

Bacterias periodontopatógenas en niños hospitalizados y no hospitalizados: un estudio transversal

Periodontopathogenic bacteria in hospitalized and non-hospitalized children: a cross-sectional study

Antonio Díaz Caballero¹ , Luis Eduardo Carmona Arango² , Carlos Guerrero Guerrero¹ ,
Kendy Canoles Varela¹ , Wendy Cortes Carrasquilla¹ , Ángel Alfonso Guzmán Corena^{3,4} ,
Jaime Enrique Plazas Román^{1,5} 

¹ Universidad de Cartagena, Grupo de Investigación GITOU. Cartagena, Colombia.

² Universidad de Cartagena, Grupo de Investigación PROMOU. Cartagena, Colombia.

³ Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia.

⁴ Fundación Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja. Cartagena, Colombia.

⁵ Corporación Universitaria Rafael Núñez. Cartagena, Colombia.

RESUMEN

Introducción: La colonización temprana de bacterias periodontopatógenas representa un factor de riesgo para el desarrollo de una disbiosis en el periodonto. Esta disbiosis, cuando se manifiesta en pacientes ingresados en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), puede agravar su condición sistémica. **Objetivo:** Determinar la presencia de bacterias periodontopatógenas en niños hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos de un hospital infantil durante el período enero-diciembre de 2023. **Métodos:** Estudio descriptivo transversal. Se recolectaron muestras del biofilm subgingival del primer molar inferior permanente en 26 niños hospitalizados en UCI y 30 niños sanos que acudieron a la clínica de Odontopediatría de la Universidad de Cartagena. Las muestras se procesaron mediante PCR convencional utilizando primers específicos para *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td) y *Fusobacterium nucleatum* (Fn). Para el análisis estadístico se empleó la prueba exacta de Fisher con un nivel de significancia $p < 0,05$. **Resultados:** De las 26 muestras de niños hospitalizados, 19 (73%) presentaron bacterias periodontopatógenas mientras que 7 (27%) resultaron negativas. En 2 pacientes se detectaron tres especies bacterianas simultáneamente (Tf, Pg, Fn) y en 11 pacientes se identificaron dos especies. En el grupo de niños no hospitalizados ($n=30$), 20 (66,6%) mostraron

ABSTRACT

Introduction: Early colonization of periodontopathogenic bacteria represents a risk factor for the development of dysbiosis in the periodontium. This dysbiosis, when manifested in patients admitted to an Intensive Care Unit (ICU), can aggravate their underlying condition. **Objective:** To determine the presence of periodontopathogenic bacteria in children hospitalized in the Intensive Care Unit of a children's hospital during the January-December 2023 time period. **Materials and Methods:** This was a descriptive and cross-sectional study. Subgingival biofilm samples were collected from the first permanent lower molar in 26 children hospitalized in the ICU and 30 healthy children who attended the Pediatric Dentistry Clinic of the University of Cartagena. The samples were processed by conventional PCR using specific primers for *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td) and *Fusobacterium nucleatum* (Fn). For statistical analysis, Fisher's exact test was used with a significance level of $p < 0.05$. **Results:** Of the 26 samples from hospitalized children, 19 (73%) presented periodontopathogenic bacteria while 7 (27%) were negative. In 2 patients, three bacterial species were detected simultaneously (Tf, Pg, Fn) and in 11 patients, two species were identified. In the group of non-hospitalized children ($n=30$), 20 (66.6%) showed bacterial

Correspondencia: Antonio Díaz Caballero correo: adiazc1@unicartagena.edu.co

Declaración de conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Financiamiento: Autofinanciado

Editor responsable: Leticia Ramírez Pastore. Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas, Cátedra de Clínica Pediátrica, Medicina Interna. San Lorenzo, Paraguay.

Recibido: 29/04/2024 **Aceptado:** 06/12/2024

Doi: <https://doi.org/10.31698/ped.51032024004>

 Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una Licencia Creative Commons CC-BY 4.0

presencia bacteriana y 10 (33,3%) fueron negativos. Dieciséis niños presentaron tres especies bacterianas (Td, Pg, Fn), destacando la ausencia de Tf en este grupo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas según sexo o edad ($p > 0,05$). **Conclusiones:** Los resultados demuestran una importante colonización temprana de bacterias periodontopatógenas en ambos grupos estudiados, sugiriendo la necesidad de implementar protocolos de vigilancia y prevención periodontal, especialmente en pacientes pediátricos hospitalizados.

