



**CESPU**

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

# Efeito protetor dos probióticos do leite materno na saúde oral infantil

Sophian Samy Ferradj

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

Gandra, 06 de junho de 2022



**CESPU**

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Sophian Samy Ferradj

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

**Efeito protetor dos probióticos do leite materno na saúde oral infantil**

Trabalho realizado sob a Orientação de Prof. Doutora Ana Paula Vilela Lobo

## Declaração de Integridade

Eu, Sophian Samy Ferradj acima identificada, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrém, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.



## Comunicações Científicas em Congressos na forma de poster



 EVENTOS CIENTÍFICOS IUCS

JORNADAS CIENTÍFICAS AEIUCS

XXX JORNADAS CIENTÍFICAS DE CIÊNCIAS DENTÁRIAS

# DIPLOMA

O Presidente das XXX Jornadas Científicas de Ciências Dentárias certifica que:

Ferradj S ; Sousa J ; Jorge M ; Rajão A ; Lobo AP

apresentaram um trabalho científico sob a forma de E-poster intitulado, **“Probióticos : Efeitos protectores do leite materno sobre a saúde oral”** no âmbito das XXX Jornadas subordinadas ao tema “Workflow digital nas distintas frentes de ação da Medicina Dentária”, que decorreram no dia 08 de abril de 2022, no Centro de Congressos da Alfândega do Porto.

  
PROF. DOUTOR JOAQUIM MOREIRA  
PRESIDENTE DAS XXX JORNADAS CIENTÍFICAS DE CIÊNCIAS DENTÁRIAS

 **CESPU**  
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

 **AEIUCS**  
ASSOCIAÇÃO DE ESPECIALISTAS  
INSTITUTO UNIVERSITÁRIO  
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

 **NMD AEIUCS**  
NÚCLEO MEDICINA DENTÁRIA AEIUCS



## Agradecimentos

À minha orientadora, a Professora Doutora Ana Paula Lobo, e ao Mestre António Miguel Sousa Rajão, obrigada pela grande disponibilidade e muitos conselhos durante a redação de minha dissertação.

Obrigada mãe por me ajudar e apoiar sempre, mesmo em tempos difíceis, e às minhas tias agradeço a vossa ajuda.

Graças ao meu pai, embora não esteja presente, sei que és a minha estrela e que estás a olhar por mim a partir daí, és a minha estrela. Descansa em paz.

Graças ao meu padrinho pelos seus conselhos e pelo papel que desempenhou na ausência do meu pai

Obrigado aos meus amigos de Portugal por estes 5 maravilhosos anos (Abd, Elias, Matthieu, Moha, Vivien, Zak, Giv, Gwen, Romy) e aos outros.

Aos meus amigos em França que sempre me apoiaram e aconselharam, apesar das dificuldades. Não vou mencionar nenhum deles por medo de esquecer alguém.

Ana e Manu pela sua hospitalidade e gentileza.

Quero agradecer à Cespu e todos os professores do IUCS para toda a ajuda na concretização deste sonho.





## Resumo

**Introdução:** A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o aleitamento materno exclusivo nos primeiros seis meses de vida da criança. No leite materno encontramos probióticos, que estão definidos pela OMS como: “microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades suficientes, têm efeitos positivos na saúde além dos efeitos nutricionais tradicionais”

**Objetivo:** Determinar o efeito protetor dos próbióticos do leite materno na saúde oral infantil .

**Material e Métodos:** pesquisa eletrónica na base de dados científicos PubMed entre 2012 e 2022 com as palavras chaves : “Probiotics”, “oral health”, “oral diseases”, “oral microbiota ; « breast milk ».

**Resultados:** Vários estudos avaliaram os efeitos dos probióticos sobre a sua capacidade para reduzir o número de Streptococcus mutans na saliva, o principal responsável pela inicio da doença cárie. O número de Lactobacillus mostra a colonização de alguns probióticos durante e após a amamentação.

**Discussão:** Os probióticos podem competir por nutrientes e recetores nas superfícies celulares com microrganismos patogénicos, impedindo a sua adesão e colonização nas superfícies das mucosas orais do paciente odontopediátrico

**Conclusão:** O leite materno tem vários elementos na sua composição que são vitais para o desenvolvimento do bebé, tais como os probióticos. Os probióticos do leite materno pertencem principalmente às famílias Lactobacillus e Bifidobacterium. Estes são importantes para a saúde oral infantil, podem prevenir a cárie dentária na primeira infância, prevenindo a desmineralização do esmalte e, ao mesmo tempo, promovendo a remineralização, é um caminho promissor que também contribui para a prevenção de doenças periodontais. Representam uma nova área de investigação criando uma estreita relação entre alimentação e saúde oral.



**Abstract:**

**Introduction:** The World Health Organization (WHO) recommends exclusive breastfeeding for the first six months of a child's life. In milk we find probiotics, which are defined by the WHO as: "living microorganisms which, when ingested in sufficient quantities, have positive effects on health in addition to traditional nutritional effects".

**Objective :** To determine the protective effects of breast milk on children's oral health by the presence of probiotics.

**Material and Methods :** An electronic search in the PubMed scientific database between 2012 and 2022 with the key words : "Probiotics", "oral health", "oral diseases", "oral microbiota ; " breast milk ".

**Results :** Several studies have evaluated the effects of probiotics on their ability to reduce the number of *Streptococcus mutans* in saliva, the main responsible for the initiation of caries disease. The number of *Lactobacillus* shows the colonization of some probiotics during and after breastfeeding.

**Discussion :** Probiotics can compete for nutrients and receptors on cell surfaces with pathogenic microorganisms, preventing their adhesion and colonization on the oral mucosal surfaces of the odontopediatric patient

**Conclusions:** Breast milk has several elements in its composition that are vital for the baby's development, such as probiotics. The probiotics in breast milk belong mainly to the *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* families. These are important for infant oral health, they can prevent dental caries in early childhood by preventing enamel demineralisation and at the same time promoting remineralisation, it is a promising avenue that also contributes to the prevention of periodontal diseases. They represent a new area of research creating a close relationship between diet and oral health.





## Índice geral

1. Introdução .....	4
2. Objetivos e hipótese.....	5
3. Materiais e Metodologia .....	6
PROTOCOLO E REGISTRO .....	6
CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE .....	6
FONTES DE INFORMAÇÃO E ESTRATÉGIA DE PESQUISA.....	7
Seleção dos estudos .....	8
Processo de coleta de dados e Lista de dados.....	8
5. RESULTADOS .....	9
Seleção de estudos .....	9
Características dos estudos.....	15
6. Discussão.....	18
A) Leite Materno .....	18
1) Composição.....	18
2) Variação na composição do leite materno.....	22
B) Caracterização dos probióticos .....	24
1) Definição .....	24
2) Mecanismo de ação.....	24
C) Benefícios dos probióticos sobre a saúde oral.....	29
1) Probióticos e cárie dentária.....	29
2) Probióticos e a saúde gengival .....	32
7. LIMITAÇÃO.....	34
8. CONCLUSÃO : .....	35
9. Bibliografia.....	36



## Índice de Tabela

Tabela 1-Estratégia PICOS .....	6
Tabela 2- Critérios de inclusão e de exclusão .....	7
Tabela 3-Seleção dos estudos .....	8
Tabela 4- Resultados .....	11





## Índice de figura

Figura 1- Fluxograma Prisma .....	10
-----------------------------------	----



## Índice de acrónimos e abreviaturas

Lb: Lactobacillus

SM : Streptococcus mutans

S.: Streptococcus

RCT: Randomized Controlled Trial

OMS: Organização Mundial de Saúde

ICDAS: International Caries Detection and Assessment System

PI : Índice de placa



## 1. Introdução

A Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu o aleitamento materno, como o meio de fornecer nutrição para o crescimento e desenvolvimento ideais para a saúde do bebê. A OMS recomenda que as mães, a nível global, amamentem exclusivamente os bebês durante os primeiros seis meses de vida com vista a conseguirem um crescimento, desenvolvimento e saúde ideais. Por conseguinte, devem receber alimentação complementar adequada e continuar a amamentar até aos dois anos de idade ou mais.(1) .

O leite materno é um fluido biológico que inclui milhares de milhões de constituintes. Contém muitos constituintes, tais como nutrientes e fatores bioativos necessários ao desenvolvimento da criança. O leite materno é também, um fluido dinâmico que muda com o tempo, e por isso a sua composição varia com a fase de lactação. A literatura atual tem conduzido numerosos estudos sobre a composição do leite, que ainda precisam de ser mais investigados. No entanto, o conhecimento da composição do leite materno está a progredir, o que permite uma melhor compreensão do papel do leite materno na saúde e desenvolvimento da criança (2).

A composição do leite materno, como a de todos os mamíferos, é específica da espécie e adaptada às necessidades particulares do pequeno ser humano.

Contém macronutrientes (proteínas, lípidos e hidratos de carbono), micronutrientes (minerais e vitaminas) e muitos fatores biologicamente ativos (probióticos). Juntos, garantem a ingestão de nutrientes para o recém-nascido, mas também anti-inflamatório,, antioxidante, imunomodulador, mecanismo de tráfego e proteção da mucosa intestinal. O conhecimento atual destaca como ligações de interdependência entre os componentes do leite materno, uma proteção contra patógenos (3).

