seis bebês que receberam colostro, quatro eram prematuros. Três participantes eram amamentados somente no seio, sendo apenas um prematuro. Dois bebês utilizavam fórmula infantil, sendo um prematuro; um participante nascido prematuramente era alimentado no seio e fórmula infantil. Em T1, apenas um bebê prematuro recebeu colostro. Três bebês amamentavam somente no seio, sendo apenas um prematuro. Dois participantes eram amamentados no seio e recebiam fórmula infantil, sendo todos prematuros. Em T2, oito participantes eram amamentados somente no seio, sendo apenas um prematuro. Seis bebês utilizavam fórmula infantil, sendo cinco prematuros. Cinco participantes eram amamentados no seio e recebiam fórmula infantil, sendo todos eles prematuros. Em T2, um bebê prematuro teve contato com açúcar de adição, através do açúcar adicionado ao chá (TABELA 3).

Tabela 3 – Variáveis de alimentação em T0, T1 e T2 e suas respectivas distribuições no total da amostra e no grupo prematuro. Curitiba, Brasil, 2023.

Variáveis - n	Total da amostra (n=9)			Prematuros (n=6)		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
Mamou no seio logo após o nascimento	4	0	0	2	0	0
Recebeu colostro	6	1	0	4	1	0
Amamenta somente no seio	3	3	8	1	1	1
Usa fórmula infantil	2	6	6	1	5	5
Amamenta no seio e recebe fórmula infantil	1	2	5	1	2	5
Açúcar	0	0	1	0	0	1

## 5.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

A análise por sequenciamento genético de todas as amostras revelou um número mínimo de leituras de 147.851, com uma média de 208.611 por amostra, representando 6.905 variantes únicas da sequência de amplicon (ASVs) do gene 16S rRNA. Destas, 84 gêneros bacterianos foram identificados. A diversidade alfa da amostra está representada na figura 3 pela curva de rarefação dos grupos Termo e Pré termo (FIGURA 3A) e nos tempos T0, T1 e T2 (FIGURA 3B). A diversidade do microbioma foi superior no grupo de crianças nascidas a termo, com o aumento desta diversidade ao longo dos períodos de avaliação.

O percentual da abundância relativa dos 84 gêneros bacterianos identificados nas amostras está apresentado na figura 4. Os bebês prematuros apresentaram uma abundância relativa superior aos bebês nascidos a termo nos três tempos de avaliação. Dos gêneros identificados, 14 apresentam potencial cariogênico, especificamente com a cárie na primeira infância, sendo: *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Rothia*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Neisseria*, *Abiotrophia*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Granulicatella* e *Leptothrix* (DUQUE et al., 2023; XIANYIN et al., 2023; GRIER et al., 2021; XIÃO et al., 2021; WANG et al., 2019; DASHPER et al., 2019; HURLEY et al., 2019; COLOMBO et al., 2017; JIANG et al., 2013; TANNER et al., 2011a; ; TANNER et al., 2011b).

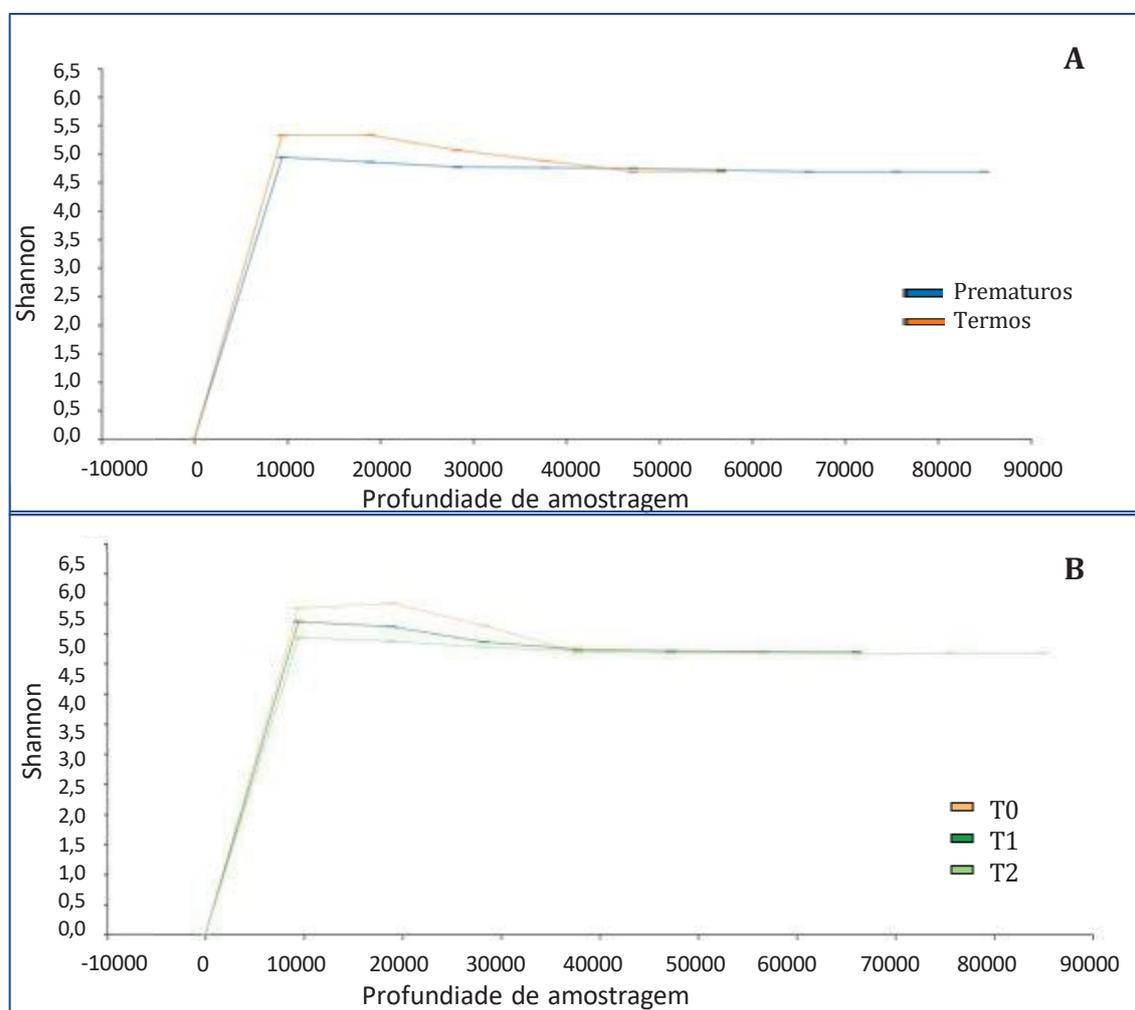


FIGURA 3: Curva de rarefação da diversidade alfa nos grupos termo e prematuros (A) e nos tempos T0, T1 e T2 (B).

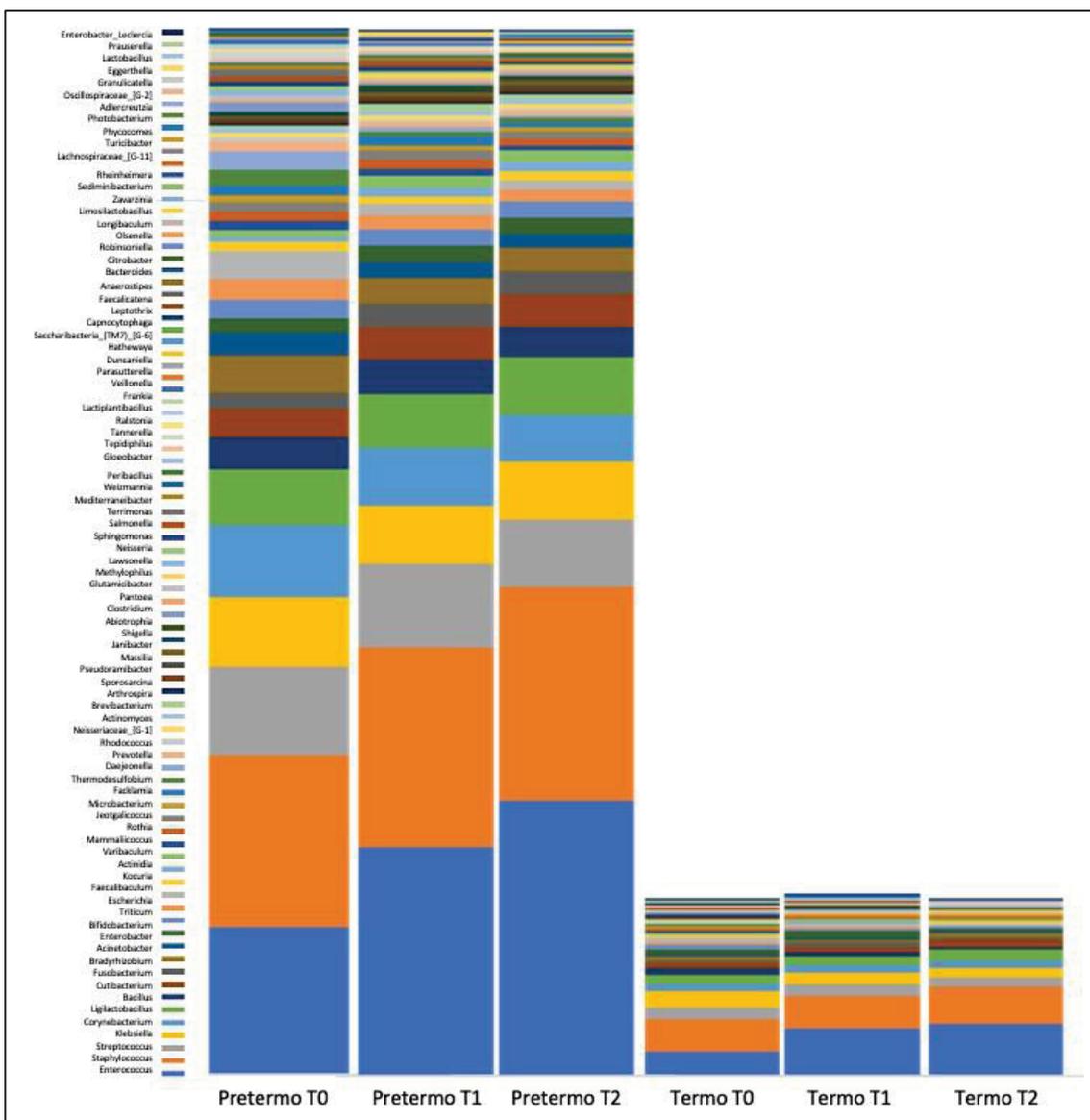


FIGURA 4: Abundância relativa dos gêneros identificados nas amostras de saliva dos grupos termo e prematuros nos tempos de acompanhamento T0, T1 e T2.

Quando avaliados os 14 gêneros com potencial cariogênico, comparando os três tempos de análise, não houve diferença significativa nas médias de percentual de abundância relativa para nenhum deles, tanto na amostra total (FIGURA 5), quanto apenas para o grupo de crianças prematuras (FIGURA 6).

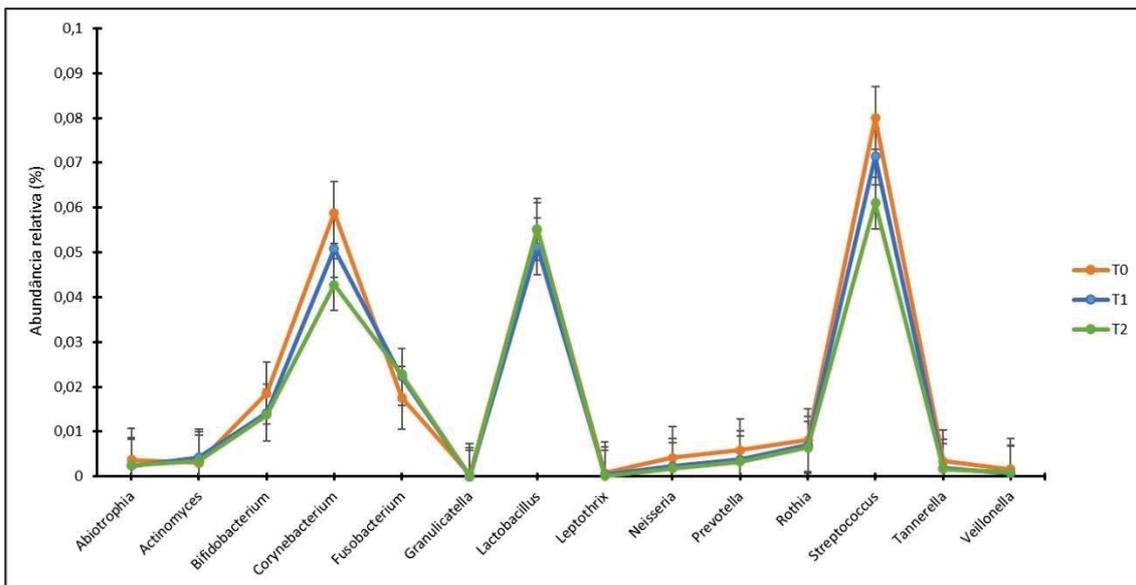


FIGURA 5: Médias da abundância relativa (%) dos gêneros ao longo dos três tempos de estudo para a amostra total.

ANOVA para medidas repetidas (sem significância estatística)

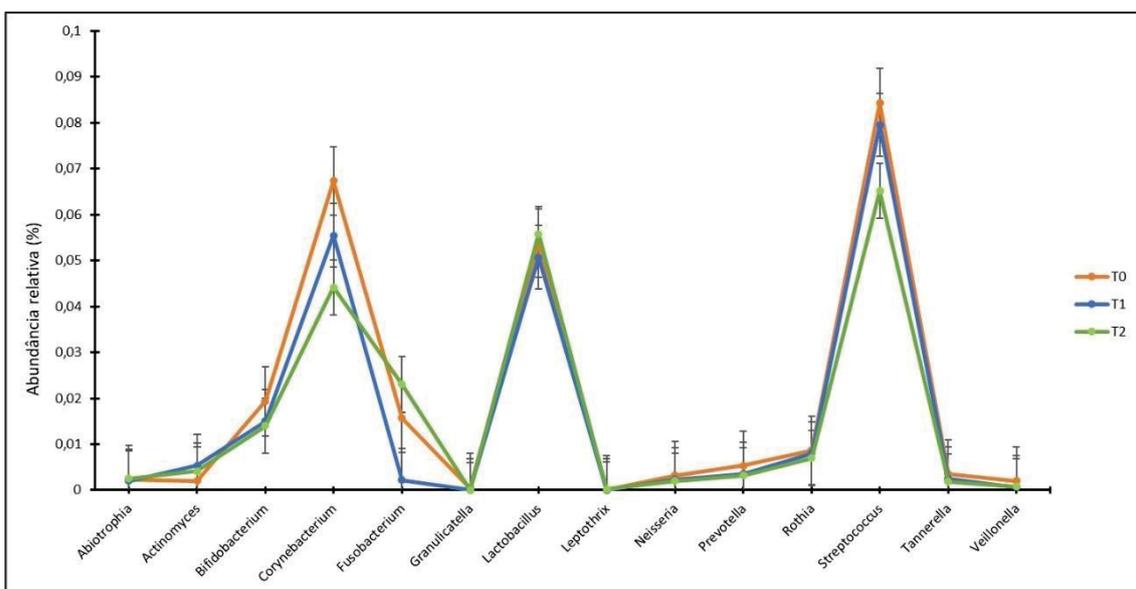


FIGURA 6: Médias da abundância relativa (%) dos gêneros ao longo dos três tempos de estudo para o grupo prematuro.

ANOVA para medidas repetidas (sem significância estatística)

A figura 7 mostra a distribuição do percentual de cada um dos 14 gêneros com potencial cariogênico avaliados no total da amostra em T0, T1 e T2. Constatou-se que seis gêneros, incluindo *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Rothia*, compuseram 91,2% do total dos gêneros com potencial cariogênico.

Considerando o total da amostra, o percentual observado para os seis gêneros, para cada tempo de avaliação foi de: **a) T0: *Streptococcus* (30,6%),**

*Corynebacterium* (22,6%), *Lactobacillus* (21,1%), *Bifidobacterium* (7,1%), *Fusobacterium* (6,7%) e *Rothia* (3,1%); **b) T1:** *Streptococcus* (30,7%), *Lactobacillus* (22,1%), *Corynebacterium* (21,8%), *Fusobacterium* (9,6%), *Bifidobacterium* (6,1%) e *Rothia* (3,0%); **c) T2:** *Streptococcus* (28,3%), *Lactobacillus* (25,6%), *Corynebacterium* (19,8%), *Fusobacterium* (10,6%), *Bifidobacterium* (6,3%) e *Rothia* (3,0%).

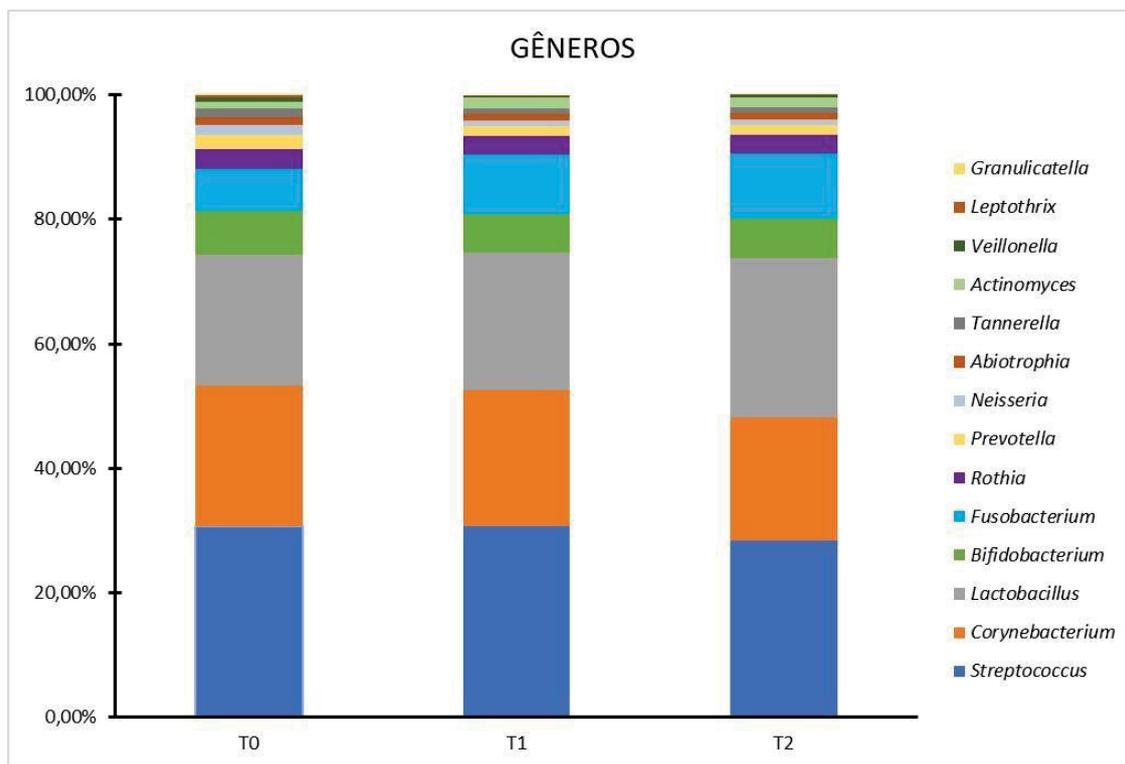


FIGURA 7: Gêneros bacterianos associados a CPI identificados no total da amostra.

A figura 8 mostra a distribuição do percentual de cada um dos 14 gêneros com potencial cariogênico avaliados no grupo de prematuros, em T0, T1 e T2. Foi observado que *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Rothia* compuseram 92,9 % do total dos gêneros em T0 e T2. Em T1, os gêneros mais prevalentes foram *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces* e *Rothia*. Em cada tempo de avaliação, o percentual observado foi de: a) T0: *Streptococcus* (31,5%), *Corynebacterium* (25,1%), *Lactobacillus* (20,1%), *Bifidobacterium* (7,2%), *Fusobacterium* (5,8%) e *Rothia* (3,2%); b) T1: *Streptococcus* (35,0%), *Corynebacterium* (24,4%), *Lactobacillus* (22,3%), *Bifidobacterium* (6,6%) e *Rothia* (3,5%); *Actinomyces* (2,3%) T2: *Streptococcus* (29,1%), *Lactobacillus*

(24,9%), *Corynebacterium* (19,7%), *Fusobacterium* (10,3%), *Bifidobacterium* (6,3%) e *Rothia* (3,1%).

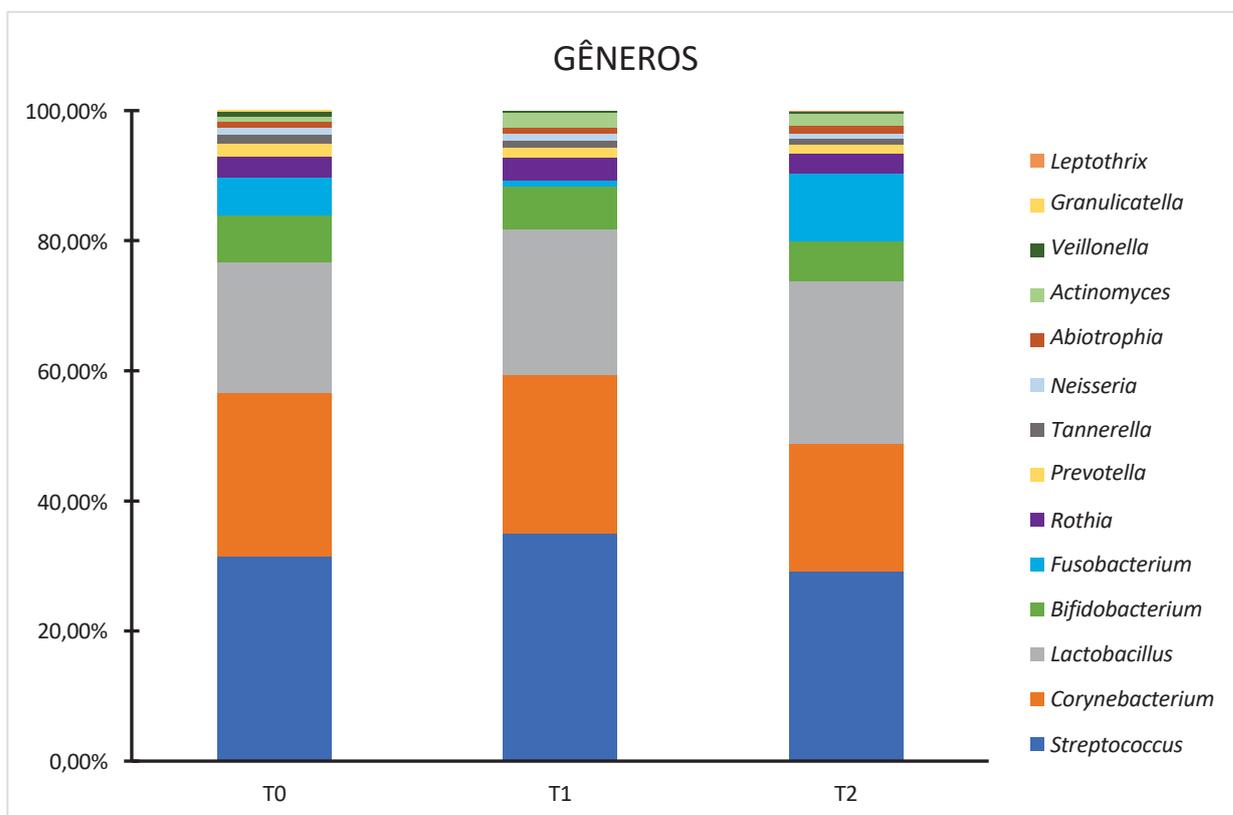


FIGURA 8: Gêneros bacterianos associados a CPI identificados no amostra de prematuros.