Palabras clave: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, unidades de cuidados intensivos, reacción en cadena de la polimerasa, microbiología.

INTRODUCCIÓN

La flora residente humana actúa como una red organizada con múltiples nichos ecológicos, como la cavidad bucal, un ecosistema complejo con una alta diversidad microbiana que incluye bacterias, hongos y virus. Aunque la cavidad oral de los niños no ha sido tan estudiada como la de los adultos, comprender su relación con la salud del hospedador permite identificar asociaciones con diversas enfermedades orales y sistémicas⁽¹⁾.

Los humanos han evolucionado en constante presencia con bacterias. La microflora bucal es dinámica y se ve afectada por varios factores, como el desarrollo del sistema inmunitario, la genética del individuo y elementos ambientales, tales como el método de nacimiento, la alimentación, hospitalizaciones, hábitos de higiene y costumbres de los tutores⁽²⁾.

Al nacer por vía vaginal, el neonato se expone inicialmente al microbiota vaginal (como *Lactobacillus spp*, *Prevotella spp*) y perianal. En contraste, en el parto por cesárea, la exposición inicial es al microbiota de la piel (*Staphylococcus spp*, *Corynebacterium spp*, *Propionibacterium spp*). Según una revisión sistemática de Daalderop⁽³⁾, hay evidencia suficiente para asociar la enfermedad periodontal de la madre y factores adversos durante el embarazo, que impactan en el recién nacido⁽⁴⁾, así como el tratamiento con antibióticos a la madre durante el parto, lo cual es un regulador clave del microbioma oral neonatal inicial⁽⁵⁾.

presence and 10 (33.3%) were negative. Sixteen children presented three bacterial species (Td, Pg, Fn), highlighting the absence of Tf in this group. No statistically significant differences were found according to sex or age ($p > 0.05$). **Conclusions:** The results show a significant early colonization of periodontopathogenic bacteria in both groups studied, suggesting the need to implement periodontal surveillance and prevention protocols, especially in hospitalized pediatric patients.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, intensive care units, polymerase chain reaction, microbiology.

En consecuencia, no podemos considerar la cavidad bucal del recién nacido como un entorno sin influencia en la adquisición de su flora microbiana definitiva. Las bacterias, fragmentos o productos pueden llegar al feto por sí mismos o ser transportados por las células del sistema inmunológico de la madre, lo que puede ser favorecido por cambios hormonales o la presencia de enfermedades crónicas como la periodontitis. Por lo tanto, una boca sana de la madre, con una microbiota equilibrada, desempeña un papel fundamental en la salud del niño⁽⁶⁾.

El recién nacido experimenta adaptaciones al nuevo entorno, enfrentándose a varios cambios, incluyendo la exposición a microorganismos. Necesita adaptarse rápidamente, lo que implica cambios funcionales en la respiración, el metabolismo y el sistema inmunitario⁽⁷⁾.

Estudios longitudinales demuestran que la microbiota de la saliva es diversa a los 2 días de nacido y se transforma hasta los 5 años y más adelante, con fluctuaciones que posiblemente reflejan influencias ambientales relacionadas con la edad⁽⁸⁾.

Los niños que permanecieron libres de caries hasta los 4 años de edad fueron seguidos desde el año de edad. Tanto la composición microbiana de la saliva como la de la placa experimentaron cambios significativos desde el año de edad hasta los 2.5 años, seguidos de cambios microbianos menos marcados

hasta los 4 años de edad. No obstante, la composición microbiana de la saliva y de la placa aún no alcanzaba la complejidad del microbioma de sus cuidadores⁽⁹⁾. A pesar de que la flora más estudiada en niños es la cariogénica, varios estudios han detectado bacterias periodontopatógenas en niños^(3,9-12).

La adquisición de la flora simbiote y patógena es fundamental en la prevención de enfermedades bucales. La temprana exposición a esta flora aumenta el riesgo de padecer enfermedades. Por lo tanto, es crucial examinar la transmisión y colonización temprana. Este estudio es de gran importancia para determinar la presencia de bacterias periodontopatógenas en niños hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). Estas bacterias no solo tienen la capacidad de desencadenar inflamación local, sino también sistémica, lo que podría agravar la condición médica del paciente⁽¹³⁻¹⁵⁾.