Nesta revisão sistemática, veremos que estes nutrientes estão relacionados com luta contra os agentes patogénicos, e mais especificamente os da cavidade oral das crianças.

Atualmente, as vantagens das bactérias presentes no leite materno permitem o isolamento de estirpes probióticas em certos estudos (5). As bactérias probióticas são definidas pela OMS como "microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades suficientes, têm efeitos positivos na saúde, aliados aos efeitos nutricionais tradicionais" (5).

Contudo, o isolamento de potenciais probióticos tem sido limitado às espécies *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* devido à sua eficácia e segurança (6).

Esta revisão sistemática fornece uma visão geral do leite materno, da sua composição nutricional, da sua composição de fatores bioativos e da importância dos probióticos existentes no leite materno na saúde oral das crianças.

## 2. Objetivos e hipótese

O objetivo geral desta revisão sistemática é avaliar os probióticos existentes no leite materno e demonstrar os benefícios destes na saúde oral da criança. Desta forma, definiram-se os seguintes objetivos específicos:

1. Estudar a composição do leite materno.
2. Avaliar a presença dos probióticos no leite materno.
3. Avaliar os mecanismos de ação dos probióticos em agentes patogénicos tais como os *streptococcus mutans*, o risco de cárie na criança assim como a prevenção de doenças orais.
4. Avaliar o efeito prologados dos probiotico.

Hipótese nula: Os probióticos existentes no leite materno não demonstram benefícios na saúde oral infantil.

Hipótese positiva: Os probióticos existentes no leite materno demonstram benefícios na saúde oral infantil.

### 3. Materiais e Metodologia

#### PROTOCOLO E REGISTRO

→ O protocolo de revisão utilizado foi descrito nas recomendações PRISMA (PRISMA statement) fluxograma PRISMA consultados em 12/02/2022

#### CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Estruturou-se a questão de investigação de acordo com a estratégia PICOS, estabelecendo-se, assim, os critérios primários de inclusão dos estudos. Foi definido um período de 10 anos de inclusão dos estudos (2012-2022) e limitado ao idioma inglês.

*Tabela 1-Estratégia PICOS*

<b>P = População (Population)</b>	População pediátrica com idades de 0 e 12 anos
<b>I = Intervenção (Intervention)</b>	Uso dos probióticos existentes no leite materno na área da saúde oral
<b>C = Comparação (Comparison)</b>	Comparação dos estados da saúde oral antes e após uso de probióticos do leite materno
<b>O = Resultados (Outcomes)</b>	Benefícios na saúde oral dos pacientes pediátricos que usam probióticos do leite materno
<b>S = Desenho dos estudos (Study design)</b>	Estudos clínicos randomizados

Diante disso, definiu-se a seguinte questão de investigação: *Os probióticos do leite materno protegem a saúde oral das crianças?*

*Tabela 2- Critérios de inclusão e de exclusão*

<b>Critérios de Inclusão</b>	<b>Critérios de Exclusão</b>
Artigos publicados em inglês.	Artigos de outro idioma que não inglês.
Estudo realizados em paciente dos 0-12 anos	Pacientes com idade superior a 12 anos
Artigos publicados entre 2012 e 2022.	Artigos publicados antes de 2012
Estudos prospetivos, retrospectivos, caso-controlado, ensaios clínicos randomizados (RCT), estudos de coorte.	Artigos que são revisões sistemáticas e artigos de análise secundária.
Resultados de estudo que comparam o efeito dos probióticos na saúde oral.	Estudo dos resultados que comparam o efeito dos probióticos na saúde geral.
Os artigos são selecionados apenas se as estirpes probióticas nos estudos estiverem presentes no leite materno.	Os artigos são não selecionados se as estirpes probióticas nos estudos estiverem não são presentes no leite materno

## **FONTES DE INFORMAÇÃO E ESTRATÉGIA DE PESQUISA**

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed. Foram analisados artigos publicados em idioma inglês entre 2012 e 2022. As estratégias de pesquisa estão descritas na Tabela 3.

### **Estratégia de pesquisa :**

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Ambos no modo de pesquisa avançada com as palavras-chave:

“Breast Milk”, “Probiotics”, “beneficial”, “oral health”, “oral microbiota”

Utilizando a pesquisa avançada, as estratégias de pesquisa detalhadas foram as seguintes:

# 1: ((Probiotics OR bacterium OR microflora OR flora) AND (oral microbiota OR oral bacteria OR oral microorganism) AND (Oral health OR oral care OR dental care OR buccal health OR dental hygiene OR dentistry OR dentition) AND (Breast milk OR human milk OR milk)



*Tabela 3-Seleção dos estudos*

Base de dados	Palavras- chave	Artigos encontrados sem aplicação de filtro	Artigos encontrados após aplicação de filtros	Artigos selecionados
PubMed	((Probiotics OR bacterium OR microflora OR flora) AND (oral microbiota OR oral bacteria OR oral microorganism) AND (Oral health OR oral care OR dental care OR buccal health OR dental hygiene OR dentistry OR dentition) AND (Breast milk OR human milk OR milk))	501	28	8

**Etapa I** - Foi realizada uma pesquisa avançada utilizando diferentes combinações das palavras-chave nas bases de dados PubMed, nas quais se procuraram artigos de 2012 a 2022. Foi realizada uma avaliação preliminar dos títulos e resumos de forma a determinar os artigos que não se enquadravam no objetivo do estudo. Desta forma os artigos que não cumpriam critérios de inclusão, foram automaticamente excluídos.

**Etapa II** – Os estudos potencialmente elegíveis, que respeitam os critérios de inclusão, foram lidos na íntegra e avaliados quanto à sua elegibilidade.

**Etapa III** - A avaliação completa dos artigos foi concluída. De seguida, foi elaborada uma tabela com os dados extraídos.

#### **Processo de coleta de dados e Lista de dados**

Foram utilizadas tabelas para a coleta e seleção de dados. Na primeira tabela (Tabela 1) estão representados os artigos duplicados e excluídos tendo em conta o título e resumo. Na segunda tabela (Tabela 2), os artigos foram agrupados de acordo com o título, base de dados, seleção através do título e resumo, inclusão ou exclusão após leitura na íntegra, ano, autores e tipo de estudo. Uma terceira tabela (Tabela 3) foi desenvolvida para avaliar qualitativamente os artigos incluídos para a nossa análise.

## 5. RESULTADOS

### Seleção de estudos

#### **Etapa I** - Resultados da base de dados

A pesquisa bibliográfica identificou um total de 501 artigos. Após aplicação de filtros ficamos com 40 artigos.

