



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO
FACULTAD DE MEDICINA

POSGRADO EN ODONTOPEDIATRIA

T E S I S

"Cuantificación de inmunoglobulinas en saliva y cultivo de Estreptococo mutans en niños menores de 12 años con múltiples caries"

Que como parte de los requisitos para obtener el diploma de especialidad en

ODONTOPEDIATRIA

Presenta

C.D. ALEJANDRA FLORES PAREDES

Director de Tesis

C.D.E.O. MONICA ORTIZ VILLAGOMEZ

Asesor Metodológico

MINERVA ESCARTIN CHAVEZ

Santiago de Querétaro, Querétaro.
Marzo, 2003.

No. Adq. TS67744

No. Titulo _____

Clas. 617.07

F 637c

1



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE MEDICINA
POSGRADO EN ODONTOPEDIATRIA

**“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y
CULTIVO DE ESTREPTOCOCCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12
AÑOS CON MULTIPLES CARIES”**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el diploma de especialidad en
ODONTOPEDIATRIA

Presenta

C.D ALEJANDRA FLORES PAREDES

Dirigido por:

C.D.E.O. MONICA ORTIZ VILLAGOMEZ

SINODALES

C.D.E.O. Mónica Ortiz Villagómez
Presidente

M. C Carlos Arroyave Hernández
Secretario

M.C Minerva Escartín Chávez
Vocal

M.C Genaro Vega Malagón
Suplente

C.D.E.O Guillermo Ortiz Villagómez
Suplente

Med. Esp. Jesús Vega Malagón
Director de la Facultad de Medicina

FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA

Dr. Sergio Quesada Aldana.
**Director de Investigación y
Posgrado**

**CENTRO UNIVERSITARIO
QUERETARO, QUERETARO.
FEBRERO 2003
MÉXICO.**

RESUMEN

El *Streptococo mutans* ha sido implicado como el principal agente causal de la caries dental. La saliva contiene muchos agentes inmunoglobulínicos y no inmunoglobulínicos que pueden interferir en la adhesión, multiplicación o metabolismo bacteriano.

De acuerdo al orden de severidad de la caries dado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), México está ubicado con una puntuación severa. El objetivo en este proyecto es detectar y cuantificar las Inmunoglobulinas A, G y M (IgA, IgG, IgM) e identificar el papel que juegan en conjunción con el número de colonias de la bacteria del *Streptococo mutans* para la aparición de la caries dental. La asociación entre estas dos variables nos dará información con respecto a la medición de la predisposición, susceptibilidad y riesgo de infección por caries. **Material y métodos:** Este estudio de tipo analítico, prospectivo y transversal, se realizó con 28 pacientes menores de 12 años de edad que presentaran manifestaciones clínicas de caries, y un grupo control de 28 niños que no las presentaran. Se incluyeron a todos los niños menores de 12 años y se excluyeron solo a niños con algún tipo de padecimiento que pudiera alterar los resultados tales como: xerostomía, síndrome de Sjögren, alteraciones neurológicas entre otros. A todos los niños se les realizó una historia clínica, cuantificación de *Streptococo mutans* mediante la técnica Dentocoult SM así como la concentración de las diferentes inmunoglobulinas A, G, M mediante la técnica de nefelometría usando muestras de saliva. **Resultados:** Se encontró una frecuencia mayor de afección por caries en el sexo masculino que el femenino. Existe un incremento en la concentración de IgA conforme aumenta la edad. La concentración de la inmunoglobulina A disminuye en pacientes con caries dental ($p < 0.03$). El recuento de *Streptococo mutans* en los niños con caries fue alto ($> 10^5$ ufc/mL) en el 82% de los casos en comparación con 39% del grupo de niños sin caries. **Conclusión:** Existe una asociación directa entre la presencia de *Streptococo mutans* $> 10^6$ ufc/mL y la presencia de la caries dental y una disminución de la IgA cuando existen caries dentales, estando asociada la edad del paciente con la concentración de IgA.

Palabras clave: Caries dentales, inmunoglobulinas, *Streptococo mutans*

SUMMARY

Streptococcus mutans has been implicated as the mayor causative agent of dental caries.

The salivary contains many agents immunoglobulínics and not immunoglobulínics that can to interfere in the adhesion, multiplication or metabolism bacterial.

According to the order of severity of caries given by the World Organization of the Health (WOH), México is located with a severe punctuation. The objective of this research was to detect and to quantify the immunoglobulins A, G and M (IgA, IgG, IgM) and to identify the paper that they play in conjunction with the number of colonies of *Estreptococo mutans* for the appearance of dental cavity. The association between these two variables will give us information with regard to the mensuration of the bias, susceptibility and infection risk for caries. **Material and methods:** The present study is analytic, prospective and traverse; was carried out in 28 patients smaller than 12 years old that presented clinical manifestations of caries, and a control group of 28 children that didn't present them. They were included all the children smaller than 12 years old and they were excluded alone to children with some type of suffering that could alter the such results as: xerostomía, syndrome of Sjögren, neurological alterations among others. To all the children they were carried out a clinical history, quantification of *Estreptococo mutans* by means of the technical Dentocoult SM as well as the concentration of the different immunoglobulins A, G, M by means of the nefelometric technique using salivary. **Results:** was a bigger frecueny affection for cavity in the male sex than female. An increment exists in the concentration of IgA according to the age it increases. The concentration of the IgA diminishes in patients with dental caries ($p < 0.03$). The recount of *Estreptococo mutans* in children with cavity was higher ($> 10^5$ CFU/mL) in 82% of the cases in comparison with 39% in the children without cavity. **Conclusion:** A direct association exists between the presence of *Estreptococo mutans* $> 10^6$ cfu/mL and the presence of the dental cavity; and a decrease of the IgA when cavity dental exist, being associate the patient's age with the concentration of IgA.

Key words: Decay dental, inmunoglobulinas, *Estreptococo mutans*

DEDICATORIAS

A DIOS:

Por haberme hecho hija suya, y así estar siempre a mi lado, dándome la fortaleza, amor e inteligencia para realizar mis estudios.

A MIS PADRES:

Por ser a través de Dios los seres que me dieron la vida y me guiaron para lograr alcanzar cada una de mis metas, deseos y alegrías.

A MIS MAESTROS:

A mis maestros que contribuyeron a lo largo de toda mi vida profesional y de la vida, por su disposición incondicional para transmitirme su sabiduría y conocimientos.

A MIS PACIENTES:

Por su confianza y colaboración en la realización de este trabajo y por ser el móvil de todo profesional para buscar el conocimiento y la superación.

A MIS HERMANOS

Por ser mi apoyo y sostén y creer en mí.

AL DR. CARLOS M. ARROYAVE HERNANDEZ:

Por su confianza, su disposición incondicional, por compartir su tiempo y conocimientos para realizar y dirigir este trabajo provechoso para nuestra comunidad odontopediátrica. Por ser además de un maestro un amigo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Minerva Escartín Chávez por haber revisado el texto y sus atinados comentarios para mejorarlo.

A la Dra. Mónica Ortiz Villagómez por su preocupación para obtener el mejor aprendizaje y su confianza en la realización de este proyecto.

Al Dr. Genaro Vega Malagón y Dra. Teresa Ortiz, por su interés de llevar a un buen termino el trabajo de tesis.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	v
INDICE FIGURAS	vi
INDICE DE CUADROS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II.- REVISION DE LITERATURA	3
III.- METODOLOGIA	20
IV. RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	40
V.- LITERATURA CITADA	41

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 Frecuencia de género en 56 pacientes menores de 12 años de edad con caries y sin caries dental	26
FIGURA 2 Concentración de IgA en función de la edad en 28 pacientes menores de doce años con caries dental.....	28
FIGURA 3 Concentración de IgA en función de la edad en 28 pacientes menores de doce años sin caries dental	29
FIGURA 4 Concentración de IgA en 56 pacientes con caries y sin caries dental.....	31
FIGURA 5 Concentración de IgG en función de la edad en 28 pacientes menores de 12 años con caries dental	32
FIGURA 6 Concentración de IgG en función de la edad en 28 pacientes menores de 12 años sin caries dental	33
FIGURA 7 Concentración de IgG en saliva de 56 pacientes menores de 12 años con caries y sin caries.....	35
FIGURA 8 Recuento de colonias de <i>Streptococo mutans</i> en 56 pacientes menores de 12 años con y sin caries dental	36
FIGURA 9 Frecuencia del número de dientes afectados por caries en 28 niños menores de 12 años de edad	37

INDICE DE CUADROS

CUADRO 1 Distribución de los pacientes pediátricos con caries y sin caries	26
CUADRO 2 Distribución etárea de 56 pacientes con caries y sin caries dental	27
CUADRO 3 Análisis estadístico de los valores presentados en la figura 4.....	30
CUADRO 4 Análisis estadístico de los valores representados en la figura 7.....	34
CUADRO 5 Porcentaje de dientes afectados cuando los niños se presentan a consulta por caries	37

I.- INTRODUCCION.

Se ha descrito que el *Streptococo mutans* (Sm) está asociado a pacientes con caries dental, hecho de esperarse ya que se ha llegado a sugerir que la presencia de esta bacteria es indispensable para que la caries se produzca. Niveles altos ($>10^6$ cfu/mL) de *Streptococo mutans* se han encontrado en la saliva y placa dental aún sin evidencia de lesiones cavitarias (Harold, 1998).

La saliva contiene una variedad de agentes inmunoglobulínicos que pueden interferir en la adhesión, multiplicación o metabolismo bacteriano, sin embargo la posible asociación entre la caries dental y las proteínas de actividad antimicrobiana es hasta el momento muy controvertida, ya que estas pueden ser afectadas por diferentes fenómenos, como variaciones intra e inter individuales, momentos y tiempos de infección e interacciones entre ellas mismas, que pueden potenciar o disminuir sus funciones.

En niños que padecen malnutrición proteico-calórica en los países en vías de desarrollo, se ha observado una disminución de la IgA salival, sugiriendo que niveles alterados de esta podrían aumentar la susceptibilidad a la caries (Bascones, 2000). Otros investigadores han observado una disminución de IgA salival en el momento en que se realiza la remoción de lesiones cariosas (Kugler, 1996), y por último, se sabe que la IgA limita la adherencia así como la penetración de antígenos sobre la mucosa.

El conocer el grado de intervención del sistema inmunológico, detectar y cuantificar el tipo de microorganismos presentes en la cavidad oral tales como el *Streptococo mutans* y su relación con el sistema inmune, nos dan información para adoptar estrategias que ayuden a medir la predisposición, susceptibilidad y riesgo de infección por caries tanto en pacientes con múltiples caries así como en los que se encuentran libres de ella o bien con múltiples restauraciones dentales. El conocimiento de los factores causales de una enfermedad, es clave para establecer la prevención de ésta, y en caso necesario adoptar las medidas terapéuticas adecuadas, teniendo como objetivo final, mejorar el pronóstico de patología bucal.

Algunos países desarrollados han podido controlar el problema de la caries como medida de salud pública, en contraste con Latinoamérica, en donde la incidencia de caries aumenta a ritmo

exponencial y tiene dimensiones de pandemia, sobre todo en los sectores de población socioeconómica más desfavorecidos. La única forma de hacer que este problema se controle, es por medio de la odontología preventiva desde la niñez, siendo esta eficaz cuando existe corresponsabilidad entre la familia y el profesional de la odontología, teniendo este último, la necesidad de conocer y manejar los aspectos culturales y de salud de la población a tratar.

Los estudios reportados a la fecha, no concluyen que haya asociación entre estas tres variables; inmunoglobulinas, presencia de *Streptococo mutans* y desarrollo de la caries dental. Considerando estos aspectos es deseable en Medicina preventiva pediátrica, investigar estas variables en nuestro medio mexicano.

La inmunoglobulina A tiene acción en la protección de las mucosas (Tenovuo, 1991). Por lo que sería de interés el conocer la concentración de esta así como de IgG e IgM en saliva en niños con caries dental y saber si estas se asocian con el número de *Streptococo mutans* ya que se tiene poca información en nuestro medio con respecto a esto.

