



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA**

**INTENTOS DE VACUNACION
CONTRA
CARIES DENTAL**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER SU
TITULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

**PRESENTAN
HUEZ LOPEZ FERNANDO
PADILLA ADORNO PEDRO A
RODRIGUEZ RAMIREZ CARLOS E.**

ASESOR: Q. B. P. ARMANDO BAYONA GONZALEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

CAPITULO		
I	INTRODUCCION	1
II	FUNDAMENTACION DEL TEMA	3
III	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
IV	OBJETIVOS	4
V	HIPOTESIS	4
VI	MATERIALES Y METODOS	5
VII	CARIES DENTAL	6
	7.1 Definición	6
	7.2 Dieta azucarada	6
	7.3 Microorganismos acidogénicos	7
	7.4 Susceptibilidad del huésped	8
VIII	MECANISMOS DE DEFENSA DE LA BOCA	10
	8.1 Mucosa bucal	12
	8.2 Saliva	15
	A) Índice de Flujo Salival	16
	B) pH Salival	17
	C) Factores antibacterianos	18
	a) Lisozima	18
	b) Lactoperoxidasas	

	Lactoferrina	22
IX	BASES INMUNOLÓGICAS	24
	9.1 Inmunoglobulinas	
	9.2 Actividad antibacteriana de IgA Secretoria	
	9.3 Sistema de Complemento	32
X	ASPECTOS DE VACUNACION ANTICARIÉS	34
	10.1 Inmunización con células vivas	36
	10.2 Inmunización con células muertas	37
	10.3 Inmunización con Clucosiltransferasa	43
	10.4 Inmunización con Hidrolasa Clucosídica	46
XI	CONCLUSIONES	49
XII	PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES	51
XIII	SUMARIO	52
XIV	BIBLIOGRAFIA	53

INTRODUCCION

La caries dental es una enfermedad que afecta casi al 100% de la población. Esto, visto dentro del terreno de la epidemiología, nos indica que es uno de los problemas prioritarios de la salud humana.

Desde hace muchos años se ha tratado de combatir dicho padecimiento con más o menos buenos resultados.

Podríamos decir actualmente, que se han intentado, entre otras cosas:

- 1) La aplicación de enzimas.
- 2) La acción de los anticuerpos
- 3) La utilización de antisépticos y antimicrobianos.
- 4) La colonización de placa dental por microorganismos no cariogénicos.
- 5) La restricción de azúcares y carbohidratos en la dieta, y
- 6) La instalación de una correcta higiene buco-dental.

En relación con el punto número dos, conviene mencionar que el primer intento de vacunación anticaries, fué llevado a cabo en humanos y fué realizado por Jay, (18); el cual inyectó antígenos de 32 cepas

de lactobacilos, parenteralmente a voluntarios estudiantes de odontología, pero este ensayo se interrumpió por la formación de abscesos en forma severa.

Desde esta época (1932-1933) hasta el año 1962 se reiniciaron los in tentos, pero en su mayoría sobre animales de laboratorio.

FUNDAMENTACION DEL TEMA:

Además de la reducción de azúcares en la dieta, el empleo de un buen cepillado de los dientes, la aplicación tópica y la ingestión de fluoruro, la utilización de antisépticos y antimicrobianos (antibióticos), la aplicación de selladores de fisuras y foseas y el empleo de enzimas contra la placa microbiana; la vacunación viene a ser un elemento de gran valor para combatir la caries dental.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La caries dental es un problema prioritario de salud pública en todo el mundo.

Cualquier intento para combatir dicha enfermedad, a través de la inmunización, es de gran importancia.

La mayoría de maestros y alumnos de la carrera de Cirujano Dentista están poco o mal informados en este aspecto en la prevención de caries dental, por lo cual resulta de gran interés difundir este concepto entre ellos.

OBJETIVOS:

Informar y actualizar a todas aquellas personas que se interesan en los adelantos sobre las diversas investigaciones que se están llevando a cabo sobre inmunización contra caries dental.

Así como dar a conocer los comentarios más importantes que se han expuesto sobre este adelanto en Odontología Preventiva.

HIPOTESIS:

Buscando cuidadosamente entre las diversas publicaciones más recientes, acerca de la inmunización contra la caries dental, se encontró - que las perspectivas y el beneficio potencial de dichas investigaciones son muy prometedoras, por lo cual, el proseguir con tales trabajos - resulta de gran interés.

Para los maestros y estudiantes de la carrera de Cirujano Dentista de la ENEP-ZARAGOZA, esto resulta un elemento de enorme importancia, ya que dicha información, representa un nuevo auxiliar para el logro - de una completa salud bucal en los humanos.

MATERIALES Y METODOS:

Libros especializados, revistas, referencias, documentos y extractos del CENTRO NACIONAL DE DOCUMENTACION DE SALUD (CENIDS), traducción y discusión de los sobretiros y reimpresos obtenidos relacionados con la inmunización de la caries dental.

Selección de los puntos más importantes en estos aspectos.

CARIES DENTAL

La caries dental se caracteriza por causar la desmineralización de los dientes. Es la más frecuente de las enfermedades crónicas e intermitentes de la raza humana.

Hay un acuerdo general acerca de tres factores que deben considerarse para entender el proceso carioso, estos son:

- 1.- DIETA AZUCARADA.
- 2.- MICROORGANISMOS ACIDOGENICOS.
- 3.- SUSCEPTIBILIDAD DEL HUESPED.

1.- DIETA AZUCARADA.

El ingrediente que produce más caries mundialmente, puede ser la - sacarosa, que es el carbohidrato más utilizado en la dieta. Permite el crecimiento y la proliferación de las bacterias cariogénicas, más que cualquier otro ingrediente en la dieta humana, por lo que se ha pensado, como medida preventiva, sustituir la sacarosa por otros dul ces menos cariogénicos.

La forma en que los azúcares son suministrados en la boca es importante, ya que las glosinas pegajosas han demostrado ser mucho más cariogénicos que los solubles.

2. - MICROORGANISMOS ACIDOGENICOS.

Apesar de que la producción de ácidos por los microorganismos de la placa dental ha sido demostrada, no se ha establecido la secuencia - de los eventos y los productos finales.