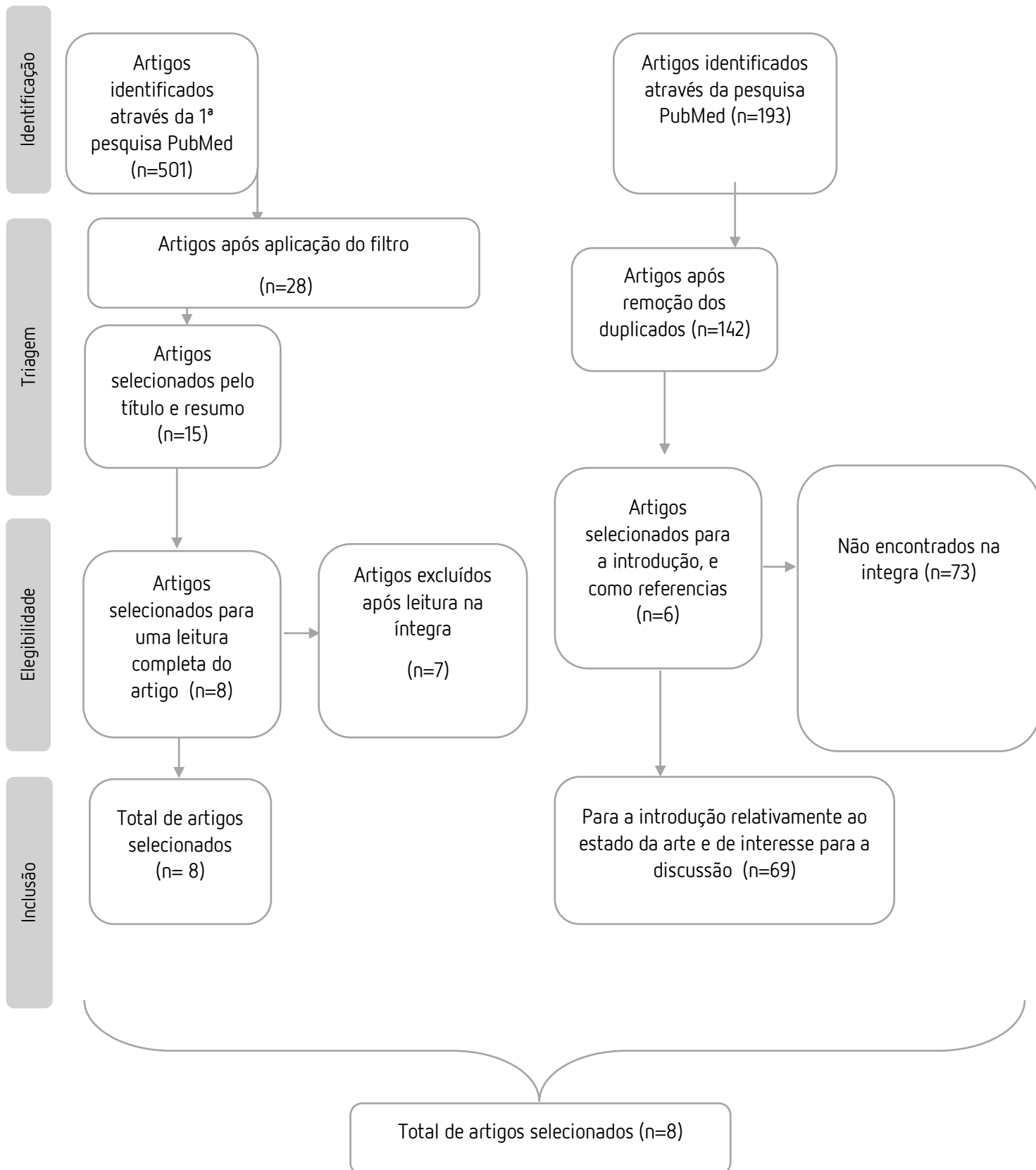
#### **Etapa II** – Artigos Revistos

Os 40 artigos foram lidos na íntegra e avaliados individualmente quanto à elegibilidade, dos quais 32 foram excluídos por não proporcionarem informação relevante, tendo em conta o objetivo deste trabalho.

#### **Etapa III** - Artigos para inclusão

Finalmente, 8 artigos foram incluídos na presente revisão sistemática. Todo o processo de seleção de artigos está reproduzido no fluxograma

Figura 1- Fluxograma Prisma



Para ajudar à redação da introdução e discussão foram utilizados artigos de pesquisa manual.

Tabela 4- Resultados

AUTORES ANOS DE PUBLICAÇÃO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVOS	AMOSTRA	VEICULO PROBIOTICOS	DURAÇÃO DE INGESTAO	TIPO DE PROBIOTICOS	RESULTADOS
(47) Sandoval F <i>et al</i> (2019)	RTC	Comparar se o leite suplementado com probióticos tem efeito na saúde bucal versus placebo	2-3 anos N=42	Leite	10 mês	<i>Lactobacillus rhamnosus SP1</i>	→ Redução do carie no crianças que usa o leite probioticos depois 10 mes
(48) Manmontri <i>et al</i> ( 2020)	RTC	Verificar os efeitos dos probióticos, <i>Lactobacillus paracasei SD1</i> , sobre as quantidades de <i>Streptococcus mutans</i> em amostras de saliva e placa de crianças pré-escolares	1-5 anos N=268	Leite	6 meses Follow-up de 6 meses	<i>Lactobacillus paracasei SD1</i>	→A administração de probióticos diariamente ou trimestralmente reduz as quantidades de S. mutans, enquanto aumenta as quantidades totais de lactobacilos que persistem por pelo menos 6 meses após a interrupção nas amostras de saliva e placa de crianças pré-escolares.

(49) Piwat S <i>et al</i> (2020)	RTC	Verificar a eficácia do consumo diário ou trimestral de leite vs placebo	1-5 anos n=487	Leite	6 meses Follow up a 6 meses e 12 meses	<i>Lactobacillus paracasei</i> SD1	Aumentos significativos na regressão de cárie nos grupos probióticos diários e trimestrais (inter e intra-grupo) vs placebo
(50) Pahumunto N <i>et al</i> (2018)	RTC	Examinar um efeito redutor de <i>Lactobacillus paracasei</i> SD1 em SM e cárie em crianças pré-escolares.	1,5- 5 anos n=180	Leite	6 meses	<i>Lactobacillus paracasei</i> SD1	→ redução do número do streptococcus mutans
(51) Villavicencio J <i>et al</i> (2018)	RTC	Este trabalho teve como objetivo avaliar o leite suplementado com bactérias probióticas e leite padrão, mensurado pelos níveis de <i>Streptococcus mutans</i> (S. mutans) e <i>Lactobacillus</i> spp.	3-4 anos n=363	Leite	9 meses	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Bifidobacterium longum</i>	→ Redução do ácido salivar de crianças pré-escolares → melhorou a capacidade tampão da saliva de forma consistente → redução SM

(56) Rodríguez G <i>et al</i> (2016)	RTC	Comparar leite suplementado com lactobacilos probióticos com leite padrão para aumentar a cárie em crianças pré-escolares	2-3 anos N=261	Leite	10 meses	<i>L. rhamnosus SP1</i>	→ O leite suplementado com lactobacilos probioticos reduz o incremento de cárie em crianças pré-escolares.
--------------------------------------	-----	---	-------------------	-------	----------	-------------------------	--

(52) Janiani P <i>et al</i> (2020)	RTC	Determinar os efeitos de uma ingestão de curto prazo de leite probiótico e em pó sobre os níveis salivares de <i>Streptococcus mutans</i> ( <i>S. mutans</i> )	3-6 anos n=34	Leite	7 dias	<i>Lactobacillus casei</i>	→ Redução do <i>streptococcus mutans</i> → Cariostático
(53) Yadav M <i>et al</i> (2014)	RTC	Investigar o efeito do probiótico <i>Lactobacillus casei</i> sobre os valores das contagens de <i>streptococcus mutans</i> na saliva.	6-8 anos n=31	Leite	30 dias	<i>Lactobacillus casei</i>	→ Redução do <i>streptococcus mutans</i>

## Características dos estudos

### Métodos

Os seis estudos selecionados foram classificados como ensaios clínicos randomizados. Destes dois estudos simples-cegos com placebo (47,50). Dois estudos são duplo-cegos (49,48,) Dois estudos triplo-cegos (56; 51) com follow-up.

Três estudos duraram 6 meses (48;49;50) dos quais dois foram acompanhados durante 6 meses (48); e outro teve o seguimento desde 6 meses e 12 meses (49). Uns estudos foram realizados ao longo de 10 meses (47). Um estudo durou 9 meses (51). Um estudo durou 7 dias. (52). Um estudo durou 30 dias (53)

Neste trabalho, decidimos recolher uma amostra de crianças de 0-12 anos, para avaliar os efeitos a longo prazo dos probióticos na cavidade oral, bem como o seguimento e a forma como os probióticos funcionam após a interrupção da ingestão de leite materno após os 2 anos

### Participantes

Os estudos selecionados foram realizados em crianças, com idades compreendidas entre 0-12 anos;

As crianças tomaram probióticos por via oral, a maioria desses probióticos foram incorporados no leite (47,48,50,51,56)

### Intervenção

Os estudos avaliaram diferentes tipos de estirpes de probióticos, nomeadamente:  
3 estudos usaram *Lactobacillus rhamnosus* (47,51,56). 3 estudos usaram *Lactobacillus paracasei SD1*(48,49,50). Um estudo usou bifidobacterium : *Bifidobacterium longum* (51). 2 estudos usaram *Lactobacillus casei* (52,53)



As estirpes aqui utilizadas são adicionadas em leite com probióticos de forma mais precisa. Mas é importante notar que a maioria destas estirpes probióticas são extraídas do leite materno e foram isoladas em diferentes estudos, como é o caso de Di Zhang *et al.* (2018) (7) que permitiram isolar nas crianças a presença de *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus paracasei* SD1, *Lactobacillus rhamnosus* em crianças que foram alimentadas apenas com leite materno.

Outros estudos permitiram isolar diretamente a presença de estirpes probióticas no leite materno, tais como *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus casei*. Jara *et al.* (2011) descobriram que a microbiota de 48 amostras de leite materno de mulheres mexicanas era composta por *L. acidophilus* (52%), *L. plantarum* (7%), *L. paracasei* (30%), *L. salivarius* (7%) e *L. curvatus* (4%). As espécies *Lactobacillus* presentes no leite materno variam de acordo com o país e hábitos alimentares, enquanto o ambiente afeta as populações da microbiota mamária. (8,9)

Soto *et al.* (2014) encontraram provas no leite materno da presença dos probióticos *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus rhamnosus*.(10)

Podemos observar que no estudo de Manmontri C *et al.* (2018), há aumento dos níveis salivares de *Lactobacillus* entre o grupo probiótico e grupo placebo (48). A maioria dos probióticos são da grande família dos *Lactobacillus*, então, podemos sugerir que esse aumento se deve à escolha do grupo probióticos comparando com placebo.

De acordo com Yadav *et al.* (2014) no seu estudo duplo-cego com placebo permitiu que 31 crianças tomassem leite probiótico ou um controle durante 10 dias. No final do tratamento, a saliva coletada foi analisada e foi observada redução estatisticamente significativa no número de estreptococos mutans na amostra que tomou probióticos. A redução em crianças com níveis mais elevados de streptococcus mutans após a intervenção foi de 34% no grupo probiótico. Podemos assim sugerir que o consumo diário de leite contendo bactérias probióticas pode reduzir os níveis de streptococcus mutans e pode contribuir para a prevenção da cárie dentária.(53)

Estudos que analisaram fatores da cárie dentária, mostraram uma redução significativa do risco de cárie. Dois estudos mostraram uma redução significativa do risco

cárie comparando os resultados do grupo probiótico com os do grupo placebo (52,56). Três estudos mostraram uma redução significativa do risco cárie no seio do grupo probiótico em comparação com o grupo placebo (47, 52,49). Um outro estudo revelou uma redução do risco de cárie comparando o grupo probiótico com o grupo placebo, e um aumento da reversão da cárie ativa para inativa (50).