HIPOTESIS

Como hipótesis de trabajo postulamos que hay asociación entre la concentración baja de inmunoglobulinas, recuentos altos de *Streptococo mutans* y desarrollo de caries dental.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la concentración de las inmunoglobulinas salivales, en presencia de *Streptococo mutans* y caries dental en pacientes pediátricos menores de 12 años.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar el sexo más afectado por la caries dental
- Identificar los grupos de edad de mayor riesgo para la aparición de la caries dental.
- Evaluar la relación que existe entre la concentración de inmunoglobulinas A, G y M y los recuentos de *Streptococo mutans*.

II. REVISION DE LA LITERATURA

La caries dental es una enfermedad bacteriana e infecciosa donde el *Streptococo mutans* es el principal agente causal.

Se define a la caries dental como una enfermedad microbiana de los tejidos calcificados de los dientes que se caracteriza por la desmineralización de la porción inorgánica y la destrucción de la sustancia orgánica del diente.

Es la enfermedad crónica del diente más frecuente que afecta la raza humana. Afecta a personas de ambos sexos, todas las razas, de todos los estratos socioeconómicos y grupos de edad.

Epidemiología de la caries dental

Es sin duda el padecimiento con mayor prevalencia. Se calcula que alrededor del 95% de la población mundial se encuentra afectada.

La civilización moderna y el aumento en la caries dental son constantes en su asociación, encontrándose que las tribus aisladas primitivas están relativamente libres de caries. Existen pruebas que indican que los negros, los chinos y los indios del Este tienen un promedio considerablemente menor de caries que los blancos estadounidenses. Los ingleses tienen dientes muy malos y una frecuencia de caries más alta que los italianos, los soviéticos o los chinos (Shafer,1986). Aunque puede existir cierto grado de resistencia racial a la enfermedad, el factor dietético parece ser el más importante, sobre todo porque la frecuencia aumenta por el contacto con las comidas "civilizadas".

En Estados Unidos, cuando los niños alcanzan la edad escolar, tienen un aumento en la frecuencia de lesiones cariosas, siendo el incremento de caries de aproximadamente de un diente cariado, perdido, obturado (CPO) y de dos superficies CPO por niño y por año de asistencia escolar.

Un estudio hecho en las escuelas de Hagerstown a 4, 416 niños entre los seis y 15 años de edad, se encontró que el 50% de los niños y el 56% de las niñas tenían caries en los dientes

permanentes a la edad de ocho años y a los 14 años esta tasa de caries se había elevado al 95% y al 96% respectivamente (Barrancos, 1981).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, el índice de dientes cariados perdidos y obturados (CPO) a los doce años, indicador mundialmente aceptado para valorar la salud bucal y los niveles de severidad, se definen considerando los criterios presentados en el cuadro 1.

CUADRO 1

Índice de dientes cariados perdidos y obturados (CPO) ¹⁷	
Severidad	Clasificación
Muy Bajo	0.0-----1.1
Bajo	1.2-----1.6
Severo	4.5-----6.5
Muy severo	6.6-----y mayores

Fuente: Organización Mundial de la salud, 1998.

México es calificado como un país con un CPO de 5.3, aún cuando hay cifras por arriba de este valor y el 95% de la población infantil se encuentra afectada por caries dental (La Salud en las Américas, 1998). Según cifras de la Secretaría de Salud del Estado de Querétaro, las enfermedades bucales afectan en promedio al 53% de los habitantes (Narro, 1998).

Etiología de la caries dental

No existe una opinión universal aceptada acerca de la etiología de la caries dental, y la más aceptada es la teoría química-parasitaria de Miller o teoría acidógena, pero en la actualidad se le considera multifactorial.

Teoría quimio-parasitaria o acidógena de Miller

Esta teoría expresa que la caries se desarrolla como resultado de un proceso que ocurre en dos fases:

- 1) Descalcificación y reblandecimiento por la acción de bacterias acidógenas.

2) Disolución del tejido reblandecido por la acción de microorganismos proteolíticos (Shafer,1986; Barrancos,1981).

Miller encontró que el pan, la carne y el azúcar incubados in vitro con la saliva a la temperatura del cuerpo, producían suficiente ácido en 48 horas para descalcificar a la dentina sana. La formación de ácido se podía impedir mediante ebullición, con lo que se confirmó el probable papel de las bacterias en su producción. Simultáneamente se aislaron numerosos microorganismos de la cavidad bucal, muchos de los cuales eran acidógenos y algunos proteolíticos. Como varias de estas formas bacterianas podían formar ácido láctico, Miller concluyó que la caries no era causada por un sólo germen, sino por varios.

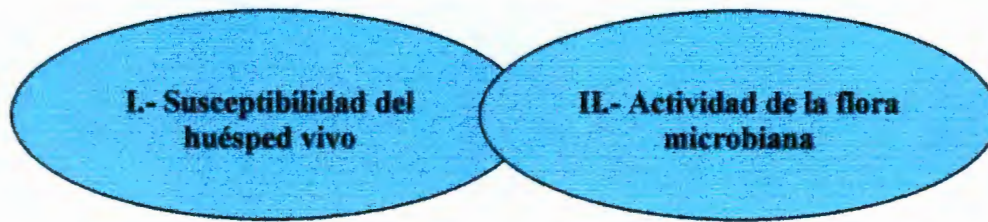
Casi todas las pruebas científicas implican a los carbohidratos, microorganismos bucales y a los ácidos (Shafer, 1986; Barrancos, 1981; Mc Donald and Avery, 1996; Bascones, 2000) y se dice que los carbohidratos que se fermentan con rapidez, son los responsables de la pérdida de la resistencia a la caries, ya que estos se unen con las proteínas y otros compuestos y no están dispuestos para la degradación microbiana. La cariogenicidad de un carbohidrato de la dieta varía con la frecuencia de ingestión, la forma física, la composición química, la vía de administración y la presencia de otros constituyentes de la comida. Los carbohidratos sólidos pegajosos son más productores de caries que los que se consumen en forma líquida. La placa bacteriana fermenta con menos facilidad los polisacáridos que los monosacáridos y a los disacáridos. Los hidratos de carbono puros y refinados, producen más caries que los complejos de carbohidratos crudos, combinados con otros elementos de la comida que reducen la solubilidad del esmalte o que poseen propiedad anti- bacteriana (Landre, 1983).

Concepto actual de la etiología de la caries

El concepto quimio-parasitario fue el más aceptado para mediados de este siglo, pero en la actualidad parece insuficiente e incorrecto. Se sabe que la etiología de la caries se enfoca desde distintos puntos de vista siendo esta una afección multifactorial, como se ve en forma simple con cuatro círculos que representan diferentes elementos, tal y como se ve en el esquema siguiente (Keyes ,1962; Shafer,1986).



Roitt y Lehiner, 1983 modificaron el esquema al sustituir el tiempo por anticuerpos y Larmas, 1985 integró todos los factores anteriores en dos parámetros:



I.- Factores secundarios relacionados con la susceptibilidad del huésped vivo

- a) Resistencia dental del esmalte, dentina, flúor, factores genéticos y propiedades intrínsecas.
- b) Saliva que incluye: velocidad de flujo, taponamiento, anticuerpos, enzimas, urea e iones.
- c) Alimentación que incluye: vitaminas y hormonas.

II.- Factores secundarios asociados con la actividad de la flora microbiana

- a) Adherencia que involucra hábitos alimentarios, higiene bucal, dextranos y enzimas.
- b) Producción de ácidos que involucra ecología de la placa, interferencias bacterianas y comida azucarada.
- c) Crecimiento microbiano que involucra, nutrientes, medicamentos y virulencia.

Factor dental

La materia inorgánica del esmalte y la dentina consiste en cristales de apatita, cuyos componentes iónicos pueden ser reemplazados por iones foráneos tales como carbonato, flúor, cinc y oligoelementos. La composición de los cristales, se asemeja a la del líquido contenido en

los tejidos que le dan origen. El mayor grado de calcificación del esmalte superficial, se debe a su constante exposición a la saliva cargada de iones fosfato y carbonato de calcio. Esta calcificación ocurre con mayor intensidad en el esmalte joven y luego va decreciendo por maduración del diente ya que los poros se van cerrando y la permeabilidad va disminuyendo. El esmalte está constituido por cristales delgados de un mineral del tipo de la hidroxiapatita rodeado por una matriz de agua y material orgánico. Es poroso y no se le debe considerar como una masa sólida de hidroxiapatita. La apatita del esmalte posee entre 2 y 4 % de carbonato y 1% de metales distintos de calcio incorporados en la estructura cristalina. Las proteínas, lípidos y agua, forman los canales de difusión por los cuales pasan los distintos compuestos químicos durante los procesos de desmineralización-rem mineralización. El colágeno de la dentina, se encuentra formado de fibras que en estado fresco son de color blanco. El esmalte de la superficie es más resistente a la caries que el de la sub-superficie, probablemente porque el primero está más mineralizado y tiende a acumular mayor cantidad de fluoruro, cinc, plomo y hierro que el esmalte subyacente. La superficie es más baja en bióxido de carbono, disuelve más lentamente los ácidos, contiene menos agua y tiene más material orgánico que el esmalte de la sub-superficie. Los componentes orgánicos incluyen, lípidos, proteínas, péptidos, carbohidratos, citrato y lactato.

El espesor del esmalte superficial es de 0.1 a 0.2 mm y tiene menos materia orgánica que el esmalte subyacente.

Las características morfológicas de los dientes también tiene que ver con la predisposición para el desarrollo de la caries dental. La hipoplasia del esmalte aumenta la predisposición al desarrollo de la caries dental observándose que entre más afectado esté el diente más extensa será la caries. La presencia de fisuras oclusales profundas, angostas o fosetas linguales, tienden a atrapar comida, bacterias y residuos contribuyendo así al desarrollo rápido de caries (Barrancos, 1986; Mc Donald and Avery, 1990).

Factor saliva

La cavidad bucal dispone de numerosos mecanismos de defensa dependientes de las propiedades de la saliva y/o de la concentración de sus componentes. Se ha demostrado que las variaciones en la composición química de la saliva pueden producir considerables cambios en el estado de la salud bucal. Numerosos estudios han relacionado la experiencia de caries

con aspectos fisico-químicos de la saliva (flujo salival, pH, capacidad amortiguadora) o con los componentes salivales de actividad antimicrobiana. El efecto inhibitorio de la saliva y en casos bactericida, de alguno de sus componentes frente a una variedad de microorganismos orales potencialmente patógenos está bastante documentada in vitro. Sin embargo escasas son las evidencias de las mismas funciones en vivo y menos aún sobre el rol que podrían jugar en la prevención de las infecciones orales. Es importante tener en cuenta que en vivo ninguno de los factores salivales actúa en forma aislada. Por el contrario la acción protectora de la saliva resulta compleja así como la interacción de sus constituyentes. La saliva contiene una alta proporción de microorganismos residentes y el cambio de la flora comensal a patógena provoca situaciones fluctuantes que dependen tanto de las agresiones permanentes que recibe el ambiente oral, como de la capacidad de defensa que pueda desarrollar el huésped.

La saliva esta compuesta por 95% agua y 0.5% sólidos orgánicos e inorgánicos teniendo un pH de 6.2 a 7.4. Diariamente se produce un volumen de 1 a 1.5 litros y durante el sueño se produce poca cantidad de saliva. En reposo se producen 0.4 mL/min y estimulada por la masticación 2 mL/min. La cantidad de saliva secretada en un período determinado, puede teóricamente influir en la frecuencia de la caries. La importancia de diferenciar entre saliva de descanso y estimulada es obvia, puesto que la composición es diferente y las condiciones se deben especificar cuando se informan los datos científicos. La compleja naturaleza de la saliva y la gran variación que presenta en su composición, son premonitorias de las dificultades que se encuentran para establecer que factores pueden influir en forma directa sobre la salud dental (Shafer, 1986).