Generalmente las bacterias y sus enzimas, por hidrólisis, inician el fraccionamiento del disacárido y luego, los monosacáridos como la - glucosa y la fructosa son a su vez convertidos hasta ácido láctico y - al alcanzar un pH entre 5.4 y 5.5. se inicia la descalcificación del - esmalte, en la zona de la placa dentobacteriana.

Depende también de la cantidad y la frecuencia del consumo de azúcar, lo que da lugar a la proporción de acidez. Esto se alcanza a ver en los cortes histológicos de los dientes cariados que, durante - el proceso de descalcificación, el avance de la acidez, deja marcas en formas de oleadas. De ahí que, la caries dental sea un proceso intermitente.

3.- SUSCEPTIBILIDAD DEL HUESPED.

Independientemente de la dieta, un huésped puede ser atacado o no, por la caries dental, dependiendo de que tenga un nivel elevado de factores anticariosos inespecíficos en su boca y en la saliva.

Se sabe que los individuos, en ciertos momentos, sufren cambios - bioquímicos de su ambiente bucal, lo cual puede interferir en la enfermedad de caries dental. (3)

Además se conoce el hecho epidemiológico de que, la caries dental, ataca principalmente a los humanos en las primeras etapas de la - vida y que, entre los 18 y 21 años de edad, en promedio, la población ya no debe padecer caries dental.

Esto es semejante a lo que ocurre con las demás enfermedades microbianas transmisibles, las cuales atacan principalmente en los - primeros años de vida; también durante la adolescencia y terminan - al llegar los individuos a la mayoría de edad.

En el caso de la caries dental, aquellos microorganismos ya conocidos como causantes de la misma, al parecer, logran despertar - cierta inmunidad al hacer contacto con la mucosa de la boca, ya - que en la submucosa existe tejido linfóide que es un participante del

sistema inmunocompetente: lo prolongado del tiempo para alcanzar la inmunización contra los microorganismos cariogénicos, se debe a que éstos se encuentran en una muy baja proporción, en relación con el resto de los microbios que existen en la boca humana, aproximadamente de $1 \times 10,000$, como es en el caso de los lactobacilos.

MECANISMOS DE DEFENSA DE LA BOCA

Durante su vida los humanos hospedan en su cuerpo una gran variedad de microorganismos que son potencialmente patógenos.

La relación entre el huésped y su microflora bucal representa un sistema biológico equilibrado que permite la supervivencia de ambos.

La flora bucal se puede dividir en flora residente y flora pasajera.

La flora residente representa aquellos microorganismos que se demuestran constantemente por cultivos, tinción y técnicas inmunológicas en áreas específicas de la boca, esta flora es afectada en alguna forma por la dieta y por su localización geográfica.

La flora pasajera, por otra parte, representa aquellos microorganismos que se aíslan esporádicamente en la cavidad bucal y parece que son incapaces de sobrevivir durante algún tiempo con la flora residente.

En el estudio de las enfermedades bucales de los humanos, el conocimiento de la flora normal y pasajera es esencial para determinar qué organismo u organismos causan, o están asociados con las diferentes enfermedades clínicamente reconocidas.

Los miembros de la flora bucal son parásitos adaptables que pueden sobrevivir en el huésped sin dañar a los tejidos de éste.

Existen muchos factores que parecen estar asociados con el mecanismo de defensa de la boca. Estos factores pueden agruparse en tres categorías básicas.

- 1.- En la primera línea de defensa; tenemos las barreras anatómicas y fisiológicas como son la membrana mucosa, el epitelio, el flujo de la saliva, la anatomía y composición química de los dientes, sustancias antagonistas de origen microbiano y otras.
- 2.- Como la segunda línea de defensa: tenemos la fagocitosis celular normal de las zonas afectadas, los leucocitos y los macrófagos.
- 3.- Y en la tercera línea de defensa: encontramos inmunidad humoral, como resultado de la formación de anticuerpos y así también el complemento.

MUCOSA BUCAL

El epitelio escamoso estratificado de la mucosa bucal forma una superficie continua que protege los tejidos de la cavidad bucal, funcionando,

como una barrera mecánica.

La protección que el epitelio proporciona, depende en gran parte de su integridad, de su queratinización y de su capacidad para descamar las células epiteliales.

Se ha demostrado que el epitelio de las mejillas tiene una queratinización mínima, mientras que el paladar duro y la encía alcanzan -- una queratinización completa del epitelio.

El epitelio libre gingival no está queratinizado y se compone de unas cuantas capas celulares, por lo tanto, ofrece una barrera débil en la defensa bucal, sin embargo contribuye a la tendencia del borde gingival a limpiarse por sí mismo, ya que se renueva considerablemente más de prisa que el resto del epitelio bucal.

También existe una migración continua de las células epiteliales hacia afuera, seguida por descamación a la entrada de la bolsa. El movimiento de estas células del intersticio hacia afuera ayuda mecánicamente a desplazar a los microorganismos y otros materiales de desecho de esta área.

El estrecho contacto entre el epitelio de la encía y la superficie den-

taria hace mínima la penetración de microorganismos y otros materiales al intersticio o surco gingival.

Existen datos de que la mucosa sana tiene efectos inhibidores sobre los microorganismos no autóctonos que entran en la cavidad bucal y también de que retarda la proliferación e invasión de miembros de la flora natural.

Cuando se colocan microorganismos en áreas específicas de la cavidad bucal, se mueven hacia atrás, hacia la faringe y son deglutidas. Este movimiento es causado por una acción de succión producida por el movimiento de la lengua, las mejillas, labios y paladar. El flujo de la saliva es también un factor en el movimiento de estas partículas de las áreas de la mucosa lingual y bucal principalmente.

Se ha observado que los microorganismos se desplazan de la cavidad bucal en unos cuantos minutos.

El epitelio y su cubierta mucosa, junto con el efecto irrigador de la saliva, el movimiento de la lengua, las mejillas y los labios y el efecto de la masticación, deglución, expectoración y la tos, representan

mecanismos que ayudan a desplazar a los microorganismos y por lo tanto, a regular dentro de ciertos límites, las poblaciones microbianas de la cavidad bucal.

SALIVA

La propiedad lubricante de la saliva es debida a su contenido en mucina. Las mucinas contienen carbohidratos y aminoácidos, estos pueden servir como posibles nutrientes de los microorganismos.