Conforme mencionado anteriormente, considerando a amostra total, os seis gêneros predominantes - *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Rothia* - constituíram cerca de 92% do total de gêneros observados nas três fases da pesquisa. Estes microrganismos foram os selecionados para a avaliação dos fatores associados (perinatais, ambientais, alimentares e de uso de antibiótico e glicose).

#### 5.2.1 Gêneros em T0 na amostra total (prematuros e nascidos a termo)

As médias dos percentuais de abundância relativa (%) dos seis gêneros selecionados não apresentou relação com nenhuma variável perinatal, ambiental, de uso de antibiótico, uso de glicose e de alimentação.

### 5.2.2 Gêneros em T1 na amostra total (prematurados e nascidos a termo)

As Figuras 9 e 10 mostram a relação entre as médias de percentual de abundância relativa dos gêneros *Streptococcus* e *Corynebacterium* com a classificação do recém-nascido quanto à sua idade gestacional.

As médias de percentual de abundância relativa foram significativamente maiores para o gênero *Streptococcus* no grupo de neonatos extremamente prematuros em comparação ao grupo de nascidos a termo. Além disso, para o mesmo gênero, a média de percentual de abundância relativa mostrou-se significativamente maior no grupo de prematuros moderados a tardios em comparação ao grupo de nascidos a termo (FIGURA 9).

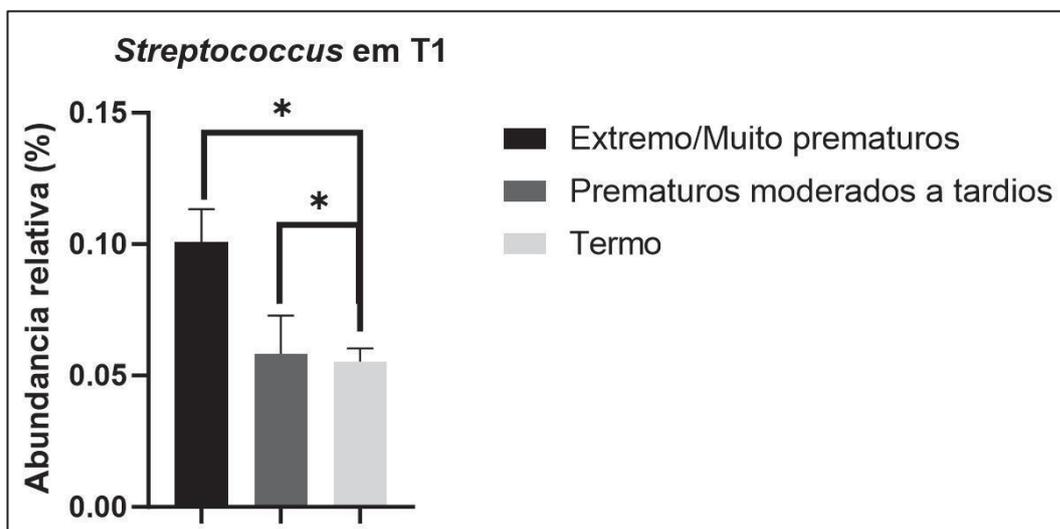


FIGURA 9: Médias da abundância relativa (%) para *Streptococcus* em T1 para o grupo termo e prematuro dentro das suas classificações.

\* ANOVA um critério

\* Significa  $P < 0,05$

O gênero *Corynebacterium* apresentou maiores médias de percentual de abundância relativa em bebês extremo e muito prematuros quando comparados àqueles com nascimento a termo (FIGURA 10). Para os demais gêneros avaliados em T1, não houve relação entre as médias do percentual de abundância relativa com as categorizações das idades gestacionais.

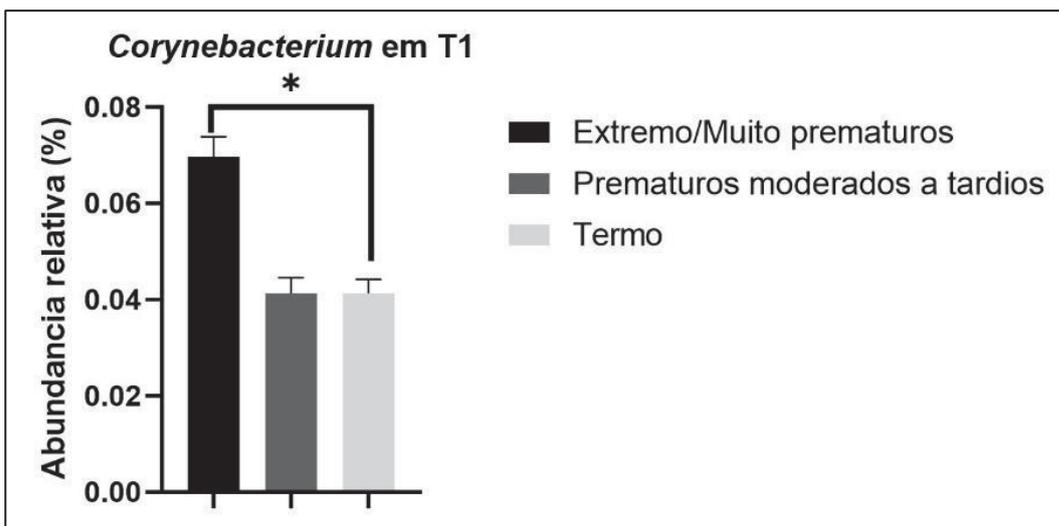


FIGURA 10: Médias da abundância relativa (%) para *Corynebacterium* em T1 para o grupo termo e prematuro dentro das suas classificações.

\* ANOVA um critério

\* Significa  $P < 0,05$

Quanto às demais variáveis perinatais, ambientais e de uso de antibiótico e glicose e a relação com os gêneros em T1, *Streptococcus* e *Bifidobacterium* se mostraram associados com algumas destas variáveis. Maiores médias de percentual de abundância relativa de *Streptococcus* foram observadas em amostras de bebês que estiveram internados na UTIN em T0 e T1, que receberam sonda gástrica em T0 e T1, que foram submetidos à intubação em T0, em bebês com baixo peso ao nascer e que receberam antibióticos em T0 (FIGURA 11).

Quanto ao gênero *Bifidobacterium*, foi verificado maiores médias de percentual de abundância relativa em amostras de bebês que estiveram na UTIN em T1, utilizaram sonda gástrica no mesmo período, e receberam antibióticos em T0 (FIGURA 12).

Em relação às variáveis de alimentação e os gêneros avaliados em T1 *Streptococcus*, *Rothia*, *Fusobacterium* e *Bifidobacterium* apresentaram relação com essas variáveis. Assim, menores médias de percentual de abundância relativa de *Streptococcus* foram observadas em amostras de bebês que foram amamentados no seio logo após o nascimento e que estavam em aleitamento exclusivo no seio em T0 e T1. Em contrapartida, maiores médias de *Streptococcus* foram verificadas em amostras de bebês que receberam uso de fórmula infantil em T1 (FIGURA 11).

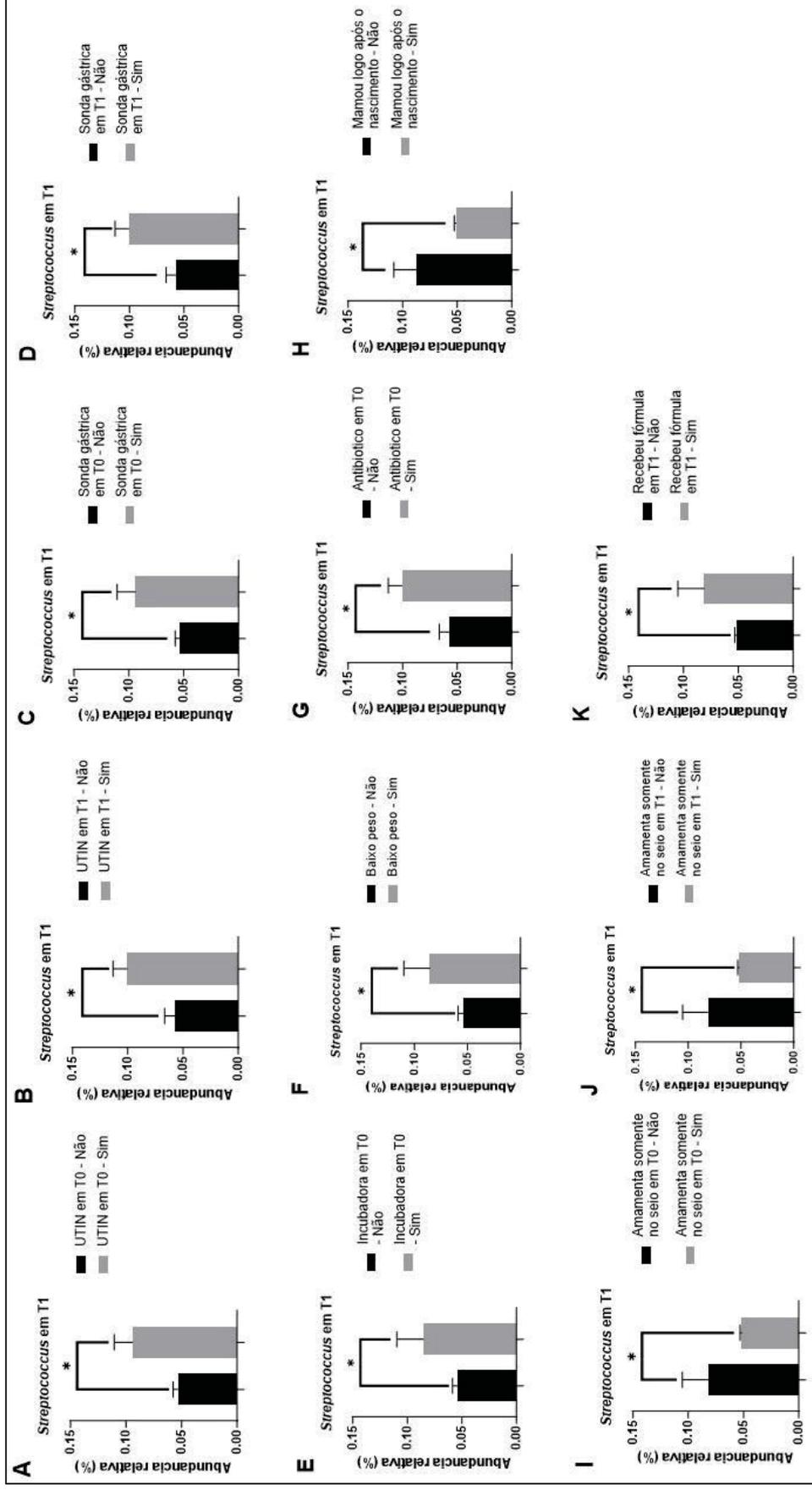


FIGURA 11: Médias da abundância relativa (%) para *Streptococcus* em T1 para o grupo termo e prematuro, considerando: (A) UTIN em T0; (B) UTIN em T1; (C) Sonda gástrica em T0; (D) Sonda gástrica em T1; (E) Incubadora em T1; (F) Baixo peso ao nascer; (G) Antibiótico em T0; (H) Mamou no seio logo após nascimento; (I) Amamenta somente no seio T0; (J) Amamenta somente no seio T1; (K) Recebeu fórmula infantil em T1.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

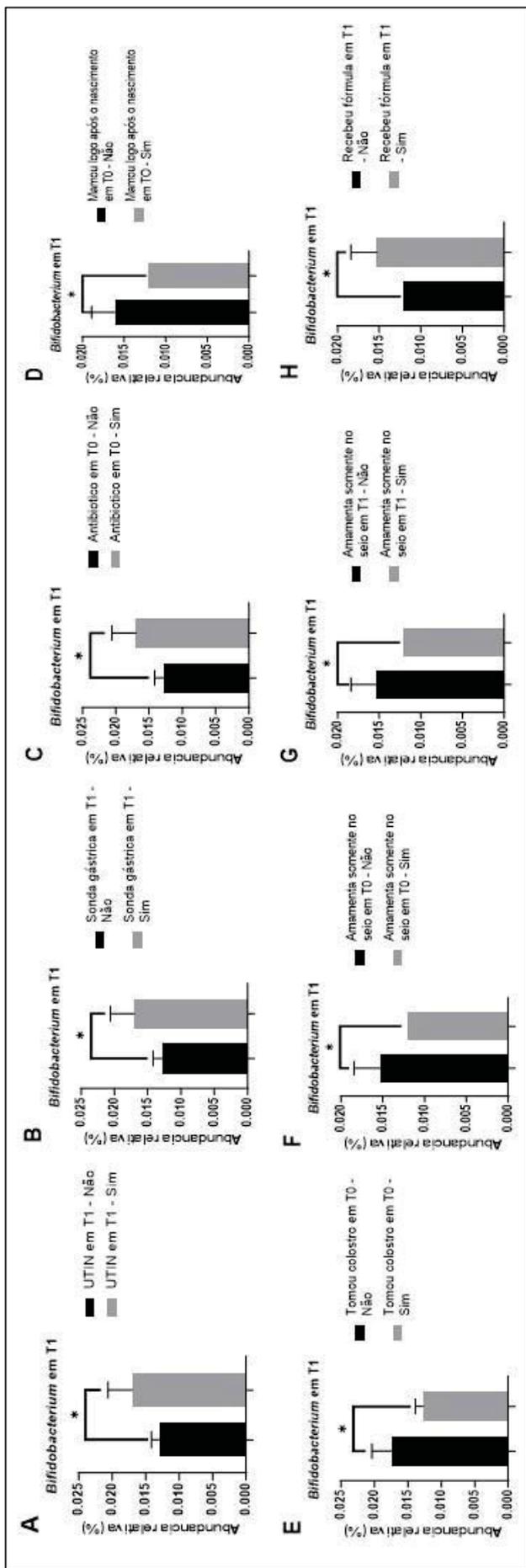


FIGURA 12: Médias da abundância relativa (%) para *Bifidobacterium* em T1 para o grupo termo e prematuro, considerando: (A) UTIN em T1; (B) Sonda gástrica em T1; (C) Antibiótico em T0; (D) Mamou logo após o nascimento; (E) Tomou colostro em T0; (F) Amamenta somente no seio em T0; (G) Amamenta somente no seio em T1; (H) Recebeu fórmula infantil em T1.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

Gênero *Rothia* apresentou maiores médias de percentual de abundância relativa em amostras de bebês que receberam fórmula infantil em T1. Em contraste, menores médias de percentual de abundância relativa deste mesmo gênero foram observadas em amostras de participantes que foram amamentados no seio logo após o nascimento e naqueles que receberam o aleitamento exclusivo no seio em T0 e T1 (FIGURA 13).

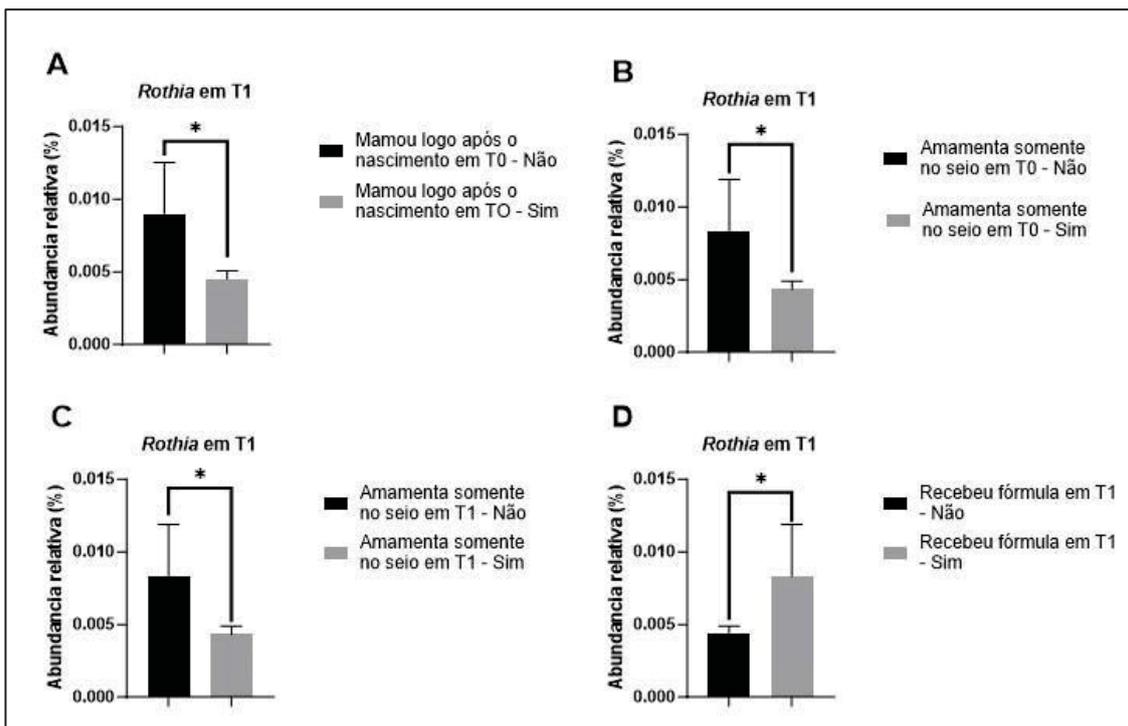


FIGURA 13: Médias da abundância relativa (%) para *Rothia* em T1 para o grupo termo e prematuro, considerando: (A) Mamou no seio logo após nascimento; (C) Mamou somente no seio em T0; (D) Mamou somente no seio em T1; (E) Recebeu fórmula infantil em T1.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa P<0,05

Para o gênero *Fusobacterium*, foi constatada maiores médias de percentual de abundância relativa apenas em crianças que receberam colostro em T0 (FIGURA 14).

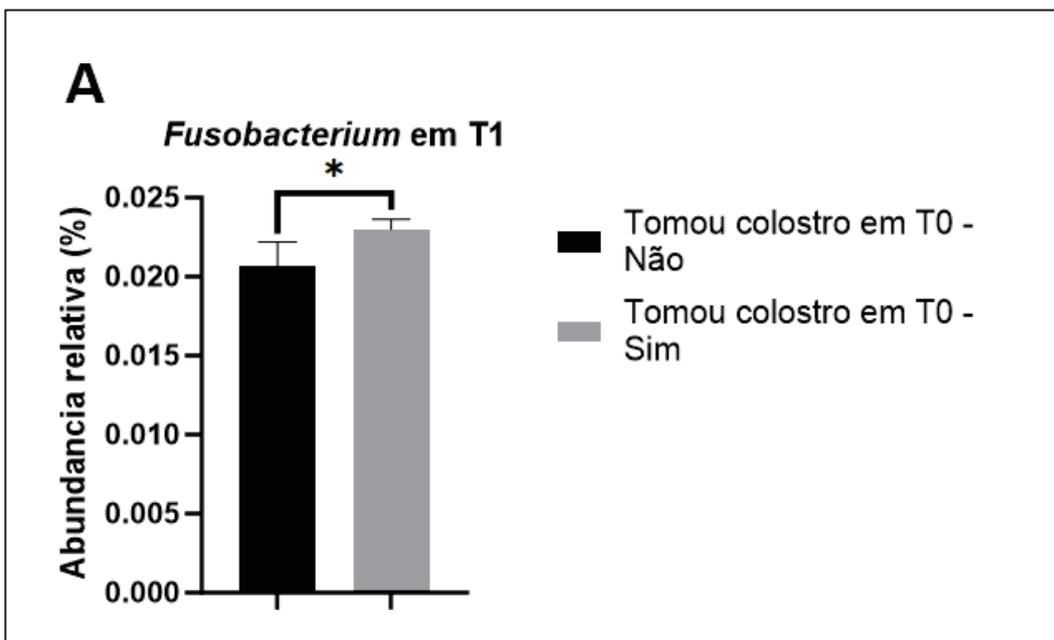


FIGURA 14: Médias da abundância relativa (%) para *Fusobacterium* em T1 para o grupo termo e prematuro, considerando: (A) Tomou colostro em T0.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

Para o gênero *Bifidobacterium*, houve menores médias de percentual de abundância relativa em amostras de participantes que foram amamentados logo após o nascimento, receberam colostro em T0 e naqueles com aleitamento exclusivo no seio em T0 e T1. Nas amostras de bebês que utilizaram fórmula infantil em T1, foi observada uma média significativamente maior no percentual de abundância relativa para este gênero (FIGURA 12).

### 5.2.3 Gêneros em T2 para amostra total (prematuros e nascidos a termo)

As análises dos gêneros em T2 mostraram não haver relação entre as médias de percentuais de abundância relativa em nenhum deles considerando as variáveis perinatais e de uso de antibiótico e glicose.

Entre as variáveis ambientais, apenas a utilização da mamadeira em T2 foi associada a maiores médias da abundância relativa para *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em T2 (FIGURA 15 e 16).

Quanto às variáveis de alimentação e os gêneros avaliados em T2, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* se mostraram relacionados à algumas dessas variáveis. Assim, para o gênero *Bifidobacterium*, verificou-se menores médias de percentual de abundância relativa em amostras de bebês que mamaram no seio logo após o nascimento, que receberam colostro em T0, que mamaram

exclusivamente no seio em T0, T1 e T2. Por outro lado, verificou-se maiores médias de percentual de abundância relativa em amostras de bebês que receberam fórmula infantil em T1 e T2 (FIGURA 15).

Quanto ao gênero *Lactobacillus*, notou-se menores médias de percentual de abundância relativa em amostras de crianças que estavam em aleitamento exclusivo no seio em T0, T1 e T2. Por outro lado, observou-se maiores médias de percentual de abundância relativa nas amostras de crianças que eram alimentadas por fórmula infantil em T1 e T2, naquelas que utilizaram mamadeira em T0 e T2, e que receberam glicose em T1 (FIGURA 16).