El objetivo del estudio consistió en identificar la presencia de bacterias periodontopatógenas en niños hospitalizados en el Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja y comparar este hallazgo con la presencia de estas bacterias en niños no hospitalizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y Población

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal y retrospectivo entre enero y diciembre de 2022. La población enfocada consistió en niños de 6-12 años residentes en Cartagena, Colombia. La población accesible incluyó dos grupos: pacientes pediátricos hospitalizados en la UCI del Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja y niños atendidos en la clínica de Odontopediatría de la Universidad de Cartagena. Se seleccionó una muestra no probabilística de 56 niños: 26 hospitalizados y 30 no hospitalizados.

Variables de Estudio

» **Variable dependiente:** Presencia de bacterias periodontopatógenas, específicamente *F. nucleatum*, *T. denticola*, *T. forsythia* y *P. gingivalis*, detectadas mediante PCR convencional.

» Variables independientes:

- o Edad (años cumplidos)
- o Sexo (masculino/femenino)
- o Estado de hospitalización (hospitalizado/no hospitalizado)
- o Diagnóstico de ingreso (solo grupo hospitalizado)

Procedimientos y Técnicas

Recolección de Muestras Las muestras de biofilm subgingival se obtuvieron del primer molar inferior permanente siguiendo un protocolo estandarizado: aplicación de revelador de placa, remoción del biofilm supragingival con torunda de algodón estéril y recolección del biofilm subgingival utilizando cureta de Gracey. Las muestras se preservaron en tubos Eppendorf con 500 mL de solución salina fosfatada (pH 7.8) a -80°C.

Análisis Molecular La extracción de ADN se realizó mediante el kit Saliva DNA Isolation® (NORGEN BIOTEK CORP) usando el método Boiling-Lysis. Se efectuó PCR convencional utilizando cebadores específicos para cada bacteria estudiada. Se incluyeron controles positivos (secuencias verificadas GenBank) y negativos (agua estéril). El protocolo de PCR consistió en 35 ciclos de: desnaturalización (94°C/1min), hibridación (50°C/1min) y extensión (72°C/1.5min). Los productos se analizaron mediante electroforesis.

Análisis Estadístico Se realizó comparación basal entre grupos mediante prueba Chi-cuadrado para variables categóricas y t-Student para variables continuas. La asociación entre variables se analizó mediante la prueba exacta de Fisher, considerando significativo $P < 0.05$ con IC95%. Los datos se procesaron en SPSS versión 23.

Consideraciones Éticas El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Universidad de Cartagena. Se clasificó como investigación sin riesgo según la Resolución 8430 de 1993. Se obtuvo consentimiento informado escrito de padres/tutores y asentimiento de los niños participantes. La confidencialidad se mantuvo mediante un sistema de codificación de datos.

Limitaciones del Estudio

Este estudio presenta diversas limitaciones metodológicas que deben considerarse al interpretar los resultados. El diseño de muestreo no probabilístico empleado, junto con la ausencia de un cálculo formal del tamaño muestral, limita la capacidad de generalización de los hallazgos a poblaciones más amplias. El carácter retrospectivo del estudio introduce un potencial sesgo de selección en la muestra y de memoria en la recolección de datos. Adicionalmente, no se controlaron variables confusoras potencialmente relevantes, como el nivel socioeconómico y los hábitos de higiene oral de los participantes, lo que podría impactar en la interpretación de las asociaciones encontradas. La naturaleza transversal del diseño de investigación, si bien permite establecer asociaciones entre las variables estudiadas, no posibilita la determinación de relaciones causales entre la presencia bacteriana y los resultados clínicos observados. Estas limitaciones sugieren la necesidad de realizar estudios prospectivos con muestreo probabilístico y control de

variables confusoras para confirmar y expandir los hallazgos presentados.

RESULTADOS

Características de la población de estudio

Del total de 60 niños inicialmente elegibles, se excluyeron 4 casos (2 por muestras inadecuadas y 2 por datos incompletos), resultando en una muestra final de 56 participantes. La población de estudio se distribuyó en 26 niños hospitalizados en UCI y 30 niños no hospitalizados.