La saliva ha mostrado que tiene un efecto protector contra la caries dental y así también el exudado gingival bien pudiera jugar un papel semejante.

Entre los diversos efectos protectores de la saliva tenemos:

- A) La limpieza mecánica, que da por resultado la reducción en la acumulación de placa, por medio del flujo salival.
- B) Factores de antisolubilidad, acción buffer que neutraliza los ácidos producidos "in toto" por organismos cariogénicos.
- C) Interferencia en la adhesión de las bacterias a la superficie de los dientes.

INDICE DEL FLUJO SALIVAL

La eficacia del flujo salival y la acción limpiadora están afectadas por la localización de las glándulas salivales y sus conductos.

Algunas investigaciones indican un mayor índice de flujo salival, - en sujetos sin actividad de caries, - que en sujetos que presentan caries dental. Se ha observado que la caries avanzada, generalmente ocurre en sujetos con alteraciones del flujo salival. Se ha dicho que la cantidad de saliva secretada entre los alimentos, es - menor que la que se produce al momento de tomarlos.

El flujo de saliva, proveniente de los grandes conductos salivales, constituyen un mecanismo protector, pues evita el movimiento de los microorganismos hacia dicha zona.

En un reciente estudio a un grupo de sujetos de 17 a 22 años de edad, mostró un mayor índice de flujo parotídeo en sujetos con el menor índice CPO. El estudio indicó, sin embargo, que el estado de caries en los individuos no siempre podía predecirse, pues había una superposición bastante considerable de los valores del índice de flujo en los diferentes grupos de índice CPO (cariado, perdido obturado).

Tratando de correlacionar el índice de flujo salival con la actividad de caries, es muy importante considerar el efecto amortiguador de la saliva. La saliva neutraliza y diluye los ácidos que son formados por la placa a partir de los carbohidratos ingeridos.

La saliva de los sujetos sin actividad de caries, muestra una mayor capacidad amortiguadora, o poder combinante de bióxido de carbono; parece ser también que está mas saturada de iones de calcio y fósforo y tiene más amoníaco que la saliva de individuos susceptibles a la caries.

pH SALIVAL.

El pH óptimo para el crecimiento de la mayor parte de las bacterias está entre 6.5 y 7.5. En general, se puede decir que éste es el pH que hay en la saliva.

El pH ejerce cierta acción selectiva sobre la supervivencia y crecimiento de algunas especies. En la cavidad oral puede haber un pH bajo, de alrededor de 6.0 a 6.8 que favorece la supervivencia y el desarrollo de los tipos acidogénicos, como los lactobacilos, le

vaduras y algunos estreptococos. Cuando ocasionalmente el pH salival llega a bajar hasta 5.0 o menos, tiene un franco efecto inhibitorio del crecimiento para los microorganismos proteolíticos.

Las muestras salivales de adultos resistentes a la caries parecen tener niveles de pH ligeramente más elevado que las muestras de adultos con actividad de caries. No se ha demostrado claramente este tipo de relación en la saliva de los niños.

FACTORES ANTIBACTERIANOS DE LA SALIVA

LISOZIMA: Esta enzima es una muraminidasa capaz de romper la unión entre ácido N-acetil-muránico y la N-acetil-glucosamina y teóricamente puede desintegrar muchas paredes celulares de gérmenes Gram (+), con la ruptura posterior de la membrana celular -- y muerte de la célula.

Estudios con sueros demostraron la capacidad de la lisozima, para matar y lisar bacterias, actuando con otras sustancias presentes en forma natural.

Las combinaciones más conocidas incluyen la mezcla de lisozima,

complemento y anticuerpo, en su acción sobre organismos Gram (+). La inclusión de la lisozima es especialmente importante para la IgA.

Un sistema que ha recibido mucho menos atención pero que puede tener aplicabilidad para las bacterias que rodean al diente incluye al H_2O_2 y al ácido ascórbico con lisozima. Puesto que el agua oxigenada es producida por muchos microorganismos bucales y el ácido ascórbico puede estar presente en la saliva.

El sistema puede funcionar en la boca como ocurre en las células fagocíticas. El mecanismo efector es considerado dentro de la generación de radicales libres de vida corta, que altera la integridad de la pared celular, facilitando el camino para su posterior destrucción.

OTROS FACTORES ANTIBACTERIANOS

La saliva humana contiene agentes antibacterianos, además de la lisozima.

Se ha demostrado que la saliva de bocas sanas no tolera el crecimiento de Lactobacillus acidophilus y, cuando se agrega azúcar no permite la formación de ácidos tan rápidamente como lo hace la saliva de

sujetos susceptibles a la caries.

Numerosas investigaciones han encontrado la presencia de un sistema lactobacilo-bactericidina en la saliva de las glándulas parótida y de las submaxilares. La actividad de este sistema bactericidina depende de dos componente: uno ha sido identificado como peroxidasa y el otro como tiocianato. Este sistema parece estar asociado con las glándulas salivales y no es de origen microbiano.

El efecto inhibitor de este sistema disminuye con la catalasa y el plasma. Los títulos de lactobacilo-bactericidina parecen mostrar un aumento sistemático durante el primer decenio de la vida. El nivel del sistema antilactobacilo varía siempre en el individuo.

Se ha observado que no todos los lactobacilos aislados son inhibidos. Los lactobacillus acidophilus, casei, salivarius, fermenti, etc., - han mostrado una amplia variación en la sensibilidad al sistema antilactobacilo.

Este sistema muestra actividad bactericida durante el periodo de multiplicación celular y no parece tener efecto en las células restantes.

La presencia de este sistema en la saliva se cree que pueda ayudar a la selección de la población bacteriana de la boca.

Otro factor que difiere del sistema antilactobacilo ha sido encontrado en la saliva. Este se presenta en la saliva de sujetos inmunes a la caries y está ausente en los sujetos susceptibles a la caries. Parece estar asociado con la gamma globulina y requiere de complemento para su actividad.

La enzima salival lactoperoxidasa es parte de un sistema antibacterial particularmente efectivo en inhibir el crecimiento de lactobacilos.