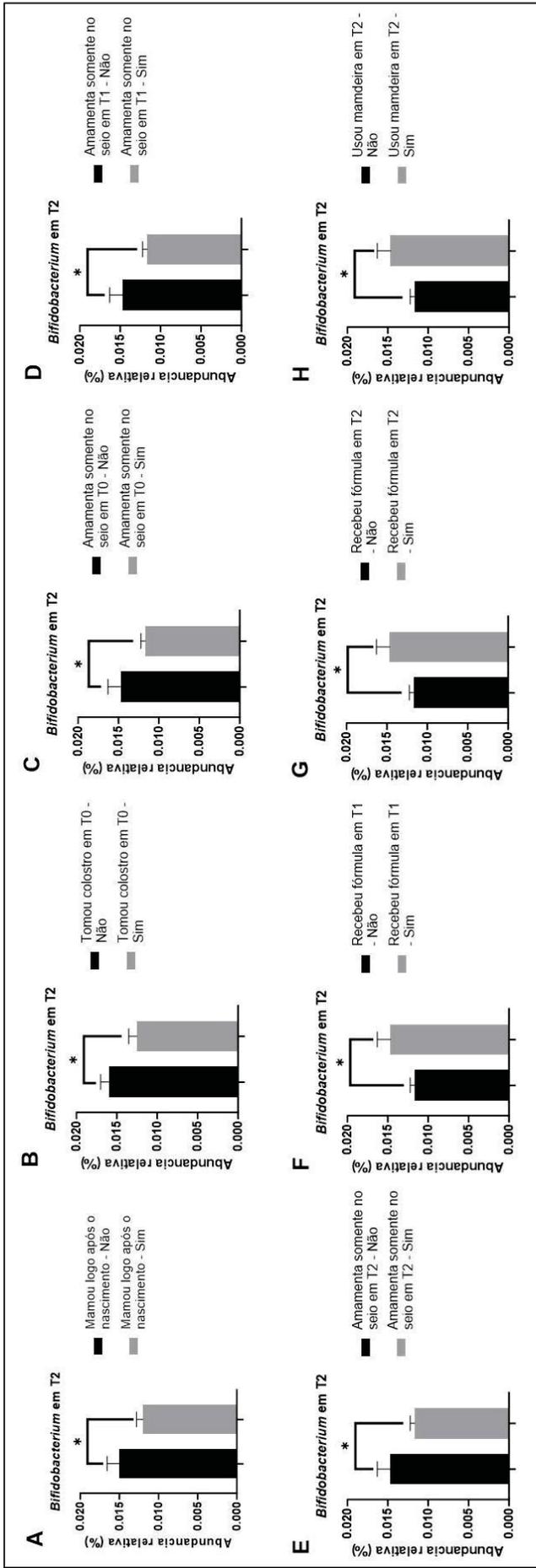


FIGURA 15: Médias da abundância relativa (%) para *Bifidobacterium* em T2 para o grupo termo e prematuro, considerando: (A) Mamou logo após o nascimento; (B) Tomou colostro em T0; (C) Amamenta somente no seio em T0; (D) Amamenta somente no seio em T1; (E) Amamenta somente no seio em T2; (F) Recebeu fórmula infantil em T1; (G) Recebeu fórmula infantil em T2; (H) Usa mamadeira em T2.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa P<0,05

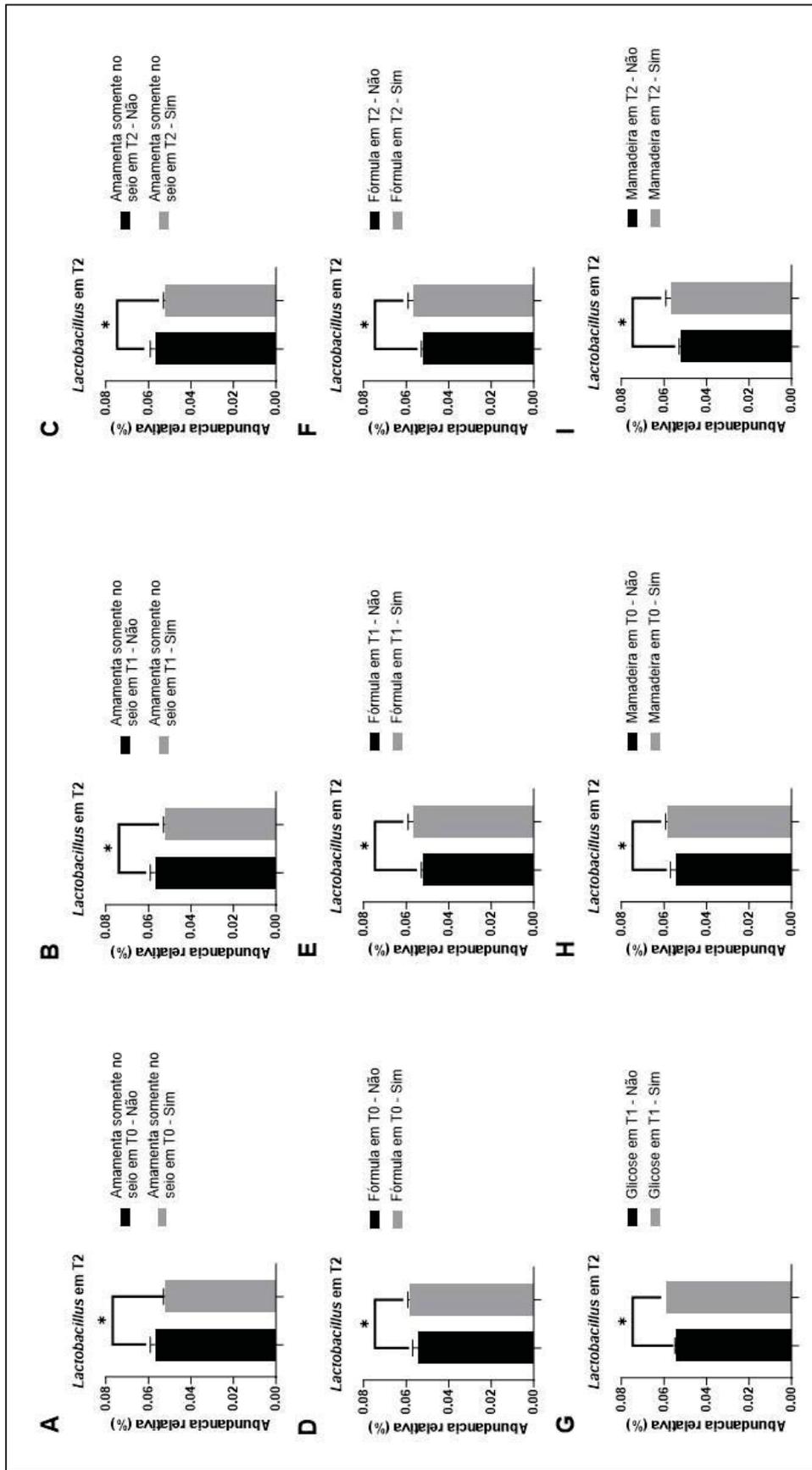


FIGURA 16: Médias da abundância relativa (%) para *Lactobacillus* em T2 para o grupo termo e prematuro, considerando: (A) Amamenta somente no seio em T0; (B) Amamenta somente no seio em T1; (C) Amamenta somente no seio em T2; (D) Recebeu fórmula infantil em T0; (E) Recebeu fórmula infantil em T1; (F) Recebeu fórmula infantil em T2; (G) Glicose em T1; (H) Mamadeira em T0; (I) Mamadeira em T2.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

Conforme mencionado anteriormente, considerando amostras exclusivamente de crianças prematuras, os seis gêneros predominantes - *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Rothia* - constituíram quase 90% do total de gêneros observados em T0 e T2. E em T1, foi observado que *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces* e *Rothia* totalizavam quase 90% do total dos gêneros. Estes microrganismos foram selecionados para a análise dos fatores perinatais, ambientais, alimentares e de uso de antibiótico e glicose.

#### 5.2.4 Gêneros em T0 para amostra de prematuros

Em T0 os seis gêneros selecionados não apresentaram relação significativa com nenhuma variável perinatal, ambiental, alimentar ou de uso de antibiótico e glicose.

#### 5.2.5 Gêneros em T1 para amostra de prematuros

Semelhantemente que T0, não houve relação entre as médias de percentual de abundância relativa para nenhum dos gêneros avaliados em T1 e as variáveis perinatais.

Em relação às variáveis ambientais, apenas o gênero *Streptococcus* mostrou relação com algumas variáveis, sendo de maiores médias de percentual de abundância relativa em amostras de crianças que estiveram internados na UTIN em T0 e que utilizaram sonda gástrica em T0 e T1. Além disso, maiores médias de percentual de abundância relativa para este gênero foram observadas em amostras de bebês que utilizaram antibiótico em T0 (FIGURA 17).

Quanto as variáveis relacionadas a alimentação, os gêneros *Streptococcus*, *Corynebacterium* e *Bifidobacterium*, avaliados em T1, mostraram relação para algumas das variáveis desta categoria.

Assim, menores médias de percentual de abundância relativa foram observadas para o gênero *Streptococcus* em amostras de bebês prematuros que foram amamentados no seio logo após o nascimento e que receberam colostro em T0 (FIGURA 17).

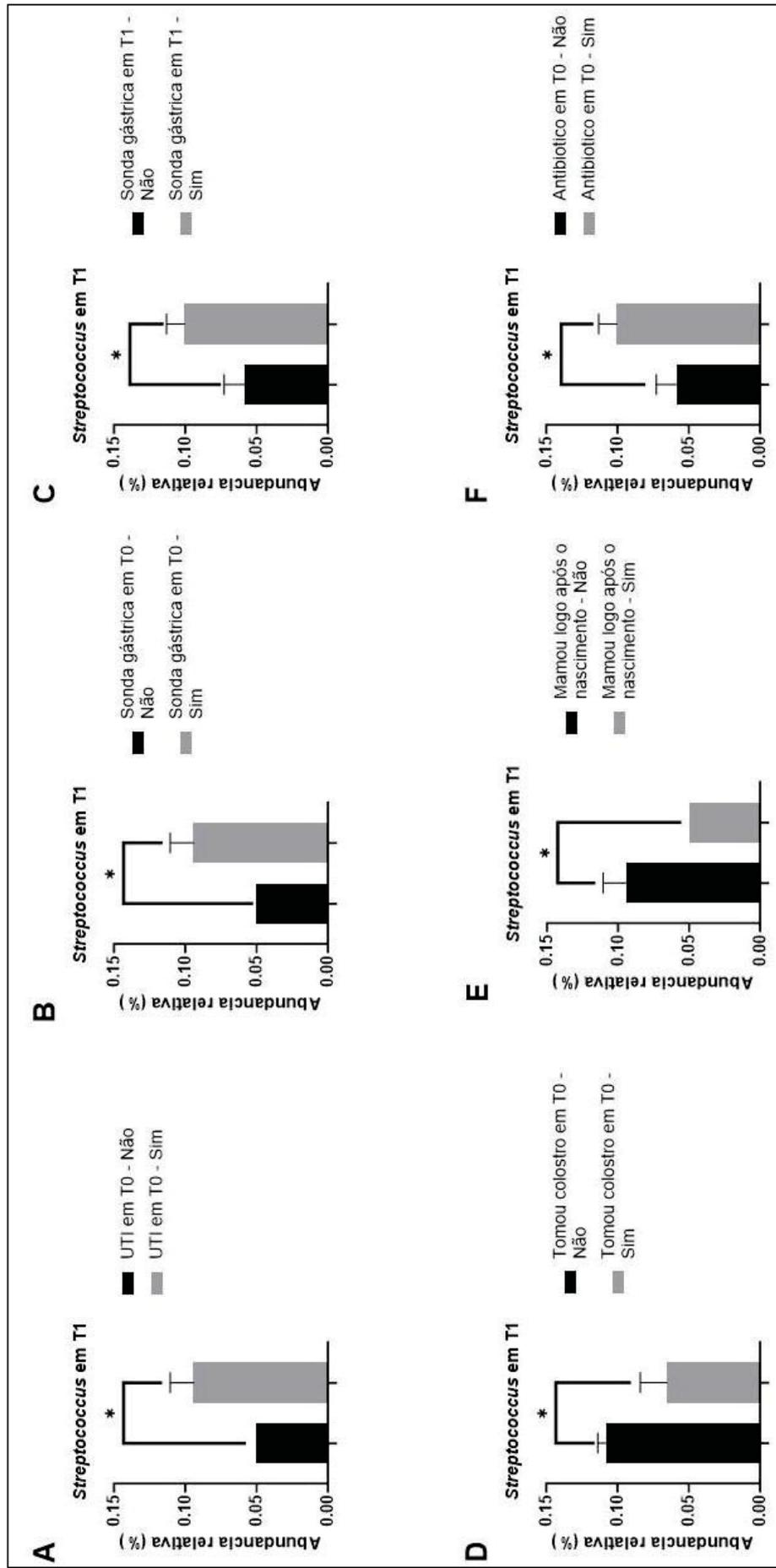


FIGURA 17: Médias da abundância relativa (%) para Streptococcus em T1 para o grupo prematuro, considerando: (A) UTIN em T0; (B) Sonda gástrica em T0;

(C) Sonda gástrica em T1; (D) Tomou colostro em T0; (E) Mamou logo após o nascimento; (F) Antibiótico em T0.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

Amostras de crianças prematuras que receberam colostro em T0, apresentaram maiores médias de percentual de abundância relativa para os gêneros *Corynebacterium* (FIGURA 18) e *Bifidobacterium* (FIGURA 19).

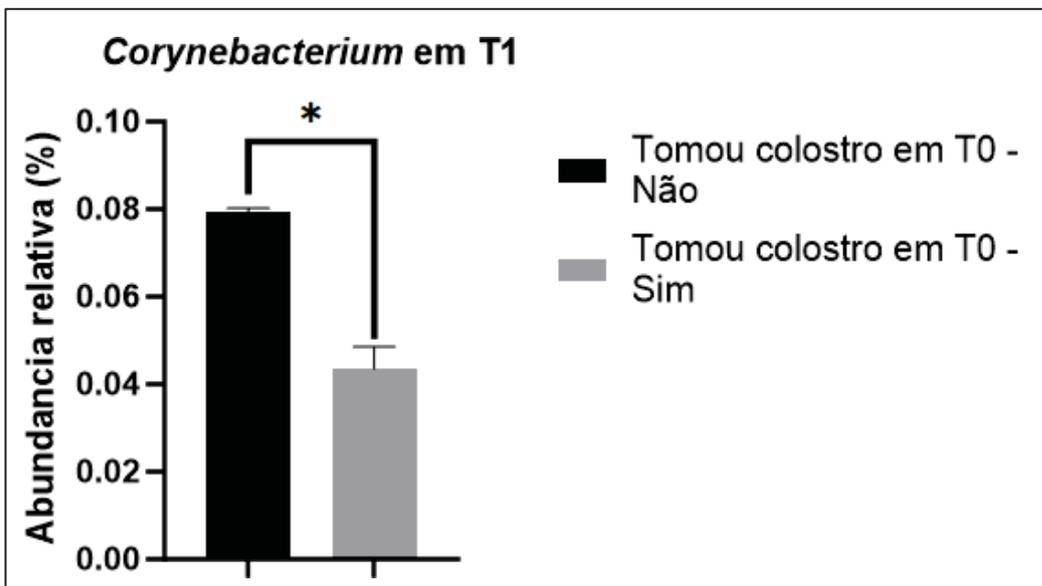


FIGURA 18: Médias da abundância relativa (%) para *Corynebacterium* em T1 para o grupo prematuro, considerando: tomou colostro em T0.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

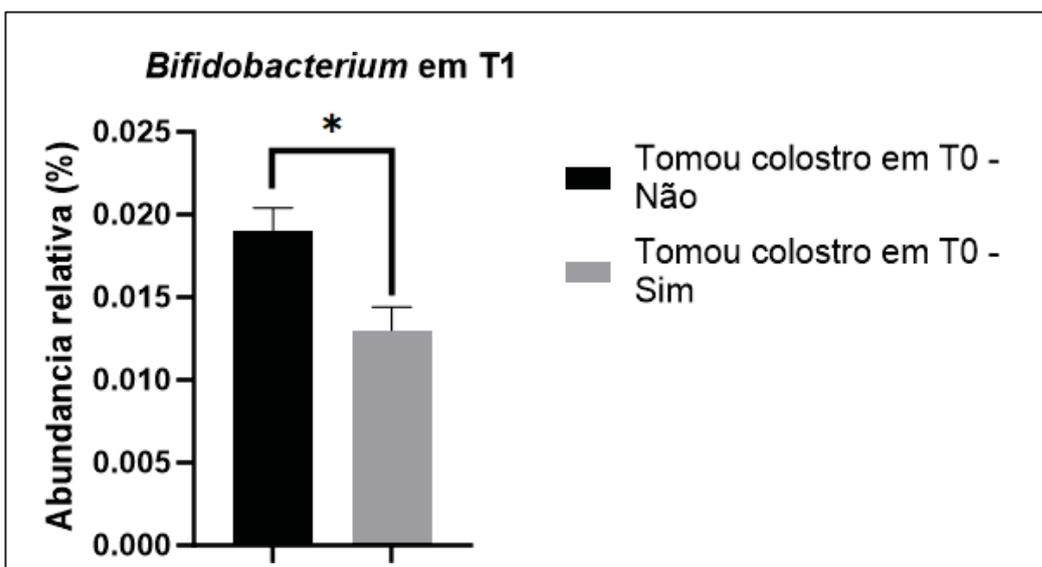


FIGURA 19: Médias da abundância relativa (%) para *Bifidobacterium* em T1 para o grupo prematuro, considerando: tomou colostro em T0.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

### 5.2.6 Gêneros em T2 para amostra de prematuros

Considerando os gêneros em T2 em amostras de crianças prematuras, não houve relação entre as médias de percentual de abundância relativa e as variáveis perinatais.

Para as variáveis ambientais, apenas o gênero *Bifidobacterium* apresentou maiores médias de percentual de abundância relativa em amostras de bebês que estiveram na UTIN em T1 e que utilizaram sonda gástrica em T1.

Amostras de crianças prematuras que receberam antibióticos em T0 mostraram maiores médias de percentual de abundância relativa para *Bifidobacterium* (FIGURA 20) e aquelas que receberam glicose em T1 para *Lactobacillus* (FIGURA 21).

Já para as variáveis alimentares, receber colostro em T0 esteve associado a menores médias de percentual de abundância relativa para *Bifidobacterium* (FIGURA 20).

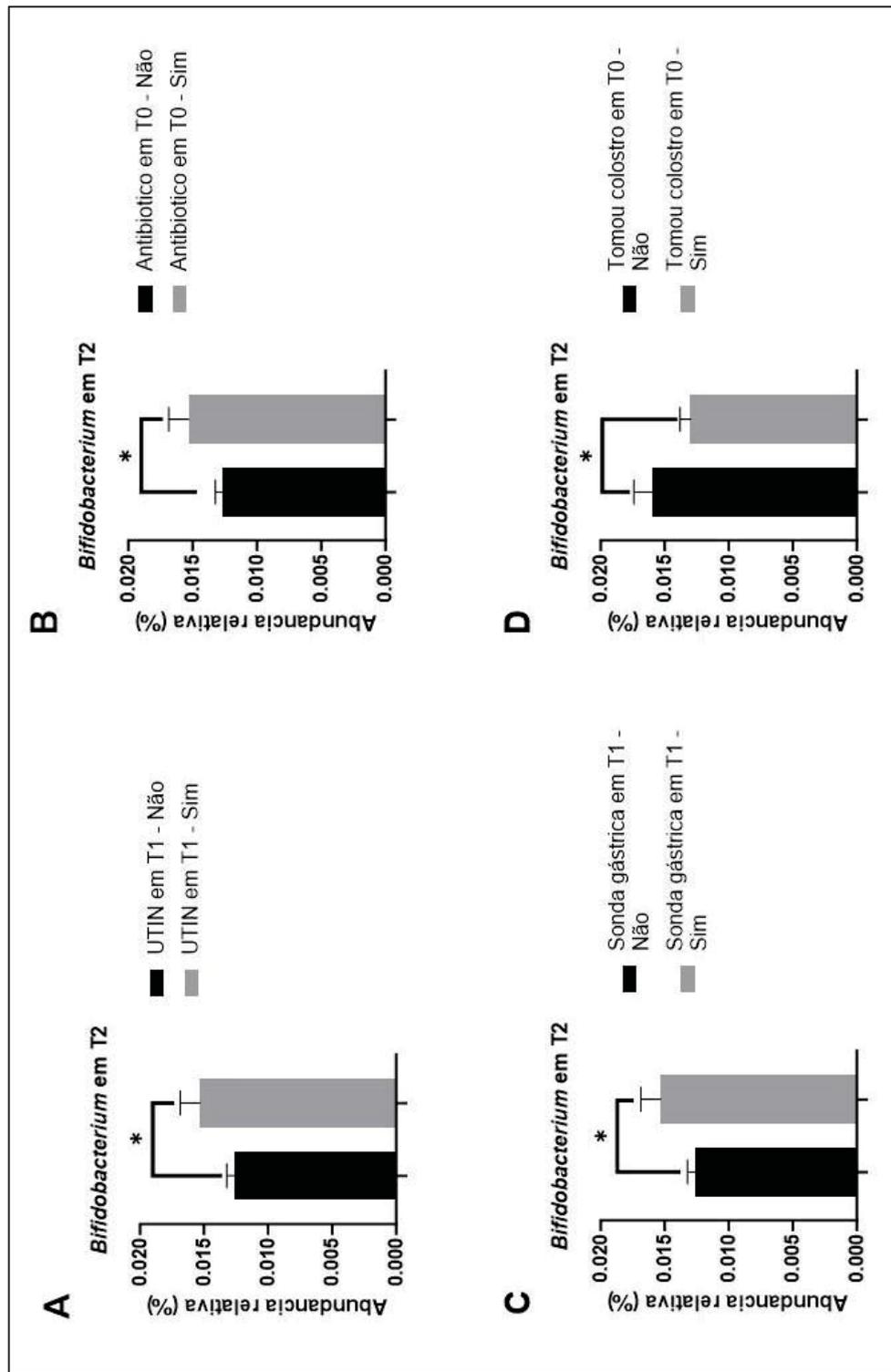


FIGURA 20: Médias da abundância relativa (%) para *Bifidobacterium* em T2 para o grupo prematuro, considerando: (A) UTIN em T1; (B) Antibiótico em T0; (C) Sonda gástrica em T1; (D) Tomou colostro em T0.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

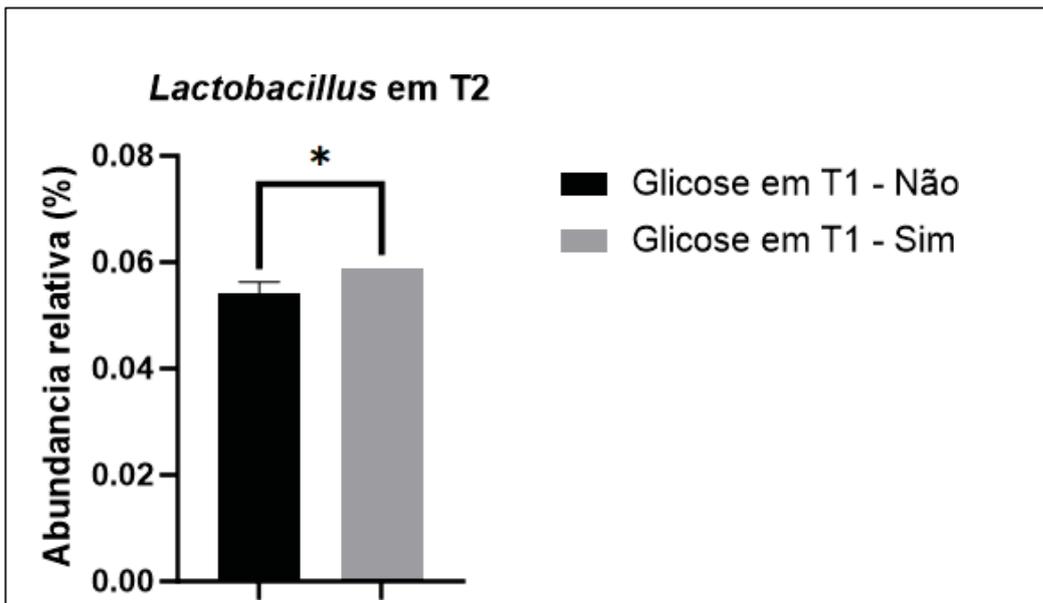


FIGURA 21: Médias da abundância relativa (%) para *Lactobacillus* em T2 para o grupo prematuro, considerando: glicose em T1.

\* Teste t de student para amostras independentes

\* Significa  $P < 0,05$

Os quadros de 1 a 9 apresentam um resumo das variáveis ambientais, de uso de antibióticos e glicose, e alimentares com relação significativa aos microrganismos com potencial cariogênico avaliados nos três períodos.

QUADRO 1 - Resumo das variáveis perinatais, ambientais, uso de antibiótico e glicose em T0 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados na amostra total.

NOME DA BACTÉRIA	UTIN T0	SONDA T0	INCUBADORA T0	MAMADEIRA T0	ANTIBIÓTICO T0	BAIXO PESO
<i>Streptococcus</i> T1	↑	↑	↑		↑	↑
<i>Bifidobacterium</i> T1					↑	
<i>Lactobacillus</i> T2				↑		

**Legenda:**

A imagem ↑ indica maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim".

QUADRO 2 - Resumo das variáveis ambientais, uso de antibiótico e glicose em T1 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados na amostra total.

NOME DA BACTÉRIA	UTIN T1	SONDA T1	GLICOSE T1
<i>Streptococcus</i> T1	↑	↑	
<i>Bifidobacterium</i> T1	↑	↑	
<i>Lactobacillus</i> T2			↑

**Legenda:**

A imagem ↑ indica maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim"

QUADRO 3 - Resumo das variáveis ambientais, uso de antibiótico e glicose em T2 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra total.

NOME DA BACTÉRIA	MAMADEIRA T2
<i>Bifidobacterium</i> T2	↑
<i>Lactobacillus</i> T2	↑

**Legenda:**

A imagem ↑ indica maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é “Sim”.

QUADRO 4 - Resumo das variáveis alimentares em T0 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra total.