Los componentes inorgánicos de la saliva son: sodio, potasio, magnesio, carbonato, cloruro, fluoruro, calcio y fósforo. Estos últimos muestran una considerable variación, en su concentración dependiendo de la velocidad de secreción, teniendo valores mayores en la saliva que fluye con lentitud. Se dice que el contenido de calcio y fósforo de la saliva es bajo en las personas que tienen caries activa pero la mayoría de los investigadores, no han podido confirmar este hallazgo (Shafer, 1986).

Los componentes orgánicos son: mucina y colesterol encontrándose este último en una concentración de 2.3 a 5.0 mg 100/mL, desconociéndose a la fecha su función. Otros componentes encontrados son el amoniaco y urea. La saliva de las personas inmunes a la caries

muestran un mayor contenido de amoniaco que la contenida en las personas con caries. La única diferencia de la saliva en personas susceptibles a caries y de personas libres de caries es el contenido de amoniaco (Shafer,1986). Una alta concentración de amoniaco retarda la formación de placa y neutraliza el ácido. En personas susceptibles a caries, la concentración es de 8.0 mg/100mL contra 4.0 a 10 mg/100 mL en personas inmunes (Dowd,1999). Se sabe que el fluoruro de amonio actúa sobre la glucosyltransferasa y controla la acumulación de placa dentobacteriana, encontrándose que la disminuye e incluso desaparece. Desde hace más de 30 años, se les conoce como agentes anticaries al fluoruro de amonio así como a la clorhexidina (Steinberg y col, 1999). La absorción del fluoruro de amonio sobre la superficie es de más del 90%. La preabsorción de la superficie ocasiona que la bacteria se adhiera más a la superficie pero la mata (Shani y col, 2000). La urea puede hidrolizar a carbonato de amoniaco por la ureasa lo que aumenta el poder neutralizante de la saliva.

La saliva no es rica en glucosa encontrándose de 11.3 a 28.1 mg/100mL en saliva de descanso y de 14.0 a 30 mg/100 mL en saliva estimulada.

Se han aislado varias enzimas derivadas de fuentes intrínsecas y extrínsecas, siendo la más importante la amilasa o la ptialina responsable de la degradación de los almidones. La saliva de la parótida siempre tiene mayor cantidad de amilasa que la saliva proveniente de otras glándulas y se describe una alta actividad amilolítica con baja frecuencia de caries.

La saliva como un fluido biológico único tiene que ser considerada en sus efectos sobre los dientes. La grandeza de la saliva se debe a la gran cantidad de componentes contenidos en ella y las variadas funciones que tienen cada uno de ellos (Dowd,1999). Existen cuatro funciones importantes de la saliva: habilidad amortiguadora, efecto limpiador, acción antibacteriana y mantener la saturación de fosfato de calcio.

Es imposible conocer el contenido salival normal de fósforo, calcio o cualquier otro elemento como se hace en la sangre, sin que se consideren las condiciones exactas en las que se llevaron a cabo las determinaciones. Aumento o disminución moderada en la secreción puede tener poca importancia, las reducciones totales o casi totales afectan en forma adversa la caries dental de manera obvia. La velocidad de secreción salival normalmente está relacionada con la capacidad buffer, aunque en estudios resientes no se ha encontrado relación (Calamari,2001).

Estas observaciones son concordantes con lo detectado en adolescentes y niños por otros autores quienes atribuyen el fenómeno observado a los efectos producidos por la dieta. Se ha sugerido que dietas ricas en proteínas y vegetales con bajo contenido en carbohidratos favorecen el incremento en la capacidad buffer en la saliva.

Se ha sugerido que la viscosidad de la saliva tiene alguna importancia para juzgar la diferencia en la actividad de la caries entre las distintas personas. La viscosidad de la saliva se debe al contenido de mucina derivada de las glándulas submaxilares, sublinguales y accesorias pero su importancia no está bien aclarada.

Van Kesteren encontró que la saliva tiene al menos dos sustancias antibacterianas, una de las cuales se parece a la lisozima. Green informó de un factor bacteriolítico en la saliva de las personas inmunes a la caries, que no se encuentra en la saliva de las personas susceptibles a esta enfermedad; este factor es una sustancia proteica asociada con la fracción globulina de la saliva, activo contra Bacilos y Estreptococos.

Factor bacteriano (microorganismos)

Las propiedades antibacterianas de la saliva han sido establecidas desde 1934, cuando Clough demostró con 400 salivas en cajas de cultivo, inhibición del crecimiento del *L. acidophilus*, lo cual no se observó cuando la saliva era filtrada.

La boca presenta una microbiota abundante con gran variedad de especies y formas. A las pocas horas del nacimiento, ya existe una intensa vida microbiana. La actividad oral es un medio ecológico de características únicas en el cuerpo humano, ya que está en contacto con el exterior, recibe productos químicos diversos (alimentos) y posee un líquido de composición compleja como es la saliva. Además, contiene tejidos duros y blandos y anfractuosidades donde pueden alojarse millones de microorganismos. La flora bucal se modifica en cantidad y calidad de especies a lo largo de la vida del individuo y estas variaciones se relacionan con distintos acontecimientos (Shafer, 1986; Barrancos, 1981; de Soet, 1998).

La saliva elimina microorganismos o re infecta otros sitios, al llevarlos al interior del cuerpo por vía orofaríngea.

Keyes propuso que la caries dental podía considerarse como una enfermedad infecciosa y transmisible y por tanto, sujeta a principios biológicos que gobiernan cualquier proceso infeccioso (Shafer,1986).

Los huéspedes habituales de la boca son: *Streptococos mutans*, *Lactobacilos*, *Actinomicetes* y *Estafilococos*.

Los *estreptococos* son cocos G+, anaerobios facultativos siendo la mayoría de las cepas de tipo alfa hemolítico. Las cepas cariogénicas son: *S. mutans*, *sobrinus*, *sanguis*, *salivarius* y *milleri*. Se les dio el nombre de *mutans*, porque cambian bajo ciertas condiciones de cultivo, como un pH bajo además de compartir características comunes. Hay estudios epidemiológicos que demuestran asociación entre la actividad de la caries y la presencia de *S. mutans* y *Lactobacilos* (Shafer,1986). Los *Lactobacilos* son bacterias baciliformes G+, acidógenas (productores de ácidos) y acidúricas (que toleran el ácido). Las cepas cariogénicas de *Lactobacilos* son; *L. acidophilus* y *L. casei*. Los *Actinomyces* son bacilos pleomórficos, G+ que pueden ser anaerobios, microaerófilos o facultativos. Las cepas cariogénicas son *A. viscosus*, *naeslundii* y *adontolyticus*.

La placa dental bacteriana es una estructura de importancia vital como un factor contribuyente al menos a la iniciación de la lesión cariosa (Marsh,1999). La placa gelatinosa del hongo carioso es una película delgada, transparente que por lo regular escapa a la observación y la cual sólo se revela mediante una búsqueda cuidadosa y tiene como componentes salivales, mucina, células epiteliales descamadas y microorganismos. Un componente importante de la placa dental es la película adquirida que se forma justo antes o en forma concomitante con la colonización bacteriana que puede facilitar la formación de placa. Esta película es una glucoproteína que se deriva de la saliva y es absorbida a las superficies dentales pudiendo servir como un nutriente para los microorganismos de la placa (Marsh, 1999).

El pH de la placa en diferentes personas varía, de 7.1 en personas sin caries hasta 5.5 en quienes tienen caries extrema.

Un descubrimiento importante fue el que cierta cepa de *Streptococo* cariogénica y altamente acidógena, en especial *Streptococo mutans*, tiene la habilidad de metabolizar la sacarosa dietética y sintetizar glucano mediante una glucosiltransferasa extracelular y superficial de la célula. Se considera que esta enzima tiene importancia especial en el establecimiento de

Streptococo mutans en la placa dental. Parece que esto ocurre por medio del glucano que se localiza en la superficie celular del *Streptococo mutans* y que actúa como el lugar primario de unión para la enzima, la cual después evoca una nueva síntesis de glucano a partir de la sucrosa exógena con la subsecuente adherencia a la superficie del esmalte. Este glucano es un gel insoluble, pegajoso, relativamente inerte y resistente a las enzimas hidrolíticas bacterianas, que hace que la placa se adhiera en forma tenaz a las superficies dentales actuando como una barrera contra la difusión de los amortiguadores salivales, que por lo común neutralizarían a los ácidos formados en la placa. Ciertas bacterias cariogénas, pueden almacenar polisacáridos intracelulares que actúan como una fuente de reserva de los carbohidratos para la fermentación y mantenimiento de la producción de ácidos en la placa durante los periodos en los que la dieta del individuo carece de azúcar. La dextranasa, una enzima producida por *penicillium funiculosum*, que hidroliza al dextrano (glucano), disminuye al mínimo la formación de la placa e impide la caries de las superficies lisas en los animales de experimentación. El control de la placa bacteriana se puede hacer mediante el uso de digluconato de clorhexidina aprobado en 1986 por la FDA (Emilson y col, 1999).

La microbiota de la placa bacteriana, metaboliza los azúcares suministrados por la dieta dando lugar a la producción de ácidos orgánicos que son los responsables de iniciar el proceso de desmineralización del diente de un hospedador susceptible. En condiciones normales la placa bacteriana no es un ecosistema patogénico. La formación de placa es un proceso normal que ocurre en la boca de todas las personas y su presencia es beneficiosa ya que actúa como una barrera frente a la colonización exógena de microorganismos, a menudo patógenos. Las teorías sobre la importancia de la placa en la enfermedad, han sido diversas, siendo la más actual la que propone que uno o varios factores exógenos provocan un cambio en las proporciones de la microbiota residente que predispone a la aparición de la enfermedad, con una alteración del equilibrio de las sustancias en la cavidad bucal. De forma natural, cuando aumenta el aporte de sustratos procedentes de la dieta, se producen ácidos orgánicos que dan lugar a la desmineralización, la cual es rápidamente compensada por los componentes neutralizadores y remineralizadores del hospedero, estableciéndose un equilibrio fisiológico, situación que ocurre en la boca cada vez que ingerimos alimentos. Aquí se presenta un problema importante cuando hay ingesta frecuente de azúcares, lo que determina en la placa periodos prolongados de gran acidez que con el tiempo ofrecen una selección sobre la microbiota de la placa. En este ambiente, se favorece el desarrollo de especies bacterianas que son capaces de producir gran cantidad de ácido,

crecer a pH ácido e incluso seguir produciendo más ácido. Dentro de los protagonistas de esta situación tenemos al *Streptococo mutans*, *Lactobacilo* y *Actinomyces*.

Una vez establecido el desequilibrio microbiológico en la placa bacteriana, la bajada del pH debido a los ácidos orgánicos producidos tras la ingestión de una determinada cantidad de azúcar, es mucho mayor que cuando la misma cantidad es consumida por una persona cuya placa no ha padecido esta selección inducida por una dieta cariogénica. La caída del pH a valores <4.5 no solo favorece el desarrollo de especies acidógenas, sino que también deprime el crecimiento poblacional de la flora comensal, produciendo ruptura de la homeostasis microbiana, lo que predispone a la aparición de la enfermedad.

En este momento la enfermedad es reversible mediante la aplicación de medidas preventivas. Se pueden disminuir o eliminar los microorganismos cariogénicos mediante el control de la placa bacteriana, y/o realizar control de la dieta para establecer un equilibrio en la microbiota de la placa. Es posible actuar sobre el hospedador aumentando su resistencia a los ataques ácidos y en definitiva, prevenir que no concurran los tres factores etiológicos en el tiempo, con lo cual la enfermedad no tendrá lugar (Bascones, 2000).

Factor Inmunológico en la caries dental

El sistema inmune es una unidad funcional que, basado en la capacidad de distinguir lo propio de lo extraño, se encarga de la defensa antiinfecciosa y antihumoral. Entre sus componentes están los anticuerpos (Acs) y el complemento, elementos celulares tales como linfocitos T y B, los monocitos y leucocitos polimorfonucleares (PMNs).