Podemos notar também que os probióticos, não apenas, combatem diretamente os patógenos, mas também alteram o ambiente oral, atuando na capacidade tampão, aumentando-a no grupo dos probióticos ao contrário do grupo placebo. (51)

Os probióticos, também, podem lutar contra outros microrganismos responsáveis pela cárie dentária. *L. casei* diminuiu a densidade de *Agreggatibacter actinomycetemcomitans*, além de ser capaz de manter a baixa densidade de *Porphyromonas gingivalis* após o tratamento (46)

O leite probiótico também mostrou a sua eficácia em comparação com um produto de higiene oral, como colutório oral com flúor, também pode reduzir o número de *Streptococcus mutans* salivar quanto à placa bacteriana (52,54,55,57).

O Follow-up de Manmontri *et al.* (2020), podemos notar que o efeito do probiótico lactobacillus Paracasei SD1, em crianças de 1 a 5 anos durante 6 meses, permitiu a redução da SM no grupo que utilizou o probiótico em relação ao grupo placebo. Há também no grupo probiótico um aumento de lactobacilos na placa dentária e na saliva. Podemos assim sugerir que existe uma correlação positiva entre os níveis de SM e Lactobacillus na placa dentária e na saliva.(48)

O estudo follow-up de Piwat *et al.* (2020), mostra-nos que após um período de follow-up de 6 meses depois de 12 meses (T6 e 12); que os grupos de probióticos que foram utilizados diariamente foram os mais eficazes e que os que foram ingeridos a cada 3 semanas foram os mais eficazes na redução da SM e diminuição da progressão da cárie dentária. Em T0, o grupo placebo teve a cárie menos ativa, em média, em comparação com os dois grupos probióticos. Contudo, houve um grande aumento de T12 no grupo placebo em comparação com os grupos probióticos.(49)

## 6. Discussão

### A) Leite Materno

#### 1) Composição

A composição do leite materno varia durante a lactação.

O **colostro** é o primeiro fluido biológico produzido no fim da gravidez e durante os primeiros 3 a 5 dias de lactação. Mais viscoso, mas menos rico em lipídios e lactose que o leite maduro, tem menor valor calórico, no entanto, mais rico em proteínas, vitamina A, vitamina B-12 e vitamina K. O **leite de transição** é produzido nos 15 dias seguintes. A sua composição evolui para a do leite maduro com aumento gradual do teor de lipídios e lactose e diminuição do teor de proteína. Esta fase corresponde a um período de grande produção de leite, para suportar as necessidades nutricionais. O **leite maduro** é produzido aproximadamente três semanas a um mês após o início da amamentação. É um líquido com uma composição variável ao longo do tempo e das diferentes fases de lactação, é composto em grande parte por água, numa proporção de cerca de 88%. (3)

#### a- Macronutrientes

##### i) Proteínas

Existem cerca de 400 proteínas diferentes encontradas no leite materno. Podemos separar as proteínas do leite materno em vários grupos, por um lado as proteínas solúveis presentes no soro do leite e, por outro, as proteínas insolúveis que se formam na forma de micelas de caseína. Existem 3 tipos de caseínas  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\kappa$ -caseína. As proteínas mais abundantes são caseína,  $\alpha$ -lactalbumina, lactoferrina, IgA secretora (sIgA), lisozima e albumina sérica. (11)

O conteúdo proteico do leite é de cerca de 0,8 a 1,2 g/dl, e representa cerca de 75% das substâncias nitrogenadas. As proteínas do leite podem ser separadas em duas famílias principais Proteínas solúveis e insolúveis (11)

Lactoferina: tem um papel anti-inflamatório e antiviral, lisozima: aumenta a produção de IgA e ativa macrófagos.

Imunoglobulina A: segregada no leite, fornece proteção contra agentes patogénicos ambientais para o casal mãe-infante no espaço de poucos dias.

Mas também proteínas insolúveis na água, como as caseínas, que também têm um efeito benéfico na saúde do bebé, como a caseína K, que tem uma acção anti adesiva de *H. pylori* à mucosa gástrica e de *S. pneumoniae* e *H. influenza* à mucosa respiratória. Aqui vemos todos os compostos proteicos que têm um efeito benéfico na saúde infantil

## ii) Compostos de nitrogénio não proteico

Os resultados de acordo com as diferentes literaturas mostram-nos que os compostos azotados não proteicos representam entre 20-25% da composição do leite materno. Compostos de nitrogénio não proteicos incluem uréia, ácido úrico, creatina, creatinina, aminoácidos e nucleótidos (12).

Dois tipos de compostos de nitrogénio não proteico são de real interesse para a saúde da criança:

-Creatina: É o componente essencial para o desenvolvimento neuronal da criança. (13) O cérebro é o primeiro órgão atingido em caso de deficiência de creatina (14)

-Nucleótidos: desempenham papéis diferentes na proteção do desenvolvimento do bebé, tal como a proteção das funções humanitárias (15) ou na morfologia das funções hepáticas ou intestinais (16)

### iii) Lipidos

A literatura científica é vaga quanto às percentagens exatas de lipídios presentes no leite materno. Contudo, estima-se que os triglicéridos representem cerca de 98-99%, os fosfolipídios (0,8%) e o Colesterol (0,5%). Os lipídios são a maior fonte de energia do leite materno, contribuindo com 40% a 55% da energia total do leite materno. O colesterol tem um papel importante no metabolismo dos ácidos biliares, esteróides e vitamina D no fígado; é um componente significativo das membranas celulares; e é importante para o desenvolvimento do sistema nervoso em bebés em crescimento. (13)

### iv) Carboidratos: Lactose e Oligossacarídeos

Podemos separar os carboidratos do leite em duas grandes famílias:

-**Lactose:** é a segunda fonte de energia do leite materno; fornece 40% das calorias deste. Promove a absorção de cálcio e ferro. Também promove a colonização dos intestinos por *Lactobacillus bifidus*.(3)

-**Oligossacárideos:** Estes oligossacarídeos praticamente não são absorvidos a nível intestinal e chegam intactos ao cólon. (17) Podemos assim sugerir que os hidratos de carbono do leite materno têm um papel pré-biótico, ou seja, vão ajudar as bactérias probióticas a exercerem o seu papel

São reconhecidos agentes probióticos (os primeiros na dieta humana) que estimulam o crescimento de microrganismos benéficos, principalmente do género *Bifidobacterium* (espécie dominante em lactentes) e, em menor grau, certas cepas de *Bacteroides* e *Lactobacillus*. (17)

## **b- Micronutrientes**

### **i) As Minerais**

Estudos avaliaram minerais como cálcio, cobre, ferro, fósforo, potássio, sódio e zinco. (18, 19) As quantidades de cálcio, ferro, zinco e cobre que são segregadas no leite materno não são aparentemente influenciadas por variações de curto prazo no consumo materno, desde que a mãe esteja bem nutrida. Algumas alterações nas concentrações de zinco podem ocorrer após uma suplementação elevada a longo prazo, mas estas alterações são relativamente pequenas em comparação com as variações naturais observadas durante a lactação. O zinco desempenha uma grande variedade de papéis bioquímicos in vivo, mas a deficiência marginal de zinco não é facilmente reconhecida nem por testes bioquímicos nem fisiológicos. É geralmente acompanhado por perda de apetite e retardamento do crescimento, e possivelmente função imunológica anormal. (20) Foi expressa preocupação sobre a aparente inadequação do leite materno para satisfazer as necessidades calculadas de zinco dos bebês durante as fases posteriores da lactação (21,).

## **c- Fatores biologicamente ativos (Probióticos do leite materno)**

Há um grande número de microrganismos no leite materno. Vamos nos concentrar nesta revisão nos probióticos contidos no leite materno.

Vários estudos isolaram bactérias potencialmente probióticas do leite materno humano (22,23). Tradicionalmente, as espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são mais comumente usadas como probióticos em humanos e têm uma longa história de uso seguro. As investigações de Martin *et al.*(2005) levaram ao isolamento de três estirpes de *Lactobacillus* do leite (2 *L. gasseri* e 1 *L. fermentum*), bem como *L. salivarius* noutro estudo com leite humano (22).

Embora os resultados tenham demonstrado bom potencial probiótico em algumas das cepas de *Bifidobacterium*, dados de estudos in vivo seriam necessários para concluir sobre o verdadeiro potencial dos isolados. (23,24)

Soto et al. 2014 isolaram a presença dos probióticos *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus rhamnosus* no leite materno, e Di Zhang et al destacaram *Bifidobacterium Longum*, *Lactobacillus Paracasei SD1* e *Lactobacillus rhamnosus* no microbioma de crianças chinesas que foram exclusivamente amamentadas.(7 ,10)

Mas também temos observado através de vários trabalhos como o de Soto *et al* a presença de *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus Rhamnosus* no leite materno.(10)

## 2) Variação na composição do leite materno

### → Variações ligadas à duração da gravidez

Variações ligadas à duração da gravidez. Existe uma relação inversa entre a duração da gravidez e a quantidade de proteína, energia, minerais e ácidos gordos polinsaturados no colostro. As mães dos bebês prematuros, produzem colostro mais protetor. A secreção de colostro pode ser prolongada por várias horas ou dias após um parto muito prematuro. São fenómenos compensatórios e protetores para os recém-nascidos mais imaturos (25).