En cuanto a las características demográficas, el grupo hospitalizado estuvo conformado por 57.7% de niños entre 6-9 años y 42.3% entre 10-12 años, con predominio del sexo masculino (61.5%). De manera similar, en el grupo no hospitalizado, el 60% tenía entre 6-9 años y el 40% entre 10-12 años, también con mayoría masculina (66.7%). No se encontraron diferencias significativas en la distribución por edad ($p=0.862$) o sexo ($p=0.684$) entre ambos grupos (Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de la población de estudio.

Característica	Hospitalizados (n = 26)	No hospitalizados (n = 30)	Valor p
Edad (años)			
6-9	15 (57.7%)	18 (60%)	0.862
10-12	11 (42.3%)	12 (40%)	
Sexo			
Masculino	16 (61.5%)	20 (66.7%)	0.684
Femenino	10 (38.5%)	10 (33.3%)	

Prevalencia de bacterias periodontopatógenas

Las bacterias periodontopatógenas se detectaron en el 73% (19/26) de las muestras de niños hospitalizados y en el 66.6% (20/30) de niños no hospitalizados. *F. nucleatum* fue la bacteria más prevalente en ambos grupos (57.7% vs 66.7%, $p=0.233$), mientras que *P.*

gingivalis y *T. denticola* fueron significativamente más frecuentes en niños no hospitalizados (*P. gingivalis*: 66.7% vs 19.2%, $p<0.001$; *T. denticola*: 53.3% vs 23.1%, $p=0.020$). Un hallazgo notable fue la presencia exclusiva de *T. forsythia* en el grupo hospitalizado (11.5%).

Tabla 2. Presencia de bacterias individuales en pacientes hospitalizados

Bacteria	Edad		Sexo		Valor p	
	6-9 años	10-12 años	M	F	Edad	Sexo
<i>F. Nucleatum</i>	9/15	6/11	10/16	5/10	1.0	0.233
<i>P. Gingivalis</i>	3/15	2/11	3/16	2/10	.0	1.0
<i>T. Forsythia</i>	1/15	2/11	2/16	1/10	0.556	1.0
<i>T. Denticola</i>	4/15	2/11	2/16	4/10	1.0	0.365

Asociación entre bacterias periodontopatógenas y variables sociodemográficas

En niños hospitalizados, *F. nucleatum* mostró mayor presencia en el grupo de 6-9 años (9/15) y en el sexo masculino (10/16), aunque sin diferencias significativas ($p=1.0$ y $p=0.233$, respectivamente). En

el grupo no hospitalizado, tanto *F. nucleatum* como *P. gingivalis* fueron más frecuentes en niños de 6-9 años (14/18) y en varones (16/20), sin alcanzar significancia estadística ($p=0.690$ y $p=0.431$, respectivamente) (Tablas 2 y 3).

Tabla 3. Presencia de bacterias individuales en pacientes no hospitalizados

Bacteria	Edad		Sexo		Valor p	
	6-9 años	10-12 años	M	F	Edad	Sexo
<i>F. Nucleatum</i>	14/18	6/12	16/20	4/10	0.690	0.431
<i>P. Gingivalis</i>	14/18	6/12	16/20	4/10	0.690	0.431
<i>T. Forsythia</i>	0/18	0/12	0/20	0/10	-	-
<i>T. Denticola</i>	12/12	4/12	12/20	4/10	0.442	0.694

Patrones de coexistencia bacteriana

El análisis de coexistencia bacteriana reveló patrones diferentes entre grupos. En niños hospitalizados, se observó la presencia simultánea de tres bacterias (*F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*) en 2 pacientes

(7.7%), mientras que 11 pacientes (42.3%) presentaron dos bacterias simultáneamente. Los patrones más frecuentes de coexistencia fueron *F. nucleatum* + *P. gingivalis* (5 casos) y *F. nucleatum* + *T. denticola* (4 casos) (Tabla 4).

Tabla 4. Coexistencia de bacterias en pacientes hospitalizados

Combinación	Presencia	Edad		Sexo		Valor p	
		6-9	10-12	M	F	Edad	Sexo
<i>F.n. – P.g.</i>	5/26	3/15	2/11	3/16	2/10	1.0	1.0
<i>F.n-T.f.</i>	1/26	1/15	0/11	1/16	0/10	1.0	1.0
<i>F.n-T.d.</i>	4/26	3/15	1/11	2/16	2/10	0.614	1.0
<i>P.g-T.d.</i>	1/26	1/15	0/11	0/16	1/10	1.0	0.462
<i>F.n-P.g-T.f</i>	2/16	2/15	0/11	1/16	1/10	0.492	1.0

En el grupo no hospitalizado, 16 pacientes (53.3%) presentaron tres bacterias simultáneas (*F. nucleatum* + *P. gingivalis* + *T. denticola*), siendo esta coexistencia significativamente más frecuente que

en el grupo hospitalizado ($p<0.001$). La presencia simultánea de dos bacterias se observó en 20 pacientes (66.7%) de este grupo (Tabla 5).