NOME DA BACTÉRIA	MAMOU NO SEIO APÓS NASCIMENTO	COLOSTRO T0	SOMENTE SEIO T0	FÓRMULA INFANTIL T0
<i>Streptococcus</i> T1	↓		↓	
<i>Rothia</i> T1	↓		↓	
<i>Fusobacterium</i> T1		↑		
<i>Bifidobacterium</i> T1	↓	↓	↓	
<i>Bifidobacterium</i> T2	↓	↓	↓	
<i>Lactobacillus</i> T2			↓	↑

**Legenda:**

A imagem ↑ indica maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é “Sim”.

A imagem ↓ indica menor média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é “Sim”.

QUADRO 5 - Resumo das variáveis alimentares em T1 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra total.

NOME DA BACTÉRIA	SOMENTE SEIO T1	FÓRMULA INFANTIL T1
<i>Streptococcus</i> T1	↓	↑
<i>Rothia</i> T1	↓	↑
<i>Bifidobacterium</i> T1	↓	↑
<i>Bifidobacterium</i> T2	↓	↑
<i>Lactobacillus</i> T2	↓	↑

**Legenda:** A imagem ↑ = maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim". ↓ = menor média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim".

QUADRO 6 - Resumo das variáveis alimentares em T2 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra total.

NOME DA BACTÉRIA	SOMENTE SEIO T2	FÓRMULA INFANTIL T2
<i>Bifidobacterium</i> T2	↓	↑
<i>Lactobacillus</i> T2	↓	↑

**Legenda:** ↑ = maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim". ↓ = menor média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim".

QUADRO 7 - Resumo das variáveis ambientais, uso de antibiótico e glicose em T0 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra de prematuros.

NOME DA BACTÉRIA	UTIN T0	SONDA T0	ANTIBIÓTICO T0
<i>Streptococcus</i> T1	↑	↑	↑
<i>Bifidobacterium</i> T2			↑

**Legenda:** ↑ = maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim".

QUADRO 8 - Resumo das variáveis ambientais, uso de antibiótico e glicose em T1 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra de prematuros.

NOME DA BACTÉRIA	UTIN T1	SONDA T1	GLICOSE T1
<i>Streptococcus</i> T1		↑	
<i>Bifidobacterium</i> T2	↑	↑	
<i>Lactobacillus</i> T2			↑

**Legenda:** ↑ = maior média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim".

QUADRO 9 - Resumo das variáveis alimentares em T0 relacionadas significativamente às médias dos percentuais de abundância relativa dos microrganismos com potencial cariogênico identificados para amostra de prematuros.

NOME DA BACTÉRIA	MAMOU NO SEIO APÓS NASCIMENTO	COLOSTRO T0
<i>Streptococcus</i> T1	↓	↓
<i>Corynebacterium</i> T1		↓
<i>Bifidobacterium</i> T1		↓
<i>Bifidobacterium</i> T2		↓

**Legenda:** ↓ = menor média do % de abundância relativa quando a categoria da variável é "Sim".

## 6 DISCUSSÃO

A atenção à saúde bucal é de extrema importância desde os primeiros anos de vida (XIANYIN et al., 2023). Entre as doenças mais comuns nesta fase da vida, a cárie na primeira infância (CPI) é a mais prevalente (DUQUE et al., 2023). Apesar da doença ser de etiologia multifatorial, é consenso na literatura que a exposição frequente à carboidratos fermentáveis, especialmente ao açúcar, é o fator determinante para a sua ocorrência. As bactérias, por sua vez, desempenham um papel considerado necessário, sendo a doença resultado de uma disbiose provocada por um fator chave (consumo de açúcares), com predomínio de bactérias acidogênicas e acidúricas no meio bucal (TINANOFF et al., 2019). A colonização precoce por microrganismos cariogênicos pode estar relacionada à uma maior experiência de cárie dentária (KANASI et al., 2010). Portanto, identificar a colonização de microrganismos com potencial cariogênico e os fatores relacionados à esta aquisição pode auxiliar os métodos de prevenção da doença (DUQUE et al., 2023).

Os resultados deste estudo mostraram que a diversidade microbiana alfa aumentou ao longo do tempo. Corroborando esses achados, um estudo prévio que avaliou a microbiota bucal em crianças dos 3 meses até os 7 anos de idade, também observou que a diversidade bacteriana da cavidade bucal tende a aumentar com o tempo (DZIDIC et al., 2018). Por outro lado, quando analisados a porcentagem de abundância relativa de cada microrganismos nos diferentes tempos (T0, T1 e T2), os resultados não se mostraram significantes, sugerindo uma estabilidade da presença destas bactérias nos três primeiros meses de vida da criança.

Já em relação a quantidade de leituras, amostras de crianças prematuras mostraram uma abundância relativa dos gêneros bacterianos superior quando comparado ao grupo de crianças nascidas a termo, mostrando uma tendência dos bebês prematuros serem mais propensos ao aumento da carga bacteriana mais rápido do que os nascidos a termo. Dentre os 84 gêneros bacterianos identificados, 14 são reconhecidos por seu potencial cariogênico, especialmente no desenvolvimento da CPI (DUQUE et al., 2023; XIANYIN et al., 2023; GRIER et al., 2021; XIÃO et al., 2021; WANG et al., 2019; DASHPER et al., 2019; HURLEY et al., 2019; JIANG et al., 2013).

Do total do percentual de abundância relativa para os gêneros associados à CPI, aproximadamente 90% eram compostos por: *Streptococcus*; *Corynebacterium*; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*; *Fusobacterium*; *Rothia*; *Actinomyces*. Dentre eles, destacou-se o *Streptococcus*, que tanto na amostra total quanto naquelas exclusivamente de crianças prematuras, apresentou mais de 30% do total do percentual de abundância relativa. Corroborando este achado, um estudo longitudinal que analisou perfis microbianos salivares relacionados ao início da CPI em 56 crianças de um a três anos de idade também identificou o gênero *Streptococcus* como o mais prevalente, representando 61,7% da abundância relativa total (GRIER et al., 2021).

Em relação aos demais gêneros identificados com elevados percentuais nas amostras deste estudo, os gêneros *Bifidobacterium* e *Actinomyces* estão associados ao início das lesões cariosas (NEVES et al., 2018). Já os *Lactobacillus* desempenham um papel crucial na progressão da doença (KAWASHITA et al., 2011). Adicionalmente, *Corynebacterium* e *Rothia* foram identificados como potenciais marcadores da CPI em estudos anteriores (SUN et al., 2018; JING et al., 2016; GRIER et al., 2021), enquanto o gênero *Fusobacterium* foi considerado preditivo para a recorrência de tal condição (ZHU et al., 2018).

Além da identificação da presença de microrganismos considerados potencialmente cariogênicos, este estudo também procurou avaliar os fatores associados à aquisição destas bactérias nos três tempos de avaliação, incluindo variáveis perinatais, ambientais, de uso de antibiótico e glicose e de alimentação.

Ao considerar a hipótese de que a aquisição da microbiota bucal tem início no momento do nascimento (WANG et al., 2020), é possível sugerir que as condições do parto, como o tipo de parto (vaginal ou cesariana), podem modular a composição inicial da microbiota bucal, especialmente em neonatos (DUNN et al., 2017; LI et al., 2018). No entanto, especificamente à aquisição de bactérias consideradas com potencial cariogênica, este estudo não demonstrou diferenças na composição destes microrganismos considerando os dois diferentes métodos de parto. Um estudo avaliou os efeitos do tipo de parto na composição da microbiota salivar de neonatos, sendo 18 bebês nascidos por cesariana e 74 por parto vaginal. O estudo observou diferenças na composição bacteriana oral em

crianças nascidas por cesariana em comparação com o grupo de parto vaginal. No grupo de parto vaginal, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Bacteroides*, *Gardnerella* e *Ureaplasma* foram os gêneros mais abundantes, enquanto *Petrimonas*, *Bacteroides*, *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Tepidmicrobium*, *VadinCA02* e *Bifidobacterium* foram dominantes no grupo de parto por cesariana (LI et al., 2018).

Ainda, em um estudo que buscou caracterizar a composição bacteriana em amostras de saliva coletadas aos 3, 6, 12, 24 meses e 7 anos de idade em 90 crianças, ressaltou diferenças quanto a composição bacteriana e o tipo de parto, sendo essas significativas apenas aos 3 e 6 meses. Porém, quando a uma análise multivariada foi realizada com o ajuste do tempo e duração da amamentação, o efeito do tipo de parto na composição da microbiota não foi mais significativo. Além disso, este estudo ressaltou a inexistência de diferenças na densidade e riqueza de bactérias em relação ao método empregado durante o parto (DZIDIC et al., 2018). Essa diferença de achados em relação ao presente estudo pode ter ocorrido pelo menor n não ter sido suficiente para observar essas variações da microbiota em relação ao tipo de parto, ou mesmo que é uma característica nem sempre presente. O que sugere a necessidade de mais estudos para análise dessa variável.

Outros fatores perinatais, como a idade gestacional e o peso ao nascimento também foram avaliados neste estudo. Bebês nascidos com baixo peso enfrentam um considerável risco à infecções e complicações perinatais graves, como a enterocolite necrosante (ECN), cuja ocorrência está, em parte, associada à colonização microbiana (MOROWITZ et al., 2010; NEU et al., 2011). Adicionalmente, esses bebês, frequentemente prematuros, podem passar por tratamentos com antibióticos, enfrentar atrasos no início da alimentação entérica e/ou necessitar de internações hospitalares prolongadas. Tais fatores não apenas podem influenciar, mas também serem influenciados por interações microbianas (COSTELLO et al., 2013).

O presente estudo incluiu cinco bebês com peso inferior à 2500 gramas, todos prematuros, e observou maiores médias de abundância relativa do gênero *Streptococcus* aos 30 dias de vida quando comparado a crianças com peso acima deste valor. Essa diferença de microbiota pode estar associada às

alterações no metabolismo de bebês com baixo peso ao nascer (CHO et al., 2012; OLSZAK et al., 2012). As respostas imunológicas do hospedeiro, ao inibir certas espécies bacterianas e favorecer o estabelecimento de outras, exercem influência na colonização bacteriana, exemplificando a evolução simbiótica entre o hospedeiro e os microrganismos (KAAN et al., 2021).

Ao considerar a classificação da idade gestacional, verificou-se que bebês extremo e muito prematuros apresentaram médias de percentual de abundância relativa mais elevadas dos gêneros *Streptococcus* e *Corynebacterium* avaliados aos 30 dias de vida quando comparados aos bebês a termo, além de maiores médias de *Streptococcus* avaliados aos 30 dias em prematuros moderados comparando àqueles nascidos a termo. Um estudo transversal envolvendo 129 bebês, dos quais 40 eram prematuros e 89 nascidos a termo, objetivou identificar diferenças entre esses grupos, analisando microbiotas de diferentes regiões do corpo, incluindo a cavidade bucal. Os resultados revelaram que a cavidade oral dos bebês prematuros exibiu uma maior abundância de *Stenotrophomonas*, *Lactococcus* e *Enterobacter* em comparação com aqueles nascidos a termo (YOUNGE et al., 2018).

Outro estudo recente avaliou amostras de saliva de crianças prematuras e nascidas à termo 30 dias após o nascimento. Por meio do sequenciamento Illumina MiSeq do gene 16S rRNA, foi observado 15 diferentes espécies bacterianas mais abundantes em crianças prematuras, incluindo uma *Pseudomonas*, *Rothia mucilaginosa* e *Neisseria flavescens*. E outras 15 espécies bacterianas, como *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus* spp. e *Gemella* spp., mais abundantes nas amostras de recém-nascidos a termo (ZHANG et al., 2022).

Nos primeiros dias de vida, os neonatos estão expostos a bactérias provenientes de diversas fontes ambientais, sendo essa exposição particularmente acentuada em bebês que necessitam de internamento em UTIN (BROOKS et al., 2014; SOHN et al., 2015). No presente estudo, quatro bebês necessitaram de internamento em UTIN após o nascimento, sendo todos prematuros. As amostras coletadas de crianças assistidas em UTIN em T0, apresentaram maior média de abundância relativa para o gênero de *Streptococcus* em T1. Da mesma forma, amostras de bebês internados em UTIN

em T1, apresentaram maior média de abundância relativa para os gêneros *Streptococcus* e *Bifidobacterium* avaliados no mesmo tempo. Quando analisadas as amostras de bebês exclusivamente prematuros, observou-se maiores medias de abundância relativa para *Streptococcus* em T1 em crianças internadas em T0, e maiores medias de *Bifidobacterium* em T2 em crianças internadas em T1.

Ao nosso conhecimento, não existem ainda estudos que avaliaram a relação de fatores ambientais e a aquisição de microrganismos com potencial cariogênico especificamente em prematuros. Um estudo avaliou a microbiota intestinal de dois bebês prematuros com peso ao nascer inferior a 1.250g. O estudo revelou que os gêneros mais prevalentes nas amostras fecais coincidiam com os gêneros mais abundantes nas amostras retiradas das unidades de tratamento onde estavam internados. Isso sugere que microrganismos são introduzidos nos neonatos a partir de fontes existentes na unidade de tratamento, incluindo sondas gástricas, entubação, pias, superfícies em geral, incubadoras e mãos de profissionais de saúde e dos pais (BROOKS et al., 2014). Ainda, como a microbiota intestinal se assemelha ao perfil microbiano bucal em crianças recém-nascidas (GRITZ et al., 2015), sugere-se que a colonização da microbiota bucal também seja influenciada por exposições ambientais.

Além do internamento em UTIN, o presente estudo observou que outros fatores ambientais foram associados à aquisição de bactérias com potencial cariogênico, como o uso de sondas gástricas e incubadora. No entanto, não foram coletadas amostras de fontes de exposição ambiental a fim de comparar com os achados da composição de microbiota salivar, sendo este um aspecto que merece maiores investigações.

A atenção voltada para o uso de antibióticos no início da vida também se revela crucial no contexto da aquisição de microrganismos nesta fase. Um estudo de coorte envolvendo 90 crianças, acompanhadas aos 3, 6, 12, 24 meses e 7 anos de idade, avaliou o estabelecimento da microbiota bucal em diversos aspectos, incluindo o impacto do uso de antibióticos, a partir de sequenciamento genético de amostras de saliva. Ao comparar a sucessão microbiana em crianças que fizeram uso ou não de antibióticos durante os primeiros dois anos de vida, foram observadas colonizações significativamente distintas aos 24

meses e aos 7 anos de idade. Ao comparar os gêneros mais presentes nesses dois grupos, o gênero *Granulicatella* foi maior em abundância relativa aos 24 meses de idade em crianças que não tomavam antibióticos, enquanto *Prevotella* foi mais prevalente aos 7 anos de idade em crianças tratadas com antibióticos no início da vida (DZIDIC et al., 2018). No presente estudo, também foram identificadas diferenças nas médias de alguns comparando-se o uso ou não de antibióticos. Assim, bebês submetidos à antibioticoterapia em T0 apresentaram uma maior média de percentual de abundância relativa para *Streptococcus* e *Bifidobacterium* em T1. Semelhantemente, ao analisar exclusivamente o grupo de crianças prematuras, verificou-se que as amostras de bebês que receberam antibióticos em T0 apresentaram um aumento significativo nas médias de percentual de abundância relativa para os gêneros de *Streptococcus* e *Bifidobacterium* avaliados em T1.

Outro componente avaliado em nosso estudo que poderia interferir na aquisição de bactérias com potencial cariogênico é a administração de glicose no início da vida. Este procedimento é realizado durante a permanência do recém-nascido em UTIN especialmente para o alívio da dor, sendo considerado efetivo, seguro e com limitados efeitos colaterais (SILVEIRA et al., 2021). Por outro lado, a glicose é caracterizada como um carboidrato fermentável, e assim, pode interferir na composição da microbiota bucal (AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2013). Os resultados do presente estudo mostraram que dois bebês prematuros receberam a glicose aos 30 dias de vida, sendo associado à maiores médias de percentual de abundância relativa para o gênero *Lactobacillus* em T2. Ao nosso conhecimento, não existem estudos que verificaram a influência da glicose na microbiota bucal cariogênica nos primeiros meses de vida. Um estudo *in vitro* com 36 dentes pré-molares hígidos demonstrou desmineralização do esmalte após 21 dias de preparo da superfície com solução de glicose (AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2013). Outro estudo realizado com 8.173 adolescentes identificou uma associação entre níveis mais elevados de glicose salivar e maior experiência de cárie (GOODSON et al., 2017).

Outro aspecto ambiental que necessita de considerável atenção é o uso de chupetas e mamadeiras. Este estudo não mostrou relação do uso da chupeta com a colonização salivar por bactérias com potencial cariogênico até o tempo

avaliado. Por outro lado, um estudo transversal envolvendo 101 crianças com idades superiores, entre 15 e 35 meses, evidenciou maiores níveis de *S. mutans*, *Lactobacillus* e *Candida albicans* em crianças que faziam o uso de chupetas, além de uma correlação positiva entre a duração do uso de chupetas e as contagens de número de *Lactobacillus* (ERSIN et al., 2006).

Quanto ao uso de mamadeira, o presente estudo verificou maiores médias de amostras de *Lactobacillus* em T2 em amostras de bebês que utilizaram este aparato em T0. Semelhantemente, foram observadas maiores médias de percentual de abundância relativa de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* avaliados em T2 em amostras de crianças que utilizaram a mamadeira no mesmo período. Esses resultados corroboram os achados de um estudo que avaliou 57 pares de mães e bebês no primeiro ano de vida através de amostras salivar e de biofilme dental. Os autores observaram que 13, dos 21 bebês que foram alimentados com mamadeira, foram positivos para a colonização de *S. mutans*. O estudo indicou, ainda, que amamentação no peito exerce uma função preventiva em relação à colonização pelo mesmo microrganismo (THAKUR et al., 2012). Assim, é igualmente importante que se analise não somente a utilização da mamadeira em si, mas o seu conteúdo, que certamente exerce um importante papel na colonização da microbiota bucal (HOLGERSON et al., 2013).

O tipo de alimentação oferecida para a criança nos primeiros anos de vida estabelece uma relação crucial na aquisição inicial de microrganismos (SOHN et al., 2016). Considerando o leite materno como o principal alimento a ser oferecido à toda a criança (SANCTUARY et al., 2019), o colostro, produzido imediatamente após o parto, é considerado uma fonte de proteínas imunológicas, tais como imunoglobulinas, lactoferrina e diversas citocinas, assim como outras substâncias biológicas que exercem efeitos imunomoduladores positivos ao recém-nascido (BERTOLDO et al., 2017). O presente estudo demonstrou, para amostra total, que bebês que receberam colostro e mamaram na primeira hora após o nascimento apresentaram menor média de percentual de abundância relativa para os gêneros *Bifidobacterium* em T1 e T2, *Streptococcus* e *Rothia* avaliados em T1. Para o grupo prematuro foi verificado uma menor média de percentual de abundância relativa para os gêneros *Streptococcus*, *Corynebacterium* e *Bifidobacterium* ambos em T1, além de uma

redução para *Bifidobacterium* em T2, demonstrando um efeito inibidor sobre gêneros considerados cariogênicos (GRIER et al., 2021; XIÃO et al., 2021; WANG et al., 2019; DASHPER et al., 2019; HURLEY et al., 2019; JIANG et al., 2013).

O papel protetor do colostro na colonização da microbiota bucal por bactérias cariogênicas também foi observado por um estudo *in vitro* que verificou que sobrenadantes livres de células do colostro podem apresentar um potencial anticárie, uma vez inibiram o crescimento de colônias de *S. mutans* (ZAGHLOUL et al., 2023). Além disso, o colostro pode favorecer o crescimento de bactérias benéficas à saúde (BERTOLDO et al., 2017), podendo inclusive servir como probióticos (NOVAK et al., 2001). Um ensaio clínico prospectivo e randomizado foi conduzido para analisar os efeitos do colostro na microbiota oral exclusivamente de bebês prematuros. No estudo, 99 neonatos prematuros foram divididos em dois grupos, sendo que 48 receberam o colostro e 51 não. Os resultados revelaram que não houve diferenças na diversidade microbiana entre os grupos em nenhum ponto do estudo, embora a diversidade tenha diminuído significativamente ao longo do tempo em ambos os grupos. No entanto, o grupo que recebeu colostro apresentou menor percentual de abundância relativa de *Streptococcus* aos 30 dias de vida quando comparado ao que não recebeu este componente (ROMANO-KEELER et al., 2017).

Por outro lado, os resultados deste estudo mostram maiores médias do gênero *Fusobacterium* avaliados em T1 em amostras de crianças que foram expostas ao colostro em T0. Este achado pode ser justificado pelo fato de que o leite materno pode apresentar diferenciação na composição e diversidade de microbiota (MOOSSAVI et al., 2019). A composição microbiana do leite materno, por sua vez, pode ser influenciada por fatores maternos, como: índice de massa corporal da mãe; número de vezes que a mulher já deu à luz e tipo de parto (MOOSSAVI et al., 2019). Embora o objetivo principal do presente estudo não ser exclusivamente a respeito do leite materno, é importante que futuras pesquisas incluam em suas análises a avaliação a composição microbiana do leite materno a fim de comparar com os microrganismos presentes na cavidade bucal de crianças no início da vida.

Ainda, no presente estudo foi observado que bebês que amamentavam exclusivamente no seio aos 15 dias de vida, possuíam menores médias de percentual de abundância relativa nos gêneros *Bifidobacterium* em T1 e T2, *Streptococcus*, *Rothia* em T1, *Lactobacillus* em T2. Menores médias de percentual de abundância relativa destes mesmos microrganismos se mantiveram em amostras de crianças que estavam em aleitamento exclusivo no seio aos 30 dias. Para os bebês que estavam em aleitamento no seio exclusivo aos 3 meses de idade, foi identificado um menor número dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* avaliados em T2. Estes resultados concordam com os achados de um estudo prospectivo, randomizado e controlado envolvendo 240 bebês, todos com menos de dois meses de idade e com idade gestacional entre 37 e 42 semanas, dentre os quais 160 foram alimentados exclusivamente com fórmula infantil comum ou fórmula experimental (enriquecidas com membranas de glóbulos de gordura do leite) e 80 receberam apenas leite materno. O estudo detectou uma diferença marcante entre a microbiota bucal entre os dois grupos, sendo que em amostras de crianças que receberam apenas leite materno apresentava, aos quatro meses de idade, diversidade de gêneros significativamente menor do que aquele que recebeu fórmula. Além disso, bebês que receberam fórmula infantil comum, apresentaram níveis mais elevados de diversas espécies bacterianas, com destaque uma maior prevalência de *S. mutans* na microbiota dos bebês aos 12 meses de idade quando alimentados exclusivamente com fórmula comparando àqueles que receberam exclusivamente o leite materno (TIMBY et al., 2017).

O presente estudo também observou maiores médias de percentual de abundância relativa de microrganismos com potencial cariogênico em amostras de crianças que fizeram uso de fórmula. Assim, este tipo de alimentação realizado em T0 foi associado à maiores níveis de *Lactobacillus* em T2. Para os que receberam fórmula em T1, verificou-se médias mais elevadas para *Streptococcus*, *Rothia*, *Fusobacterium* e *Bifidobacterium* em T1 e para *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em T2. Bebês que receberam fórmula em T2, apresentaram maiores médias para *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em T2.

Um estudo realizado com 207 bebês de três meses de idade comparou a microbiota oral em bebês amamentados exclusivamente no seio, amamentados

parcialmente com fórmula e alimentados exclusivamente com fórmula. Os resultados demonstraram que 79 espécies/grupos foram detectadas em amostras orais de bebês amamentados exclusivamente no seio em comparação com 68 espécies/grupos de bebês alimentados com fórmula, demonstrando que os primeiros apresentavam uma maior diversidade bacteriana quando comparado a bebês alimentados por fórmula. Além disso, diferentemente do nosso estudo, verificou-se que o gênero *Lactobacillus* estava presente na saliva de 32,4% dos bebês amamentados exclusivamente no seio. No entanto, este gênero não foi detectado em nenhum dos bebês alimentados com fórmula (HOLGERSON et al., 2013).