### → Idade da mãe

A concentração de proteína é maior no leite materno de mães com idade entre 20 e 30 anos; no entanto, a idade materna não parece influenciar as concentrações de lipídios ou lactose , e a idade materna não tem um impacto significativo na composição do leite materno.(26)

→ **Variações ligadas ao estado nutricional e dieta da mãe**

A influência da dieta materna na composição do leite materno é complexa. Dependendo do tipo de nutriente, a dieta materna pode ter quase nenhum impacto na concentração de um nutriente, enquanto que para outros nutrientes, a dieta materna pode causar grandes variações (27).

Pesquisas anteriores sobre o conteúdo de macronutrientes do leite materno de mães de diferentes etnias encontraram pouca variação com a dieta e a variação na concentração de lipídios do leite parece ser independente da dieta materna. (28,29) No entanto, os ácidos gordos específicos que formam a fração lipídica são sensíveis à dieta materna. Esses ácidos gordos são sintetizados endogenamente pela glândula mamária ou retirados do plasma materno, e ambas as fontes de ácidos gordos são influenciadas pela dieta materna (30).

Muitos estudos que analisaram o perfil de ácidos gordos do leite materno observaram que ele pode ser alterado pela manipulação da dieta materna, particularmente ácidos gordos monoinsaturados ômega-6 e ômega-3 (30,31,32). Os ácidos gordos da dieta são transferidos rapidamente para o leite materno e, dentro de 2 a 3 dias, o leite materno transforma-se para reproduzir a gordura da dieta (33).



## B) Caracterização dos probióticos

### 1) Definição

Os probióticos estão definidos como *micro-organismos vivos, principalmente bactérias, que são seguros para o consumo humano e, quando ingeridos em quantidades adequadas, conferem efeitos benéficos à saúde do hospedeiro, além da nutrição básica*. Esta definição foi aprovada pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS). (5)

Desde há várias décadas, os probióticos são adicionadas aos alimentos devido aos seus efeitos benéficos e positivos na saúde humana. Os mecanismos de ação dos probióticos estão ligados, por um lado, à sua capacidade de competir com microrganismos patogénicos inibindo o seu crescimento, por outro lado, à capacidade de modular a resposta imune do hospedeiro. (34)

Nesta revisão vamos-nos centrar nas espécies probióticas presentes no leite materno que tenham sido isoladas e avaliadas em diferentes estudos. Averiguar os seus efeitos na saúde oral infantil, sobretudo na cárie dentária.

### 2) Mecanismo de ação

Estudos recentes possibilitaram aumentar a compreensão sobre os mecanismos dos efeitos probióticos. Estudos em humanos demonstraram que estirpes probióticas específicas têm benefícios importantes na manutenção da saúde. (34)

Os probióticos são bactérias muito complexas com vários mecanismos de ação, e cada probiótico pode ter funções específicas que afetam o hospedeiro. Estes mecanismos de ações variam de estirpe/espécie e são dependentes do veículo utilizado. (35)

Numerosos estudos mostraram que os probióticos têm características como adesão às células, produção de bactericidas, ácidos e peróxido de hidrogénio e a capacidade de inibir a adesão de patógenos, foram consideradas importantes para conferir efeitos probióticos (36)

Os probióticos são capazes de combater patógenos produzindo compostos antimicrobianos, diminuindo o pH (com a produção de ácido láctico), e competem com patógenos por adesão e colonização, por nutrientes e outros fatores de crescimento no intestino (37), suprimindo o crescimento de patógenos. (38,39)

Efetivamente, os probióticos podem produzir uma ampla gama de substâncias antimicrobianas, incluindo ácido láctico e ácido acético (39,40,41), etanol (42), bacterióticas (66,69) e outros compostos antimicrobianos, como a reuterina (42).

Os probióticos também têm um papel contra patógenos virais (43). Foi demonstrado que *Bifidobacterium* e diferentes espécies de *Lactobacillus* podem inibir a captação de vírus nas células intestinais, principalmente por impedimento entérico ou fortalecimento da barreira epitelial da mucosa (45) ou por competição por recetores virais em enterócitos (44,45). Os probióticos também têm propriedades antifúngicas, por exemplo, *Lactobacillus reuteri* contra o crescimento de *Candida* (42,45).

A nível oral o probiótico deve ter a capacidade de responder a vários desafios tais como:  
(45)

Suportar as condições ambientais orais, colonizar e aderir às superfícies orais, inibir os agentes patogénicos;

1. Retardar a colonização pelas estirpes patogénicas;
2. Não devem fermentar os açúcares de modo a evitar a diminuição do pH e consequentemente a desmineralização do esmalte;
3. Devem dificultar a organização da matriz extracelular responsável pela formação do biofilme e limitar os produtos citotóxicos;
4. Devem também alterar benéficamente os parâmetros bioquímicos que influenciam a placa dentária (componentes salivares, capacidade tampão);
5. A implementação dos probióticos deve ser segura para o hospedeiro.

#### **a- Lactobacilos**

Os lactobacilos têm sido de grande interesse na investigação em medicina dentária há várias décadas e modernas técnicas moleculares têm enfatizado o conceito de que as bactérias estão mais associadas à dentina cariada e ao avanço de lesões cariosas do que ao processo inicial da lesão de cárie dentária (57).

Piwat *et al* (2020), no estudo multicêntrico, duplo-cego, randomizado e controlado tiveram como objetivo determinar a eficácia do consumo diário ou quinzenal de leite em pó reconstituído, contendo *Lactobacillus paracasei SD1*, em crianças pré-escolares para a prevenção de cárie. Por 6 meses em 487 crianças de 1 a 5 anos. Concluíram que o consumo diário ou três vezes por semana de leite probiótico pode prevenir o aparecimento de novas lesões de cárie, e ao mesmo reverter significativamente estas lesões. A presença de novas lesões de cárie, também podem ser devido aos hábitos de higiene da criança fora deste estudo, assim é possível avaliar, não o efeito preventivo dos probióticos, mas o efeito

terapêutico dos mesmos, ao permitir a remineralização da lesão cariosa. Estes mecanismos de ação dos probióticos podem ser vistos como um ecossistema microbiano oral reequilibrado. (49)

Três estudos avaliaram o efeito de probióticos derivados de lactobacilos sobre *streptococcus mutans*, relataram reduções significativas a nível salivar desta bactéria, imediatamente após o término da ingestão da dose diária.(54;53;56)

Janiani *et al*.(2022) no seu estudo randomizado com 34 crianças de 3 a 6 anos possibilitou a coleta de saliva de crianças alimentadas com leite probiótico versus crianças que usavam apenas leite em pó sem probióticos. O leite probiótico (Yakult) mostrou-se tão eficaz quanto o pó probiótico (enKor-D) na diminuição dos níveis salivares de *S. mutans*. Yakult foi mais eficaz na redução das pontuações de placa durante um período de 7 dias. Por serem ingeríveis e apresentarem efeitos tóxicos sistémicos limitados, os probióticos podem ser utilizados como alternativa a outras medidas de prevenção da cárie dentária, principalmente em crianças acima de 3 anos. Este estudo foi realizado por um período de apenas 7 dias, portanto, estudos mais longos serão necessários para verificar a sua total eficácia.(54)

Yadav *et al*.(2014) investigou o efeito do probiótico *Lactobacillus casei* em crianças 6-8 anos e verificou que a redução, em crianças com níveis mais elevados de *streptococcus mutans* (105) após a intervenção foi de 34% no grupo probiótico. Assim concluiu que, o consumo diário de leite contendo bactérias probióticas pode reduzir os níveis de *streptococcus mutans* e pode ajudar a prevenir o aparecimento de lesões de cárie dentária. (53)

Rodriguez *et al*.(2016) : compararam o leite suplementado com lactobacilos com leite regular (placebo) para avaliarem a progressão de lesões de cárie em crianças pré-escolares após 10 meses de intervenção. Em conclusão, o consumo regular a longo prazo de leite

enriquecido com probióticos pode reduzir o desenvolvimento de lesões cariosas em pré-escolares com cárie severa.(56)

O leite materno contém uma grande variedade de células estaminais lactobacillus. Estes lactobacillus podem combater os agentes patogénicos orais nas crianças e assim preservar a saúde oral das crianças combatendo os *Streptococcus mutans* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Responsável pelas cáries e doenças periodontais. (56)

### **b- Bifidobacterium**

As bifidobactérias são as bactérias anaeróbicas predominantes, naturalmente presentes no lúmen do intestino delgado e desempenham um papel essencial na manutenção do equilíbrio das bactérias normais na flora intestinal.(57)

Na cavidade oral, as bifidobactérias são prevalentes em lesões cariosas profundas e podem desempenhar um papel importante na progressão da cárie (57). A influência das bifidobactérias probióticas na ecologia oral foi relatada em dois estudos.