Una serie de investigaciones demostraron que el sistema está formado por un componente dializable, estable al calor (tiocianato) y otro no dializable, lábil al calor que mostró ser la enzima peroxidasa, la cual es idéntica a la lactoperoxidasa de la leche humana y similar a la mieloperoxidasa de las células fagocíticas. Estos dos componentes junto con el H_2O_2 de origen bacteriano forman un sistema antimicrobiano en la cavidad oral.

Parece ser que la actividad antibacterial de lactoperoxidasa, es la inhibición de la hexoquinasa y otras enzimas glucolíticas por formación de aldehídos y conversión de tiocianato a cianuro.

La habilidad para inhibir el crecimiento de una variedad de bacterias, hongos y virus por la lactoperoxidasa es de una considerable importancia en la defensa de la cavidad oral.

Lactoferrina:

Esta ferroproteína roja se encuentra ampliamente distribuida en los fluidos orgánicos y en los gránulos de leucocitos polimorfonucleares.

Se ha demostrado que la lactoferrina es una proteína que acopla hierro y éste es un mecanismo muy importante de defensa antimicrobiana para el huésped ya que por ser una proteína insaturada sustrae o aumenta hierro a las bacterias invasoras, por ello ha sido denominada "inmunidad nutricional".

Como la lactoferrina esta presente en la saliva y puede jugar un papel muy importante en la prevención de la caries dental, resulta de interés estudiar su efecto en los microorganismos orales.

La lactoferrina de la leche humana ha sido purificada por filtración en gel y por cromatografía de intercambio iónico; han sido investigados sus efectos biológicos por técnicas "in vitro".

El resultado de estos experimentos demostraron un efecto bactericida de la lactoferrina cuando fué preinoculada con S. mutans. - Este efecto fué atribuido a la captura de fierro.

B A S E S I N M U N O L O G I C A S

El sistema inmunitario esta integrado por dos componentes principales; la inmunidad celular y la inmunidad humoral.

Estos componentes se desarrollan a lo largo de vías de diferenciación separadas pero interrelacionadas, donde intervienen diferentes tipos de células y tejidos, el linfocito es la célula en la inmunología. Los estudios de diversos marcadores sobre la membrana de los linfocitos han permitido la identificación de dos poblaciones principales de linfocitos designados como linfocitos T y linfocitos B.

Los linfocitos T son llamados así porque derivan del timo ó son influidos por él durante su desarrollo. Las células son responsables de diversas funciones en la inmunidad celular, incluyendo la reactividad cutánea retardada, la defensa contra ciertos microorganismos, como hongos, bacterias patógenas intracelulares, etc., el rechazo inmunitario y la inmunidad antitumoral.

Los linfocitos B son así denominados porque se desarrollan en la bolsa de Fabricio de las aves y en la médula ósea de algunas especies quizá incluyendo la humana.

Las células B y su progenie, las células plasmáticas, son las responsables de las funciones de la inmunidad humoral.

La inmunidad humoral es expresada a través de la producción de proteínas plasmáticas circulantes denominadas anticuerpos o inmunoglobulinas.

Las inmunoglobulinas son las moléculas protéicas que portan actividad de anticuerpos, es decir la propiedad de combinarse específicamente con la sustancia que provocó su formación (antígeno), con la posible excepción de los anticuerpos naturales, los anticuerpos se originan como respuesta a las sustancias extrañas introducidas en íntimo contacto con el cuerpo.

Las inmunoglobulinas comprenden un grupo heterogéneo de proteínas -- que constituyen el 20% de las proteínas plasmáticas totales.

Las inmunoglobulinas son glucoproteínas compuestas de 82-96% de polipéptidos y 4-18% de carbohidratos.

El componente polipeptídico posee casi todas las propiedades biológicas asociados con las moléculas de los anticuerpos.

CLASES DE INMUNOGLOBULINAS

Cinco clases de inmunoglobulinas han sido descritas en el hombre, las cuales son inmunoglobulina G (IgG), inmunoglobulina A (IgA), - inmunoglobulina M (IgM), inmunoglobulina D (IgD) e inmunoglobulina E (IgE).

Inmunoglobulina G (IgG):

En los adultos normales, la IgG humana constituye aproximadamente el 75% del total de la inmunoglobulina del suero.

Pasa através de la placenta, fija el complemento, su acción es - fundamentalmente frente a microorganismos, antígenos y virus.

La IgG a un pH alcalina posee la movilidad electroforética más - lenta de todas las proteínas principales del suero.

Inmunoglobulina A (IgA):

La IgA es la inmunoglobulina predominante en las secreciones corporales.

La IgA existe en pequeñas cantidades en el suero, pero constituye la

inmunoglobulina principal de las secreciones de las vías respiratorias y gastrointestinales, calostro, leche, saliva y lagrimas, los anticuerpos de IgA se consideran la primera línea de defensa en las enfermedades infecciosas, en las cuales, la vía de infección es la bucal.

Inmunoglobulina M (IgM);

La inmunoglobulina M, constituye el 10% de la inmunoglobulinas sericas normales.

Los anticuerpos IgM, son prominentes en las respuestas inmunitarias - iniciales, a la mayoría de los antígenos y predominan en ciertas respuestas de anticuerpos.

La síntesis local de IgM ocurre en ciertos tejidos secretorios y hay predominio de IgM, en relación con IgG, en los líquidos de las mucosas como la saliva.

Inmunoglobulina D (IgD)

Esta inmunoglobulina está presente de manera normal en el suero en cantidades mínimas (0.2% del total de la inmunoglobulinas sericas).

Existen reportes aislados de IgD con actividad de anticuerpos - para ciertos antígenos incluyendo la insulina, la penicilina, las proteínas de la leche, etc. No obstante la función principal de IgD no ha sido aún determinada.

La IgD (junto con IgM) es la inmunoglobulina predominante sobre la superficie de los linfocitos B humanos.

Inmunoglobulina E (IgE)

Es conocida en el humano como "reagína", aumenta en estados - de alergia y se ha visto incrementada en infecciones parasitarias.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE IgA SECRETORIA

La función del sistema secretorio en las infecciones bacterianas, había sido difícil de demostrar experimentalmente, debido a la falta de un mecanismo efector de IgA para la destrucción bacteriana.

Las bajas concentraciones de varios componentes del complemento y el número aparentemente pequeño de fagocitos, en la mayor parte de la superficie mucosa, han contribuido a este problema.