Antígenos (Ags)

El antígeno es una sustancia que en un organismo vivo, dotado de un sistema inmune maduro, es capaz de originar una respuesta (poder-inmunógeno) específica (especificidad antigénica) con la formación de sustancias contra la que le dio origen llamados anticuerpos. Los antígenos que carecen de esta última, se denominan inespecíficos y los que carecen de poder inmunógeno por si solos pero que lo hacen en combinación con una proteína, se llaman haptenos. Los antígenos bacterianos, pueden ser constitutivos o secretorios. Entre los primeros

destacan la cápsula, los flagelos, la mureína o peptidoglicano y el lipopolisacarido de la membrana externa asociado a proteínas. Este último complejo formado por varias estructuras, el glúcido, tiene la especificidad antigénica y el lípido la toxicidad. Entre los secretorios están las enzimas y las toxinas.

Los antígenos vírales, son las proteínas que están en la envoltura en la cápside y unidos al ácido nucleico son los elementos inmunógenos de los virus.

Anticuerpos (Acs)

Son proteínas, de la fracción de las gamaglobulinas, que participan en la inmunidad por lo que se les da el nombre de inmunoglobulinas, aunque no todas tienen el poder de anticuerpo. Se sintetizan por las células plasmáticas que proceden de los linfocitos B estimulados por un antígeno y están presentes en todos los líquidos orgánicos. Se conocen 5 clases (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE) y todas ellas comparten una estructura igual con modificaciones de agrupamiento según la clase. Están compuestas por 4 cadenas: 2 pesadas (H) y 2 ligeras (L) y según la secuencia de aminoácidos en cada una de ellas se distingue una región constante y una variable, que se intensifica en las regiones hipervariables. Estas últimas son las responsables de la complementariedad entre los antígenos y anticuerpos específicos. Además hay regiones llamadas dominios que se caracterizan por estar en números variables y en parte determinan la función de la inmunoglobulina.

La IgG representa el 70% de las inmunoglobulinas y tiene una vida media de 28 días. La IgA está en mayor concentración en secreciones tales como leche y saliva y no atraviesa la placenta. La IgM que se produce como parte de la respuesta primaria y es capaz de unirse a gran número de determinantes antigénicos y recubre los linfocitos B y T4. La IgD e IgE están en escasa cantidad, la primera recubre al linfocito B y la segunda se asocia a la hipersensibilidad tipo I, (Bascones, 2000).

Función de las inmunoglobulinas

La función de las inmunoglobulinas (IgA, IgG, IgM) en la etiología de la caries no se conoce claramente. Se ha encontrado que hay una diferencia significativa ($p < 0.05$ o menos) en

los niveles de secreción de IgA, IgG, IgM en los niños con hipogamaglobulinemia y niños sanos con dentición primaria (Tar I y col, 1999 ; Fernandes, 1992).

Los mecanismos inmunológicos involucrados con el proceso de la caries dental comprenden principalmente la producción y secreción de inmunoglobulina A salival. La defensa inmunológica específica contra *Streptococo mutans* es proporcionada por los anticuerpos secretados por la saliva como lo es la IgA, generados por el sistema inmune mucoso. Este sistema es funcional en los niños recién nacidos los cuales desarrollan anticuerpos IgA tan pronto como los microorganismos llegan a colonizar la boca. Los mecanismos de acción de los anticuerpos tipo IgA incluyen interferencia con la sucrosa independiente y sucrosa-dependiente ligadas al *Streptococo mutans* de la superficie dental, inhibiendo así su actividad metabólica. El objetivo de proteger a los infantes contra la colonización por el *Streptococo mutans* puede ser llevado a cabo mediante la inmunización de tópica de la mucosa induciendo la secreción de IgA salival (Rusell,1995; Fernández,1992).

La inmunización con antígenos específicos de *Streptococo mutans* por vía intragástrica, la identificación de poblaciones celulares en órganos linfoides y los patrones de citosina, permiten establecer un modelo de estímulo de la respuesta inmune en la cavidad oral y la naturaleza de esta respuesta. Es clara la participación de diferentes citocinas, ya que se ha encontrado en cultivos de linfocitos provenientes de ratones inmunizados con el antígeno I/II, la presencia de IFN, IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10. Por otro lado la distribución de las células CD4+ en órganos linfoides es considerablemente mayor en relación con poblaciones CD8+ o diferentes de células T en placas de Peyer, ganglios linfáticos mesentérico, y sangre periférica, a diferencia del bazo en que la proporción de esta población celular fue mínima.

Este tipo de respuesta es congruente con la inducción de respuesta inmune en mucosa, ya que las células T y B productoras de IgA estimuladas por el antígeno en los sitios inductores como las placas de Peyer en el intestino o las amígdalas y adenoides en el anillo de Waldeyer, viajan vía el drenado linfático hacia los ganglios linfáticos mesentéricos y de ahí a los sitios efectores de la inmunidad en mucosa, como son las glándulas salivales. Aquí la diferenciación terminal de las células B a células plasmáticas se produce y la IgA polimérica es transportada a su vez al epitelio para formar la IgA secretora y llevar a cabo su función efectora.

Se han hecho intentos por desarrollar una vacuna contra el *Streptococo mutans*. Para confirmar la posibilidad de que una vacuna contra la caries fuera eficaz, se han vacunado distintos tipos de animales sensibles a la caries por el *Streptococo mutans* y se han elaborado vacunas a partir de células vivas, atenuadas, muertas, fracciones celulares o productos celulares de dicho germen así como anticuerpos monoclonales, anticuerpos bovinos específicos algunos por vía parenteral como oral, sin que se haya llegado a una conclusión clara y definitiva (Zhang y col, 1999; Rusell, 1995).

En general la inmunización parenteral da lugar a la producción de anticuerpos humorales de tipo IgG, IgM, mientras que la inmunización oral da lugar a inmunoglobulinas secretoras tipo IgA (Cuenca y col, 1991; Loimaranta, 1999). Parece ser que en individuos sin caries hay un aumento en la concentración de Inmunoglobulina A en saliva y de IgG en fluido gingival que en aquellos con caries (Rusell y col, 1995; Loimaranta, 1999; Landre, 1983; Fernández, 1992).

Otra vía de investigación se basa en el descubrimiento de que se puede inducir una respuesta de producción de IgA secretora por la ingestión de *S. mutans* vivos encapsulados, de tal manera que no se liberen hasta llegar al intestino delgado, donde toman contacto con las placas de Peyer y estimulan una respuesta inmunológica. Los resultados parecen esperanzadores pero la respuesta inmunológica obtenida es insuficiente y de escasa duración (Cuenca y col, 1991).

En otra línea de investigación, se han utilizado cepas de *E. coli* y se ha hecho transferencia a esta bacteria, de los genes responsables de la síntesis de un factor de virulencia del *S. mutans* que permite la adhesión de este al esmalte dentario y su colonización de los dientes (Cuenca y col, 1991; Jespersgaard y col, 1999), siendo los resultados prometedores.

REACCIONES PARA DETECTAR ANTÍGENOS O ANTICUERPOS

Las reacciones antígeno-anticuerpo se utilizan con el objeto de identificar antígenos utilizando su anticuerpo y así detectar su presencia en líquidos biológicos. Hay distintos tipos como lo son: las reacciones de precipitación, aglutinación, inhibición de la hematoaglutinación, neutralización y protección, fijación del complemento, o con anticuerpos marcados que incluyen el uso de sustancias radiactivas, enzimas, fluorocromos y quimioluminiscentes, nefelometría (Daniel, 1998). En estas reacciones se puede emplear suero o plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial y pleura, tejidos sólidos, saliva ó líquido gingival.

Pruebas microbiológicas para detectar el *Streptococo mutans* (riesgo de caries)

Se han desarrollado diferentes métodos para la identificación de cepas potencialmente cariogénicas de *Streptococo mutans*; algunos de ellos calculan el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococo mutans* para establecer el riesgo y monitorear el nivel de colonización de un individuo. En general la identificación de individuos con alto riesgo de desarrollo de caries se lleva a cabo mediante la cuantificación de UFC de *Streptococo mutans* en agar mitis salivarius y posteriormente se realiza la caracterización bioquímica de las cepas aisladas. La producción de ácido a partir de sacarosa y la formación de polisacáridos extracelulares son dos de las principales características de las cepas con alta capacidad cariogénica.

La tipificación con mutacinas (bacteriocinas) producidas por el *Streptococo mutans*, representan un marcador epidemiológico para establecer la fuente de infección y el mecanismo de transmisión, debido a que predomina un tipo productor de bacteriocina en un individuo. De igual forma se ha comprobado que la producción de mutacinas está relacionado con la capacidad para producir caries; además mediante la tipificación con bacteriocinas, se puede establecer el mecanismo y la fuente de transmisión de la infección de padres a hijos y entre familiares cercanos. Recientemente se ha demostrado con la clonación e identificación de genes a partir de cepas aisladas de *Streptococo mutans* GS5 involucrados en la síntesis de polisacáridos extracelulares que codifican para la enzima fructosiltransferasa ftf (FTF), que estos presentan gran homología con los genes gtfB y gtfC de la glucosiltransferasa-I y glucociltransferasa SI respectivamente y gtfD para la enzima glucociltransferasa S, por lo cual se han utilizado para construir sondas de DNA que permiten identificar las bacterias potencialmente patógenas con una alta especificidad.

Considerando que el *Streptococo mutans* inicialmente se adhiere al esmalte de los dientes mediante el antígeno I/II, y que este constituye un marcador genético para cepas cariogénicas.

El diagnóstico tradicional de la caries dental iba dirigido a la localización de las lesiones, y su tratamiento básicamente era sintomático con la eliminación del tejido dañado y reposición mediante un material de obturación que sustituía al perdido. Actualmente, se sabe que la caries dental es una enfermedad infecciosa crónica que se establece en la boca del paciente mucho antes de producir manifestaciones clínicas en forma de lesiones visibles. Se impone su diagnóstico y tratamiento identificando a aquellos individuos que estén expuestos a determinados factores que

los hacen más propensos a padecer la enfermedad que se consideran por lo tanto como de alto riesgo. Actualmente se disponen de técnicas preventivas y diagnósticas que permiten identificar factores propicios para la formación de la caries, aún en ausencia de lesiones detectables, es decir, identificar a los individuos de alto riesgo y a través de medidas preventivas y terapéuticas cambiar la evolución de su enfermedad (Bascones,2000).

La presencia del *Streptococo sobrinus* en saliva está más asociada con futura actividad de caries especialmente de superficies lisas y la presencia de *S.mutans* iniciador de la caries dental. Del mismo modo, diremos que el *Lactobacilo* está asociado con el progreso de las lesiones cariosas (Hirose y col, 1993).

Existen diferentes medios de cultivo para realizar la cuantificación de *Streptococo mutans*:

Agar mitis salivarius (MS)

Extracto de levadura-triptico-cistina (TYC)

Agar mitis salivarius con 1% de telurito (MST)

Agar mitis salivarius con telurito con 40% de sucrosa (MS40S)

Agar mitis salivarius con telurito y 20% sucrosa y 0.2 U de bacitracina por ml (MSB)

Medio de Carlsson con 1% de sulfasoxazol (MC) y MS40S,

Agar mitis salivarius con manitol y sorbitol el cual distingue incluso diferentes cepas del *Streptococo mutans* (Little,1997).

Variables que afectan la cuantificación de estreptococo mutans:

Muchos factores tales como el cepillado, dieta, potencial acidógeno del *Streptococo mutans*, sitio de la lesión cariosa, pueden modificar la cuantificación de *Streptococo mutans* (Petti y col, 1999).

El evaluar los niveles de *Streptococo* y *Lactobacilos* así como la capacidad de formar ácidos ante el tratamiento restaurativo uno y seis meses después del tratamiento, nos ayuda a cuantificar el comportamiento de estos microorganismos como agentes etiológicos en la formación de la caries dental. Los resultados han mostrado que los niveles de *S. mutans* y *Lactobacilos* se reducen ($p<0.001$) después del tratamiento dental al menos durante un período de seis meses pero estos niveles vuelven a recuperarse al cabo de este tiempo, por lo cual es

importante no sólo tomar medidas de rehabilitación sino detectar niveles de bacterias para controlarlas (Twetman y col, 1999).