As diferenças dos resultados quanto à composição microbiana e o uso de fórmula podem ser justificadas pela composição do tipo de fórmula. Algumas marcas de fórmula infantil e fórmulas experimentais são suplementadas com nucleotídeos ou substâncias metabólicas de nucleotídeos. Embora tal fator não elimine, de forma alguma, as distinções entre a fórmula e o leite materno na microbiota oral dos bebês, certamente exerce alguma influência sobre os gêneros viáveis na cavidade oral (AL-SHEHRI et al., 2015). Além disso, o método de alimentação do bebê, como a utilização de sondas, pode também ser um fator decisivo nas diferenças da microbiota da cavidade oral do recém-nascido, especialmente naquele com nascimento prematuro (AL-SHEHRI et al., 2015).

O presente estudo apresenta algumas limitações. A primeira limitação diz respeito ao tamanho da amostra. No entanto, mesmo com uma amostra reduzida, a metodologia de análise microbiológica empregada, que foi o sequenciamento genético, revelou importantes resultados especialmente nas diferenças de perfis microbianos com potencial cariogênico a partir dos fatores avaliados na presente pesquisa. Uma segunda limitação é que a análise microbiológica se concentrou na análise taxonômica de gêneros. Uma análise por espécie bacteriana poderia gerar dados mais específicos sobre a aquisição da microbiota cariogênica nos primeiros anos de vida. Entretanto, a literatura é escassa quanto à aquisição de microrganismos com potencial cariogênico (DZIDIC et al., 2018) especialmente em crianças prematuras, o que torna os achados baseados nos gêneros bacterianos relevantes tanto para o

entendimento da colonização inicial, como para o desenvolvimento de futuras pesquisas com esta temática.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desta pesquisa sugerem que a idade gestacional, em especial inferiores a 32 semanas, estão associados à maiores níveis de microrganismos considerados cariogênicos. Ademais, a exposição a fatores ambientais, especialmente a permanência em unidades de terapia intensiva e o uso de sondas gástricas, que por sua vez são mais frequentes em crianças prematuras, também podem ser fatores associados à maior colonização por estes microrganismos.

Outro aspecto importante evidenciado neste estudo é o papel da alimentação nos primeiros meses de vida na aquisição de gêneros bacterianos com potencial cariogênico. O uso de fórmulas infantis foi significativamente associado à maiores médias de microrganismos. Por outro lado, a amamentação exclusiva no seio, e particularmente, a alimentação pelo colostro, revelou ser um fator protetor à aquisição de bactérias potencialmente cariogênicas.

Assim, estes resultados revelam a importância de um olhar cuidadoso do profissional da área de Odontologia quando se trata da atenção em saúde bucal de crianças prematuras. Além disso, reforça a importância do aleitamento materno, servindo também como base para o fortalecimento de estratégias de incentivo ao aleitamento materno de crianças, independentemente de sua idade gestacional.

Ainda, é importante considerar que os fatores associados aos diferentes perfis da microbiota bucal nos primeiros meses de vida foram especialmente observados aos 30 dias de vida da criança. Outros estudos longitudinais que incluam períodos de acompanhamento maiores são necessários para verificar as variações de colonização de bactérias potencialmente cariogênicas, especialmente até a erupção dos dentes decíduos.

## REFERENCIAS

AGENCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR (ANS). **Indicadores de atenção materna e neonatal** (2023). Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiNDAYZmU5MjktMGQyNS00MmY2LWEwNDQtZjQ5N2ZkYzQxYmMwliwidCI6IjlkYmE0ODBjLTRmYTctNDJmNC1iYmEzLTBmYjEzNzVmYmU1ZiJ9>>. Acessado em: 10 de Janeiro 2023.

AHMADI-MOTAMAYEL, F.; LOGHMAN REZAEI-SOUFI, L.; KIANI, L.; ALIKHANI, M. Y.; POOROLAJAL, J.; MOGHADAM, M. Effects of honey, glucose, and fructose on the enamel demineralization depth. **Journal of Dental Sciences**, v. 8, n. 2, June 2013, p. 147-150, 2013.

AL-SHEHRI, S. S.; KNOX, C. L.; LILEY, H. G.; COWLEY, D. M.; WRIGHT, J. R.; HENMAN, M. G. et al. Breastmilk-Saliva Interactions Boost Innate Immunity by Regulating the Oral Microbiome in Early Infancy. **PloS one**, v. 9, n. 10, p. e0135047, 2015.

AL-SHEHRI, S. S.; SWEENEY, E. L.; COWLEY, D. M.; LILEY, H. G.; RANASINGHE, P. D., CHARLES, B. G.; et al. Deep sequencing of the 16S ribosomal RNA of the neonatal oral microbiome: a comparison of breast-fed and formula-fed infants. **Scientific reports**, n. 6, p. 38309, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA. **CrITÉrios de Classificação Econômica Brasil, 2021**. Disponível em: <<https://www.abep.org/criterio-brasil>>. Acesso em: 10 janeiro 2022.

AZEVEDO, M. J.; GARCIA, A.; COSTA, C. F. F. A.; FERREIRA, A. F.; FALCÃO-PIRES, I. The contribution of maternal factors to the oral microbiota of the child: Influence from early life and clinical relevance. **The Japanese dental science review**, v. 59, p. 191–202, 2023.

BACKHED, F.; ROSWALL, J.; PENG, Y.; FENG, Q.; JIA, H.; KOVATCHEVA-DATCHARY, P. et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. **Cell Host Microbe**, v. 17, n. 6, p. 690–703, 2015.

BARRETO, C. T. G.; TAVARES, F. G.; THEME-FILHA, M.; FARIAS, Y. N.; PANTOJA, L. N.; CARDOSO, A. M. Baixo peso ao nascer, prematuridade e restrição de crescimento intra-uterino: resultados dos dados de base da primeira

coorte de nascimentos indígenas no Brasil (coorte de nascimentos Guarani). **BMC pregnancy and childbirth**, v. 1, n. 20, p. 748, 2020.

BENJAMIN, D. K. J.; ROSS, K.; MCKINNEY, R. E. J.; BENJAMIN, D. K.; AUTEN, R.; FISHER, R. G. When to suspect fungal infection in neonates: a clinical comparison of *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* fungemia with coagulase-negative staphylococcal bacteremia. **Pediatrics**, v. 106, p. 712-8, 2000.

BERTOLDO, B. B.; SILVA, C. B. D.; RODRIGUES, D. B. R.; GERALDO-MARTINS, V. R.; FERRIANI, V. P. L.; NOGUEIRA, R. D. Comparisons of IgA response in saliva and colostrum against oral streptococci species. **Brazilian oral research**, v. 31, p. e39, 2017.

BLENCOWE, H.; COUSENS, S.; OESTERGAARD, M. Z.; CHOU, D.; MOLLER, A. B.; NARWAL, R.; et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. **Lancet**, v. 9832, n. 379, p. 2162–2172, 2012.

BLENCOWE, H.; KRASEVEC, J.; DE ONIS, M.; BLACK, R. E.; AN, X.; STEVENS, G. A. et al. National, regional, and worldwide estimates of low birthweight in 2015, with trends from 2000: a systematic analysis. **Lancet Glob Health**, v. 7, n. 7, p. e849- e860, 2019.

BOUSTEDT, K.; ROSWALL, J.; DAHLEN, G.; DAHLGREN, J.; TWETMAN, S. Salivary microflora and mode of delivery: a prospective case control study. **BMC Oral Health**, v. 15, n. 1, p. 155, 2015.

BROOKS, B.; FIREK, B. A.; MILLER, C. S.; SHARON, I.; THOMAS, B. C.; BAKER, R.; et al. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. **Microbiome**, v. 1, n. 2, p. 1, 2014.

CHO, I.; YAMANISHI, S.; COX, L.; METHÉ, B. A.; ZAVADIL, J.; LI, K. et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. **Nature**, n. 7413, v. 488, p. 621–626, 2012.

CILIEBORG, M. S.; BOYE, M.; SANGILD, P. T. Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. **Early human development**, v. 88, Suppl. 1, p. S41–S49, 2012.

COLOMBO, N. H.; KRELING, P. F.; RIBAS, L. F. F.; PEREIRA, J. A.; KRESSIRER, C. A.; KLEIN, M. I.; et al. Quantitative assessment of salivary oral bacteria according to the severity of dental caries in childhood. **Archives of oral biology**, n. 83, p. 282–288, 2017.

COSTA, F. S.; SILVEIRA, E. R.; PINTO, G. S.; NASCIMENTO, G. G.; THOMSON, W. M.; DEMARCO, F. F. Developmental defects of enamel and dental caries in the primary dentition: A systematic review and meta-analysis. **Journal of dentistry**, n. 60, p. 1–7, 2017.

COSTELLO, E. K.; CARLISLE, E. M.; BIK, E. M.; MOROWITZ, M. J.; RELMAN, D. A. Microbiome assembly across multiple body sites in low-birthweight infants. **mBio**, n. 4, v. 6, p. e00782-13, 2013.

DASHPER, S. G.; MITCHELL, H. L.; LÊ CAO, K. A.; CARPENTER, L.; GUSSY, M. G.; CALACHE, H. et al. Reynolds Temporal development of the oral microbiome and prediction of early childhood caries. **Scientific Reports volume**, n. 9, p. 19732, 2019.

DOMINGUEZ-BELLO, M. G., COSTELLO, E. K., 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**, v. 26, n. 107, p. 11971–11975, 2010.

DRELL, T.; ŠTŠEPETOVA, J.; SIMM, J.; RULL, K.; ALEKSEJEVA, A.; ANTSON, A., et al. The Influence of Different Maternal Microbial Communities on the Development of Infant Gut and Oral Microbiota. **Scientific reports**, v. 1, n. 7, p. 9940, 2017.

DUNN, A. B.; JORDAN, S.; BAKER, B. J.; CARLSON, N. S. The Maternal Infant Microbiome: Considerations for Labor and Birth. MCN. **The American journal of maternal child nursing**, v. 42, n. 6, p. 318–325, 2017.

DUQUE, C.; CHRISOSTOMO, D. A.; SOUZA, A. C. A.; DE ALMEIDA BRAGA, G. P.; DOS SANTOS, V. R.; CAIAFFA, K. S. et al. Understanding the Predictive

Potential of the Oral Microbiome in the Development and Progression of Early Childhood Caries. **Current pediatric reviews**, v. 2, n. 19, p. 121–138, 2023.

DZIDIC, M.; COLLADO, M. C.; ABRAHAMSSON, T.; ARTACHO, A.; STENSSON, M.; JENMALM, M. C. et al. Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. **ISME J**, v. 12, n. 9, p. 2292-2306, 2018.

ERSIN, N. K.; ERONAT, N.; COGULU, D.; UZEL, A.; AKSIT, S. Association of maternal-child characteristics as a factor in early childhood caries and salivary bacterial counts. **J Dent Child**, v. 73, p. 105-111, 2006.

FIOCRUZ. **Principais Questões sobre Infecção**. Fúngica no Recém-nascido, 2020. Disponível em: <<https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/atencao-recem-nascido/principais-questoes-sobre-infeccao-fungica-no-recem-nascido/>>

Acessado em: 18 de janeiro de 2022.

GOLDENBERG, R. L.; CULHANE, J. F.; IAMS, J. D.; ROMERO, R. Epidemiology and causes of preterm birth. **Lancet**, v. 371, n. 2, p. 75–84, 2008.

GOLDENBERG, R. L.; GRAVETT, M. G.; IAMS, J. The preterm birth syndrome: issues to consider in creating a classification system. **Am J Obstet Gynecol**, v. 206, p. 113–18, 2012.

GOMEZ, A.; ESPINOZA, J. L.; HARKINS, D. M.; LEONG, P.; SAFFERY, R.; BOCKMANN, M.; et al. Host Genetic Control of the Oral Microbiome in Health and Disease. **Cell host & microbe**, v. 3, n. 22, p. 269–278, 2017.

GONDIM, B. A.; BRITO, D. V.; BRITO, C. S.; DOLINGER, E. J.; ABDALLAH, V. O.; GONTIJO, P. P. Fatores de risco para colonização e sepse por *Candida albicans* e *Candida não albicans* em neonatos críticos. **Arq Ciencia da Saude**, v. 16, p. 105-10, 2009.

GOODSON, J. M.; HARTMAN, M. L.; SHI, P.; HASTURK, H.; YASKELL, T.; VARGAS, J. et al. The salivary microbiome is altered in the presence of a high salivary glucose concentration. **PloS one**, n. 3, v. 12, p. e0170437, 2017.

GRIER, A., MYERS, J. A., O'CONNOR, T. G., QUIVEY, R. G., GILL, S. R., KOPYCKA-KEDZIERAWSKI, D. T. A Oral microbiota composition predicts early childhood caries onset. **J. Dente. Res**, v.6, n. 100, p. 599–607, 2021.

GRITZ, E. C.; BHANDARI, V. The human neonatal gut microbiome: a brief review. **Frontiers in pediatrics**, n. 3, p. 17, 2015.

HAN, Y. W., SHEN, T., CHUNG, P., BUHIMSCHI, I. A., BUHIMSCHI, C. S. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. **J Clin Microbiol**, v. 1, n. 47, p. 38-47, 2009.

HARDING, C. An evaluation of the benefits of non-nutritive sucking for premature infants as described in the literature. **Archives of disease in childhood**, v. 8, n. 94, p. 636–640, 2009.

HENDRICKS-MUÑOZ, K. D., XU, J., PARIKH, H. I., XU, P., FETTWEIS, J. M., KIM, Y., et al. Skin-to-Skin Care and the Development of the Preterm Infant Oral Microbiome. **American journal of perinatology**, v. 13, n. 32, p. 1205–1216, 2015.

HERBER-JONAT, S.; SHULZE, A.; KRIBS, A.; ROTH, B.; LINDNER, W.; POHLANDT, F. Survival and major neonatal complications in infants born between 22 0/7 and 24 6/7 weeks of gestation (1999-2003). **Am J Obstet Gynecol**, v. 195, n. 52, p. 16-22, 2006.

HOLGERSON, P. L.; VESTMAN, N. R.; CLAEISSON, R.; OHMAN, C.; DOMELLÖF, M.; TANNER, A. C. et al. Oral microbial profile discriminates breast-fed from formula-fed infants. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, n. 2, v. 56, p. 127–136, 2013.

HURLEY, E.; BARRETT, M. P. J.; KINIRONS, M.; WHELTON, H.; RYAN, C. A.; STANTON, C. et al. Comparison of the salivary and dentinal microbiome of children with severe-early childhood caries to the salivary microbiome of caries-free children. **BMC oral health**, v.1, n. 19, p. 13, 2019.

JIANG, S.; GAO, X.; JIN, L.; LO, E. C. Salivary Microbiome Diversity in Caries-Free and Caries-Affected Children. **International journal of molecular sciences**, n. 12, v. 17, p. 1978, 2016.

JIANG, W.; ZHANG, J.; CHEN, H. Pyrosequencing analysis of oral micro- biota in children with severe early childhood dental caries. **Curr Microbiol**, n. 5, v. 67, p. 537-42, 2013.

KAAN, A. M. M., KAHHAROVA, D., ZAURA, E. Acquisition and establishment of the oral microbiota. **Periodontol** **2000**, v. 1, n. 86, p. 123-141, 2021.

KANASI, E.; DEWHIRST, F. E.; CHALMERS, N. I.; KENT, R.; MOORE, A.; HUGHES, C. V. et al. Clonal analysis of the microbiota of severe early childhood caries. **Caries research**, n. 5, v. 44, p. 485–497, 2010.

KATZ, J.; LEE, A. C.; KOZUKI, N.; LAWN, J. E.; COUSENS, S.; BLENCOWE, H. et al. Mortality risk in preterm and small-for-gestational-age infants in low-income and middle-income countries: a pooled country analysis. **Lancet**, v. 382, n. 9890, p. 417–425, 2013.

KAWASHITA, Y.; KITAMURA, M.; SAITO, T. Early childhood caries. **Int J Dent** v. 2011, p. 725320, 2011.

KAZEMINIA, M.; ABDI, A.; SHOHAIMI, S.; JALALI, R.; VAISI-RAYGANI, A.; SALARI, N. et al. Dental caries in primary and permanent teeth in children's worldwide, 1995 to 2019: a systematic review and meta-analysis. **Head & face medicine**, n. 1, v. 16, p. 22, 2020.

KÖNÖNEN, E.; JOUSIMIES-SOMER, H.; BRYK, A.; KILPI, T.; KILIAN, M. Establishment of streptococci in the upper respiratory tract: longitudinal changes in the mouth and nasopharynx up to 2 years of age. **Journal of medical microbiology**, v. 9, n. 51, p. 723–730, 2002.

LI, H.; WANG, J.; WU, L.; LUO, J.; LIANG, X.; XIAO, B.; et al. The impacts of delivery mode on infant's oral microflora. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 11938, 2018.

MAKHOUL, I. R., SUJOV, P., ARDEKIAN, L., KASSIS, I., SMOLKIN, T., ABU-ELNAA'J, I., et al. Factors influencing oral colonization in premature infants. **Isr Med Assoc J**, v. 2, n. 4, p. 98-102, 2002.

MENDIRATTA, D. K.; RAWAT, V.; THAMKE, D.; CHATURVEDI, P.; CHHABRA, S.; NARANG, P. Candida colonization in preterm babies admitted to neonatal intensive care unit in the rural setting. **Indian journal of medical microbiology**, v. 24, n. 4, p. 263–267, 2006.

MENON, R. Spontaneous preterm birth, a clinical dilemma: etiologic, pathophysiologic and genetic heterogeneities and racial disparity. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 87, n. 3, p. 590–600, 2008.

MERGLOVA, V.; KOBEROVA-IVANCAKOVA, R.; BROUKAL, Z.; DORT, J. The presence of cariogenic and periodontal pathogens in the oral cavity of one-year-old infants delivered pre-term with very low birthweights: a case control study. **BMC oral health**, v. 14, p. 109, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Guia de orientações para o Método Canguru na Atenção Básica: cuidado compartilhado**, Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: <[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_orientacoes\\_metodo\\_canguru.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_orientacoes_metodo_canguru.pdf)> Acessado em: 10 de janeiro de 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. Saúde Brasil 2019 uma análise da situação de saúde com enfoque nas doenças imunopreveníveis e na imunização (2019). Disponível em: <[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude\\_brasil\\_2019\\_analise\\_situacao.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2019_analise_situacao.pdf)>. Acessado em: 10 de janeiro 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Novembro roxo: Ministério da Saúde reforça campanha para prevenção da prematuridade (2022). Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/novembro/ministerio-da-saude-reforca-campanha-para-prevencao-da-prematuridade>>. Acessado em: 03 de fevereiro 2023.

MOSSAVI, S.; SEPEHRI, S.; ROBERTSON, B.; BODE, L.; GORUK, S.; FIELD, C. J. et al. Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. **Cell host & microbe**, v. 2, n. 25, p. 324–335.e4, 2019.

MOROWITZ, M. J.; POROYKO, V.; CAPLAN, M.; ALVERDY, J.; LIU, D. C. Redefining the role of intestinal microbes in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. **Pediatrics**, n. 4, v. 125, p. 777–785, 2010.

MUGLIA, L. J.; KATZ, M. The enigma of spontaneous preterm birth. **N Engl J Med**, v. 362, p. 529–35, 2010

MWANIKI, M. K.; ATIENO, M.; LAWN, J. E.; NEWTON, C. R. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. **Lancet**, v. 379, p. 445–52, 2012.

NEU, J.; WALKER, W. A. Necrotizing enterocolitis. **The New England journal of medicine**, n. 3, v. 364, p. 255–264, 2011.

NEVES, B. G.; STIPP, R. N.; BEZERRA, D. D. S.; GUEDES, S. F. F.; RODRIGUES, L. K. A. Quantitative analysis of biofilm bacteria according to different stages of early childhood caries. **Archives of oral biology**, v. 96, p. 155–161, 2018.

NG, S. M.; DRURY, J. A.; TURNER, M. A.; DIDI, M.; VICTOR, S.; NEWLAND, P., et al. A novel method of collection of saliva for estimation of steroid levels in extremely premature infants. **Acta Paediatr**, v.102, n. 4, p. 356-9, 2013.

NOGUEIRA, R. D., SESSO, M. L., BORGES, M. C., MATTOS-GRANER, R. O., SMITH, D. J., FERRIANI, V. P. Salivary IgA antibody responses to *Streptococcus mitis* and *Streptococcus mutans* in preterm and fullterm newborn children. **Archives of oral biology**, v. 6, n. 57, p. 647–653, 2012.

NOVAK, F. R.; ALMEIDA, J. A.; SILVA, G. O.; BORBA, L. M. Coloostro humano: fonte natural de probióticos? **Jornal de pediatria**, n. 4, v. 77, p. 265–270, 2001.

OLSZAK, T.; AN, D.; ZEISSIG, S.; VERA, M. P.; RICHTER, J.; FRANKE, A. et al. A exposição microbiana durante o início da vida tem efeitos persistentes na função das células T assassinas naturais. **Ciência**, v. 336, p. 489–493, 2012.

PELZER, E., GOMEZ-ARANGO, L. F., BARRETT, H. L., & NITERT, M. D. Review: Maternal health and the placental microbiome. **Placenta**, n. 54, p. 30–37, 2017.

PERERA, P. J.; FERNANDO, M. P.; WARNAKULASOORIYA, T.D.; RANATHUNGA N. Effect of feeding practices on dental caries among preschool children: a hospital based analytical cross sectional study. **Asia Pac. J. Clin. Nutr**, v. 23, p. 272–277, 2014.

PEREZ-MUÑOZ, M. E.; ARRIETA, M. C.; RAMER-TAIT, A. E.; WALTER, J. A. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. **Microbiome**, v. 5, n. 1, p. 48, 2017.

PETERSEN, S. M.; GREISEN, G.; KROGFELT, K. A. Nasogastric feeding tubes from a neonatal department yield high concentrations of potentially pathogenic bacteria— even 1 d after insertion. **Pediatr Res**, v. 80, p. 395, 2016.

PIERCE, A.; SINGH, S.; LEE, J.; GRANT, C.; CRUZ DE JESUS, V.; SCHROTH, R. J. The Burden of Early Childhood Caries in Canadian Children and Associated Risk Factors. **Frontiers in public health**, v. 7, p. 328, 2019.

PIERSIGILLI, F.; VAN GRAMBEZEN, B.; HOCQ, C.; DANHAIVE, O. Nutrients and Microbiota in Lung Diseases of Prematurity: The Placenta-Gut-Lung Triangle. **Nutrients**, v.12, n. 2, p. 469, 2020.

PINHAT E. C.; BORBA M. G. S.; FERREIRA M. L.; FERREIRA M. A.; FERNANDES R. K.; NICOLAOU S. K, et al. Fungal colonization in newborn babies of very low birth weight: a cohort study. **J. Pediatr**. v .88, n .3, p. 211-216, 2012.

PLUNKETT J.; MUGLIA L. J. Genetic contributions to preterm birth: implications from epidemiological and genetic association studies. **Ann Med** v. 40, n. 2, p 167–95, 2008.

PROCTOR, D. M.; FUKUYAMA, J. A.; LOOMER, P. M.; ARMITAGE, G. C.; LEE, S. A.; DAVIS, N. M. et al. A spatial gradient of bacterial diversity in the human oral cavity shaped by salivary flow. **Nature communications**, v.1, n. 9, p. 681, 2018.

RAMADUGU, K.; BHAUMIK, D.; LUO, T.; GICQUELAIS, R. E.; LEE, K. H.; et al. Maternal Oral Health Influences Infant Salivary Microbiome. **Journal of dental research**, v. 100, n. 1, p. 58–65, 2021.

ROMANO-KEELER, J.; AZCARATE-PERIL, M. A.; WEITKAMP, J. H.; SLAUGHTER, J. C.; MCDONALD, W. H.; MENG, S. et al. Oral colostrum priming shortens hospitalization without changing the immunomicrobial milieu. **Journal**

**of perinatology: official journal of the California Perinatal Association**, n. 1, v. 37, p. 36–41, 2017.

SAMPAIO-MAIA, B., MONTEIRO-SILVA, F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: An update. **Dent Res J**, v.3, n. 11, p. 291–301, 2014.