El descubrimiento reciente, de una disminución en la adherencia bacteriana a las mucosas, resultante de anticuerpos específicos, incluyendo la IgA secretoria, ha abierto una nueva área de investigación.

Es esencial para la colonización bacteriana de las mucosas, el requerimiento de que las bacterias se adhieran selectivamente a las superficies epiteliales.

La selectividad de la adherencia, está ejemplificada en el patrón de colonización de diversas especies de bacterias, por ejemplo:

ciertas cepas de Streptococcus colonizan solo zonas limitadas - dentro de la cavidad bucal, parece que los antígenos de superficie de las bacterias propias y patógenas influyen sobre su - adherencia a las superficies mucosas y por lo tanto, afectan la colonización.

Los anticuerpos IgAs aumentan los efectos por la fijación a los componentes antigénicos sobre la superficie de las bacterias, - inhibiendo su adherencia y colonización.

Así, la IgAs aislada del líquido parotídeo, inhibe específicamente la adherencia de ciertas cepas de Streptococcus a las células epiteliales de la boca.

Esto estableció, que la IgA no fija el complemento através de la vía clásica, de una manera semejante a la IgG ó IgM, puesto que la lisis y destrucción de las bacterias, implica la fijación del - complemento, por lo cual, no parece que el efecto antibacteriano de IgA este mediado por él.

La inhibición de la adherencia se correlaciona positivamente con - la inhibición de la síntesis de polisacáridos asociados a las células bacteriana y con la inhibición de la enzima bacteriana glucosiltransferasa.

Las ratas inmunizadas con S. mutans fueron infectadas por vía bucal con cepas vivas de S. mutans. Estas ratas elaboraron anticuerpos salivales de la clase IgA que inhibían la actividad de la glucosiltransferasa y disminuían la producción de caries cuando se compararon con las ratas testigos.

SISTEMA DE COMPLEMENTO

El sistema de complemento o alexina, es un conjunto de proenzimas, de origen glucoproteico, las cuales se encuentran en la circulación de los vertebrados en forma inactiva. Constituye el 15-10% de las proteínas séricas.

Este sistema es activado en forma de cascada, es decir una proenzima es transformada a enzima y ésta, a su vez, actúa sobre la siguiente proenzima transformandola a enzima y así sucesivamente.

La activación del complemento se puede llevar a cabo por dos vías una vía clásica y otra, vía alterna.

La vía clásica por activación, es a través de una reacción antígeno anticuerpo (mecanismo específico), en donde el anticuerpo es fijador de complemento.

La vía alterna también se le conoce como vía de la properdina la cual es considerada como un mecanismo de resistencia no específico.

Activación del complemento por la vía clásica; hay 11 proteínas en el sistema de complemento las cuales se designan por la letra C y por número hasta el C9. El C1 está compuesto por C1q, C1r, C1s. El número asignado a las proteínas del complemento refleja la secuencia en el cual se activa., a excepción de C4, la cual va antes de C2 (el número se les asignó antes de que la secuencia fuera totalmente conocida). Quedando así la -- activación C142356789.

Solamente IgM e IgG son capaces de fijar complemento por la vía clásica.

Vía alterna o vía de la properdina;

La vía alterna o vía de la properdina (heparina que se encuentra en forma inactiva en plasma normal), se considera no específico y se puede activar por; polisacáridos de bacterias Gram (+) y Gram (-) .

ASPECTOS DE VACUNACION ANTICARIES

Se siguen llevando a cabo numerosos intentos para prevenir la caries dental, utilizando distintos agentes inmunizantes como son: -- Bacterias vivas (4, 15); Bacterias muertas (3, 5, 8, 11, 20, 23, 24, 28 y 34); Enzimas (1, 2, 12, 14, 16, 17, 22 y 27); y otros inmunógenos (7).

No obstante que la posibilidad de desarrollar una vacuna contra la caries parece remota, las perspectivas son interesantes y el beneficio potencial es tan grande que, proseguir con dicha investigación, resulta un objetivo culminante (13).

En todos los estudios de experimentos, se ha utilizado diversas especies de estreptococos (mutans, faecalis, etc.). De lactobacilos (acidóphilus, casei, etc.), algunas en forma viva y otras muertas por calor o con antisépticos. También se han empleado enzimas bacteriana y otros inmunógenos como los de pared celular.

Con respecto a las vías de administración de dichas vacunas se han probado la intravenosa, la subcutánea, por submucosa intraductal e intraperitoneal y oral.

Para llevar a cabo estos experimentos se han utilizado animales gnotobióticos y convencionales, tales como roedores, mono, ratas, conejos así como también en humanos.

Los resultados obtenidos en todos los experimentos llevados a cabo por diversos investigadores, se mencionarán de la siguiente manera:

INMUNIZACIONES CON CELULAS VIVAS

Bowen (4) reportó inmunizaciones contra la caries dental en monos por inyección intravenosa de una cepa viva de S. mutans.

Además de los resultados de este experimento piloto, inmunizó - Macaca fascicularis intravenosamente con una preparación de S. mutans vivos y obtuvo menos lesiones cariosas y más pequeñas, - en los vacunados, que en los animales testigos.

Guggenheim et al (15), fracasaron para proteger ratas contra ca - ríes por inmunización con cepas de S. mutans vivos.

INMUNIZACIONES CON CELULAS MUERTAS

Fitzgerald y Keyes (9), fueron probablemente los primeros que intentaron una vacuna contra caries dental en animales. En una serie de experimentos, ellos vacunaron roedores inyectando células fenolizadas de S. mutans cepa HS-6 sin obtener la protección esperada.

Wagner (33), observó que ratas gnotobióticas infectadas con S. faecalis y vacunadas parenteralmente, empleando cepas homólogas con adyuvante desarrollaron pocas lesiones cariosas.

Los animales inmunizados mostraron un alto título de aglutininas y saliva, y tuvieron menos bacterias en su boca, que la de los animales controles.

Tanzer (30) y Gaffar (11), utilizando hamsters originalmente infectados con S. mutans, reportaron una protección parcial contra caries aplicando como antígeno una cepa de Streptococcus SS-2 formadora de levanas, ésta era una cepa similar a S. alivarius.