III. METODOLOGIA

El diseño del estudio es de tipo analítico, prospectivo y transversal.

El universo de pacientes para la realización de este estudio comprendió todos los niños menores de 12 años que acudieran a consulta dental del Posgrado de Odontopediatria de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro (FMUAQ).

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

Todos los niños menores de 12 años con caries dental.

Tamaño de la muestra:

28 niños que presentaron manifestaciones clínicas de caries dental y 28 que no las presentaron, los cuales fueron llegando a consulta de Odontopediatria siendo los últimos, el grupo control.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con alteraciones de secreción de glándulas salivales (xerostomia, Sjögren).
- Pacientes en tratamiento de radioterapia, quimioterapia, anticonvulsionantes, y tratamiento con antibióticos.
- Pacientes diabéticos.
- Pacientes con alteraciones neurológicas.
- Pacientes con síndromes donde estén involucradas estructuras anatómicas y fisiológicas del aparato estomatognático.
- Pacientes con datos de inmunodeficiencias.

Realización de entrevista con los padres

Se realizó una entrevista personal con los padres de familia explicando la finalidad del estudio y una vez teniendo la aprobación del consentimiento informado para realizar las pruebas de saliva en sus hijos, se procedió a dar las indicaciones pertinentes.

A todos los pacientes se les realizó una Historia clínica la cual contenía los siguientes datos: nombre, edad, género, número de caries clasificados dentro de tres grupos; grupo I corresponde a niños con solo un diente afectado por caries, grupo II niños con dos dientes afectados por caries, grupo III más de tres dientes afectados por caries. También se hicieron preguntas a los padres acerca de la frecuencia de cepillado dental en el niño y tipo de dieta. El examen bucal se realizó con la ayuda de un espejo, pinzas y explorador.

Indicaciones para toma de la muestra de saliva

Las indicaciones que siguieron los pacientes un día antes de la toma de muestra de saliva tanto para la cuantificación de inmunoglobulinas como de *Streptococo mutans* son las siguientes:

- Lavar los dientes una noche antes del día de la toma de la muestra
- Acudir en ayuno a la toma de la muestra.

Recolección de saliva

Las muestras de saliva estimulada fueron obtenidas previo enjuague bucal, encontrándose los niños en ayuno o bien cuatro horas después de haber desayunado. La muestra se colocó en un tubo estéril mantenido a -4°C , hasta la realización de análisis microbiológico.

En otro tubo se depositó la saliva para las pruebas de cuantificación de inmunoglobulinas manteniéndose a -20°C hasta su análisis.

Tanto a los niños con caries como a los del grupo control que no tenían caries se les realizaron las pruebas de cuantificación de inmunoglobulinas (IgA, IgG e IgM) así como cuantificación y detección de *S. mutans*.

Técnica para cuantificación de inmunoglobulinas

Las muestras se tomaron por la mañana. Para ello se estimuló el flujo salival con la ayuda de un gramo de parafina pura (Proctor, 2001) la cual el paciente la masticó lo suficiente hasta obtener saliva estimulada y esta se vertió en un tubo de ensayo hasta un volumen aproximado de 5

mL. El tubo se etiquetó con el número de paciente, registrado en la historia clínica, y se almacenó a -20° C hasta su análisis.

La cuantificación de inmunoglobulinas se llevó a cabo mediante la técnica de nefelometría, la cual consiste en medir la luz que se dispersa del rayo principal de una fuente de transmisión luminosa. La nefelometría de los antígenos se llevó a cabo por la adición de cantidades constantes de antisuero específico muy purificado y con claridad óptica, a diversas cantidades de antígeno (saliva). Los reactantes resultantes de antígeno y anticuerpo, se colocaron en un recipiente bajo un rayo de luz, y el grado de dispersión de la luz se midió en una celda fotoeléctrica como densidad óptica. La medición precisa de los antígenos se realizó en la rama ascendente de la curva de precipitación donde existe una relación directa entre la concentración de antígeno y densidad óptica. Se utilizó un nefelómetro láser el cual utiliza un rayo láser de helio y neón como fuente de luz, y aparatos sensibles de detección para medir la dispersión del rayo de luz. Para la medición de dispersión de la luz se usó un analizador centrífugo rápido modificado, equipado con una fuente de rayo láser, teniendo ventajas potenciales de velocidad y requerimiento de pequeñas cantidades de reactivos y versatilidad para otros análisis. Las ventajas de la nefelometría, son que es un método rápido y simple para la cuantificación de muchos antígenos en los líquidos biológicos. Los resultados se expresaran en concentraciones de mg/dL

Técnica para cuantificación de *Streptococo mutans*

Se tomaron las muestras de saliva estimulada por la mañana encontrándose el niño en ayuno, las muestras se almacenaron a -4° C por una hora mientras se procedía a su incubación. Las pruebas microbiológicas que nos aportaron la información acerca de los niveles en saliva de las bacterias cariogénicas de *S. mutans* se llevaron a cabo mediante el sistema de Dentocoult SM en tira, el cual consta de un vial de cristal con medio de cultivo selectivo líquido (agar mitis salivarius) y una tira de soporte que esta tratada en uno de sus extremos para que sea adherente. Antes de su utilización se introdujo en el vial un disco de bacitracina que ejerce un efecto antimicrobiano frente a otras bacterias que no son *Streptococos mutans*. La tira de soporte se impregna de saliva y se introduce en el medio selectivo procediéndose a su incubación. La incubación de la muestra se realizó a 37° C por 48 horas en una incubadora Cultura de la casa Ivoclar. La interpretación se realizó por densidad de crecimiento en unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/mL) de saliva. Valores iguales o inferiores a 100.000 ufc/mL ($<10^5$

ufc/mL) de saliva se consideran de riesgo moderado o bajo y por encima de 1.000 000 de ufc/mL ($>10^6$ ufc/mL) de alto riesgo microbiológico de caries.

PLAN DE ANALISIS

Los resultados fueron procesados y analizados estadísticamente mediante el paquete estadístico SPSS. Para la descripción de las variables cuantitativas, se utilizaron medidas de posición (medias) y dispersión (error estándar); para las cualitativas se obtuvieron proporciones. En las diferencias de medias se aplicó el análisis de varianza y prueba t de Student y en la distribución de categorías χ^2 cuadrado. Los resultados son presentados en tablas y graficas de dispersión y columnas.

IV. RESULTADOS

El total de pacientes pediátricos menores de 12 años de edad fue de 56, los cuales se dividieron en dos grupos; el primer grupo comprendió 28 pacientes con caries dental y el segundo 28 pacientes sin caries dental. La frecuencia de género en el primer grupo fue de 16 niños (57%) y 12 niñas (43%). De la misma manera la frecuencia en el grupo de pacientes sin caries fue de 10 niños (36%) y 18 niñas (64%) como se aprecia en el cuadro 1 y figura 1.

Las frecuencias de edad en los 56 pacientes se muestra en el cuadro 2, donde se puede observar que los pacientes entre 3 y 6 años de edad prevalecieron ante las demás edades. La media establecida para todos los pacientes en el estudio fue de 5.8 años. No se observó relación entre la edad y la presencia o ausencia de caries dental.

Mediante este estudio se pudo observar un incremento en la concentración de la inmunoglobulina A, conforme la edad del paciente aumenta, encontrándose una fuerte asociación entre estas dos variables y constatándolo con valores de regresión lineal de 0.6063 para el grupo con caries y de 0.7266 para el grupo sin caries. Es importante mencionar que las concentraciones más bajas de la IgA se observaron en niños menores de 6 años. La relación entre la concentración de inmunoglobulina A y la edad fue estadísticamente significativa $p < 0.01$ (figuras 2 y 3).

La concentración de inmunoglobulina A entre ambos grupos (con caries y sin caries), tuvo variaciones considerables observándose una media de 63.21 mg/dL para el grupo sin caries y de 45.36 mg/dL para el grupo con caries dental, se encontró de esta manera un aumento de IgA cuando el paciente no tiene caries y disminución ante la presencia de caries dental. (t de student = 3.16 y $p < 0.03$). Es importante mencionar que aunque la edad es un determinante para que la inmunoglobulina A aumente, la elevación de la inmunoglobulina A observada en los pacientes sin caries, no se debió a esto, ya que se consideró un promedio de edad de 5.8 años en ambos grupos en estudio (cuadro 3 y figura 4).

No se observó asociación entre la edad del paciente y la concentración de IgG en ninguno de los grupos en estudio (con caries y sin caries), observándose valores de regresión lineal de cero, tampoco se encontraron resultados estadísticamente significativos entre la concentración de IgG para pacientes con caries en relación a pacientes sin caries (cuadro 4 y figuras 5, 6 y 7).

Los resultados de las unidades formadoras de colonias (ufc/mL) de *Streptococo mutans* se dividieron en tres grupos: el primero con un número mayor de 10^6 ufc/mL, segundo con menos de 10^5 ufc/mL y tercero con cero ufc/mL. Donde se pudo observar que en pacientes con caries dental el 82.1% presentaron cuentas de *Streptococo mutans* de más de 10^6 ufc/mL y solo un 18% cuentas menores de 10^5 ufc/mL. En contraparte el grupo sin caries dental presentó cuentas de *Streptococo mutans* menores o iguales de 10^5 ufc/mL en el 60.7 % de los pacientes y el 39.2% cuentas mayores de 10^6 ufc/mL (figura 8).

Existe asociación directa entre el número de unidades formadoras de colonias de *Streptococo mutans* y la presencia de la caries dental ($p < 0.002$) y un riesgo relativo de presentar caries cuando se observan cuentas mayores de 10^6 ufc/mL de *Streptococo mutans* de 2:1.

Es de interés saber que de los 28 niños con caries dental que acudieron a la toma de la muestra el 64% presentaron tres o más dientes afectados por la caries(cuadro 5 y figura 9).

La concentración de IgG no se vió afectada ante la cuenta de *Streptococo mutans* en ninguno de los dos grupos.

Los resultados en este estudio muestran que la concentración de IgA disminuyen ante la presencia de caries dental. Así mismo se observó una asociación directa entre el número mayor o igual de 10^6 de colonias de *Streptococo mutans* y la presencia de la caries.

Dado que la concentración de IgA aumenta con la edad del paciente es importante considerar algunos factores relacionados con la edad como gatillos para desencadenar el desarrollo de la caries dental en el paciente infantil.