SANCTUARY, M. R.; KAIN, J. N.; CHEN, S. Y.; KALANETRA, K.; LEMAY, D. G. et al. Pilot study of probiotic/colostrum supplementation on gut function in children with autism and gastrointestinal symptoms. **PloS one**, n. 1, v. 14, p. e0210064, 2019.

SHI, L.; JIA, J.; LI, C.; ZHAO, C.; LI, T.; SHI, H. et al. Relationship between preterm, low birth weight and early childhood caries: a meta-analysis of the case-control and cross-sectional study. **Bioscience reports**, v. 8, n. 40, p. BSR20200870, 2020.

SHIM Y. S. *et al.* Dental fear & anxiety and dental pain in children and adolescents; a systemic review. **J Dent Anesth Pain Med**, v. 15, n. 2, p. 53-61, 2015.

SILVEIRA, A. L. D.; CHRISTOFFEL, M. M.; VELARDE, L. G. C.; RODRIGUES, E. C.; MAGESTI, B. N.; SOUZA, R. O. Efecto de la glucosa y la succión no nutritiva sobre el dolor por pinchazos prematuros: un ensayo clínico cruzado. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 55, 2021.

SOHN, K., KALANETRA, K. M., MILLS, D. A., UNDERWOOD, M. A. Buccal administration of human colostrum: impact on the oral microbiota of premature infants. **J Perinatol**, v. 2, n. 36, p. 106-11, 2016.

SULYANTO, R. M.; THOMPSON, Z. A.; BEALL, C. J.; LEYS, E. J.; GRIFFEN, A. L. A microbiota oral predominante é adquirida precocemente em um padrão organizado. **Relatórios Científicos** n. 9, p. 10550, 2019.

SUN, T. Z.; TENG, F.; JIA, S. B.; TANG, Y. P.; JIANG, M.; HUANG, S. et al. Salivary microbial communities associated with severe early childhood caries. **China journal of stomatology**, n. 2, v. 36, p. 150–155, 2018.

TANNER, A. C.; KENT, R. L.; HOLGERSON, P. L.; HUGHES, C. V.; LOO, C. Y.; KANASI, E.; et al. Microbiota of severe early childhood caries before and after therapy. **Journal of Dental Research**, v. 11, n. 90, p. 1298-1305, 2011a.

TANNER, A. C.; MATHNEY, J. M.; KENT, R. L.; CHALMERS, N. I.; HUGHES, C. V.; LOO, C. Y.; et al. Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. **J Clin Microbiol**, v. 4, n. 49, p. 1464- 1474, 2011b.

THAKUR, R.; SINGH, M. G.; CHAUDHARY, S.; MANUJA, N. Effect of mode of delivery and feeding practices on acquisition of oral *Streptococcus mutans* in infants. **International journal of paediatric dentistry**, n. 3, v. 22, p. 197–202, 2012.

TIMBY, N.; DOMELLÖF, M.; HOLGERSON, P. L.; WEST, C. E.; LÖNNERDAL, B.; HERNELL, O. et al. Oral Microbiota in Infants Fed a Formula Supplemented with Bovine Milk Fat Globule Membranes - A Randomized Controlled Trial. **PLoS one**, n. 1, v. 12, p. e0169831, 2017.

TINANOFF, N.; BAEZ, R. J.; DIAZ GUILLORY, C.; DONLY, K. J.; FELDENS, C. A.; MCGRATH, C. et al. Early childhood caries epidemiology, aetiology, risk assessment, societal burden, management, education, and policy: Global perspective. **International journal of paediatric dentistry**, v. 3, v. 29, p. 238–248, 2019.

TSANG A. K. The Special Needs of Preterm Children - An Oral Health Perspective. **Dental clinics of North America**, v. 3, n. 60, p. 737–756, 2016.

TWETMAN, S.; BOUSTEDT, K.; ROSWALL, J.; DAHLGREN, J. (2020). Systematic review suggests a relationship between moderate to late preterm birth and early childhood caries. **Acta paediatrica**, v. 12, n. 109, p. 2472–2478, 2020.

VANDENBROUCKE, J. P.; VON ELM, E.; ALTMAN, D. G.; GOTZSCHE, P. C.; MULROW, C. D.; POCOCK, S. J.; et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. **PLoS medicine**, v. 4, n. 10, p. e297, 2007.

WAN, A. K.; SEOW, W. K.; PURDIE, D. M.; BIRD, P. S.; WALSH, L. J.; TUDEHOPE, D. I. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old

preterm infants. **Journal of dental research**, v. 12, n. 80, p. 2060–2065, 2001.

WANG, S.; RYAN, C. A.; BOYAVAL, P.; DEMPSEY, E. M.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Maternal Vertical Transmission Affecting Early-life Microbiota Development. **Trends in microbiology**, v. 28, n. 1, p. 28–45, 2020.

WANG, Y.; WANG, S.; WU, C.; CHEN, X.; DUAN, Z.; XU, Q. et al. Oral Microbiome Alterations Associated with Early Childhood Caries Highlight the Importance of Carbohydrate Metabolic Activities. **mSystems**, n. 4, v. 6, p. e00450-19, 2019.

WELCH, J. L. M.; RAMÍREZ-PUEBLA, S. T.; BORISY, G. G. Oral Microbiome Geography: Micron-Scale Habitat and Niche. **Cell host & microbe**, v. 2, n. 28, p. 160–168, 2020.

WHO. World health organization. **Preterm birth** (2022). Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2023.

WMA - WORLD MEDICAL ASSOCIATION. (2013). World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*, 310(20), 2191-2194.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guideline: sugars intake for adults and children** (2015). Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028>>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2023.

XIAO, X.; HE, S.; HE, F.; WU, X.; ZHENG, Y. Metagenomic analysis reveals *Neisseria bacilliformis* variation in the early childhood caries plaque microbiome. **Evid Based Complement Alternat Med**, n. 2021, p. 2774772, 2021.

XU, X.; SHAN, B.; ZHANG, Q.; LU, W.; ZHAO, J.; ZHANG, H. et al. Oral microbiome characteristics in children with and without early childhood caries. **The Journal of clinical pediatric dentistry**, n.2, v. 47, p. 58–67, 2023.

YOUNGE, N. E.; ARAÚJO-PÉREZ, F.; BRANDON, D.; SEED, P. C. Early-life skin microbiota in hospitalized preterm and full-term infants. **Microbiome**, n. 1, v. 6, p. 98, 2018.

ZAGHLOUL, S. A.; HASHEM, S. N.; EL-SAYED, S. R.; BADAWY, M. S. E. M.; BUKHARI, S. I.; SELIM, H. M. R. M. et al. Evaluation of the Cariogenic and Anti-Cariogenic Potential of Human Colostrum and Colostrum-Derived Probiotics: Impact on *S. mutans* Growth, Biofilm Formation, and *L. rhamnosus* Growth. **Life (Basel, Switzerland)**, n. 9, v. 13, p. 1869, 2023.

ZAURA, E.; NICU, E. A.; KROM, B. P.; KEIJSER, B. J. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 4, p. 85, 2014.

ZHANG, Y.; WU, Y. P.; FENG, V.; CAO, G. Z.; FENG, X. P.; CHEN, X. Microbiota of preterm infant develops over time along with the first teeth eruption. **Frontiers in microbiology**, v. 13, p. 1049021e, 2022.

ZHU, C.; YUAN, C.; AO, S.; SHI, X.; CHEN, F.; SUN, X. et al. The Predictive Potentiality of Salivary Microbiome for the Recurrence of Early Childhood Caries. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, n. 8, p. 423, 2018.

**APÊNDICES**

<b>APÊNDICE 1 -</b>	Termo de consentimento livre e esclarecido responsável legal das crianças prematuras.....	93
<b>APÊNDICE 2 -</b>	Termo de consentimento livre e esclarecido responsável legal das crianças a termo.....	94
<b>APÊNDICE 3 -</b>	Questionário aplicado no <i>baseline/ T0</i> .....	95
<b>APÊNDICE 4 -</b>	Questionário aplicado nas fases T1 e T2.....	97

## APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO RESPONSÁVEL LEGAL DAS CRIANÇAS PREMATURAS

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO- CRIANÇAS PREMATURAS**

Eu, Luciana Reichert Assunção Zanon - pesquisadora responsável e Gisele Marchetti - aluna de pós-graduação da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você para participar de um estudo intitulado: "Condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras". A importância deste estudo encontra-se no fato de que o nascimento prematuro pode trazer algumas alterações de saúde para o bebê e ainda, existe a possibilidade de ocorrer algumas mudanças no desenvolvimento das estruturas bucais dos mesmos. Portanto, o conhecimento das condições bucais e de seus fatores associados irá favorecer uma atuação integral, proporcionando o adequado manejo dessas crianças e a orientação apropriada aos pais.

a) O objetivo desta pesquisa é avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras (nascidas antes da 37ª semana de gestação) comparando-se com crianças nascidas a termo (nascidas após a 37ª semana de gestação).

b) Caso você autorize a participação da criança nesta pesquisa, será necessário realizar avaliações da criança nos seguintes períodos: primeiro mês de vida e aos 6, 12, 18, 24, 36, 48 e 60 meses de idade. Será realizada coleta de material bucal (saliva, raspagem da mucosa bucal, coletas nas lesões de cárie – caso estejam presentes) e também será coletado uma pequena porção de fezes da criança em um recipiente que será fornecido previamente ao responsável, para a avaliação microbiológica. Além disso, a criança terá sua boca examinada por um dos pesquisadores para a avaliação de lesões de cárie dentária, oclusão dentária (mordida da criança), presença de defeitos de desenvolvimento do esmalte (que é a parte mais externa do dente) e também será avaliado as características da boca da criança tais como, os rodets gengivais (arcos gengivais do bebê) e nascimentos dos dentes. Para a avaliação

1

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 | 1º andar | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 | cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259

antropométrica da criança, serão aferidos o peso (através de balança pediátrica) e o comprimento (através de régua antropométrica pediátrica).

c) Para tanto, é necessário comparecer na Unidade de Tratamento Intensivo neonatal e no Ambulatório de Pediatria Preventiva, ambos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, endereço: Rua General Carneiro, 181 - Alto da Glória, Curitiba - PR, 80060-900, para coleta de material bucal e exame clínico bucal. A pesquisa será realizada com participantes em atendimento de consulta de rotina, portanto não será necessário deslocamento especial para este estudo. Todos os procedimentos serão realizados em um tempo de aproximadamente 10 minutos. Os exames serão realizados com a utilização de equipamentos de proteção individual (gorros, máscaras e luvas) em uma sala reservada.

d) É possível que a criança experimente algum desconforto, principalmente relacionado a coleta do material bucal e do exame clínico e você responsável pode experimentar algum constrangimento relacionado ao preenchimento dos questionários.

e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem incluir o desconforto com os exames intrabucais e coleta do material microbiológico bucal. A fim de diminuir este risco os pesquisadores receberão treinamento para os exames, além disso você pode solicitar que se interrompa a coleta a qualquer momento.

f) Os benefícios diretos esperados com essa pesquisa serão a realização de orientações específicas sobre a prematuridade, solucionar dúvidas que você possa ter e sendo constatado alguma alteração bucal, será encaminhado para tratamento odontológico na Universidade Federal do Paraná, que fica localizada na rua Lothário Meissner, 632- Prédio de Odontologia. Como benefícios indiretos serão a aquisição de conhecimentos acerca da relação do parto prematuro e as doenças da boca, além de contribuir para o avanço da ciência, podendo desenvolver estratégias específicas para orientações sobre o parto prematuro.

2

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 | 1º andar | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 | cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259

g) Os pesquisadores podem ser contactados nos e-mails: Luciana Reichert Assunção Zanon - pesquisadora responsável (lurassuncao@yahoo.com.br) e Gisele Marchetti (marchettodontologia@gmail.com) - aluna de pós-graduação, responsáveis por este estudo poderão ser localizados na Universidade Federal do Paraná, Rua Lothário Meissner, 632- Prédio de Odontologia, e telefone para contato: 3360-4025, de segunda a sexta-feira no horário das 08:00 as 17:00, para esclarecer eventuais dúvidas que o a senhora possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

j) A participação da criança neste estudo é voluntária, portanto, é possível desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado. O atendimento da criança está garantido e não será interrompido em caso de desistência de continuar participando.

k) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas. Luciana Reichert Assunção Zanon - pesquisadora responsável e Gisele Marchetti - aluna de pós-graduação. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a identidade da criança seja preservada e mantida sua confidencialidade.

l) O material obtido – amostras biológicas e questionários – será utilizado unicamente para essa pesquisa e será destruído/descartado ao término do estudo, dentro de 5 anos.

m) As despesas necessárias para a realização da pesquisa (materiais utilizados para coleta, análise das amostras coletadas, transporte dos pesquisadores, gastos com as impressões dos questionários) não são de sua responsabilidade e a senhora não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação e da criança.

3

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 | 1º andar | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 | cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259

o) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá nome da criança, e sim um código.

p) Se a senhora tiver dúvidas sobre os direitos da criança como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná (UFPR), pelo telefone 3360-7259 e os demais comitês de ética: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/H/UPFR pelo telefone 3360-1041 das 08:00 horas as 14:00 horas de segunda a sexta-feira e Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba, Rua Atílio Bório, 680-Cristo Rei, telefone: (41)3360-4961, de segunda e sexta-feira das 8h às 12h e 13:30h às 17h ou pelo e-mail: etica@sms.curitiba.pr.gov.br. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).

Eu, \_\_\_\_\_ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo para o qual autorizo a participação da criança sob minha responsabilidade. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que somos livres para interromper a participação a qualquer momento sem justificar nossa decisão e sem qualquer prejuízo para mim e para a criança e sem que esta decisão afete tratamento/atendimento.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Curitiba -PR, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

4

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 | 1º andar | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 | cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259

## APÊNDICE 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO RESPONSÁVEL LEGAL DAS CRIANÇAS A TERMO

<p><b>TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO- CRIANÇAS NASCIDAS A TERMO</b></p> <p>Eu, Luciana Reichert Assunção Zanon - pesquisadora responsável e Gisele Marchetti - aluna de pós-graduação da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você para participar de um estudo intitulado: "Condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras". A importância deste estudo encontra-se no fato de que o nascimento prematuro pode trazer algumas alterações de saúde para o bebê e ainda, existe a possibilidade de ocorrer algumas mudanças no desenvolvimento das estruturas bucais dos mesmos. Portanto, o conhecimento das condições bucais e de seus fatores associados irá favorecer uma atuação integral, proporcionando o adequado manejo dessas crianças e a orientação apropriada aos pais.</p> <p>a) O objetivo desta pesquisa é avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras (nascidas antes da 37ª semana de gestação) comparando-se com crianças nascidas a termo (nascidas após a 37ª semana de gestação).</p> <p>b) Caso você autorize a participação da criança nesta pesquisa, será necessário realizar avaliações da criança nos seguintes períodos: primeiro mês de vida e aos 6, 12, 18, 24, 36, 48 e 60 meses de idade. Será realizada coleta de material bucal (saliva, raspagem da mucosa bucal, coletas nas lesões de cárie – caso estejam presentes) e também será coletado uma pequena porção de fezes da criança em um recipiente que será fornecido previamente ao responsável, para a avaliação microbiológica. Além disso, a criança terá sua boca examinada por um dos pesquisadores para a avaliação de lesões de cárie dentária, oclusão dentária (mordida da criança), presença de defeitos de desenvolvimento do esmalte (que é a parte mais externa do dente) e também será avaliado as características da boca da criança tais como, os rodets gengivais (arcos gengivais do bebê) e nascimentos dos dentes. Para a avaliação</p> <p style="text-align: right;">1</p> <p style="font-size: small; text-align: center;">Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR   CEP/SD Rua Padre Camargo, 285   1º andar   Alto da Glória   Curitiba/PR   CEP 80060-240   cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259</p>	<p>antropométrica da criança, serão aferidos o peso (através de balança pediátrica) e o comprimento (através de régua antropométrica pediátrica).</p> <p>c) Para tanto, é necessário comparecer nas oficinas sobre alimentação complementar e saudável do curso de Nutrição da UFPR, no endereço Av. Prefeito Lothário Meissner, 632 - Jardim Botânico, Curitiba - PR, CEP: 80210-170. Essa pesquisa será realizadas nos dias em que você já estará com o bebê participando das oficinas, não será necessário deslocamento especial para coleta. Serão também avaliados bebês que estarão em atendimento de rotina na Unidade Básica de Saúde Mãe Curitiba, no endereço Rua, Av. Jaime Reis, 331 - Alto do São Francisco, Curitiba - PR, CEP: 80510-010. Em ambos os locais será realizada coleta de material bucal o que levará aproximadamente 10 minutos. Os exames serão realizados com a utilização de equipamentos de proteção individual (gorros, máscaras e luvas) em uma sala reservada.</p> <p>d) É possível que a criança experimente algum desconforto, principalmente relacionado a coleta do material bucal e do exame clínico (exame da boca) e você responsável pode experimentar algum constrangimento relacionado ao preenchimento dos questionários.</p> <p>e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem incluir o desconforto com os exames intrabucais e coleta do material microbiológico bucal. A fim de diminuir este risco os pesquisadores receberão treinamento para os exames, além disso você pode solicitar que se interrompa a coleta a qualquer momento.</p> <p>f) Os benefícios diretos esperados com essa pesquisa serão a realização de orientações específicas sobre a prematuridade, solucionar dúvidas que você possa ter e sendo constatado alguma alteração bucal, será encaminhado para tratamento odontológico na Universidade Federal do Paraná, que fica localizada na rua Lothário Meissner, 632- Prédio de Odontologia. Como benefícios indiretos serão a aquisição de conhecimentos acerca da relação do parto prematuro e as doenças da boca, além de contribuir para o avanço da ciência,</p> <p style="text-align: right;">2</p> <p style="font-size: small; text-align: center;">Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR   CEP/SD Rua Padre Camargo, 285   1º andar   Alto da Glória   Curitiba/PR   CEP 80060-240   cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259</p>
<p>podendo desenvolver estratégias específicas para orientações sobre o parto prematuro.</p> <p>g) Os pesquisadores podem ser contactados nos e-mails: Luciana Reichert Assunção Zanon - pesquisadora responsável (lurassuncao@yahoo.com.br) e Gisele Marchetti (marchettiodontologia@gmail.com) - aluna de pós-graduação, responsáveis por este estudo poderão ser localizados na Universidade Federal do Paraná, Rua Lothário Meissner, 632- Prédio de Odontologia, e telefone para contato: 3360-4025, de segunda a sexta-feira no horário das 08:00 as 17:00, para esclarecer eventuais dúvidas que o a senhora possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.</p> <p>j) A participação da criança neste estudo é voluntária, portanto, é possível desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado. O atendimento da criança está garantido e não será interrompido em caso de desistência de continuar participando.</p> <p>k) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas, Luciana Reichert Assunção Zanon - pesquisadora responsável e Gisele Marchetti - aluna de pós-graduação. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a identidade da criança seja preservada e mantida sua confidencialidade.</p> <p>l) O material obtido – amostras biológicas e questionários – será utilizado unicamente para essa pesquisa e será destruído/descartado ao término do estudo, dentro de 5 anos.</p> <p>m) As despesas necessárias para a realização da pesquisa (materiais utilizados para coleta, análise das amostras coletadas, transporte dos pesquisadores, gastos com as impressões dos questionários) não são de sua responsabilidade</p> <p style="text-align: right;">3</p> <p style="font-size: small; text-align: center;">Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR   CEP/SD Rua Padre Camargo, 285   1º andar   Alto da Glória   Curitiba/PR   CEP 80060-240   cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259</p>	<p>e a senhora não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação e da criança.</p> <p>o) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá nome da criança, e sim um código.</p> <p>p) Se a senhora dúvidas sobre os direitos da criança como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná (UFPR), pelo telefone 3360-7259 e os demais comitês de ética: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UFPR pelo telefone 3360-1041 das 08:00 horas as 14:00 horas de segunda a sexta-feira e Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba, Rua Afílio Bório, 680- Cristo Rei, telefone: (41)3360-4961, de segunda e sexta-feira das 8h às 12h e 13:30h às 17h ou pelo e-mail: etica@sms.curitiba.pr.gov.br. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).</p> <p>Eu, _____ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo para o qual autorizo a participação da criança sob minha responsabilidade. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que somos livres para interromper a participação a qualquer momento sem justificar nossa decisão e sem qualquer prejuízo para mim e para a criança e sem que esta decisão afete tratamento/atendimento.</p> <p>Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.</p> <p style="text-align: right;">Curitiba -PR, ___ de _____ de _____</p> <p style="text-align: right;">4</p> <p style="font-size: small; text-align: center;">Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR   CEP/SD Rua Padre Camargo, 285   1º andar   Alto da Glória   Curitiba/PR   CEP 80060-240   cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259</p>

## APÊNDICE 3 – QUESTIONÁRIO APLICADO NO BASELINE/T0



**QUESTIONÁRIO AVALIAÇÃO PERINATAL**

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ ID: \_\_\_\_\_

**Dados de identificação**

-Nome Mãe: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 -Nome pai: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 -Onde a senhora mora? \_\_\_\_\_  
 -Telefones: \_\_\_\_\_  
 -Quantos filhos você tem? ( ) Este é meu primeiro filho ( ) 2 ( ) 3 ( ) Mais de três ( ) NR  
 - Nome da criança: \_\_\_\_\_  
 - Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino  
 Data de Nascimento da criança: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**INFORMAÇÕES PERINATAIS**

- Qual foi o tipo de parto?  
 ( ) Natural ( ) Cesárea  
 -Quanto às condições de saúde ao nascimento, seu filho(a) apresentou: ( ) baixo peso (<2.500)  
 -Qual foi o peso seu(a) filho(a) quando nasceu? \_\_\_\_\_  
 -Qual foi a idade gestacional ao nascimento? \_\_\_\_\_ semanas

**INFORMAÇÕES DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS**

- Logo após o nascimento, seu(a) filho(a) precisou ser encaminhado para a UTI neonatal?  
 ( ) Sim ( ) Não ( ) Não sei  
 -Por quanto tempo seu filho(a) ficou internado? \_\_\_\_\_  
 -Logo após o nascimento, seu(a) filho(a) precisou de algum tratamento médico especial?  
 ( ) Sim ( ) Não ( ) Não sei  
 -Quanto às condições de saúde ao nascimento, seu filho(a) apresentou:  
 ( ) necessidade de uso de incubadora Se sim, qual tempo de permanência? \_\_\_\_\_  
 ( ) necessidade de sonda gástrica  
 -Seu filho(a) usa chupeta? ( ) Sim ( ) Não  
 -Seu filho(a) usa mamadeira? ( ) Sim ( ) Não

**INFORMAÇÕES QUANTO AO USO DE ANTIBIÓTICO E GLICOSE**

- Recebeu antibiótico?  
 ( ) Sim ( ) Não  
 -Por quantos dias? \_\_\_\_\_  
 - Recebeu glicose?  
 ( ) Sim ( ) Não  
 -Por quantos dias? \_\_\_\_\_

**INFORMAÇÕES DE VARIÁVEIS ALIMENTARES**

- Recebeu colostro ( ) Sim ( ) Não – Tempo de início: \_\_\_\_\_  
 - Mamou no seio logo após o nascimento ( ) Sim ( ) Não  
 - Você amamenta seu filho exclusivamente no peito? ( ) Sim ( ) Não  
 - Seu filho recebe fórmula? (considerando a utilização de fórmulas e outras modalidades de aleitamento, como o leite proveniente de bancos de leite ou ordenhado pela mãe, bem como a amamentação direta no seio)  
 ( ) Sim ( ) Não  
 - Seu filho recebe fórmula + amamenta no seio?  
 ( ) Sim ( ) Não  
 - Seu filho já consumiu algum alimento com açúcar de adição? ( ) Sim ( ) Não


**QUESTIONÁRIO AVALIAÇÃO PERINATAL**
**DADOS SOCIOECONÔMICOS E DEMOGRÁFICOS**

Qual é o seu estado civil? ( ) Solteira ( ) Casada/União Estável ( ) Separada/Divorciada ( ) Viúva

( ) Não sabe ( ) NR

-Você exerce atividade remunerada? ( ) Sim ( ) Não

-Qual é a renda familiar mensal (em reais)? \_\_\_\_\_ Quantas pessoas moram com você na mesma casa? \_\_\_\_\_

-Qual é o seu grau de instrução?

