

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

T E S I S

"NIVELES DE IgA EN SALIVA DE NIÑOS MEXICANOS RELACIONADO  
A LA ACUMULACION DE PLACA BACTERIANA Y MICROORGANISMOS"

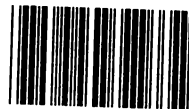
P O R

C.D. ELBA ROSA LEYVA HUERTA.

1 9 8 4

**LEYVA  
HUERTA  
ELBA  
ROSA  
1984**

**TESIS**



**K(1) UNAM**



Facultad de Odontología  
Div. de Est. de Posgrado e Investigación  
Biblioteca "Barnet M. Levy"



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL

AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Cualquier tesis no publicada postulando para el grado de Maestría y depositada en la biblioteca de la Universidad, - Facultad de Odontología, queda abierta para inspección, y sólo podrá ser usada con la debida autorización del autor. Las referencias bibliográficas pueden ser tomadas, pero ser copiadas sólo con el permiso del autor, y el crédito se da posteriormente a la escritura y publicación del trabajo.

Esta tesis ha sido utilizada por las siguientes personas, - que firman y aceptan las restricciones señaladas.

La biblioteca que presta esta tesis debe asegurarse de recoger la firma de cada persona que la utilice.

Nombre y Dirección.

Fecha.

---

---

---

---

---

---

---

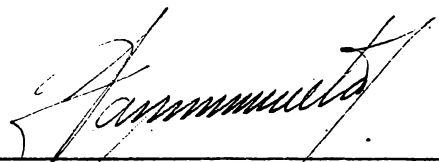
---

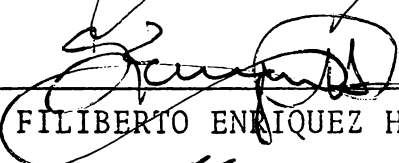
---


---

"NIVELES DE IgA EN SALIVA DE NIÑOS MEXICANOS RELACIONADO  
A LA ACUMULACION DE PLACA BACTERIANA Y MICROORGANISMOS"


APROBADA POR:

  
\_\_\_\_\_  
C.D.M.O. ANGEL KAMETA TAKIZAWA

  
\_\_\_\_\_  
C.D.M.O. FILIBERTO ENRIQUEZ HABIB

  
\_\_\_\_\_  
Q.F.B. FERNANDO FRANCO MARTINEZ

  
\_\_\_\_\_  
C.D.M.O. MIGUEL ANGEL FERNANDEZ

  
\_\_\_\_\_  
Director de Tesis: Dr. Odont. JAVIER PORTILLA ROBERTSON

NIVELES DE IgA EN SALIVA DE NIÑOS MEXICANOS RELACIONADO A  
LA ACUMULACION DE PLACA BACTERIANA Y MICROORGANISMOS.

POR

C.D. ELBA ROSA LEYVA HUERTA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA  
EN ODONTOLOGIA (ODONTOPEDIATRIA)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FAÇULTAD DE ODONTOLOGIA

JUNIO DE 1984

## R E C O N O C I M I E N T O S

A las Autoridades de la Facultad de Odontología.

A la Unidad de Investigación.

A la División de Estudios de Posgrado.

Muy especialmente por su colaboración, a los integrantes de los Laboratorios de Microbiología y Patología.

A todas las personas, que de una u otra forma participaron en la realización de este trabajo.

## I N D I C E

INTRODUCCION . . . . .	1
REVISION BIBLIOGRAFICA . . . . .	12
MATERIALES Y METODOS . . . . .	16
RESULTADOS . . . . .	19
DISCUSION . . . . .	34
RESUMEN . . . . .	36
CONCLUSIONES . . . . .	39
BIBLIOGRAFIA . . . . .	40
APENDICE . . . . .	43
CURRICULUM VITAE . . . . .	46

## INDICE DE TABLAS

1.- Caracterización del grupo de niñas en lo que respecta a los niveles de IgA (expresado en mg/ml).....	19
2.- Caracterización del grupo de niños en lo que respecta a los niveles de IgA (expresado en mg/ml).....	19
3.- Caracterización del grupo de niñas en la cuantificación de microorganismos.....	22
4.- Caracterización del grupo de niños en la cuantificación de microorganismos.....	22
5.- Correlación de la concentración de IgA y cantidad de microorganismos en el grupo de niñas (S-1) .....	25
6.- Correlación de la concentración de IgA y cantidad de microorganismos en el grupo de niños (S-2) .....	28
7.- Tabla de promedio aritmético, media y desviación de estándar correspondiente al grupo de niñas.....	29
8.- Tabla de promedio aritmético, media y desviación estándar correspondiente al grupo de niños.....	29
9.- Caracterización por edades de ambos grupos de la población en estudio.....	31
10.- Contenido de IgA promedio total para el grupo de niños y niñas en estudio.....	32
11.- Coeficientes de correlación entre contenido de IgA y microorganismos por muestra.....	32
12.- Resultado de aplicar la prueba de Wilcoxon .....	33