Wagner (34), reportó que ratas vacunadas con S. mutans (sero - tipo C), S. sanguis y L. casei, muertos con formalina y en adyuvante completo de Freund, quedaron virtualmente libres de caries a pesar de haber sido infectadas con las cepas homólogas, durante el comienzo del período de inmunización. Los animales tuvieron un incremento del título de aglutininas contra las cepas utilizadas en las vacunas.

Taubman (32), reportó una reducción significativa de caries en ratas inmunizadas por una serie de inyecciones de S. mutans 6715 - formalinizadas, que fueron aplicadas cerca de la glándula salival - mayor y antes de haber sido infectadas con la cepa homóloga.

Tanzer et al. (29), llevaron a cabo una serie de 5 experimentos en los cuales vacunaron ratas con S. mutans (serotipo D) sin adyuvantes, subcutáneamente, en una región alejada de las glándulas salivales. Ellos no detectaron diferencias en la población de S. mutans aislados de los varios grupos experimentales. Detectaron altos títulos de anticuerpos aglutinantes en el suero de los animales vacunados.

Además pudieron demostrar anticuerpos en la saliva de los grupos inmunizados pero no en los animales testigos.

No detectaron diferencias en la cantidad de placa en ninguno de los grupos. Se observó protección en tres de los cinco experimentos, ninguna en uno e incremento en caries en el otro de los grupos inmunizados.

Taubman y Smith (31), utilizando ratas convencionales y gnotobióticas demostraron que la inmunización, vacunando en las glándulas salivales, con una preparación de S. mutans muertos y con adyuvantes completos de Freund, formaba anticuerpos específicos en la saliva y un menor promedio de lesiones cariosas. Estos investigadores también observaron que la reducción de caries fue mayor en las superficies oclusales.

Lenher et al. (20), describieron varios experimentos y reportaron protección contra la caries en monos Rhesus (Macaca mulata), ellos vacunaron un grupo de monos submucosamente y otros subcutáneamente, aplicando S. Mutans muertos por calor y suspendidos en adyuvan-

te Incompleto de Freund o solución salina.

Bayona y sus colaboradores (3), obtuvieron resultados favorables en un intento de inmunización contra caries dental realizado en 484 niños escolares de 6, 7 y 8 años de edad, a los que les suministraron oralmente pastillas masticalbes que contenían un gran número de lactobacterias muertas por calor, adicionadas con piridoxina y dando placebos al grupo testigo.

A los 6 meses y al año, después de haber sido aplicada esta medida se efectuaron encuestas clínicas (Índice CPOS) en las que se encontraron hasta un 43.41% de protección general o sea que hubo un 1.45% de superficies más atacadas en el grupo de testigos.

McChee (23), reportó que una respuesta específica de IgA salival podría ser detectada y además obtuvo menor promedio de lesiones cariosas en ratas gnotoblóticas, inmunizadas en la región submaxilar, con células completas muertas de S. mutans.

Evans et al. (8), inmunizaron Macaca Fascicularis con S. mutans (serotipo D) y sus productos celulares, en la proximidad de la --

glándula o directamente en la glándula parótida.

La administración subcutánea de los inmunógenos ocasionaron pocos anticuerpos salivales. Los animales fueron estimulados con las cepas homólogas y encontraron que la superficie oclusal de los animales inmunizados tuvo una reducción de 78% de infección.

La infección, en superficies bucal e interproximal, fué reducida hasta 46%. Estos resultados indicaron claramente que es posible reducir los niveles de infección empleando estos métodos de vacunación.

Bowen (5) vacunó monos jóvenes de la especie Macaca fascicularis en la submucosa, aplicando una variedad de inmunógenos derivados de un serotipo c de S. mutans. A 4 animales les fueron dados una serie de inyecciones de S. mutans sin adyuvante, otros fueron utilizados como control. Los animales de experimentación permanecieron libres de caries. Otro desarrolló caries en los incisivos, lo cual fué asociado a un trauma; en contraste, los animales testigos tuvieron un desarrollo de 64 lesiones en total.

Michaeleck et al. (24) mencionaron que el anticuerpo predominante en la secreción oral, es producida localmente y es IgA.

La ingestión de células muertas de S. mutans induce a la producción de anticuerpos de la clase IgA, que se presentan en la saliva así como en la leche y provee una protección significativa contra la caries dental en ratas gnotobióticas. Además ellos encontraron que la leche de bovinos con anticuerpos para S. mutans redujo significativamente el nivel de lesiones cariosas en ratas alimentadas con esa leche liofilizada y desafiadas con cepas homólogas - y virulentas de S. mutans. La administración oral de antígenos de S. Mutans induce la formación de anticuerpos específicos IgA Secretoria (IgA-S) en el calostro, leche saliva y proporciona protección contra las infecciones subsiguientes.

Schick et al (28) dividieron doce monos Irus en grupos de 3 y los inmunizaron, uno con placebo, dos con preparaciones de pared celular y uno con vacuna conteniendo un preparado de CTF. de S. mutans. Después de 310 días de deslfo con una dieta cariogénica, el promedio de lesiones cariosas, en todos los animales inmunizados, fué inferior a los controles.

Posteriormente, los animales protegidos presentaron títulos séricos altamente específicos contra los antígenos utilizados para la inmunización y la cantidad de placa fué inferior cuando se compararon con los controles.

INMUNIZACIONES CON GLUCOSILTRANSFERASA

(GTF)

Un procedimiento para inhibir la glucosiltransferasa es la formación de anticuerpos anti - GTF, ya que generalmente la interacción de la enzima, con su respectivo anticuerpo lleva una reducción o inhibición de la actividad catalizadora de la enzima.

La inhibición de la GTF puede resultar en una reducción de la formación de placa y tal vez en una baja incidencia de caries.

Guggenheim (16), no encontró reducción de caries en ratas inmunizadas con GTF de estreptococo cepa HS, OMZ 176.

Bahn et al. (1), reportaron que ratas vacunadas conteniendo GTF administrada a través de la mucosa oral, tuvieron menos lesiones cariosas que los animales controlados. La enzima en estos estudios fué cruda.

Gibbons y Fitzgerald (14); Mc Gabe y Smith (22);

Schachiele et al (27), han sugerido que la interferencia contra la -

actividad de la CTF de S. mutans ofrece el potencial para inhibir la fijación de esos microorganismos en la superficie dental.