( ) Analfabeta ( ) Fundamental I incompleto ( ) Fundamental I Completo

( ) Fundamental II incompleto ( ) Fundamental II completo ( ) Ensino médio incompleto

( ) Ensino médio completo ( ) Superior incompleto ( ) Superior completo

Qual é o grau de instrução do responsável pelo sustento da família?

( ) Analfabeto(a) ( ) Fundamental I incompleto ( ) Fundamental I Completo ( ) Não sei

( ) Fundamental II incompleto ( ) Fundamental II completo ( ) Ensino médio incompleto

( ) Ensino médio completo ( ) Superior incompleto ( ) Superior completo

Incluindo o total da casa: salários mínimos, Bolsa Família, seguro desemprego e "bicos"

Você possui alguns dos itens abaixo? Caso a resposta for afirmativa, quantos?

itens	Não tenho	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores					
Rádio					
Banheiro					
Automóvel					
Empregada mensalista					
Máquina de lavar					
Videocassete e/ou DVD					
Geladeira					
Freezer					

## APÊNDICE 4 – QUESTIONÁRIO APLICADO NAS FASES T1 E T2

 <p><b>UFPR</b> UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ</p>	<p><b>QUESTIONÁRIO AVALIAÇÃO NO T1 E T2</b></p>
<p>Data: ____ / ____ / ____</p>	<p>ID: _____</p>
<p><b>Dados de identificação</b></p> <p>-Nome Mãe: _____</p> <p>- Nome da criança: _____</p>	
<p><b>INFORMAÇÕES DE VARIÁVEIS AMBIENTAIS</b></p> <p>- Logo após o nascimento, seu(a) filho(a) precisou ser encaminhado para a UTI neonatal?  <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei</p> <p>-Por quanto tempo seu filho(a) ficou internado? _____</p> <p>-Logo após o nascimento, seu(a) filho(a) precisou de algum tratamento médico especial?  <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei</p> <p>-Quanto às condições de saúde ao nascimento, seu filho(a) apresentou:  <input type="checkbox"/> necessidade de uso de incubadora Se sim, qual tempo de permanência? _____  <input type="checkbox"/> necessidade de sonda gástrica</p> <p>-Seu filho(a) usa chupeta? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>-Seu filho(a) usa mamadeira? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p>	
<p><b>INFORMAÇÕES QUANTO AO USO DE ANTIBIÓTICO E GLICOSE</b></p> <p>- Recebeu antibiótico?  <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>-Por quantos dias? _____</p> <p>- Recebeu glicose?  <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>-Por quantos dias? _____</p>	
<p><b>INFORMAÇÕES DE VARIÁVEIS ALIMENTARES</b></p> <p>- Recebeu colostro <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não – Tempo de início: _____</p> <p>- Mamou no seio logo após o nascimento <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>- Você amamenta seu filho exclusivamente no peito? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>- Seu filho recebe fórmula? (considerando a utilização de fórmulas e outras modalidades de aleitamento, como o leite proveniente de bancos de leite ou ordenhado pela mãe, bem como a amamentação direta no seio)  <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>- Seu filho recebe fórmula + amamenta no seio?  <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>- Seu filho já consumiu algum alimento com açúcar de adição? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p>	

**ANEXOS**

<b>ANEXO 1</b> - Parecer da aprovação da pesquisa pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal do Paraná .....	99
<b>ANEXO 2</b> - Parecer da aprovação da pesquisa pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade de Guarulhos .....	101
<b>ANEXO 3</b> - Parecer da aprovação da pesquisa pelo comitê de ética em pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba-PR .....	103
<b>ANEXO 4</b> - Parecer da aprovação da pesquisa pelo comitê de ética em pesquisa do hospital de clínicas da Universidade Federal do Paraná .....	105
<b>ANEXO 5</b> - Critérios ABEP .....	107

# ANEXO 1 - PARECER DA APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

	<b>UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR</b>	
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>		
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>		
<b>Título da Pesquisa:</b> Condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras.		
<b>Pesquisador:</b> LUCIANA REICHERT ASSUNÇÃO ZANON		
<b>Área Temática:</b>		
<b>Versão:</b> 2		
<b>CAAE:</b> 34787320.4.0000.0102		
<b>Instituição Proponente:</b> Programa de Pós-Graduação em Odontologia		
<b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio		
<b>DADOS DO PARECER</b>		
<b>Número do Parecer:</b> 4.220.023		
<b>Apresentação do Projeto:</b> O projeto é da prof. Luciana Reichert Assunção Zanon (professora do curso de Odontologia), com colaboração de Gisele Marchetti (aluna do Doutorado em Odontologia), Marizilda Martins (professora do Departamento de Pediatría), Geisla Mary Silva Soares (professora do curso de Odontologia), Juliana Feltrin de Souza (professora do curso de Odontologia), Jose Vitor Noga Borges de Menezes (professor do curso de Odontologia), Fabian Calixto Fraiz (professor do curso de Odontologia) e Claudia Choma Bettega Almeida (professora do Departamento de Nutricao). E um projeto bastante amplo com o objetivo de avaliar condicoes bucais, sistemicas, nutricionais e fatores associados em pares de maes e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de maes e crianças nascidas a termo. E um estudo coorte longitudinal prospectivo.		
<b>Objetivo da Pesquisa:</b> <b>OBJETIVO GERAL</b> O objetivo desta pesquisa sera avaliar condicoes bucais, sistemicas, nutricionais e fatores associados em pares de maes e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de maes e crianças nascidas a termo.		
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>		
<b>Endereço:</b> Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar <b>Bairro:</b> Alto da Glória <b>CEP:</b> 80.060-240 <b>UF:</b> PR <b>Município:</b> CURITIBA <b>Telefone:</b> (41)3360-7259 <b>E-mail:</b> cometica.saude@ufpr.br		
<small>Página 01 de 01</small>		

	<b>UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR</b>	
<small>Continuação do Parecer: 4.220.023</small>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analisar o perfil microbiológico de pares de maes e crianças prematuras e em pares de maes e crianças nascidas a termo e sua associacao com fatores gestacionais, neonatais e de internacao hospitalar.</li> <li>- Avaliar a existencia de interacoes sinergicas entre o fungo Candida albicans e a bacteria Streptococcus mutans em amostras de saliva e biofilme de crianças prematuras e de nascidas a termo.</li> <li>- Avaliar a experiencia de carie em crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.</li> <li>- Verificar a presenca de defeitos de desenvolvimento de esmalte, incluindo a hipomineralizacao de molares e incisivos, em crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.</li> <li>- Analisar a cronologia e sequencia de erupcao de dentes deciduos em crianças prematuras e nas nascidas a termo.</li> <li>- Verificar as caracteristicas de oclusao dentaria de crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.</li> <li>- Avaliar a ansiedade odontologica de maes de crianças prematuras e nas maes de crianças nascidas a termo.</li> <li>- Avaliar o senso de coerencia de maes de crianças prematuras e de maes de crianças nascidas a termo e a associacao entre condicoes bucais e sistemicas.</li> <li>- Avaliar a qualidade de vida relacionada a saude bucal de crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.</li> <li>- Avaliar os indices clinicos periodontais de maes de crianças prematuras e de maes de crianças nascidas a termo.</li> <li>- Avaliar a relacao do perfil microbiológico das maes com a ocorrencia de nascimentos prematuros e de baixo peso.</li> <li>- Avaliar o estado nutricional das crianças e de suas respectivas maes.</li> <li>- Avaliar as praticas alimentares de maes e crianças.</li> <li>- Avaliar os fatores associados ao estado nutricional, praticas alimentares e consumo alimentar das maes e crianças.</li> <li>- Avaliar os fatores associados ao conhecimento sobre alimentacao complementar saudavel por parte das maes.</li> </ul>		
<b>Avaliação dos Riscos e Benefícios:</b> QUAIS OS BENEFICIOS, DIRETOS OU INDIRETOS, PARA A POPULACAO E A SOCIEDADE?		
<b>Endereço:</b> Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar <b>Bairro:</b> Alto da Glória <b>CEP:</b> 80.060-240 <b>UF:</b> PR <b>Município:</b> CURITIBA <b>Telefone:</b> (41)3360-7259 <b>E-mail:</b> cometica.saude@ufpr.br		

	<b>UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR</b>	
<small>Continuação do Parecer: 4.220.023</small>		
Os beneficios diretos esperados com essa pesquisa serao a realizacao de orientacoes de saude bucal envolvidas com a prematuridade e solucionar duvidas que os participantes possam ter e sendo constatado alguma alteracao bucal. Caso a criança ou a mae necessitar de tratamento odontologico, serao encaminhados para tratamento odontologico na Universidade Federal do Parana, que fica localizada na rua Lothario Meissner, 632- Predio de Odontologia, conforme declaracoes de supervisao de atendimento enviadas. Como beneficios indiretos serao a aquisicao de conhecimentos acerca da relacao do parto prematuro e as doencas da boca, alem de contribuir para o avancado da ciencia, podendo desenvolver estrategias especificas para orientacoes sobre o parto prematuro.		
<b>QUAIS OS RISCOS INERENTES OU DECORRENTES DA PESQUISA?</b> Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser constrangimento para responder as perguntas dos questionarios, alem de possivel desconforto com os exames intrabucalis e coleta do material microbiológico bucal. A fim de diminuir este risco os pesquisadores receberao treinamento para os exames e para a aplicacao dos questionarios. Alem disso, o participante pode interromper ou mesmo nao responder alguma pergunta dos questionarios ou se recusar a fazer o exame, sem prejuizo algum.		
<b>QUAL A POSSIBILIDADE DA OCORRENCIA?</b> A possibilidade da ocorrencia dos riscos mencionados existe, pois os questionarios, os exames e coletas serao realizados em todos os participantes.		
<b>QUAIS AS MEDIDAS PARA SUA MINIMIZACAO E PROTECAO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA?</b> A fim de diminuir este risco os participantes podem interromper ou mesmo nao responder alguma pergunta dos questionarios ou instrumentos. Os examinadores serao treinados e calibrados para diminuir algum desconforto durante o exame bucal ou coleta do material microbiológico. Alem disso, o exame pode ser interrompido a qualquer momento quando solicitado pela criança ou seu responsavel.		
<b>MEDIDAS DE PROTECAO OU MINIMIZACAO DE QUALQUER RISCO EVENTUAL.</b> As entrevistas e exames clinicos serao realizadas em ambiente reservado garantindo assim a privacidade da coleta de dados e minimizando possiveis constrangimentos. As informacoes		
<b>Endereço:</b> Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar <b>Bairro:</b> Alto da Glória <b>CEP:</b> 80.060-240 <b>UF:</b> PR <b>Município:</b> CURITIBA <b>Telefone:</b> (41)3360-7259 <b>E-mail:</b> cometica.saude@ufpr.br		

	<b>UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR</b>	
<small>Continuação do Parecer: 4.220.023</small>		
coletadas serao armazenadas garantindo o sigilo e o anonimato dos entrevistados.		
Os exames clinicos e coleta de material microbiológico serao realizados em sala reservada com o uso de equipamentos de protecao individual de acordo com as normas de biosseguranca vigentes como mascaras cirurgicas, gorros, oculos de protecao, protetor facial, mascara descartavel de protecao respiratoria N95, aventais impermeaveis descartaveis, luvas descartaveis, sobreluvas descartaveis ou outros materiais segundo as normas de biosseguranca vigentes. Os instrumentais odontologicos serao esterilizados a cada coleta e a coleta de material microbiológico tambem sera realizada com materiais esteriles e descartaveis. Os pesquisadores deixarao claro que a participacao na pesquisa e voluntaria e sem remuneracao podendo o participante deixar o estudo quando achar necessario.		
<b>Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:</b> A pesquisa esta muito bem fundamentada. Trata-se de uma pesquisa longitudinal, multidisciplinar, a fim de avaliar a saude de maes e bebes prematuros, comparando-se com um grupo de maes e bebes nascidas a termo.		
<b>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:</b> Todos os termos foram apresentados.		
<b>Recomendações:</b> Não há.		
<b>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:</b> As pendências apontadas no parecer anterior foram corrigidas. Recomendo a aprovação do projeto. Favor inserir em seu TCLE e TALE o número do CAAE e o número do Parecer de aprovação, para que possa aplicar aos participantes de sua pesquisa, conforme decisão da Coordenação do CEP/SD de 13 de julho de 2020. Após o isolamento, retornaremos à obrigatoriedade do carimbo e assinatura nos termos. Qualquer dúvida, retornar e-mail ou pelo WhatsApp 41-3360-7259.		
<b>Considerações Finais a critério do CEP:</b> Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento,		
<b>Endereço:</b> Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar <b>Bairro:</b> Alto da Glória <b>CEP:</b> 80.060-240 <b>UF:</b> PR <b>Município:</b> CURITIBA <b>Telefone:</b> (41)3360-7259 <b>E-mail:</b> cometica.saude@ufpr.br		

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR		Plataforma Brasil		
Continuação do Parecer: 4.220.023				
encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo. Emenda - ver modelo de carta em nossa página: www.cometica.ufpr.br (obrigatório envio)				
<b>Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:</b>				
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMACOES BASICAS DO PROJETO_1588035.pdf	10/08/2020 15:15:31		Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_UFPR.docx	10/08/2020 15:14:47	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final_corrigido.docx	10/08/2020 15:13:32	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	check_list_cep_ufpr.pdf	09/07/2020 16:28:31	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	Concordancia_de_Coparticipacao_UHG.pdf	09/07/2020 16:12:14	LUCIANA REICHERT	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento_do_pesquisador.pdf	03/07/2020 14:52:42	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final.docx	03/07/2020 14:48:10	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_peridontia_UFPR.pdf	03/07/2020 14:28:37	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_termo.docx	03/07/2020 10:25:02	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_termo.docx	03/07/2020 10:25:41	GISELE MARCHETTI	Aceito
Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-240 UF: PR Município: CURITIBA E-mail: cometica.saude@ufpr.br Telefone: (41)3360-7259				

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR		Plataforma Brasil		
Continuação do Parecer: 4.220.023				
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_peridontologia_UFPR.pdf	02/07/2020 18:58:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_UHG.pdf	02/07/2020 18:57:06	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_PPG O.pdf	02/07/2020 18:56:27	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_nutricao.pdf	02/07/2020 18:55:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:55:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_acesso_aos_dados_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:54:48	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:53:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipacao_colombo.pdf	02/07/2020 18:52:55	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_para_manipulacao_dados_ubs_mae_curitiba.pdf	02/07/2020 18:51:58	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_aos_dados_do_prontuario_ubs_mae_curitiba.pdf	02/07/2020 18:51:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_ciencia_de_interesse_ubs_mae_curitiba.pdf	02/07/2020 18:46:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_aos_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:44:52	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:44:11	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_regulacao_assistencial_hc.pdf	02/07/2020 18:44:19	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_chefe_pediatra_hc.pdf	02/07/2020 18:43:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_uti_hc.pdf	02/07/2020 18:42:05	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipante_hc.pdf	02/07/2020 18:40:56	GISELE MARCHETTI	Aceito
Declaração de concordância	concordancia_da_instituicao_participante_cep_ufpr.pdf	02/07/2020 18:38:49	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	ata_ppgo.pdf	02/07/2020 18:38:21	GISELE MARCHETTI	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termo_guarda_material_biologico_cep_ufpr.pdf	02/07/2020 18:37:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-240 UF: PR Município: CURITIBA E-mail: cometica.saude@ufpr.br Telefone: (41)3360-7259				

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR		Plataforma Brasil		
Continuação do Parecer: 4.220.023				
Declaração de Pesquisadores	declaracao_de_compromisso_da equipe_da_pesquisa.pdf	02/07/2020 18:37:17	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	analise_merito.pdf	02/07/2020 18:36:34	GISELE MARCHETTI	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_PB.pdf	02/07/2020 18:33:02	GISELE MARCHETTI	Aceito
<b>Situação do Parecer:</b> Aprovado				
<b>Necessita Apreciação da CONEP:</b> Não				
CURITIBA, 18 de Agosto de 2020				
Assinado por: <b>IDA CRISTINA GUBERT</b> (Coordenador(a))				
Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - 1º andar Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-240 UF: PR Município: CURITIBA E-mail: cometica.saude@ufpr.br Telefone: (41)3360-7259				

## ANEXO 2 - PARECER DA APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE DE GUARULHOS

UNIVERSITAS UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS		Plataforma Brasil
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>		
Elaborado pela Instituição Coparticipante		
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>		
<b>Título da Pesquisa:</b> Condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras.		
<b>Pesquisador:</b> LUCIANA REICHERT ASSUNÇÃO ZANON		
<b>Área Temática:</b>		
<b>Versão:</b> 2		
<b>CAAE:</b> 34787320.4.3004.5506		
<b>Instituição Proponente:</b> SOCIEDADE PAULISTA DE ENSINO E PESQUISA LTDA		
<b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio		
<b>DADOS DO PARECER</b>		
<b>Número do Parecer:</b> 4.259.108		
<b>Apresentação do Projeto:</b>		
Projeto CAAE: 34787320.4.3004.5506 (versão 2) Submetido em: 02/09/2020, Aprovado pelo CEP da UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SCS/UFPR, e encaminhado para o CEP UNG, pois a Universidade UNG é Coparticipante.		
O projeto é da prof. Luciana Reichert Assunção Zanon (professora do curso de Odontologia), com colaboração de Gisele Marchetti (aluna do Doutorado em Odontologia), Marizilda Martins (professora do Departamento de Pediatria), Geisla Mary Silva Soares (professora do curso de Odontologia), Juliana Feltrin de Souza (professora do curso de Odontologia), Jose Vitor Nogar Borges de Menezes (professor do curso de Odontologia), Fabian Calixto Fraiz (professor do curso de Odontologia) e Claudia Choma Bettega Almeida (professora do Departamento de Nutrição).		
E um projeto bastante amplo com o objetivo de avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de mães e crianças nascidas a termo. E um estudo coorte longitudinal prospectivo.		
A Universidade UNG será responsável pelas análises dos biomateriais.		
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br		
Página 01 de 07		

UNIVERSITAS UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS		Plataforma Brasil
Continuação do Parecer: 4.259.108		
<b>Objetivo da Pesquisa:</b>		
<b>OBJETIVO GERAL:</b>		
O objetivo desta pesquisa será avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de mães e crianças nascidas a termo.		
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>		
- Analisar o perfil microbiológico de pares de mães e crianças prematuras e em pares de mães e crianças nascidas a termo e sua associação com fatores gestacionais, neonatais e de internação hospitalar.		
- Avaliar a existência de interações sinérgicas entre o fungo <i>Candida albicans</i> e a bactéria <i>Streptococcus mutans</i> em amostras de saliva e biofilme de crianças prematuras e de nascidas a termo.		
- Avaliar a experiência de cárie em crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.		
- Verificar a presença de defeitos de desenvolvimento de esmalte, incluindo a hipomineralização de molares e incisivos, em crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.		
- Analisar a cronologia e sequência de erupção de dentes deciduais em crianças prematuras e nas nascidas a termo.		
- Verificar as características de oclusão dentária de crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.		
- Avaliar a ansiedade odontológica de mães de crianças prematuras e nas mães de crianças nascidas a termo.		
- Avaliar o senso de coerência de mães de crianças prematuras e de mães de crianças nascidas a termo e a associação entre condições bucais e sistêmicas.		
- Avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças prematuras e naquelas nascidas a termo.		
- Avaliar os índices clínicos periodontais de mães de crianças prematuras e de mães de crianças nascidas a termo.		
- Avaliar a relação do perfil microbiológico das mães com a ocorrência de nascimentos prematuros e de baixo peso.		
- Avaliar o estado nutricional das crianças e de suas respectivas mães.		
- Avaliar as práticas alimentares de mães e crianças.		
- Avaliar os fatores associados ao estado nutricional, práticas alimentares e consumo alimentar das mães e crianças.		
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br		
Página 02 de 07		

UNIVERSITAS UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS		Plataforma Brasil
Continuação do Parecer: 4.259.108		
- Avaliar os fatores associados ao conhecimento sobre alimentação complementar saudável por parte das mães.		
<b>Avaliação dos Riscos e Benefícios:</b>		
Os benefícios diretos esperados com essa pesquisa serão a realização de orientações de saúde bucal envolvidas com a prematuridade e solucionar dúvidas que os participantes possam ter e sendo constatado alguma alteração bucal. Caso a criança ou a mãe necessitar de tratamento odontológico, serão encaminhados para tratamento odontológico na Universidade Federal do Paraná, que fica localizada na rua Lothario Meissner, 632- Predio de Odontologia, conforme declarações de supervisão de atendimento enviadas. Como benefícios indiretos serão a aquisição de conhecimentos acerca da relação do parto prematuro e as doenças da boca, além de contribuir para o avanço da ciência, podendo desenvolver estratégias específicas para orientações sobre o parto prematuro.		
<b>QUAIS OS RISCOS INERENTES OU DECORRENTES DA PESQUISA?</b>		
Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser constrangimento para responder as perguntas dos questionários, além de possível desconforto com os exames intrabucais e coleta do material microbiológico bucal. A fim de diminuir este risco os pesquisadores receberam treinamento para os exames e para a aplicação dos questionários. Além disso, o participante pode interromper ou mesmo não responder alguma pergunta dos questionários ou se recusar a fazer o exame, sem prejuízo algum.		
<b>QUAL A POSSIBILIDADE DA OCORRÊNCIA?</b>		
A possibilidade da ocorrência dos riscos mencionados existe, pois os questionários, os exames e coletas serão realizados em todos os participantes.		
<b>QUAIS AS MEDIDAS PARA SUA MINIMIZAÇÃO E PROTEÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA?</b>		
A fim de diminuir este risco os participantes podem interromper ou mesmo não responder alguma pergunta dos questionários ou instrumentos. Os examinadores serão treinados e calibrados para diminuir algum desconforto durante o exame bucal ou coleta do material microbiológico. Além disso, o exame pode ser interrompido a qualquer momento quando solicitado pela criança ou seu responsável.		
<b>MEDIDAS DE PROTEÇÃO OU MINIMIZAÇÃO DE QUALQUER RISCO EVENTUAL</b>		
As entrevistas e exames clínicos serão realizadas em ambiente reservado garantindo assim a privacidade da coleta de dados e minimizando possíveis constrangimentos. As informações coletadas serão armazenadas garantindo o sigilo e o anonimato dos entrevistados.		
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br		
Página 03 de 07		

UNIVERSITAS UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS		Plataforma Brasil										
Continuação do Parecer: 4.259.108												
Os exames clínicos e coleta de material microbiológico serão realizados em sala reservada com uso de equipamentos de proteção individual de acordo com as normas de biossegurança vigentes como máscaras cirúrgicas, gorros, óculos de proteção, protetor facial, máscara descartável de proteção respiratória N95, aventais impermeáveis descartáveis, luvas descartáveis, sobreluvas descartáveis ou outros materiais segundo as normas de biossegurança vigentes. Os instrumentais odontológicos serão esterilizados a cada coleta e a coleta de material microbiológico também será realizada com materiais estéreis e descartáveis. Os pesquisadores deixarão claro que a participação na pesquisa é voluntária e sem remuneração podendo o participante deixar o estudo quando achar necessário.												
<b>Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:</b>												
A pesquisa está muito bem fundamentada. Trata-se de uma pesquisa longitudinal, multidisciplinar, a fim de avaliar a saúde de mães e bebês prematuros, comparando-se com um grupo de mães e bebês nascidos a termo												
<b>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:</b>												
De acordo com a Resolução 466/12, seguem as considerações sobre os termos de apresentação obrigatória, as não conformidades estão descritas em Conclusões ou Pendências:												
- TCLE: está adequada.												
- Folha de rosto: está adequada.												
- Carta de anuência e ou autorização: está adequada												
- Quanto ao Termo de Fiel Depositário não se aplica.												
- Cronograma: está adequada.												
- Orçamento: está adequada.												
- Declaração de compromisso: está adequada												
<b>Recomendações:</b>												
Não há recomendações.												
<b>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:</b>												
Projeto considerado APROVADO pelo instituição Coparticipante.												
<b>Considerações Finais a critério do CEP:</b>												
<b>Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:</b>												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo Documento</th> <th>Arquivo</th> <th>Postagem</th> <th>Autor</th> <th>Situação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>			Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação					
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação								
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br												
Página 04 de 07												