Tabla 5. Coexistencia de bacterias en pacientes no hospitalizados.

Combinación	Presencia	Edad		Sexo		Valor p	
		6-9	10-12	M	F	Edad	Sexo
<i>F.n. – P.g.</i>	20/30	14/18	6/12	16/20	4/10	0.690	0.431
<i>F.n-T.d.</i>	16/30	12/18	4/12	12/20	4/10	0.492	0.431
<i>P.g-T.d.</i>	16/30	12/18	4/12	12/20	4/10	0.492	0.694
<i>F.n-P.g-T.d</i>	16/30	12/18	4/12	12/20	4/10	0.442	-

No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la presencia de bacterias, ya sea individuales o en combinación, con las variables edad o sexo en ninguno de los grupos estudiados ($p > 0.05$ para todas las comparaciones).

DISCUSIÓN

La enfermedad periodontal presenta características particulares que no se ajustan a los principios de Koch expuestos por Volcy⁽¹⁶⁾. Como señaló Socransky⁽¹⁷⁾, para su desarrollo se requieren no solo la presencia bacteriana, sino cantidades significativas de microorganismos, factores de virulencia específicos y una respuesta inmunológica en el área afectada.

El complejo rojo, compuesto por *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, representa el grupo de bacterias más patógenas en la enfermedad periodontal. Este estudio analizó su presencia en niños hospitalizados en UCI y niños sanos, encontrando resultados que contradicen estudios previos como el de Bascones et al.⁽¹⁸⁾ que sugería la ausencia de estas bacterias en niños, y Kulekci et al.⁽¹⁹⁾ que reportaban prevalencias menores.

Los hallazgos para *P. gingivalis* mostraron una prevalencia del 19% en niños hospitalizados y 66% en niños sanos, difiriendo significativamente de Ismail et al.⁽²⁰⁾ quienes reportaron prevalencias del 2% y 4% en niños sanos y diabéticos. Estos resultados también contrastan con Cortelli et al.⁽²¹⁾ y Kimura et al.⁽²²⁾ quienes no detectaron esta bacteria en niños de 6 a 13 años.

T. forsythia se detectó en un 11% de los niños hospitalizados y estuvo ausente en niños sanos, contrastando con Cortelli et al.⁽²¹⁾ donde la prevalencia alcanzó el 52%, y con Aranganal et al., 2013.⁽¹⁾ quienes reportaron 4% en niños sanos y 34% en diabéticos. *T. denticola* presentó una prevalencia del 23% en hospitalizados y 53% en sanos, similar a lo reportado por Cortelli et al.⁽²¹⁾ con 54% en niños sanos.

El complejo naranja, que incluye *Fusobacterium nucleatum* y otras especies, juega un papel fundamental en la etiopatogenia periodontal. *F.*

nucleatum se identificó en el 57% de niños hospitalizados y 66% de niños sanos, coincidiendo con Duque et al.⁽²⁴⁾ Barca et al.⁽²⁵⁾ destacaron su importancia en niños hospitalizados por su asociación con complicaciones sistémicas como cardiopatías, endocarditis y meningitis.

Vega-Chin et al.⁽²⁶⁾ demostraron una alta prevalencia de gingivitis y cálculo asociada a bacterias del complejo rojo, encontrando que el 68.42% de las muestras presentaban estas bacterias, con un 96.8% de los niños mostrando gingivitis leve. Estudios recientes de Carelli et al.⁽²⁶⁾ encontraron una relación entre el control glucémico y la presencia bacteriana en niños diabéticos, mientras que Motoc et al.⁽²⁸⁾ identificaron asociaciones entre patógenos específicos y variables como la dieta temprana y el pH salival.

La colonización bacteriana no mostró asociaciones significativas con el sexo, coincidiendo con Kulekci et al.⁽¹⁹⁾ y Gafan et al.⁽²⁹⁾, ni con la edad.