## INDICE DE GRAFICAS

1.- Resultado de la concentración de IgA del grupo de niñas .....	20
2.- Resultado de la concentración de Iga del grupo de niños .....	21
3.- Resultado del recuento de microorganismos del grupo de niñas .....	23
4.- Resultado del recuento de microorganismos del grupo de niños .....	24
5.- Recuento total de IgA en tres muestras obtenidas en una población de 18 niños .....	26
6.- Recuento total de microorganismos realizados en el grupo de 18 niños .....	27
7.- Interrelación en el comportamiento entre la cantidad de muestra de IgA y el número de microorganismos....	30

## I N T R O D U C C I O N

En las últimas décadas se ha desarrollado el concepto de un sistema inmunitario secretorio independiente de los anticuerpos del suero.

La presencia de IgA en secreciones que están en contacto con las mucosas externas, la proporción de ésta en la saliva, la ausencia, el decremento o la alteración de ella, pueden ser un factor etiológico de numerosas enfermedades infecciosas, de caries dental y de enfermedad parodontal.

Teniendo en cuenta que la caries dental es uno de los principales problemas que afectan a la población infantil en nuestro País, y que la saliva es la causante de que la mucosa bucal se encuentre constantemente húmeda, ésta ha sido sujeta a numerosos estudios para determinar el papel de la saliva en la formación o inhibición del proceso carioso. No se conoce el mecanismo debido al cual la saliva tenga influencia en la formación de la caries, aunque puede ofrecer condiciones favorables y desfavorables para la producción de ésta, como podría ser la ausencia y el decremento de la IgA.

La caries es una desintegración de los dientes que empieza en la superficie y avanza progresivamente; ha sido atribuido al efecto de los productos ácidos de la fermentación bacteriana; el papel de los factores salivales como la capacidad de amortiguar, la lisozima, la lactoferrina y las peroxidasas enzimas que destruyen las bacterias así como la concentración de IgA-S en la saliva, pueden funcionar evitando la adherencia bacteriana al esmalte; resultando posible que este mecanismo sea altamente eficaz. El desarrollo de la caries en lu

gares susceptibles y lugares cervicales y proximales, puede ser que se produzca por no ser accesible a los componentes salivales.

Teniendo en cuenta que no existen estadísticas de la relación entre placa bacteriana y niveles de IgA, en población infantil en México, el presente trabajo reporta un estudio realizado en niños mexicanos, estableciendo así un parámetro de los niveles de IgA de dichos niños y estableciendo una posible correlación con la placa bacteriana.

## SISTEMA INMUNITARIO SECRETORIO.

### GENERALIDADES.

Se estipula que los anticuerpos IgA-S comprenden un importante mecanismo de defensa contra las infecciones locales de las mucosas del cuerpo; se ha acentuado la importancia de la IgA-S en la resistencia a las infecciones del aparato respiratorio, el aparato digestivo y del aparato genitourinario; porque se han descubierto grandes cantidades de IgA secretoria en la saliva, en las lágrimas, en el moco nasal, en las secreciones bronquiales, en el líquido prostático, en las secreciones vaginales y en las secreciones mucosas del intestino delgado. En este sitio los anticuerpos IgA-S constituyen la mayor parte de los llamados coproanticuerpos.

Se presentan las diversas clases de inmunoglobulinas de las secreciones, en proporciones que son significativamente diferentes a las inmunoglobulinas del suero; en el suero la IgG es predominante siendo la IgA una fracción relativamente pequeña de dichos anticuerpos. Sin embargo la IgA es la inmunoglobulina predominante de las secreciones externas. Hay regulación independiente del contenido de anticuerpos en el suero y en las secreciones externas; la regulación se realiza por síntesis local y por transporte selectivo de inmunoglobulinas del suero. Biológicamente estos fenómenos son de gran importancia, ya que bajo condiciones de infección natural o vacunación, pueden llevar a una disociación entre la inmunidad sistémica y local.