Hayshi et al (17), llevaron a cabo una serie de experimentos en ratas, las cuales tuvieron una flora oral microbiana reducida por penicilina hasta el destete. Los animales fueron estimulados diariamente con S. mutans, serotipos B en agua de beber. Los cuales fueron vacunados intraperitonealmente con una preparación de CTF conteniendo adyuvante completo de Freund.

Los experimentos continuaron durante 112 días. Se encontró protección de un 60%.

Bhan et al. (2), sostuvieron que monos Rhesus vacunados intramuscosamente, con una preparación de CTF, fueron protegidos en una gran extensión, en comparación con otros vacunados con fructosil-sacarasa o hidrolasa glucosídica.

Bowen et al. (5), encontraron que paredes celulares derivados de S. mutans confirieron una mayor protección que una preparación -

de GTF cuando la dieron intramucosamente.

Gaffar et al (12), fueron incapaces de demostrar reducción en la incidencia de caries, en roedores inmunizados con GTF empleando, como antígeno, la de una cepa de S. mutans 6715.

HIDROLASA GLUCOSIDICA

Las hidrolasas glucosídicas extracelulares producidas por microorganismos orales, son un segundo factor microbiano que pueden ayudar a la formación de placa dental; si estas enzimas cooperan proporcionándoles azúcares a los estreptococos orales, a partir de las glucoproteínas orales cuando no haya azúcar en la dieta (17).

Un método para inhibir las enzimas microbianas como la hidrolasa glucosídica, sería estimulando la formación de anticuerpos antienzimáticos (13).

La interacción de la enzima con su anticuerpo respectivo reduce o inhibe la actividad catalizadora de dicha enzima.

La inhibición de hidrolasas glucosídicas por anticuerpos específicos podrían disminuir la precipitación de mucina, reducir el número de microbios orales cariogénicos y tal vez una disminución en la incidencia de caries dental.

Hayashi et al. (17), llevaron a cabo una serie de experimentos en los cuales los animales fueron vacunados en la glándula salival --

submandibular utilizando hidrolasa glucosídica derivada de un - estreptococo Spp adyuvante de Freund. Esta preparación de - enzimas fué presumiblemente empleada porque cepas de S. mu - tans poseen enzimas capaces de reducir la rotura de glucopro - teínas.

En 1972 Hayashi et al. (17) inmunizaron roedores con Dextrán - sacarasa derivadas de estreptococos administrandolas intraperi - tonealmente así como también inyectaron hidrolasas glucosídicas - en las glándulas salivales y los resultados fueron una reducción - en la incidencia de caries.

Estos animales fueron infectados con un organismo cariogénico - marcado estreptomycin resistente; los animales vacunados desa - rrollaron menos lesiones cariosas que los testigos. Y además - encontraron en menor número los S. mutans en la boca de los - animales inmunizados.

Cohen et al (6) con mono (Macaca fascicularis) de 9 años de - sobrevivencia y con los resultados de los últimos 4 años han co - rroborado sus primeros hallazgos del valor preventivo de los inmu - nógenos derivados de células totales y de pared celular de S. mu -

tans administrados en submucosa y subcutáneamente. Pero falló con preparaciones purificadas de GTF.

En resumen, de todas las investigaciones realizadas hasta ahora, se considera que la gran mayoría han obtenido resultados positivos en los intentos de inmunización contra la caries dental, pero hay quienes no han tenido la misma suerte.

Por lo tanto, en base a lo anterior, la aplicación de una vacuna anticaries, es una posibilidad no muy lejana.

CONCLUSIONES

A partir de todo lo que hasta ahora se ha realizado en relación con vacunación anticaries podemos llegar a algunas conclusiones como son;

- 1) Es factible la inmunización contra caries dental
 - a) Dicha inmunización afecta a los gérmenes cariogénicos.
 - b) Puede inhibir la acción enzimática microbiana productora de placa dentobacteriana, así mismo se frena la acidogénesis desmineralizante.
 - c) Además se logra impedir la fijación de los organismos acidogénicos a la superficie de los dientes.

- 2) Hasta ahora se han logrado inmunizar y proteger contra la caries dental :
 - a) A los animales de laboratorio, aplicándoles inmunógenos de estreptococo.
 - b) Hasta la fecha dichos inmunógenos no han sido aplicados aún en humanos y especialmente a niños con el mismo objeto.

- c) Solo se tiene un dato relativamente reciente, de inmunización en niños, pero con antígenos principalmente lactobacilares.
- 3) Es muy probable que para combatir contra la caries dental - la inmunización sería un factor importante.
- a) que unido a los demás procedimientos consigan erradicarla en un futuro no muy lejano, b) que una vacuna anticaries - que fuera una utopía, ya actualmente se puede considerar - una realidad.

PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

Se sugiere que en los programas, los módulos, cartas descriptivas - y demas materiales didácticos que se emplean en la ENEP-ZARAGOZA de la carrera Cirujano Dentista incluya todo lo concerniente a la inmu_ nización contra la caries dental.

Esto se propone en vista de los resultados hasta ahora obtenidos por - los diferente investigadores, en las distintas partes del mundo, así co- mo también porque se sigue trabajando en este aspecto, y porque es - evidente que viene a ser un elemento más, de gran importancia contra- la caries dental.

S U M A R I O

Se presenta una visión general sintetizada sobre el listado actual y las perspectivas de la vacunación contra la caries dental desde los trabajos de Jay (1932-1933) hasta 1980.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Bahn, A., Pinter, J. K., Guillman, P. and Hayashi, J. A. (1969). Immunization with enzymes against caries dental in the rats. Pre - printed abstracts. Intern. Ass. Dent. Res., 47th General Meeting. Abstract 64.
- 2) Bahn, A.N., I. L. Shklair, and J.A. Hayashi (1975) Immunization of monkeys with glucosyltransferase, fructosyltransferase and glucosidic hidrolases. J. Dent. Res. 54, Abstract, 575.
- 3) Bayona Gonzáles Armando (1972). Carioinmunidad inducida . Vacunación bucal en niños; Resultados obtenidos durante un año. Revista - A.D.M. XXIX, Núm. 4; 239-249.
- 4) Bowen, W.H. (1969a). A vaccine against dental caries. A pilot - experiment in Monkeys (Macaca irus). Br. Dent. J. 126, 159-160.
- 5) Bowen, W.H., Cohen, M.F., Colman (1975). Immunization against dental caries. Brit. Dental J. 139; 45-48.