Villavicencio *et al.* (2018) conduziram um estudo cruzado duplo-cego randomizado que teve como objetivo avaliar o leite suplementado com bactérias probióticas e leite padrão, medido pelos níveis de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e *Lactobacillus spp.*, em crianças de 3-4 anos após 9 meses de intervenção. Este estudo possibilita, assim, esclarecer e fornecer dados adicionais ao estudo de Janani *et al.* (2020) em que 363 crianças possibilitaram a realização deste estudo randomizado. Uma redução nos *S. mutans* foi encontrada na saliva de crianças alimentadas com leite probiótico, mas esse resultado não foi significativo, porém diferenças entre os grupos foram encontradas na capacidade tampão salivar.(51)

Mais estudos são certamente necessários antes que quaisquer conclusões sobre bifidobactérias possam ser tiradas.

## C) Benefícios dos probióticos sobre a saúde oral

### 1) Probióticos e cárie dentária

A cárie dentária é uma doença multifatorial de origem bacteriana caracterizada pela desmineralização ácida do esmalte dentário. (58) Aparece após alterações na homeostase do ecossistema oral levando a uma proliferação de biofilme bacteriano composto em particular por *Streptococcus mutans*. (59)

Os probióticos podem ser um complemento na prevenção de cárie dentária na medida em que podem interferir com a adesão dos microrganismos cariogénicos aos tecidos dentários, podem colonizar e perturbar o biofilme cariogénico (efeito carioestático) (Pahumunto *et al.*, 2018).

A vantagem de incorporar probióticos em produtos lácteos está na capacidade de neutralizar a acidez produzida. Por exemplo, foi relatado que o queijo previne a desmineralização do esmalte enquanto promove a remineralização. (60)

Para ter um efeito benéfico na limitação ou prevenção da cárie dentária, um probiótico deve ser capaz de aderir às superfícies dentárias e integrar-se nas comunidades bacterianas que compõem o biofilme dentário. Ele também deve competir e antagonizar as bactérias cariogénicas e, assim, impedir a sua proliferação. (61)

Deste modo, sabendo que os probióticos promovem uma ação antimicrobiana pelo consumo dos nutrientes antes que os patogénicos tenham a oportunidade de usá-los, aderem aos tecidos orais, impedem a adesão/colonização/proliferação dos patogénicos e a formação de biofilme patogénico, produzem inibidores de adesão celular e antibacterianos, eles podem ser propostos como auxiliares nas estratégias de gestão da cárie (61)

Foram selecionados 7 estudos para avaliar a influência de diferentes probióticos no âmbito da cariologia em bebês e crianças, em que a suscetibilidade à cárie dentária é elevada pois, o esmalte ainda não está completamente maduro quando os dentes erupcionam. Os autores consideraram mais fácil modificar o biofilme dentário imaturo das crianças através da colonização com probióticos do que o biofilme já estabelecido de adultos

Sandoval *et al.* (2019) avaliaram o efeito do leite suplementado com *Lactobacillus rhamnosus* SP1 na ocorrência de cárie e na concentração salivar de  $\beta$ -defensina-3 humana (h $\beta$ D-3) em crianças com idades pré-escolares com alto risco de cárie. O leite fortificado com probióticos nestas crianças com alto risco de cárie diminuiu a ocorrência de lesões de cárie e os níveis salivares de h $\beta$ D-3.(47) h $\beta$ D-3 destaca-se entre os *BDs* porque tem a mais potente ação anti-bacteriana, e está amplamente distribuída no epitélio oral das gengivas, língua, glândulas salivares e mucosa oral.(47)

O ensaio clínico de Pahumunto *et al.* (2018) demonstrou redução significativa do risco de cárie e de *S. mutans* em crianças com idades entre os 1,5 e 5 anos, com alto nível, no grupo teste (P=0,016) após o consumo por 3 meses de leite contendo *L. paracasei* SD1. As lesões cariosas ativas tornaram-se inativas para 3,06% (% de superfície dentária) no grupo teste vs. 1,53% no grupo controlo e as inativas tornaram-se ativas para 4,44% no grupo teste vs. 4,88% no grupo controlo. O aumento de cárie foi significativo no grupo controlo quando comparado com o grupo teste (P=0,029). Houve, também, uma correlação negativa entre a progressão da cárie e a ingestão do *L. paracasei* SD1. menor risco de progressão de cárie no grupo probiótico após a intervenção do que no início do estudo em que o risco era maior em crianças com alto risco de cárie (P<0,05). O veículo de administração foi bem aceite pelas crianças. A colonização por *Lactobacillus spp.* não foi significativa durante o estudo (P>0,05). (50)

Patil *et al.* (2019). através de um estudo pretenderam comparar a eficácia do leite probiótico e bochechos fluoretados nas contagens de *streptococcus mutans* (SM) salivares e nos "scores" do índice de placa (PI) em crianças. Os resultados mostraram que houve uma redução estatisticamente significativa nas contagens de *SM* salivar e nos "scores" de placa em ambos os grupos após um período de 7 dias. A comparação intergrupos mostrou que

não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (ou seja, ambos os grupos são igualmente eficazes na redução da cárie). O leite probiótico foi tão eficaz quanto o colutório fluoretado na redução das contagens de *SM* e dos "scores" de PI (55).

Hasslöf *et al.* (2013) : examinaram o *Lactobacillus paracasei* F19 administrado em suplemento dietético durante 9 meses. Concluíram não haver mudanças significativas entre os grupos ( $P>0,05$ ) (nem na contagem de *Lactobacillus spp.* e *S. mutans*, nem na experiência de cárie aos 3 e 6 e 9 anos de idade (Figura 6)). Além disso, o probiótico não colonizou permanentemente a flora oral embora fosse ingerido precocemente. *S. mutans* (CFU/mL) foi correlacionado com a cárie aos 9 anos só no grupo placebo ( $P<0,01$ ). (63)

Manmanti *et al.* (2020) durante um estudo randomizado em mais de 487 crianças pré-escolares, observaram que o leite suplementado com probióticos *Lb. Paracasei SD1* permitiu uma redução significativa na redução da presença de *streptococcus mutans* na saliva, e no risco de lesões de cárie em crianças. Podemos sugerir que o probiótico tem efeito também pós tratamento, pois apesar da interrupção do tratamento o efeito sempre se dá na prevenção da proliferação de SM. (48)

Rodríguez *et al.* (2016) avaliaram a influência da estirpe *L. rhamnosus SP1*. Observaram que após 10 meses de administração sob a forma de leite em crianças, a prevalência da cárie no grupo probiótico foi menor (54,5% das crianças no grupo probiótico vs. 65,8% no placebo), tal como a incidência de lesões cavitadas (9,7% das crianças do grupo probiótico vs. 24,3% do placebo). O aumento de novas lesões foi significativo no grupo placebo (aumento de 1,08+/-1,17 por crianças vs. 0,58+/-1,7 com o probiótico,  $P<0,001$ ). (56)

Teanpaisan *et al.* (2015) estudaram também o consumo de leite contendo *L. paracasei SD1*, por 6 meses em crianças. Houve uma redução da contagem de *S. mutans* e redução do risco de cárie em crianças de alto risco no grupo probiótico (4,5 vezes menos do que nas crianças com baixo risco,  $P=0,019$ ). Os níveis de *S. mutans* salivares reduziram-se significativamente aos 3 meses ( $P<0,001$ ) e 6 meses ( $P=0,001$ ) no grupo probiótico quando comparado com o placebo. Aos 12 meses, não houve diferença com o baseline no nível de *S. mutans* no grupo



probiótico ( $P>0,05$ ). Os níveis de *Lactobacillus spp.* salivares aumentaram significativamente nos grupos ao longo do período do estudo ( $P<0,05$ ), mais no grupo probiótico ( $P<0,001$ ). Este último ponto sugeriu uma ingestão de probióticos provenientes de diversas fontes (legumes, fruta em conserva) pelos participantes do grupo controlo o que foi confirmado pela análise ADN uma vez que os perfis de *L. paracasei* foram diferentes. A colonização pelo probiótico diminui com o tempo: 85%-80%-60%-0% nos 3-6-9-12 meses respetivamente. Esses resultados indicam que esta estirpe colonizou mais 3 meses após a cessação do probiótico e precisou de 9 meses após a descontinuação para não ser detetável. Em relação ao pH (neutro), não houve diferença entre os grupos. (64)

Pode-se ver que os artigos selecionados estudaram o impacto dos probióticos nas bactérias *Streptococcus mutans* responsáveis por lesões de cárie e notaram uma diminuição significativa destas bactérias. (47,48,50,55)

## 2) Probióticos e a saúde gengival

A gengivite é uma doença caracterizada por inflamação limitada à gengiva livre, enquanto a periodontite é uma doença destrutiva e progressiva que afeta todos os tecidos de suporte do dente, incluindo o osso alveolar (65).

Os principais patógenos associados à periodontite são *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* que se organizam em biofilmes (a nível supragengival e subgengival) em hospedeiros suscetíveis. (65,66).

Os mecanismos que sustentam o efeito dos probióticos no alívio da infeção periodontal ainda não são claros, embora seja altamente provável que os probióticos desempenhem um papel crítico na nutrição da flora gengival saudável e na contenção da colonização do nicho periodontal pelos patogénicos periodontais. (67).