La naturaleza dinámica de la microbiota oral y su susceptibilidad a múltiples influencias subrayan la importancia de implementar estrategias de prevención tempranas, especialmente en poblaciones vulnerables como los pacientes pediátricos hospitalizados, considerando los hallazgos de todos los estudios citados anteriormente^(19,27).

CONCLUSIÓN

A pesar de que los niños no presentan un ambiente oral típicamente favorable para el desarrollo de estas bacterias, se evidencia una significativa colonización temprana en la cavidad oral por bacterias consideradas periodontopatógenas en ambos grupos estudiados. Su presencia representa un marcador de riesgo para posibles desarrollos de desequilibrios en el periodonto o, en situaciones extremas, para agravar las condiciones sistémicas de los niños.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Antonio Díaz Caballero: Diseño del estudio. Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito. Evaluación estadística.

Luis Eduardo Carmona Arango: Diseño del estudio. Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito.

Carlos Guerrero Guerrero: Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito.

Kendy Canoles Varela: Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito.

Wendy Cortes Carrasquilla: Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito.

Ángel Alfonso Guzmán Corena: Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito.

Jaime Enrique Plazas Román: Recolección de datos. Análisis de Resultados. Redacción del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(1):122. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_304_18.
2. Sampaio-Maia B, Caldas IM, Pereira ML, Pérez-Mongiovi D, Araujo R. The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. *Adv Appl Microbiol.* 2016;97. doi: 10.1016/bs.aambs.2016.08.002.
3. Daalderop LA, Wieland BV, Tomsin K, Reyes L, Kramer BW, Vanterpool SF, et al. Periodontal Disease and Pregnancy Outcomes: Overview of Systematic Reviews. *JDR Clin Transl Res.* 2018;3(1):10–27. doi: 10.1177/2380084417731097.
4. Schulz S, Porsch M, Grosse I, Hoffmann K, Schaller HG, Reichert S. Comparison of the oral microbiome of patients with generalized aggressive periodontitis and periodontitis-free subjects. *Arch Oral Biol.* 2019;99:169–176. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.01.015.
5. Russo M, Calevo MG, D'Alessandro G, Tantari M, Migliorati M, Piccardo I, et al. Influence of maternal oral microbiome on newborn oral microbiome in healthy pregnancies. *Ital J Pediatr.* 2023;49(1):140. doi: 10.1186/s13052-023-01520-w
6. Azevedo MJ, Garcia A, Costa CFFA, Ferreira AF, Falcão-Pires I, Brandt BW, et al. The contribution of maternal factors to the oral microbiota of the child: Influence from early life and clinical relevance. *Jpn Dent Sci Rev.* 2023;59:191-202. doi: 10.1016/j.jdsr.2023.06.002
7. Pieren DKJ, Boer MC, de Wit J. The adaptive immune system in early life: The shift makes it count. *Front Immunol.* 2022;13:1031924. doi: 10.3389/fimmu.2022.1031924
8. Lif Holgersson P, Esberg A, Sjödin A, West CE, Johansson I. A longitudinal study of the development of the saliva microbiome in infants 2 days to 5 years compared to the microbiome in adolescents. *Sci Rep.* 2020;10(1):9629. doi: 10.1038/s41598-020-66658-7
9. Kahharova D, Brandt BW, Buijs MJ, Peters M, Jackson R, Eckert G, et al. Maturation of the Oral Microbiome in Caries-Free Toddlers: A Longitudinal Study. *J Dent Res.* 2020;99(2):159-167. doi: 10.1177/0022034519889015.
10. Li H, Xiao B, Zhang Y, Xiao S, Luo J, Huang W. Impact of maternal intrapartum antibiotics on the initial oral microbiome of neonates. *Pediatr Neonatol.* 2019;60(6):654-661. doi: 10.1016/j.pedneo.2019.03.011
11. Dzidic M, Collado MC, Abrahamsson T, Artacho A, Stensson M, Jenmalm MC, et al. Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *ISME J.* 2018;12(9):2292-2306. doi: 10.1038/s41396-018-0204-z
12. Manchanda S, Cheung BPK, Lee GHM, Lo ECM, Yiu CKY. Quantitative analysis of salivary and biofilm bacteria associated with cavitated and non-cavitated carious lesions in pre-school children. *Arch Oral Biol.* 2023;146:105607. doi: 10.1016/j.archoralbio.2022.105607
13. Moldován A, Rózsa N, Herczegh A. The role of probiotics in oral health. *Orv Hetil.* 2023;164(24):942–947. doi: 10.1556/650.2023.32779.
14. Di Stefano M, Polizzi A, Santonocito S, Romano A, Lombardi T, Isola G. Impact of Oral Microbiome in Periodontal Health and Periodontitis: A Critical Review on Prevention and Treatment. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):5142. doi: 10.3390/ijms23095142
15. Fernandes M, Azevedo MJ, Campos C, Ferreira AF, Azevedo Á, Falcão-Pires I, et al. Potential Pathogenic and