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

CUADRO 1

Distribución de los pacientes pediátricos con caries y sin caries

	Masculino		Femenino		Total
	No.	%	No.	%	
Con caries	16	57	12	43	28
Sin caries	10	36	18	64	28

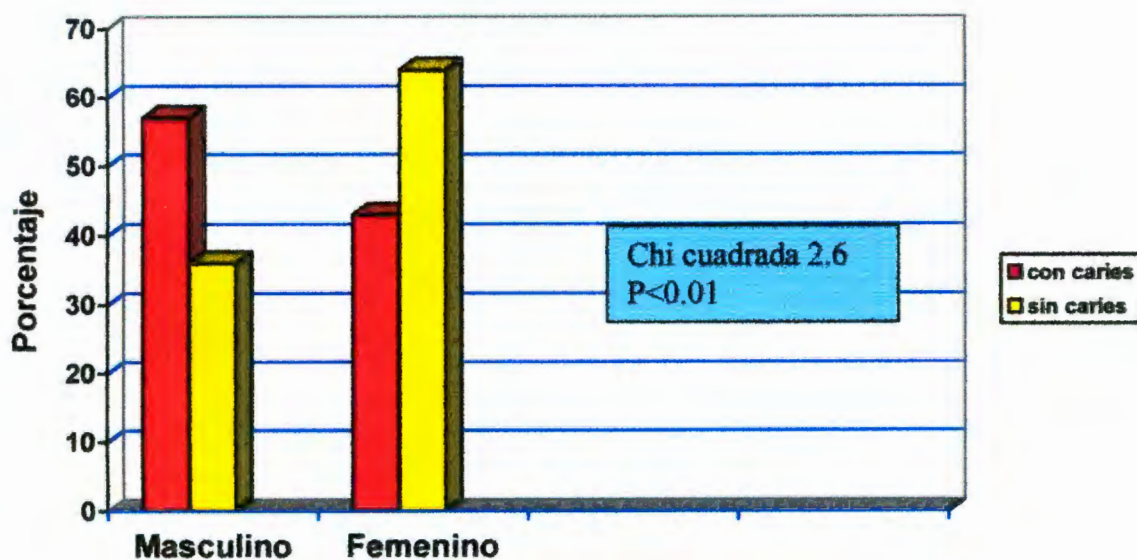


Figura 1.- Frecuencia de género en 56 pacientes menores de 12 años de edad con caries y sin caries dental

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

CUADRO 2

Distribución etárea de 56 pacientes con caries y sin caries dental

Años	Frecuencia	Porcentaje
1	1	1.8
2	3	5.4
3	8	14.3
4	10	17.9
5	9	16.1
6	5	8.9
7	5	8.9
8	4	7.1
9	3	5.4
10	4	7.1
11	2	3.6
12	2	3.6
Total	56	100

Media general 5.82

Media para pacientes con caries 5.93

Media para pacientes sin caries 5.71

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

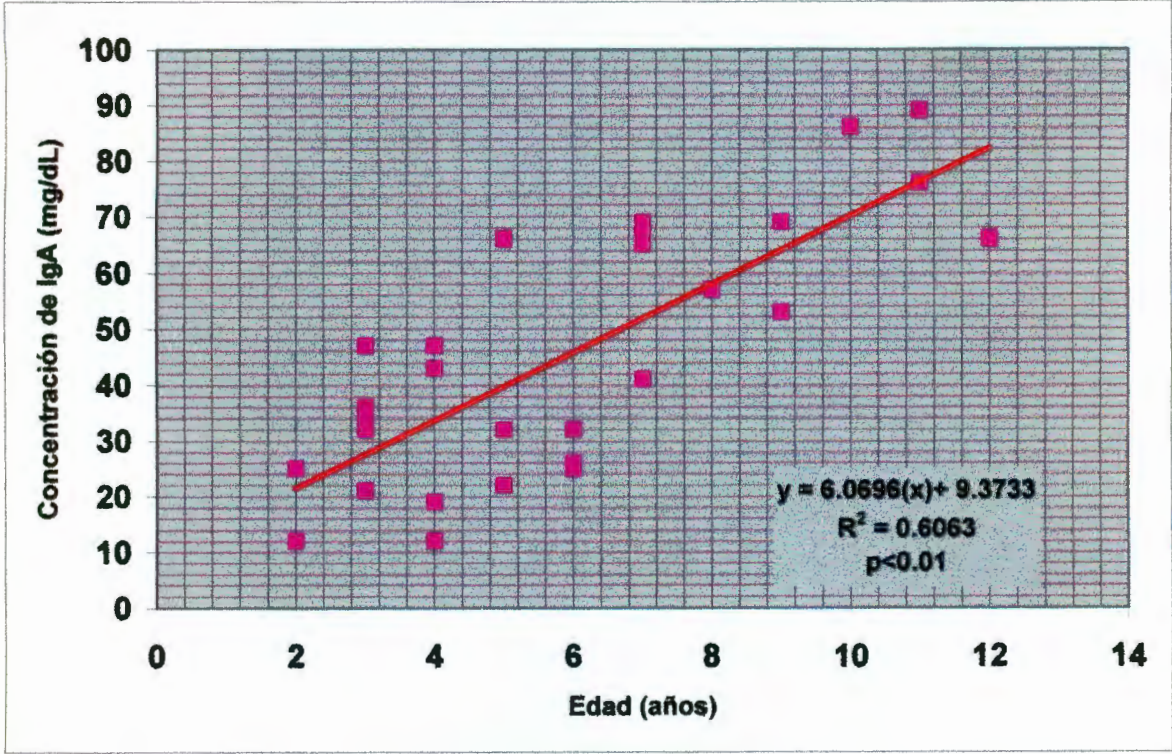


Figura 2.- Concentración de IgA en función de la edad en 28 pacientes menores de 12 años con caries dental

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

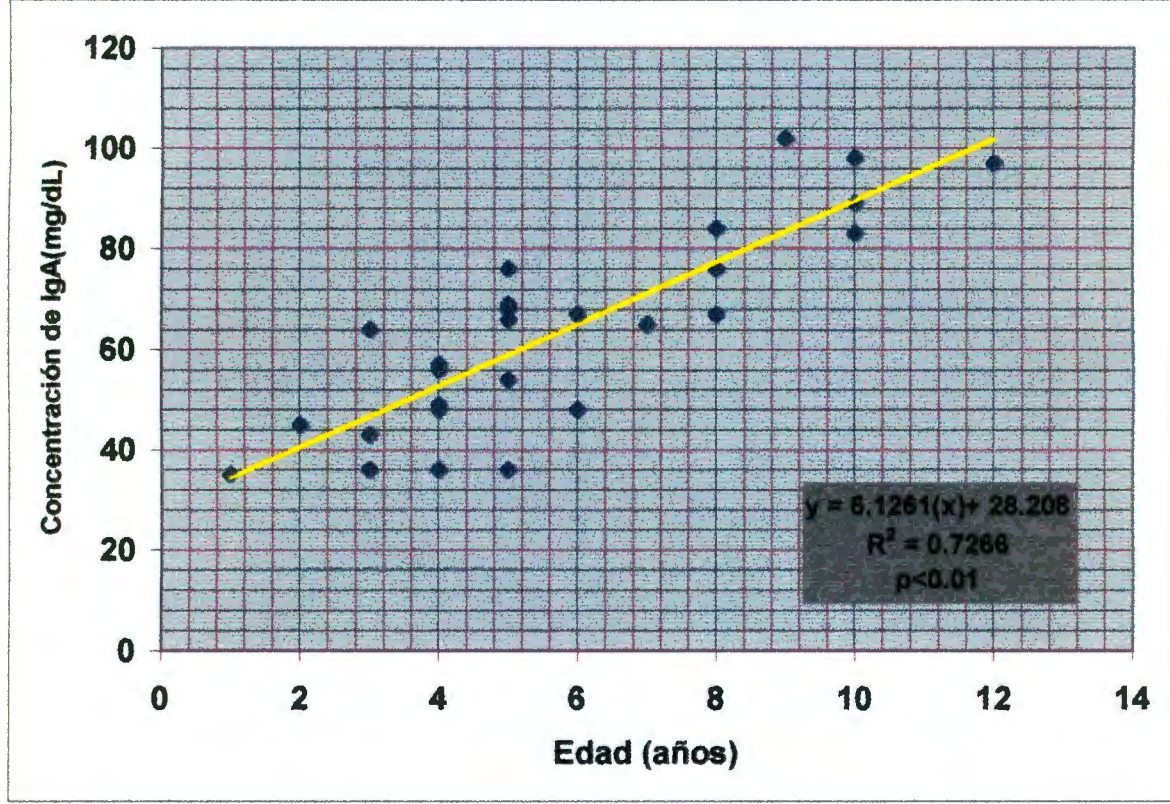


Figura 3.- Concentración de IgA en función de edad en 28 pacientes menores de 12 años sin caries dental

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

CUADRO 3

Análisis estadístico de los valores de la figura 4

Prueba de t para igualdad de medias				
	N	MEDIA	t	p
Número con caries dental	28	45.36	3.1	0.003
Número sin caries dental	28	63.21		

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

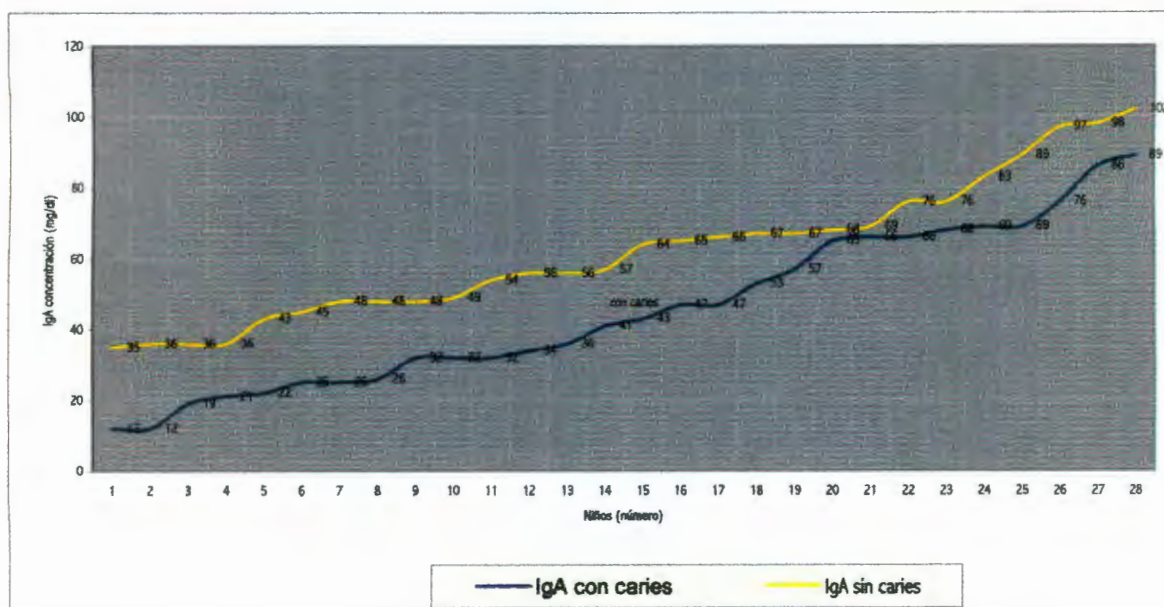


Figura 4.-Concentración de IgA en 56 pacientes con y sin caries dental

"CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES"

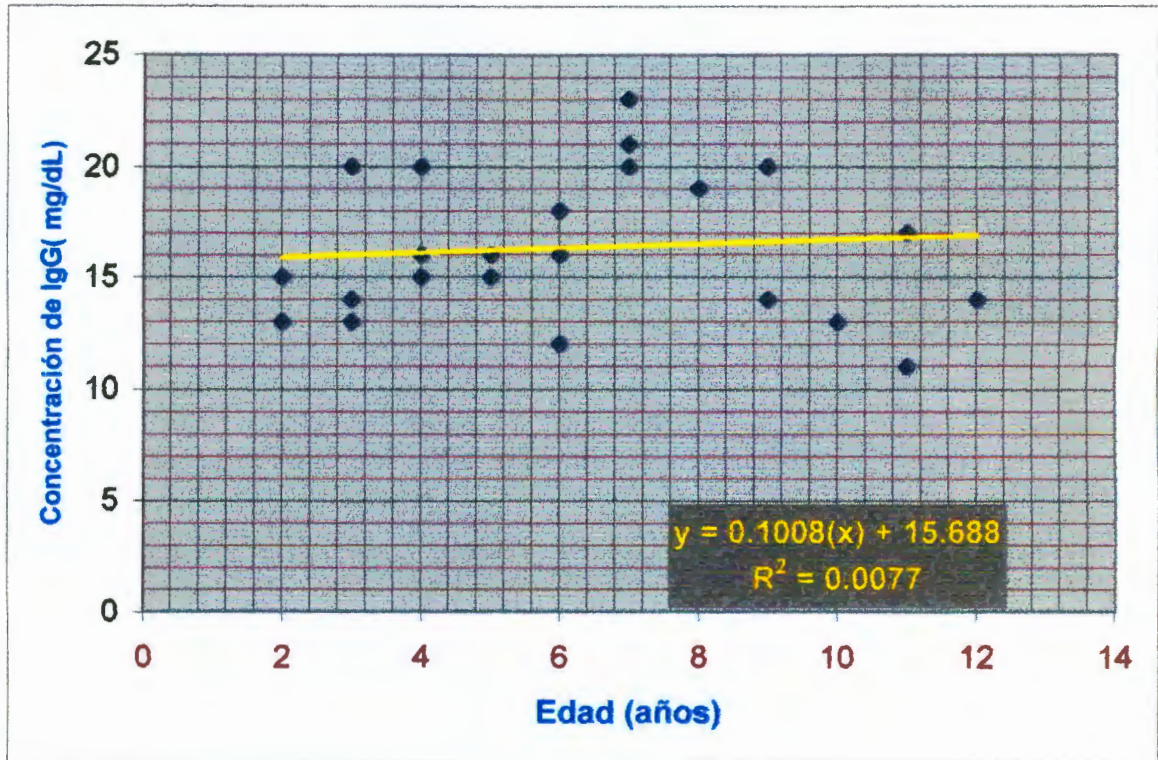


Figura 5.- Concentración de IgG en función de la edad en 28 pacientes menores de 12 años con caries dental