6) Bowen, W.H. and Guggenheim, B. (1979). Therapeutics of caries-prevention concepts and prospects.

Acta Odontol. Scand. 36; 185-198.

7) Cohen, B., Colman, G. and Russell, R.R.B. (1979) Immunization against dental caries; Further studies. Brit. Dent. J., 147; 9-14.

8) Evans, T.R., F.G. Emmings, and R.J. Genco (1975).

Prevention of Streptococcus mutans infection of tooth surfaces by salivary antibody in Iruu monkeys (Macaca fascicularis). Infect.

Immunity 12: 293-302.

9) Fitzgerald, R.J. and Keyes, P.H. (1962). Attempted immunization of albino hamsters against induced dental caries. Preprinted - abstract. Inter. Ass. Dent. Res., 40th General Meeting. Abstract 146.

10) Funderberg, H. Hugh. Immunologia clinica 1976, (ed. manual - moderno).

- 11) Gaffar, A., H.W. Marcussen enzyme on experimental dental caries in hamstrs.
Preprinted abstracts, Intern. Ass Dent. Res., 49th General Meeting. Abstract 349.
- 12) Gaita, A., Marcussen, H.W. Ruffner, J. and Kestenbaum, R.C. (1970). Effects of specific immunization on experimental dental caries in hamsters. Preprinted abstracts. Inter. Ass. Dental Res., 48th General Meeting. Abstract 304.
- 13) Germaine, G.R. (1976). Anticaries vaccine. *Norweat dent* 55 (vol. 6); 305-9 (nov.-dic. 76).
- 14) Gibbons, R.J. and Fitzgerald, R.J. (1969). Dextrans induced agglutination of Streptococcus mutans and its potential role in the formation of dental plaque. *J. Bacteriol.* 98: 341-346.
- 15) Guggenheim, B., and E. Newbrun, (1969). Extracellular glucosyltransferase activity of an HS strain of Streptococcus mutans - *Helv. Odont. Acta* 13:84-97.

16) Guggenheims, B. Muhlemann, H.R. , Regolati, B. and Schmid, R. (1970). The effect of immunization against streptococci or glucosyl transferase on plaque formation and dental caries in rats. In: dental plaque (edited by McHugh, W.D.), pp287-296 E & Livingstone, London.

17) Hayashi, J. A., Shklair, I. L. and Bahn A.N. (1972) Immunization with dextrans - sucrose and glucosidic hydrolases. J. Dent. Res. 51, 436-442.

18) Jay, P., Crowley, M. and Bunting, R.W. (1932). Preliminary studies on the immunology of dental caries J.A.D.A., 19; 265-270.

19) Jay, P., Crowley, M., Hadley, F.P. and Bunting R.W. (1933). Bacteriology and immunology studies on dental caries. J.A.D.A., - 20; 2130-2148.

20) Lehner, T., S.J. Challacombe, and J. Caldwell. (1975). An immunological investigation into the prevention of caries in deciduous

teeth of Rhesus Monkeys. Arch. oral Biol; 305-310.

21) Mayer , M.M. The complement system in immunology (ed. - Scientific American) 1976.

22) McCabe, M.M. and E.E. Smith (1973). Origin of cell associated dextran-sucrase of Streptococcus mutans Infect. immunity-7; 829-838.

23) McGhee, J.R., S.M. Michalek, J. Webb, J.M. Navia, A.F.R. - Rahman, and D.W. Legler (1975). Effective immunity to dental caries: Protection of gnotobiotic rats by local immunization with Streptococcus mutans. J. Immunol. 114; 300-305.

24) Michalek, S.M. , McGhee J.R., Arnold, R.R., and Bozzo, L., Science 192; 1238 (1976).

25) Miller, W.A., Spread of carious lesions in dentina. J. American Dent. Ass., 18; 1327 (1969).

- 26) Nolte A. Williams, Microbiologia odontológica, 1a ed., editorial interamericana, 1971.
- 27) Schachtele, C.F., R.F., Staat and S.K. Harlander (1975) - Dextranases from oral Bacteria: Inhibition of water-insoluble glucan production and adherence to smooth surfaces by Streptococcus mutans. Infect Immunity 12; 309-317.
- 28) Schick, J.H. et al (1976) Dent, Res. 55 (spec. Iss B); Abst. 78.
- 29) Tanzer J.M. , Hageage, G.J., Jr. and Larson, R.H.(1970) . - Inability to immunologically protect rats against smooth surface -- caries. Preprinted abstracts Intern. Ass. Dent. Res., 48th General meeting Abstract 446.
- 30) Tanzer, J.M., G.J. Hageage, and R.H. Larson (1973). Variable experiences in immunization of rats against Streptococcus mutans associated dental caries. Arch. Oral Biol. 18: 1425-1439.

31) Taubman, M.A. (1973). Role of immunization in dental disease. In: Comparative immunology of the oral cavity. Am Ass. Adv. Sci. - Washington, D.C.

32) Taubman, M.A., and D.J. Smith (1974). Effects of local immunization with Streptococcus mutans on induction of salivary immunoglobulin A antibody and experimental dental caries in rats. Infec. - Immunity 9: 1079-1091.

33) Wagner, M. (1967). Specific immunization against Streptococcus faecalis induced dental caries in the gnotobiotic rat. Bacterial Pro. 67: 99.

34) Wagner, M. (1973). Relationship of specific antibacterial agglutinins in saliva to dental caries in gnotobiotic rats, P 211-216. In J.B. Henegan (ed). Germfree research, Academic Press, New York.

35) P. Lynch J.J. Kabara, and RSC Hemmel. (1980) The Cariostatic effect of a Food-Grade Lipid AADR Abstracts p.p. 313(181)

36) S.Katz and K.A. Williams.(1930). Anticaries Potential of Fatty Acids. AADR Abstract p.p. 313 (182)

37) H. A. B. Linke. (1980). Inhibitory effect of saccharin on Dental Caries in Adult hamsters. p.p. 313 (183).