- Opportunistic Oral Bacteria in Early Life: The Role of Maternal Factors in a Portuguese Population. *Pathogens*. 2023;12(1):80. doi: 10.3390/pathogens12010080. PMID: 36678427; PMCID: PMC9867333.
16. Volcy C. Genesis and evolution of Koch postulates and their relationship with phytopathology. A review. *Agron Colomb*. 2008;26:107–115.
17. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):134-44. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x
18. Bascones A, Caballero A. *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas Gingivalis* as principal periodontal pathogens. *Av En Periodoncia E Implantol Oral*. 2000;12(2):69–75.
19. Kulekci G, Leblebicioglu B, Keskin F, Ciftci S, Badur S. Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. *Anaerobe*. 2008 Feb;14(1):49-54. doi: 10.1016/j.anaerobe.2007.08.001
20. Ismail AF, McGrath CP, Yiu CKY. Oral health status of children with type 1 diabetes: a comparative study. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;30(11):1155–1159. doi: 10.1515/jpem-2017-0053.
21. Cortelli JR, Fernandes CB, Costa FO, Cortelli SC, Kajiya M, Howell SC, Kawai T. Detection of periodontal pathogens in newborns and children with mixed dentition. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31(6):1041-50. doi: 10.1007/s10096-011-1405-9
22. Kimura S, Ooshima T, Takiguchi M, Sasaki Y, Amano A, Morisaki I, et al. Periodontopathic bacterial infection in childhood. *J Periodontol*. 2002;73(1):20-6. doi: 10.1902/jop.2002.73.1.20
23. Arangannal P, Santoshkumari, Krishnan P, Nichani MH, Krishnan M, Chamarthi V. Detection of putative periodontopathic bacteria in type 1 diabetic and healthy children: a comparative study. *Indian J Dent Res*. 2013;24(3):342-6. doi: 10.4103/0970-9290.118000
24. Duque C, João MF, Camargo GA, Teixeira GS, Machado TS, Azevedo RS, Mariano FS, et al. Microbiological, lipid and immunological profiles in children with gingivitis and type 1 diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci*. 2017;25(2):217-226. doi: 10.1590/1678-77572016-0196
25. Shammas NW, Murphy GW, Eichelberger J, Klee D, Schwartz R, Bachman W. Infective endocarditis due to *Fusobacterium nucleatum*: case report and review of the literature. *Clin Cardiol*. 1993;16(1):72-5. doi: 10.1002/clc.4960160116
26. Vega-Chin A, Fuente SS de la, Gómez-Fernández A, Lucía Ortiz-Acuña L, Mora-González A, Rodríguez-Masís R, et al. Gingival State and Presence of Red Complex Bacteria in 12-Year-Old Schoolchildren. *Odvotos Int J Dent Sci*. 2022;24(3):161–175. doi: 10.15517/ijds.2022.50633
27. Carelli M, Maguolo A, Zusi C, et al. Oral Microbiota in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus: Novel Insights into the Pathogenesis of Dental and Periodontal Disease. *Microorganisms*. 2023;11(3):668. doi: 10.3390/microorganisms11030668.
28. Motoc GV, Juncar RI, Moca AE, Motoc O, Ligia Vaida L, Mihai Juncar M. The Relationship between Age, Gender, BMI, Diet, Salivary pH and Periodontal Pathogenic Bacteria in Children and Adolescents: A Cross-Sectional Study. *Biomedicines*. 2023;11(9):2374. doi: 10.3390/biomedicines11092374.
29. Gafan GP, Lucas VS, Roberts GJ, Petrie A, Wilson M, Spratt DA. Prevalence of periodontal pathogens in dental plaque of children. *J Clin Microbiol*. 2004;42(9):4141-6. doi: 10.1128/JCM.42.9.4141-4146.2004