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

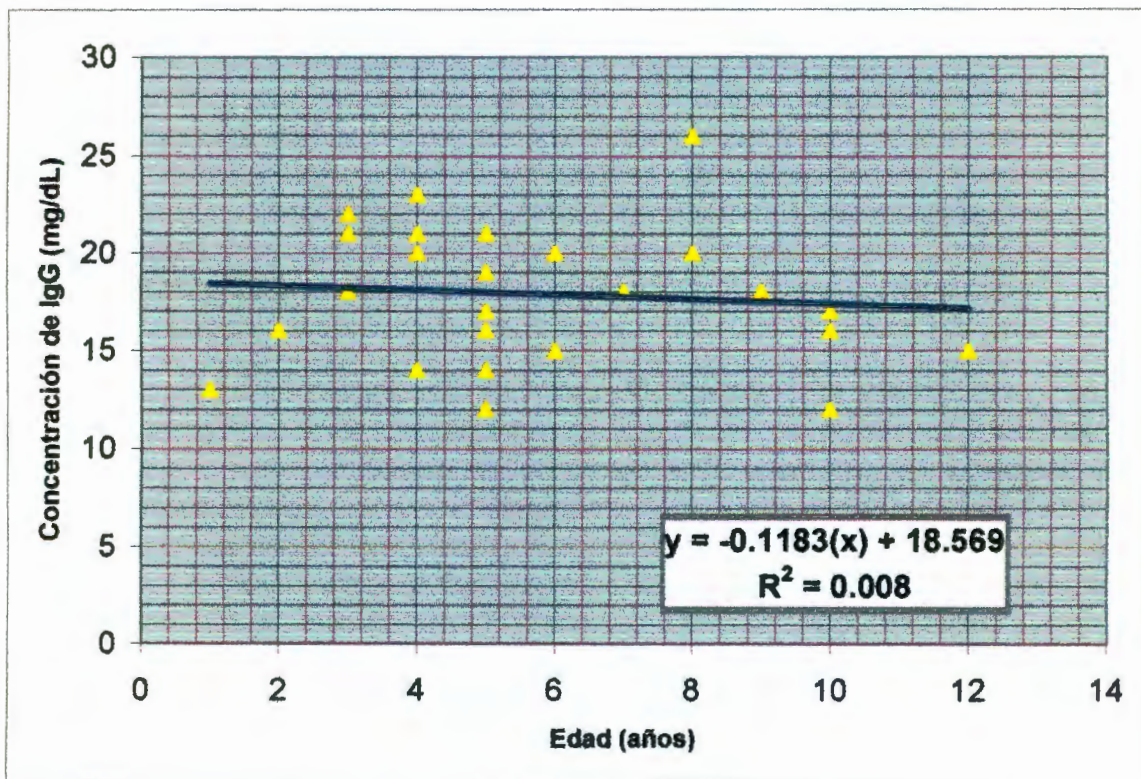


Figura 6.- Concentración de IgG en función de la edad en 28 pacientes menores de 12 años sin caries

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

CUADRO 4

Análisis estadístico de los valores representados en la figura 7

	Prueba t para igualdad de medias			
	N	MEDIA	t	p
Número con caries dental	28	16.29		
Número sin caries dental	28	17.89	1.7	0.08

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

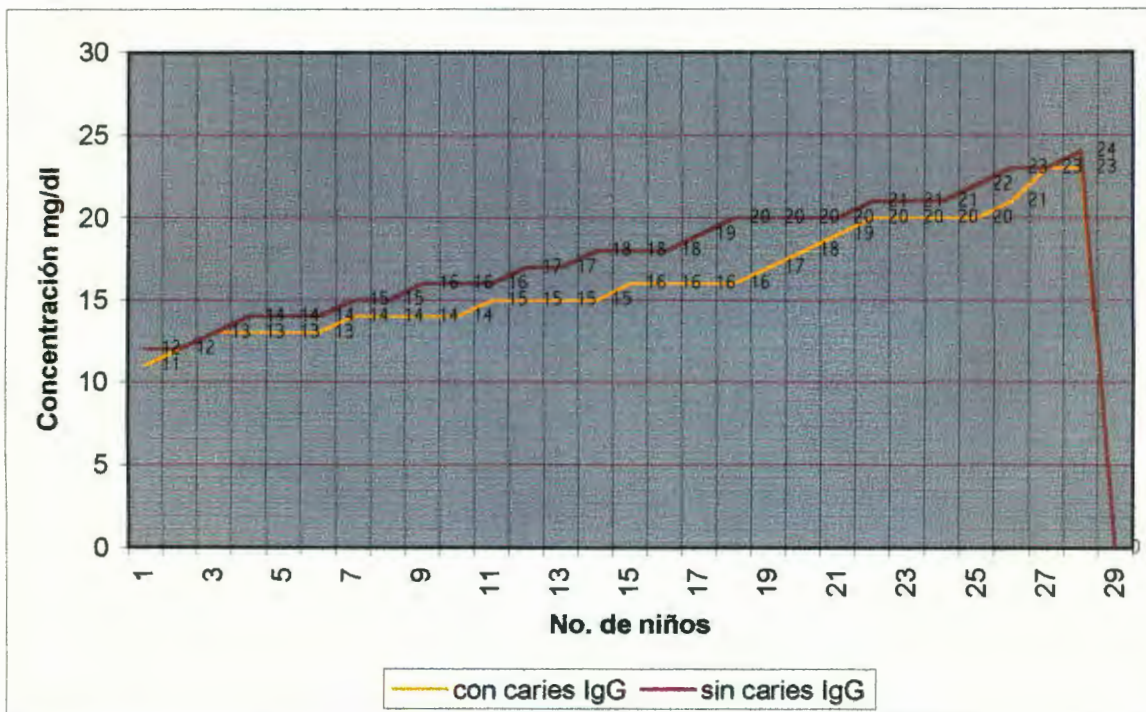


Figura 7.- Concentración de IgG en saliva de 56 pacientes menores de 12 años con caries y sin caries

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

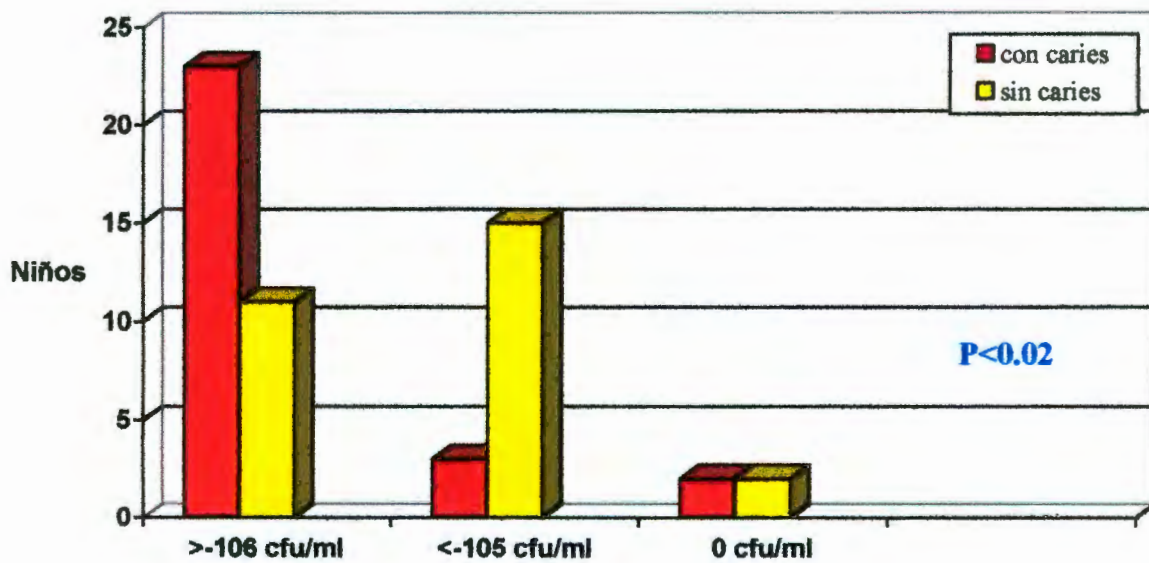


Figura 8.- Recuento de colonias de Estreptococo mutans presentes en 56 pacientes menores de 12 años con caries y sin caries dental

“CUANTIFICACION DE INMUNOGLOBULINAS EN SALIVA Y CULTIVO DE ESTREPTOCOCO MUTANS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS CON MULTIPLES CARIES”

CUADRO 5

Porcentaje de dientes afectados cuando los niños se presentan a consulta por caries dental

Grupo	Pacientes	%
G-I :	3	10.7
G-II:	7	25
G-III:	18	64.2
n=28		

G-I Afeción de un órgano dental

G-II Afeción de dos órganos dentales

G-III Afeción de 3 o más órganos dentales

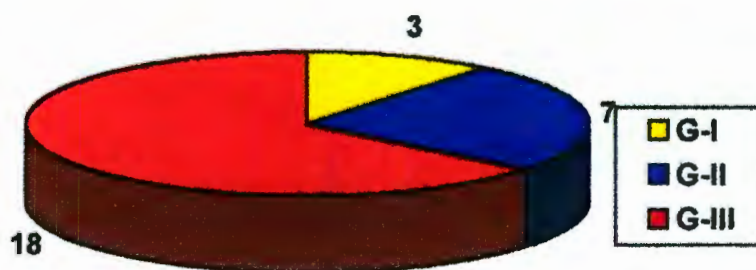


Figura 9.- Frecuencia del número de dientes afectados por caries en 28 niños menores de 12 años

DISCUSIÓN

Es de interés observar que la frecuencia de caries es más alta en el sexo masculino que el femenino, esto pudiera tener asociación con lo ya estudiado por la doctora Calamari en el año 2001, donde observa en su estudio que el sexo masculino muestra menores valores en la IgA contra *S. Mutans* y cifras de *Streptococo mutans* mayores de 10^6 ufc/mL, presentando condiciones más desfavorables para el mantenimiento de la salud bucodental.

En el presente estudio el hallazgo de mayor relevancia fue la asociación entre la cuantificación de *S. mutans* y la presencia de la caries dental en niños menores de 12 años. Estos resultados son semejantes a los publicados por Mattos-Graner en 1998 y Ettinger en 1999, encontrándose que la edad de mayor riesgo es entre los 3 y los 5.11 años.

Los niveles de IgA en la presente investigación mostró ser más elevada en los niños sin caries dental que los niños con caries dental. Estos resultados se correlacionan con los de Rose (1994), quien observó que la IgA salival aumenta en niños resistentes a la caries dental y disminuye en niños susceptibles. Así mismo, entre mayor es el número de caries activas, menor es la concentración de IgA (Majorama ,1992). Este estudio coincide con lo dicho por Gregory (1998) en que hay asociación entre la concentración de IgA salival, y la presencia de lesiones cariosas, como se notó en este estudio.