Foram analisados 3 estudos relacionados com a implementação de probióticos em saúde gengival que avaliaram a acumulação de placa, o estado de inflamação gengival, a manutenção da higiene oral e ao mesmo tempo tentaram examinar os diferentes mecanismos de ação dos probióticos.

O estudo de Yousuf *et al.* (2017) avaliou a administração por 3 semanas de uma combinação probiótica (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis* e bacillus do ácido láctico) na saúde gengival em adolescentes. Os "scores" de índice de placa e índice gengival foram reduzidos até 2 semanas de intervenção no grupo probiótico e aumentaram progressivamente no grupo placebo ao longo do estudo. (68)

Sarmiento *et al.* (2018): (46) *Mostra que L. casei diminuiu a densidade de Aggregatibacter actinomycetemcomitans, sendo capaz de manter a baixa densidade de Porphyromonas gingivalis após o tratamento. Podemos assim ver que o probiótico L.casei presente no leite materno também pode lutar para manter a densidade de Porphyromonas gingivalis após o tratamento (46) e assim combater os agentes patológicos presentes nas doenças periodontais (41). Muitos estudos são necessários para concluir sobre o efeito do probiótico L.Casei, (46)*

O conjunto dos resultados destes ensaios sugerem que os probióticos utilizados podem servir para auxiliar na higiene oral e promover a saúde oral, tanto em indivíduos com saúde gengival como em indivíduos com gengivite.

Os resultados sugerem que a colonização pelos probióticos deve ser estudada em períodos de tempo prolongados porque estes agentes podem apresentar efeitos positivos a longo prazo que não são detetáveis em estudo de curto prazo.

Vestman *et al.* (2013) demonstraram que num grupo de 43 bebés com até 4 meses de idade, que foram amamentados exclusivamente, detinham uma maior presença de *Lactobacillus* (31,4%), comparativamente aos bebés que tomavam leite de fórmula, sendo o *L. gasseri* o mais prevalente. *L. gasseri* após testes de inibição mostrou uma inibição de crescimento de *Candida albicans*. Comprovando assim que os probióticos do leite materno podem influenciar/proteger a microbiota oral dos bebés. (69)

## 7. LIMITAÇÃO

- A heterogeneidade dos ensaios (variabilidade no desenho de estudo, intervalo de administração, estirpes utilizadas, dosagem, veículo e as características individuais foram dissemelhantes) explica as variações nos resultados e dificulta as eventuais comparações. É preciso incluir mais pessoas nos estudos para tornar mais forte a evidência estatística
- Estudos principalmente abordam os *Streptococcus mutans* mas existem outros fatores que causam doenças orais.
- A nossa população está centrada entre os 0 e os 12 anos.
- Os estudos de curto prazo apresentados mostram só efeitos temporários da utilização de probióticos pois após descontinuação, os níveis bacterianos voltam apressadamente às contagens iniciais.

Estes estudos sugerem também que os probióticos são capazes de colonizar temporariamente o ecossistema oral colonizando as áreas ocupadas pelos agentes patogénicos.

## 8. CONCLUSÃO

O leite materno humano é altamente considerado como o modo ideal de alimentação para recém-nascidos devido à sua capacidade de fornecer nutrição completa e transmitir fatores protetores de saúde ao bebê. Este contém vários elementos na sua composição que são vitais para o desenvolvimento do bebê, tais como os probióticos.

Os probióticos do leite materno pertencem principalmente às famílias *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Estes representam uma nova área de investigação em medicina oral, ou seja, a estreita relação entre alimentação e saúde oral.

Da literatura científica podemos destacar que os probióticos após a descontinuação da sua administração continuam a desempenhar as suas funções. A administração de probióticos reduz as quantidades de *S. mutans*, enquanto aumenta as quantidades de lactobacilos totais que persistem pelo menos 6 meses após a descontinuação do tratamento em saliva, contudo, muitos estudos e revisões sistemáticas são ainda necessários para concluir sobre os efeitos da prevenção oral a longo prazo.

Assim, os probióticos representam uma terapia inovadora, a bacterioterapia, que consiste em trocar as bactérias/estirpes patogénicas orais pelas bactérias inofensivas comensais e aumentar a porção de bactérias benéficas. Tem um papel fundamental na prevenção da doença cárie, bem como das doenças orais.

## 9. Bibliografia

- 1) WHO. Infant and young child nutrition. Geneva (Switzerland): WHO; 2003.
- 2) Neville MC, Anderson SM, McManaman JL, Badger TM, Bunik M, Contractor N, et al. Lactation and neonatal nutrition: defining and refining the critical questions. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2012 Jun;17(2):167-88.
- 3) Tackoen M. [Breast milk: its nutritional composition and functional properties]. *Rev Med Brux*. 2012 Sep;33(4):309-17.
- 4) Olivares M, Díaz-Ropero MP, Martín R, Rodríguez JM, Xaus J. Antimicrobial potential of four *Lactobacillus* strains isolated from breast milk. *J Appl Microbiol*. 2006 Jul;101(1):72-9.
- 5) Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 2002. Available: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf> (accessed 2009 Aug 31)
- 6) Lyons KE, Ryan CA, Dempsey EM, Ross RP, Stanton C. Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health. *Nutrients*. 2020 Apr 9;12(4):E1039.
- 7) Zhang D, Zhang S, Guidesi E, Zonenschain D, Sagheddu V, Lee S, et al. Isolation and Characterization of New Probiotic Strains From Chinese Babies. *J Clin Gastroenterol*. 2018 Nov/Dec;52 Suppl 1, Proceedings from the 9th Probiotics, Prebiotics and New Foods, Nutraceuticals and Botanicals for Nutrition & Human and Microbiota Health Meeting, held in Rome, Italy from September 10 to 12, 2017:S27-S34.
- 8) Witkowska-Zimny M, Kaminska-El-Hassan E. Cells of human breast milk. *Cell Mol Biol Lett*. 2017;22:11.
- 9) Jara S, Sánchez M, Vera R, Cofré J, Castro E. The inhibitory activity of *Lactobacillus* spp. isolated from breast milk on gastrointestinal pathogenic bacteria of nosocomial origin. *Anaerobe*. 2011 Dec;17(6):474-7.
- 10) Soto A, Martín V, Jiménez E, Mader I, Rodríguez JM, Fernández L. Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 Jul;59(1):78-88.
- 11) Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*. 2015 Nov;91(11):629-35.
- 12) Garwolińska D, Namieśnik J, Kot-Wasik A, Hewelt-Belka W. Chemistry of Human Breast Milk-A Comprehensive Review of the Composition and Role of Milk Metabolites in Child Development. *J Agric Food Chem*. 2018 Nov 14;66(45):11881-96.

- 13) Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids*. 1999 Dec;34(12):1243-71.
- 14) Battini R, Alessandrì MG, Leuzzi V, Moro F, Tosetti M, Bianchi MC, et al. Arginine:glycine amidinotransferase (AGAT) deficiency in a newborn: early treatment can prevent phenotypic expression of the disease. *J Pediatr*. 2006 Jun;148(6):828-30.
- 15) Pickering LK, Granoff DM, Erickson JR, Masor ML, Cordle CT, Schaller JP, et al. Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. *Pediatrics*. 1998 Feb;101(2):242-9.
- 16) Ohyanagi H, Nishimatsu S, Kanbara Y, Usami M, Saitoh Y. Effects of nucleosides and a nucleotide on DNA and RNA syntheses by the salvage and de novo pathway in primary monolayer cultures of hepatocytes and hepatoma cells. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1989 Jan-Feb;13(1):51-8.
- 17) Sánchez C, Franco L, Regal P, Lamas A, Cepeda A, Fente C. Breast Milk: A Source of Functional Compounds with Potential Application in Nutrition and Therapy. *Nutrients*. 2021 Mar 22;13(3):1026.
- 18) Góes HC, Torres AG, Donangelo CM, Trugo NM. Nutrient composition of banked human milk in Brazil and influence of processing on zinc distribution in milk fractions. *Nutrition*. 2002 Jul-Aug;18(7-8):590-4.
- 19) Perrin MT, Fogleman AD, Newburg DS, Allen JC. A longitudinal study of human milk composition in the second year postpartum: implications for human milk banking. *Matern Child Nutr*. 2017 01;13(1)
- 20) Bates CJ, Prentice A. Breast milk as a source of vitamins, essential minerals and trace elements. *Pharmacol Ther*. 1994 Apr-May;62(1-2):193-220.
- 21) Zimmerman AW, Hambidge KM, Lepow ML, Greenberg RD, Stover ML, Casey CE. Acrodermatitis in breast-fed premature infants: evidence for a defect of mammary zinc secretion. *Pediatrics*. 1982 Feb;69(2):176-83.
- 22) Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Probiotic potential of 3 Lactobacilli strains isolated from breast milk. *J Hum Lact*. 2005 Feb;21(1):8-17; quiz 18-21, 41.
- 23) Arboleya S, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Solís G, Salminen S, de Los Reyes-Gavilán CG, et al. Characterization and in vitro properties of potentially probiotic Bifidobacterium strains isolated from breast-milk. *Int J Food Microbiol*. 2011 Sep 1;149(1):28-36.
- 24) Solís G, de Los Reyes-Gavilán CG, Fernández N, Margolles A, Gueimonde M. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe*. 2010 Jun;16(3):307-10.
- 25) Meier PP, Engstrom JL, Patel AL, Jegier BJ, Bruns NE. Improving the use of human milk during and after the NICU stay. *Clin Perinatol*. 2010 Mar;37(1):217-45.