  <b>UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS</b> 				
Continuação do Parecer: 4.259.108				
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1614799.pdf	02/09/2020 20:20:20		Aceito
Outros	Declaracao_Demonstrativo_infraestrutura.pdf	02/09/2020 20:19:17	LUCIANA REICHERT	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_UFPR.docx	10/08/2020 15:14:47	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final_corrigido.docx	10/08/2020 15:13:32	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	check_list_cep_ulpr.pdf	09/07/2020 16:28:31	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	Concordancia_de_Coparticipacao_UnG.pdf	09/07/2020 16:12:14	LUCIANA REICHERT	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento_do_pesquisador.pdf	03/07/2020 14:52:42	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final.docx	03/07/2020 14:48:10	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_pe_riondônia_UFPR.pdf	03/07/2020 14:28:37	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_termo.docx	03/07/2020 10:26:02	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_termo.docx	03/07/2020 10:25:41	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_od_ortopediatria_UFPR.pdf	02/07/2020 18:55:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_UnG.pdf	02/07/2020 18:57:06	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_PPG O.pdf	02/07/2020 18:56:27	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_nuticao.pdf	02/07/2020 18:55:57	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_ubs_c_olombo.pdf	02/07/2020 18:55:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_acesso_aos_dados_ubs_c_olombo.pdf	02/07/2020	GISELE MARCHETTI	Aceito
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br				
Página 05 de 07				

  <b>UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS</b> 				
Continuação do Parecer: 4.259.108				
Outros	olombo.pdf	18:54:48	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:53:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipacao_colombo.pdf	02/07/2020 18:52:55	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_para_manipulacao_de_dados_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:51:58	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_aos_dados_do_prontuario_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:51:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_ciencia_de_interesse_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:46:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solitacao_de_acesso_aos_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:45:11	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:44:52	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_regulacao_assistencial_hc.pdf	02/07/2020 18:44:19	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_chefe_pediatra_hc.pdf	02/07/2020 18:43:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_uti_hc.pdf	02/07/2020 18:42:05	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipante_hc.pdf	02/07/2020 18:40:56	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	ata_ppgo.pdf	02/07/2020 18:38:21	GISELE MARCHETTI	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biorbanco	termo_guarda_material_biologico_cep_ulpr.pdf	02/07/2020 18:37:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	analise_merito.pdf	02/07/2020 18:36:34	GISELE MARCHETTI	Aceito
<b>Situação do Parecer:</b> Aprovado <b>Necessita Avaliação da CONEP:</b> Não				
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br				
Página 06 de 07				

  <b>UNG - UNIVERSIDADE GUARULHOS</b> 				
Continuação do Parecer: 4.259.108				
GUARULHOS, 04 de Setembro de 2020				
<b>Assinado por:</b> <b>Regina de Oliveira Moraes Arruda</b> <b>(Coordenador(a))</b>				
<b>Endereço:</b> Praça Tereza Cristina, 229 <b>Bairro:</b> Centro <b>CEP:</b> 07.023-070 <b>UF:</b> SP <b>Município:</b> GUARULHOS <b>Telefone:</b> (11)2464-1664 <b>E-mail:</b> comite.etica@ung.br				
Página 07 de 07				

# ANEXO 3 - PARECER DA APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE CURITIBA-PR

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS 

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras.

**Pesquisador:** LUCIANA REICHERT ASSUNÇÃO ZANON

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 34787320.4.3002.0101

**Instituição Proponente:** Prefeitura Municipal de Curitiba

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 4.282.562

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de projeto de pesquisa de doutorado apresentado pelo programa de pós graduação de odontologia da UFPR, aprovado pelo parecer expresso nº 4.220.023 em 18/08/2020. Trata-se de uma pesquisa longitudinal, multidisciplinar, a fim de avaliar a saúde de mães e bebês prematuros, comparando-se com um grupo de mães e bebês nascidos a termo. Segundo a Organização Mundial da Saúde a prematuridade é definida como qualquer nascimento antes de 37 semanas completas de gestação. O nascimento prematuro tem efeitos ao longo da vida no funcionamento do desenvolvimento neurológico, como aumento do risco de paralisia cerebral, dificuldade de aprendizagem e distúrbios visuais, e um risco aumentado de doença crônica na idade adulta. O objetivo desta pesquisa será avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de mães e crianças nascidas a termo. Serão selecionados na linha de base (baseline) pares de mães e crianças, sendo 120 pares de mães e crianças nascidas com parto prematuro e 120 pares de mães e crianças nascidas a termo. As crianças avaliadas no primeiro mês de vida e aos 6, 12, 18, 24, 36, 48 e 60 meses de idade. A coleta dos dados das crianças prematuras será realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no município de Curitiba-PR. Um grupo controle será selecionado em uma amostra de crianças assistidas na Unidade Básica de Saúde Mãe Curitiba da Secretaria Municipal de Saúde, no município de Curitiba-PR e da Unidade Básica de Saúde Alto Maracaná do Município de Colombo- PR. Além desse local, a amostra

**Endereço:** Rua Atílio Bório, 680  
**Bairro:** Cristo Rei **CEP:** 80.050-250  
**UF:** PR **Município:** CURITIBA  
**Telefone:** (41)3360-4961 **E-mail:** etica@sms.curitiba.pr.gov.br

Página 01 de 07

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS 

Continuação do Parecer: 4.282.562

controle também será composta por mães e crianças que participarem das oficinas sobre alimentação complementar saudável do Curso de Nutrição da UFPR. Dados não clínicos serão coletados por meio de questionários que incluem dados sócio econômicos e demográficos; conhecimento das mães das crianças sobre saúde bucal; consumo e hábitos alimentares e hábitos de higiene bucal; condições de saúde materna e da criança; ansiedade odontológica materna; qualidade de vida e qualidade de vida relacionada à saúde bucal e senso de coerência materna. Os dados clínicos incluem: avaliação de saúde bucal (cárie dentária, defeitos de desenvolvimento de esmalte, oclusão dentária, cronologia da erupção dentária, avaliação dos rodets gengivais, análise de alterações congênitas e presença de biofilme bacteriano) e avaliação antropométrica materna e da criança. As mães serão avaliadas clinicamente quanto ao perfil de saúde periodontal. Amostras de biofilme da saliva e da placa serão coletadas em todas as fases do estudo e analisadas pela técnica do checkerboard DNA-DNA hybridization. Para as variáveis quantitativas, será realizado teste de normalidade para assegurar a distribuição normal destas variáveis através de teste de Shapiro-Wilk. A associação entre estas variáveis e variáveis categóricas serão analisadas por testes t de Student ou teste t de Student para amostras pareadas, quando houver independência ou não das observações, respectivamente. Quando os grupos possuírem três ou mais categorias, serão avaliados por meio do teste de Anova ou Friedman. Associação entre variáveis categóricas serão analisadas por meio de teste de Qui-quadrado ou Teste Exato de Fischer. Nas amostras processadas por checkerboard DNA-DNA hybridization os sinais obtidos serão convertidos para contagens absolutas de acordo com os controles de 105 e 106 células. Esses dados serão expressos em contagens (níveis) das sondas de DNA. Os níveis (x 104) serão computados por indivíduo em cada tempo do estudo. As diferenças significativas ao longo do tempo serão determinadas pelo teste Friedman e entre os indivíduos, em cada tempo, pelo teste Kruskal-Wallis.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:** O objetivo desta pesquisa será avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de mães e crianças nascidas a termo. **Objetivo Secundário:** 1) Analisar o perfil microbiológico de pares de mães e crianças prematuras e em pares de mães e crianças nascidas a termo e sua associação com fatores gestacionais, neonatais e de internação hospitalar; 2) Avaliar a existência de interações sinérgicas entre o fungo Candida albicans e a bactéria Streptococcus mutans em amostras de saliva e biofilme de crianças prematuras e de nascidas a termo; 3) Avaliar a experiência de cárie em crianças

**Endereço:** Rua Atílio Bório, 680  
**Bairro:** Cristo Rei **CEP:** 80.050-250  
**UF:** PR **Município:** CURITIBA  
**Telefone:** (41)3360-4961 **E-mail:** etica@sms.curitiba.pr.gov.br

Página 02 de 07

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS 

Continuação do Parecer: 4.282.562

prematas e naquelas nascidas a termo; 4) Verificar a presença de defeitos de desenvolvimento de esmalte, incluindo a mineralização de molares e incisivos, em crianças prematuras e naquelas nascidas a termo; 5) Analisar a cronologia e sequência de erupção de dentes deciduos em crianças prematuras e nas nascidas a termo; 6) Verificar as características de oclusão dentária de crianças prematuras e naquelas nascidas a termo; 7) Avaliar a ansiedade odontológica de mães de crianças prematuras e nas mães de crianças nascidas a termo; 8) Avaliar o senso de coerência de mães de crianças prematuras e de mães de crianças nascidas a termo e a associação entre condições bucais e sistêmicas; 9) Avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal de crianças prematuras e naquelas nascidas a termo; 10) Avaliar os índices clínicos periodontais de mães de crianças prematuras e de mães de crianças nascidas a termo; 11) Avaliar a relação do perfil microbiológico das mães com a ocorrência de nascimentos prematuros e de baixo peso; 12) Avaliar o estado nutricional das crianças e de suas respectivas mães. - Avaliar as práticas alimentares de mães e crianças; 13) Avaliar os fatores associados ao estado nutricional, práticas alimentares e consumo alimentar das mães e crianças; 14) Avaliar os fatores associados ao conhecimento sobre alimentação complementar saudável por parte das mães.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos, conforme descritos: Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser constrangimento para responder as perguntas dos questionários, além de possível desconforto com os exames intra bucais e coleta do material microbiológico bucal. A fim de diminuir este risco os pesquisadores receberão treinamento para os exames e para a aplicação dos questionários. Além disso, o participante pode interromper ou mesmo não responder alguma pergunta dos questionários ou se recusar a fazer o exame, sem prejuízo algum. Benefícios, segundo descritos: Os benefícios diretos esperados com essa pesquisa serão a realização de orientações específicas sobre a prematuridade, solucionar dúvidas que se possa ter sobre os temas estudados e, sendo constatada alguma alteração bucal, o participante da pesquisa será encaminhado para tratamento odontológico na Universidade Federal do Paraná, que fica localizada na rua Lothário Meissner, 632- Prédio de Odontologia. Como benefícios indiretos, serão a aquisição de conhecimentos acerca da relação do parto prematuro e as doenças da boca, além de contribuir para o avanço da ciência, podendo desenvolver estratégias específicas para orientações sobre o parto prematuro.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Vide campo conclusões ou pendências.

**Endereço:** Rua Atílio Bório, 680  
**Bairro:** Cristo Rei **CEP:** 80.050-250  
**UF:** PR **Município:** CURITIBA  
**Telefone:** (41)3360-4961 **E-mail:** etica@sms.curitiba.pr.gov.br

Página 03 de 07

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS 

Continuação do Parecer: 4.282.562

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos obrigatórios foram apresentados, analisados e de acordo para desenvolvimento da pesquisa.

**Recomendações:**

Vide campo conclusões ou pendências.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Recomenda-se que os pesquisadores deverão ressaltar a forma de captação dos participantes da pesquisa com divulgação por meio de cartazes afixados nos locais onde será desenvolvido o trabalho. Salienta-se que nenhum dado pessoal será repassado aos pesquisadores participantes, bem como os pesquisadores não terão acesso ao prontuário eletrônico e-saúde, conforme previsto na Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais nº 13.709/2018. Os dados clínicos serão coletados pelos pesquisadores com os próprios participantes da pesquisa no momento das entrevistas. Considera-se o presente projeto aprovado, mediante assunção das orientações acima. Em cumprimento à Resolução CNS 466/12, este Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios parciais sobre o andamento do estudo, bem como o relatório completo ao final do estudo. Eventuais notificações, ou modificações que gerem emendas ao protocolo original, devem ser apresentadas tempestivamente, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Salienta-se a necessidade de entrar previamente em contato com as Unidades ou Equipes, de posse do Termo de Aprovação da Pesquisa, para agendar as atividades necessárias com as Chefias locais.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Colegiado do CEP/SMS-Curitiba ratifica o parecer da relatoria.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_termoSMS.docx	27/08/2020 11:59:46	VIVIANE MARIA SUTILE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_prematuraSMS.docx	27/08/2020 11:59:11	VIVIANE MARIA SUTILE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_termoSMS.docx	27/08/2020	VIVIANE MARIA SUTILE	Aceito

**Endereço:** Rua Atílio Bório, 680  
**Bairro:** Cristo Rei **CEP:** 80.050-250  
**UF:** PR **Município:** CURITIBA  
**Telefone:** (41)3360-4961 **E-mail:** etica@sms.curitiba.pr.gov.br

Página 04 de 07

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS				
Continuação do Parecer: 4.282.562				
Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_terminosSMS.docx	11:58:32	SUTILE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_prematuraSMS.docx	27/08/2020 11:57:52	VIVIANE MARIA SUTILE	Aceito
Outros	Requerimento.pdf	27/08/2020 11:57:01	VIVIANE MARIA SUTILE	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_UFPR.docx	10/08/2020 15:14:47	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final_corrigido.docx	10/08/2020 18:13:32	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	check_list_cep_ufpr.pdf	09/07/2020 16:28:31	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	Concordancia_de_Coparticipacao_UnG.pdf	09/07/2020 16:12:14	LUCIANA REICHERT	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento_do_pesquisador.pdf	03/07/2020 14:52:42	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final.docx	03/07/2020 14:48:10	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_pedodontia_UFPR.pdf	03/07/2020 14:28:37	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_terminos.docx	03/07/2020 10:26:02	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_terminos.docx	03/07/2020 10:25:41	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_odontopediatria_UFPR.pdf	02/07/2020 18:58:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_UnG.pdf	02/07/2020 18:57:06	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_PPG Q.pdf	02/07/2020 18:56:27	GISELE MARCHETTI	Aceito
Endereço: Rua Atílio Bório, 680 Bairro: Cristo Rei CEP: 80.050-250 UF: PR Município: CURITIBA E-mail: etica@sms.curitiba.pr.gov.br Telefone: (41)3360-4961				
Página 05 de 07				

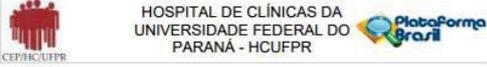
SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS				
Continuação do Parecer: 4.282.562				
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_nutricao.pdf	02/07/2020 18:55:57	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:55:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_acesso_aos_dados_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:54:48	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:53:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipacao_colombo.pdf	02/07/2020 18:52:55	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_para_manipulacao_dados_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:51:58	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_ao_dados_do_protocolario_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:51:26	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_ciencia_de_interesse_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:46:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_aos_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:45:11	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:44:52	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_regulacao_assistencial_hc.pdf	02/07/2020 18:44:19	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_chefe_pediatra_hc.pdf	02/07/2020 18:43:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_ufpr.pdf	02/07/2020 18:42:05	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipante_hc.pdf	02/07/2020 18:38:21	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	ata_ppgo.pdf	02/07/2020 18:40:56	GISELE MARCHETTI	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termo_guarda_material_biologico_cep_ufpr.pdf	02/07/2020 18:37:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	analise_merito.pdf	02/07/2020 18:36:34	GISELE MARCHETTI	Aceito
Endereço: Rua Atílio Bório, 680 Bairro: Cristo Rei CEP: 80.050-250 UF: PR Município: CURITIBA E-mail: etica@sms.curitiba.pr.gov.br Telefone: (41)3360-4961				
Página 06 de 07				

**Situação do Parecer:**  
Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**  
Não

SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DE CURITIBA - SMS	
Continuação do Parecer: 4.282.562	
CURITIBA, 17 de Setembro de 2020	
Assinado por: <b>antonio dercy silveira filho</b> (Coordenador(a))	
Endereço: Rua Atílio Bório, 680 Bairro: Cristo Rei CEP: 80.050-250 UF: PR Município: CURITIBA E-mail: etica@sms.curitiba.pr.gov.br Telefone: (41)3360-4961	
Página 07 de 07	

# ANEXO 4 - PARECER DA APROVAÇÃO DA PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ



**HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HCUFPR**

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

Elaborado pela Instituição Coparticipante

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras.

**Pesquisador:** LUCIANA REICHERT ASSUNÇÃO ZANON

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 34787320.4.3001.0096

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 4.320.926

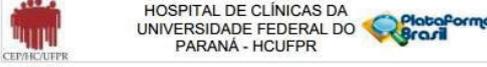
**Apresentação do Projeto:**  
Pesquisa do binômio mãe filho, para avaliar diferenças entre condições bucais, nutricionais e sistêmicas quando a criança é prematura e quando ela é de termo.

**Objetivo da Pesquisa:**  
O objetivo desta pesquisa será avaliar condições bucais, sistêmicas, nutricionais e fatores associados em pares de mães e crianças prematuras comparando-se a um grupo controle de pares de mães e crianças nascidas a termo. Serão selecionados na linha de base (baseline) pares de mães e crianças, sendo 120 pares de mães e crianças nascidas com parto prematuro e 120 pares de mães e crianças nascidas a termo. As crianças avaliadas no primeiro mês de vida e aos 6, 12, 18, 24, 36, 48 e 60 meses de idade.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**  
Riscos:  
Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser constrangimento para responder as perguntas dos questionários, além de possível desconforto com os exames intrabucais e coleta do material microbiológico bucal. A fim de diminuir este risco os pesquisadores receberão treinamento para os exames e para a aplicação dos questionários. Além disso, o participante pode interromper ou mesmo não responder alguma pergunta dos questionários ou se recusar a fazer o exame, sem

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181  
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br

Página 01 de 05



**HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HCUFPR**

Continuação do Parecer: 4.320.926

prejuízo algum.

**Benefícios:**  
Os benefícios diretos esperados com essa pesquisa serão a realização de orientações de saúde bucal envolvidas com a prematuridade, solucionar dúvidas que os participantes possam ter e sendo constatado alguma alteração bucal, o participante será encaminhado para tratamento odontológico na Universidade Federal do Paraná, que fica localizada na rua Luthário Meissner, 632- Prédio de Odontologia, conforme declarações de supervisão de atendimento enviadas. Como benefícios indiretos serão a aquisição de conhecimentos acerca da relação do parto prematuro e as doenças da boca, além de contribuir para o avanço da ciência, podendo desenvolver estratégias.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**  
Trata-se de um estudo prospectivo comparando grupos distintos de binômio mãe/filho no que toca a idade gestacional do neonato. Tem objetivos e metodologia bem definidos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**  
Adequados

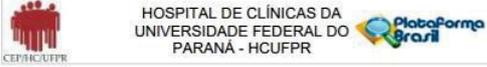
**Recomendações:**  
É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica, o mesmo deve estar em formatação adequada e com as caixas de rubricas no rodapé das páginas que não contenham assinatura. Após, fazer cópia fiel do TCLE aprovado e rubricado em duas vias: uma ficará com o pesquisador e outra com o participante da pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**  
pendências atendidas, projeto aprovado

**Considerações Finais a critério do CEP:**  
Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto, conforme proposto, para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Os documentos da pesquisa devem ser mantidos arquivados. É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos por meio de relatórios semestrais dos

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181  
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br

Página 02 de 05



**HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HCUFPR**

Continuação do Parecer: 4.320.926

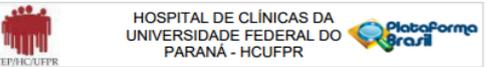
pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_P PROJETO_1614787.pdf	01/09/2020 10:57:19	LUCIANA REICHERT	Aceito
Outros	modelo_declaracao_ausencia_custos_C HC_UFPR.pdf	10/06/2020 10:56:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_UFPR.docx	10/08/2020 15:14:47	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final_corrigido.docx	10/08/2020 15:13:32	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	check_list_cep_ufpr.pdf	09/07/2020 16:28:31	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	Concordancia_de_Coparticipacao_UHG.pdf	09/07/2020 16:12:14	LUCIANA REICHERT	Aceito
Outros	carta_de_encaminhamento_do_pesquisador.pdf	03/07/2020 14:52:42	GISELE MARCHETTI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_final.docx	03/07/2020 14:48:10	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_pedagogia_UFPR.pdf	03/07/2020 14:28:37	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_termo.docx	03/07/2020 10:26:02	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_mae_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_termo.docx	03/07/2020 10:25:41	GISELE MARCHETTI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_crianca_prematura.docx	03/07/2020 10:25:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_supervisao_atendimento_	02/07/2020	GISELE	Aceito

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181  
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br

Página 03 de 05



**HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HCUFPR**

Continuação do Parecer: 4.320.926

Outros	odontopediatria_UFPR.pdf	18.58.22	GISELE	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_UHG.pdf	02/07/2020 18:57:06	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_PPG_U.pdf	02/07/2020 18:56:27	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_nutricao.pdf	02/07/2020 18:55:57	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:55:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_acesso_aos_dados_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:54:48	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_ubs_colombo.pdf	02/07/2020 18:53:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipacao_colombo.pdf	02/07/2020 18:52:85	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_para_manipulacao_de_dados_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:51:58	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_aos_dados_do_protocolario_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:51:25	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	declaracao_ciencia_de_interesse_ubs_mae_curitibana.pdf	02/07/2020 18:46:29	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	solicitacao_de_acesso_aos_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:45:11	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	autorizacao_manipulacao_dados_hc.pdf	02/07/2020 18:44:52	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_regulacao_assistencial_hc.pdf	02/07/2020 18:44:19	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_chefia_pediatra_hc.pdf	02/07/2020 18:43:22	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	concordancia_servicos_envolvidos_ubs_hc.pdf	02/07/2020 18:42:05	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	coparticipante_hc.pdf	02/07/2020 18:40:56	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	ata_ppgo.pdf	02/07/2020 18:38:21	GISELE MARCHETTI	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biopositório / Biobanco	termo_guards_material_biológico_cep_ufpr.pdf	02/07/2020 18:37:51	GISELE MARCHETTI	Aceito
Outros	analise_merito.pdf	02/07/2020 18:36:34	GISELE MARCHETTI	Aceito

**Situação do Parecer:**  
Aprovado

Endereço: Rua Gal. Carneiro, 181  
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-900  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-1041 Fax: (41)3360-1041 E-mail: cep@hc.ufpr.br

Página 04 de 05



## ANEXO 5 - CRITÉRIOS ABEP

	Quantidade				
	0	1	2	3	4 ou +
Banheiros	0	3	7	10	14
Empregados domésticos	0	3	7	10	13
Automóveis	0	3	5	8	11
Microcomputador	0	3	6	8	11
Lava louca	0	3	6	6	6
Geladeira	0	2	3	5	5
Freezer	0	2	4	6	6
Lava roupa	0	2	4	6	6
DVD	0	1	3	4	6
Micro-ondas	0	2	4	4	4
Motocicleta	0	1	3	3	3
Secadora roupa	0	2	2	2	2

Grau de instrução do chefe da família	
Analfabeto / Fundamental I incompleto	0
Fundamental I completo / Fundamental II incompleto	1
Fundamental II completo / Médio incompleto	2
Médio completo / Superior incompleto	4
Superior completo	7
Serviços públicos	
	Não Sim
Água encanada	0 4
Rua pavimentada	0 2

Classe	Pontos
1 - A	45 - 100
2 - B1	38 - 44
3 - B2	29 - 37
4 - C1	23 - 28
5 - C2	17 - 22
6 - DE	0 - 16