La concentración per se de la IgA salival en este estudio, es diferente a lo publicado por otros autores quienes observaron que la concentración media en niños sin caries dentales es de 10.84 y con caries de 6.76 mg/dl (Acta Odonto Scan,2000). Esta diferencia es difícil de explicar, sin embargo hay datos en la literatura que mencionan una gran variación en la concentración de esta inmunoglobulina, la cual se puede deber a la presencia de estímulos fisiológicos de diferente naturaleza (Porfirio y col, 1982). El grado de higiene bucal, es otro factor de importancia así como el solo hecho de comer como lo menciona Witek (1981), la concentración de las diferentes inmunoglobulinas varían antes y después de comer, de tal modo encontramos que la IgA es de 14.0 mg/dL antes de comer y de 5.6 mg/dL después de comer; La IgG es de 1.6 mg/dL antes de comer y después de comer mantiene el mismo valor, no así la IgM que su valor es de .41 mg/dL antes de comer y de .17 después de comer.

Aunque en este estudio se cuidaron algunas de las variables conocidas, pues los niños se presentaban para la toma de la muestra por la mañana, en ayuno y con los dientes limpios, la técnica utilizada para la determinación de la proteína, pudiera ser el factor que determina dicha diferencia en la cantidad total absoluta de IgA e IgG. Se acepta que tal vez lo mejor sería tener los valores basales para nuestra población que tiene diferentes características culturales, sociales, genéticas, alimenticias, higiénicas y económicas entre otros; sin embargo, estas no se encuentran en la literatura, y los resultados únicamente se compararon con el grupo sin caries.

Si se acepta que los valores de IgA es menor en niños por debajo de los diez años de edad (Zhaghua y col, 1990), y que los pacientes tuvieron un número mayor de lesiones cuando fueron menores de siete años, la posibilidad de una inmadurez inmunológica específica en niños menores de 5 años (Naspitz,1999) y que el establecimiento temprano del *Streptococo mutans* en la boca del infante incrementa el riesgo de desarrollo de caries dental (Alaluusua,1991), se podría hablar de un factor de riesgo asociado con la edad, estamos de acuerdo con los estudios realizados por Calamari (2001), donde se considera la edad como un factor asociado con el aumento de los valores medios de los diferentes componentes salivales entre ellos los factores de protección contra la caries, estando en estrecha relación con el crecimiento del niño. Se ha demostrado que la IgA ofrece una protección natural contra la caries dental, actuando en la adhesión de la bacteria al diente. Aun sin embargo existen estudios que muestran que aunque la IgA salival puede ayudar en el proceso de protección contra la caries dental, la respuesta natural inducida por los anticuerpos IgA no son suficientes para inhibir el desarrollo de la caries dental (Hocini,1993).

Mediante este estudio se pudo corroborar la hipótesis de que la concentración baja de IgA está asociada con la presencia de la caries dental.

Si bien el número de pacientes es deseable que fuera mayor, las conclusiones que se obtienen de la presente investigación, son lo suficientemente importantes para justificar si así se desea, un estudio mas amplio.

CONCLUSIONES

- 1.- Hay variaciones en la frecuencia de la caries entre el sexo masculino y femenino siendo mayor en el masculino.
- 2.- La elevación en la concentración de IgA se asocia con la edad en niños mayores de seis años.
- 3.- La IgA se encuentra en menor concentración en niños con caries dental que en niños sin manifestaciones de caries.
- 4.- Existen recuentos altos de unidades formadoras de colonias de *Streptococo mutans* en los pacientes con caries que en aquellos que no las presentan.
- 5.- Niños sin lesiones clínicas de caries pueden tener presente al *S. mutans* en cantidades elevadas, lo que los hace pacientes de alto riesgo para desarrollar lesiones cariosas.
- 6.- El riesgo relativo de que se presenten manifestaciones de caries dental cuando se tienen unidades formadoras de colonias de *S. mutans* mayores a 100,000 ufc/mL es de 2:1
- 7.- Hay asociación en la concentración baja de IgA y la presencia de caries dental.
- 8.-La protección natural de la IgA contra el crecimiento de unidades formadoras de colonias de *Streptococo mutans*, no es suficiente para evitar el desarrollo de la caries dental.
- 9.- Cuando los niños se presentan a revisión dental y presentan caries generalmente tienen más de dos dientes afectados.

V.-BIBLIOGRAFIA

- Alaluusua S. Transmission of mutans streptococci. *Proc Finn Dent Soc.* 1991; 87: 447-7
- Barrancos. J. *Operatoria Dental*. 1º edición, editorial Médica Panamericana, Buenos Aires 1981.
- Bascones Antonio. *Tratado de Odontología*. 3º edición, ediciones avances médico-dentales, Madrid 2000.
- Calamari S, Bojanich A, Aguzzi A, Sabulsky J, Cornejo L, Cattoni S. Niveles de IgAs, IgAs anti-SM, UFC-SM, capacidad amortiguadora y de depuración de azúcares en niños de 4 años de edad de diferentes estratos socioeconómicos. *Práctica Odontológica*. 2001; 22:26-32.
- Clough, O.W. Inhibition of bacterial growth by human saliva. *J Dent Res.* 1934; 14:164.
- Cuenca E, Manau C, Serra LL. *Manual de Odontología Preventiva y Comunitaria*. Masson, 1991, Barcelona, España 1991.
- Daniel P. Stites, Abba I, ETR, Tristram, G. Parslow. *Inmunología Básica y Clínica*, 9º edición. El Manual Moderno, 1998, México: 263-65.
- de Soet JJ, de Graaff J. Microbiology of carious lesions. *Dent Update*, 1998; 25:319-24
- Dowd FJ. Saliva and dental caries. *Dent Clin North Am* 1999; 4:579-97.
- Emilson CG, Gisselsson H, Birkhed D. Recolonisation pattern of mutans streptococci after supresión by three different modes of chlorhexidine gel application. *Eur J Oral Sci.* 1999; 107:170-5.
- Ettinger RL. Epidemiology of dental caries. A broad review. *Dent Clin North Am.* 1999; 43:679-94.
- Fernandes. Evaluation of salivary antibodies to estreptococcus mutans in immunodeficient children. Correlation with dental caries prevalence and cariogénic bacteria in saliva, Doctoral theses. Sao Paulo, 1992.
- Green, G.E. A Bacteriolytic agent in salivary globulin of caries-immune human beings. *J Dent Res.* 1959; 38:262.
- Gregory RL, el Rahman AM, Avery DR. Effect of restorative treatment on mutans streptococci and IgA antibodies. *Pediatr Dent.* 1998; 20:273-7.
- Harold M, Marc CL. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62:71-109.
- Hirose H, Hirose K, Isogai E, Miura H Ueda I. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. *Caries Res.* 1993; 27:292-
- Hocini H, Iscaki S, Bouvet JP Pillot J. Unexpectedly high levels of some presumably protective secretory immunoglobulin A antibodies to dental plaque bacteria in salivas of both caries-resistant and caries-susceptible subjects. *Infect Immun.* 1993; 61:3597-604.

- Jespersgaard C, Hadishengallis G, Huang Y, Russell MW, Smith DS, Michalek SM. Protective immunity against streptococcus mutans infection in mice after intranasal immunization with the glucan-binding region of S. mutans glucosyltransferase. *Infect Immun.*1999 ;67 : 6543-9.
- Keyes PH. Recent advances in dental caries research. Bacteriology, bacteriological findings, and biological implications. *Int Dent J.*1962;12:443.
- Kugler J, Bretfeld I, Tewes U, Schedlowski M. Excavation of caries lesions induces transient decreases of total salivary immunoglobulin A concentration. *Eur J Oral Sci.* 1996;104:17-20
- La salud en las Américas, edición 1998, Organización Panamericana de la Salud, pg.413.
- Landre CC, Bozzo L. Prevention of the dental caries: assay in conventional rats using Streptococcus mutans suspension. *Rev Esc Farm Odontol Alfnas.* 1983; 63-72.
- Larmas M. Simple test for caries susceptibility. *Int Dent J* 1985;35:109.
- Little WA, Korts DC, Thomson LA, Bowen WH. Comparative recovery of Streptococcus mutans on ten isolation media. *J Clin Microbiol.*1977;5:578-83.
- Loimaranta V, Nuutila J, Marnilla P, Tenovu J Korhonen H, Lilius EM. Colostral proteins from cows immunised with Streptococcus mutans/sobrinus support the phagocytosis and killing of mutans streptococci by humans leucocytes. *J Med Microbiol.*1999;48:917-26.
- Majorama A, Sapelli PL, Duse M, Plebani A, Ugazio AG. Carious pathology in selective IgA deficit. *Minerva Stomatol.*1992; 41:1-4.
- Marsh PD. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am.* 1999;43: 599-614.
- Mattos-Graner RO, Zelante F, Line RC Mayer MP. Association between caries prevalence and clinical, microbiological and dietary variables in 1.0 to 2.5 year old Brazilian children. *Caries Res.*1998; 32:319-23.
- Mc Donald and Avery. *Odontología Pediátrica y del adolescente*, 5° edición 1996.
- Narro J. Subsecretario de la secretaria de salubridad 1998 (archivo personal).
- Naspitz GM, Nagao AT, Mayer MP, Carneiro- Sampaio MM. Anti-Estreptococcus mutans antibodies in saliva of children with different degree of dental caries. *Pediatr Allergy Immunol.* 1999;10:143-8.
- Petti S, Bossa MC, Tarsitani G, Falcolini G, Lumbau A, Campus G y col. Variables affecting salivary Streptococcus mutans counts in a cohort of 12 year old subjects. *Minerva Stomatol.* 1999;48:361-6.
- Pezzinni A, Menogazzi M . Concentration of immunoglobulin A in human whole value effect of physiological stimulation. *Acta Odontol Scand.*1982:40:87-95.

- Proctor GB. Chewing stimulate secretion of human salivary secretory immunoglobulin A. *J dent Res.* 2001;80:909.
- Rose PT, Gregory RL, Gfell LE, Hughes CV. IgA antibodies to *Streptococcus mutans* in caries-resistant and susceptible children. *Pediatr Den.* 1994;16:272-5
- Roitt y Lehinger. T. *Immunology of oral diseases.* Oxford. Blackwell, 1983.
- Russell MW, Hajishengallis G, Childers NK, Michalek SM. Secretory immunity in defense against cariogenic mutans streptococci. *Microbiol, University of Alabama at Birmingham,* 1995.
- Shafer W.C , B.M.Levy. *Caries dental "* editorial *Interamericana* 1986.
- Shani S, Friedman M, Steinberg D. The anticariogenic effect of amine Fluorides on *Streptococcus sobrinus* and Glucosyltransferase in biofilms. *Caries Res.* 2000; 34:260-267.
- Steinberg D, Heling I, Daniel I, Ginsburg I. Antibacterial synergistic effect of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Streptococcus sobrinus*, *Faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *J Oral Rehabil.* 1999;26:151-6.
- Tar I, Nemes E, Nemes J, Alberth M, Keszthelyi G. The role of salivary immunoglobulins (secretory IgA, IgM, IgG) in caries prevalence and primary B cell deficiency. *Fogorv Sz.* 1999;92:331-8.
- Tenovuo J, Aaltonen AS. Antibody responses to mutans streptococci in children. *Proc Finn Dent Soc.* 1991; 87:449-61.
- Twetman S, Fritzon B, Jensen B, Hallberg U, Stahl B. Pre- and post- treatment levels of salivary mutans streptococci and lactobacilli in pre-school childrens. *Int Journal Paediatr Dent.* 1999 ; 9: 93-98.
- Witek E, Romankiowics y col. Deductable evaluation of saliva IgA and IgG caries levels depending on the stay of oral hygiene. *Czas Stomatol.* 1981;34:1089-94.
- Zhang P, Fan M, Bian Z, Du M, Wang Y, Chen H. Effects of monoclonal antibody on colonization of *Streptococcus sobrinus* and development of dental caries in rats. *Chin J Dent Res.* 1999;2:12-5.
- Zhanghua Kay Quiang. Total saliva amount immunoglobulins in normal childrens. *Xi Xue Za* 1990;25:288-90.