- 26) Kader MM, Bahgat R, Aziz MT, Hefnawi F, Badraoui MH, Younis N, et al. Lactation patterns in Egyptian women. II. Chemical composition of milk during the first year of lactation. *J Biosoc Sci.* 1972 Oct;4(4):403-9.
- 27) Innis SM. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *Am J Clin Nutr.* 2014 Mar;99(3):734S-41S.
- 28) Lönnerdal B, Forsum E, Gebre-Medhin M, Hambraeus L. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. II. Lactose, nitrogen, and protein contents. *Am J Clin Nutr.* 1976 Oct;29(10):1134-41.
- 29) Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013 Feb;60(1):49-74.
- 30) Innis SM. Human milk and formula fatty acids. *J Pediatr.* 1992 Apr;120(4 Pt 2):S56-61.
- 31) Brenna JT, Varamini B, Jensen RG, Diersen-Schade DA, Boettcher JA, Arterburn LM. Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk worldwide. *Am J Clin Nutr.* 2007 Jun;85(6):1457-64.
- 32) Koletzko B, Thiel I, Abiodun PO. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *J Pediatr.* 1992 Apr;120(4 Pt 2):S62-70.
- 33) INSULL W, HIRSCH J, JAMES T, AHRENS EH. The fatty acids of human milk. II. Alterations produced by manipulation of caloric balance and exchange of dietary fats. *J Clin Invest.* 1959 Feb;38(2):443-50.
- 34) Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality. *J Can Dent Assoc.* 2009 Oct;75(8):585-90.
- 35) Gueimonde M, Salminen S. New methods for selecting and evaluating probiotics. *Dig Liver Dis.* 2006 Dec;38 Suppl 2:S242-7.
- 36) Reid G, Jass J, Sebulsy MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Oct;16(4):658-72.
- 37) : Kim KW, Kang SS, Woo SJ, Park OJ, Ahn KB, Song KD, et al. Lipoteichoic Acid of Probiotic *Lactobacillus plantarum* Attenuates Poly I:C-Induced IL-8 Production in Porcine Intestinal Epithelial Cells. *Front Microbiol.* 2017;8:1827.
- 38) Wilkins T, Sequoia J. Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. *Am Fam Physician.* 2017 Aug 1;96(3):170-8.
- 39) Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab.* 2012;61(2):160-74.
- 40) Woo J, Ahn J. Probiotic-mediated competition, exclusion and displacement in biofilm formation by food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol.* 2013 Apr;56(4):307-13.
- 41) do Carmo MS, Santos CID, Araújo MC, Girón JA, Fernandes ES, Monteiro-Neto V. Probiotics, mechanisms of action, and clinical perspectives for diarrhea management in children. *Food Funct.* 2018 Oct 17;9(10):5074-95.

- 42) Mu Q, Tavella VJ, Luo XM. Role of *Lactobacillus reuteri* in Human Health and Diseases. *Front Microbiol.* 2018;9:757.
- 43) : Surendran Nair M, Amalaradjou MA, Venkitanarayanan K. Antivirulence Properties of Probiotics in Combating Microbial Pathogenesis. *Adv Appl Microbiol.* 2017;98:1-29.
- 44) Martínez MG, Prado Acosta M, Candurra NA, Ruzal SM. S-layer proteins of *Lactobacillus acidophilus* inhibits JUNV infection. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Jun 15;422(4):590-5.
- 45) Jørgensen MR, Kragelund C, Jensen PØ, Keller MK, Twetman S. Probiotic *Lactobacillus reuteri* has antifungal effects on oral *Candida* species in vitro. *J Oral Microbiol.* 2017;9(1):1274582.
- 46) Sarmiento ÉG, Cesar DE, Martins ML, de Oliveira Góis EG, Furtado Martins EM, da Rocha Campos AN, et al. Effect of probiotic bacteria in composition of children's saliva. *Food Res Int.* 2019 02;116:1282-8.
- 47) Sandoval F, Faleiros S, Cabello R, Díaz-Dosque M, Rodríguez G, Escobar A. The consumption of milk supplemented with probiotics decreases the occurrence of caries and the salivary concentration of hβD-3 in children. *Clin Oral Investig.* 2021 Jun;25(6):3823-30..-
- 48) Manmontri C, Nirunsittirat A, Piwat S, Wattanarat O, Pahumunto N, Makeudom A, et al. Reduction of *Streptococcus mutans* by probiotic milk: a multicenter randomized controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2020 Jul;24(7):2363-74.
- 49) Piwat S, Teanpaisan R, Manmontri C, Wattanarat O, Pahumunto N, Makeudom A, et al. Efficacy of Probiotic Milk for Caries Regression in Preschool Children: A Multicenter Randomized Controlled Trial. *Caries Res.* 2020;54(5-6):491-501.
- 50) Pahumunto N, Piwat S, Chankanka O, Akkarachaneeyakorn N, Rangitsathian K, Teanpaisan R. Reducing mutans streptococci and caries development by *Lactobacillus paracasei* SD1 in preschool children: a randomized placebo-controlled trial. *Acta Odontol Scand.* 2018 Jul;76(5):331-7.
- 51) Villavicencio J, Villegas LM, Arango MC, Arias S, Triana F. Effects of a food enriched with probiotics on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. salivary counts in preschool children: a cluster randomized trial. *J Appl Oral Sci.* 2018 May 14;26:e20170318.
- 52) Janiani P, Ravindran V. Comparative evaluation of the antimicrobial effects of probiotic milk and probiotic powder on the salivary *Streptococcus mutans* counts and the plaque scores in children aged 3-6 years: A randomized controlled trial. *Dent Med Probl.* 2022 Jan-Mar;59(1):99-104.
- 53) Yadav M, Poornima P, Roshan NM, Prachi N, Veena M, Neena IE. Evaluation of probiotic milk on salivary mutans streptococci count: an in vivo microbiological study. *J Clin Pediatr Dent.* 2014;39(1):23-6.



- 54) Janani RG, Asokan S, Geetha Priya PR. Effect of Custom-made Probiotic Chocolates on Streptococcus mutans, Plaque pH, Salivary pH and Buffering Capacity in Children - A Randomised Controlled Trial. *Oral Health Prev Dent*. 2019;17(1):7-15.
- 55) Patil RU, Dastoor PP, Unde MP. Comparative evaluation of antimicrobial effectiveness of probiotic milk and fluoride mouthrinse on salivary Streptococcus mutans counts and plaque scores in children - An in vivo experimental study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2019 Oct-Dec;37(4):378-82.
- 56) Rodríguez G, Ruiz B, Faleiros S, Vistoso A, Marró ML, Sánchez J, et al. Probiotic Compared with Standard Milk for High-caries Children: A Cluster Randomized Trial. *J Dent Res*. 2016 Apr;95(4):402-7.
- 57) Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*. 2002 Mar;40(3):1001-9.
- 58) Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet*. 2007 Jan 6;369(9555):51-9.
- 59) Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135-87.
- 60) Gedalia I, Ionat-Bendat D, Ben-Mosheh S, Shapira L. Tooth enamel softening with a cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva in situ. *J Oral Rehabil*. 1991 Nov;18(6):501-6.
- 61) Singh VP, Sharma J, Babu S, Rizwanulla, Singla A. Role of probiotics in health and disease: a review. *J Pak Med Assoc*. 2013 Feb;63(2):253-7. PMID: 23894906.
- 62) Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. Isolation and characterization of human beta -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem*. 2001 Feb 23;276(8):5707-13.
- 63) Hasslöf P, West CE, Videhult FK, Brandelius C, Stecksén-Blicks C. Early intervention with probiotic Lactobacillus paracasei F19 has no long-term effect on caries experience. *Caries Res*. 2013;47(6):559-65.
- 64) Teanpaisan R, Piwat S, Tianviwat S, Sophatha B, Kampoo T. Effect of Long-Term Consumption of Lactobacillus paracasei SD1 on Reducing Mutans streptococci and Caries Risk: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Dent J (Basel)*. 2015 Apr 1;3(2):43-54.
- 65) Houle M, Grenier D. Maladies parodontales : connaissances actuelles. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2003 Jul;33(7):331-40.
- 66) Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135-87.

67) Matsubara VH, Bandara HM, Ishikawa KH, Mayer MP, Samaranayake LP. The role of probiotic bacteria in managing periodontal disease: a systematic review. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2016 07;14(7):643-55.

68) Yousuf A, Sidiq M, Ganta S, Nagaraj A, Vishnani P, Jan I. Effect of Freeze Dried Powdered Probiotics on Gingival Status and Plaque Inhibition: A Randomized, Double-blind, Parallel Study. *Contemp Clin Dent.* 2017 Jan-Mar;8(1):116-21.

69) Vestman NR, Timby N, Holgerson PL, Kressirer CA, Claesson R, Domellöf M, et al. Characterization and in vitro properties of oral lactobacilli in breastfed infants. *BMC Microbiol.* 2013 Aug 15;13:193.