## ESTRUCTURA DE LA IgA SECRETORA.

Todas las inmunoglobulinas, independientemente de su clase, están compuestas por unidades estructurales básicas semejantes. Estas son glucoproteínas, compuestas, del 82 al 96 % de polipéptidos y del 4 al 18 % de carbohidratos.

Cada inmunoglobulina contiene una unidad básica (monómero) que contiene 4 cadenas polipeptídicas, de las cuales 2 son cadenas pesadas (H) de peso molecular alto y 2 cadenas livianas (L) de bajo peso molecular. Las cadenas H contienen los determinantes antigénicos específicos para cada clase y especifican la clase antigénica a la que corresponde una molécula de inmunoglobulina.

Las cadenas livianas, se dividen en 2 tipos: Kappa y Lambda sobre la base de los determinantes antigénicos; la parte de la molécula del anticuerpo que se combina con el antígeno - está formada por un pequeño número de aminoácidos en la región variable de la cadena H y L; la digestión de una molécula de inmunoglobulina por la enzima papaína produce 2 fragmentos FAB (fijadores de antígenos y un fragmento cristizable (FC). Los enlaces químicos disulfuro (S-S) son esenciales para la estructura tridimensional de las inmunoglobulinas (fig. -I)

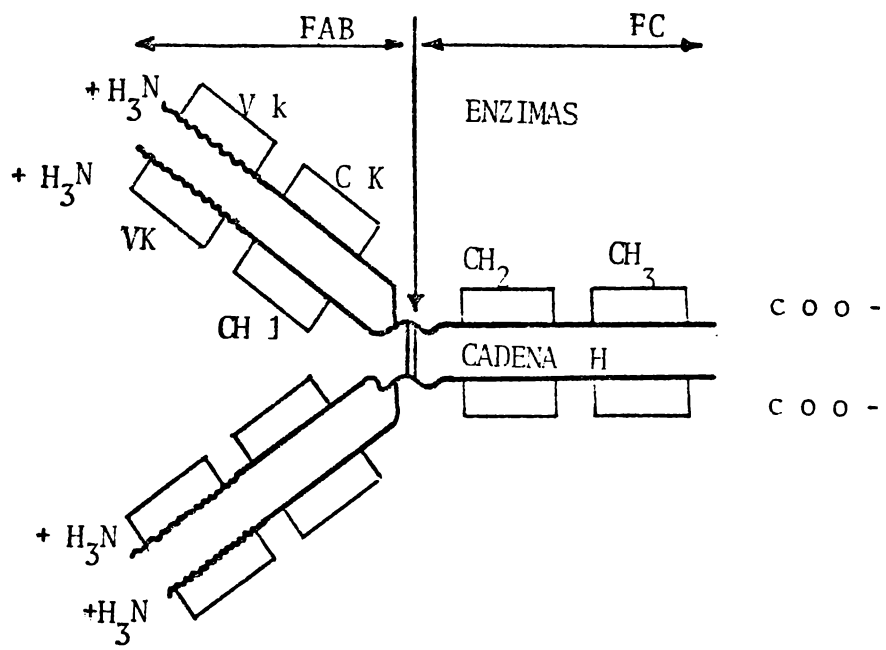


Fig. I-MODELO DE 1 MOLECULA DE INMUNOGLOBULINA (ESTRUCTURA BASICA)

La IgA del suero humano existe primordialmente como un monómero con un 10 a 15 % en forma polimérica; mientras que la IgA de las secreciones externas existe principalmente como un dímero con un coeficiente de sedimentación de 11S; este coeficiente es medido por la técnica de Svedberg, cuanto mayor es el valor de sedimentación de una proteína más alto es su peso molecular. La molécula de IgA-S consiste en 2 monómeros ( IgA-7S ) más una glucoproteína llamada componente secretorio. En la molécula IgA-S, el C S está unido a la cadena H por uniones disulfuro, asimismo se ha identificado una cuarta cadena en las IgA-S que se ha designado como cadena J; esto reportado por Halpern y Koshland. Al determinar su composición de aminoácidos y sus propiedades inmunológicas, se encontró que eran diferentes a las cadenas L H y C S; de esta manera la cadena J es característica de las inmunoglobulinas poliméricas; se ha postulado que tiene la función de unir las subunidades de estas moléculas. Estudios con anticuerpos fluorescentes, indican que la cadena J se produce en células plasmáticas que sintetizan inmunoglobulinas en lámina propia. El siguiente modelo representa la estructura de la IgA-S ( IgA )<sup>2</sup> y J- CS igual a IgA secretoria (fig. 2)

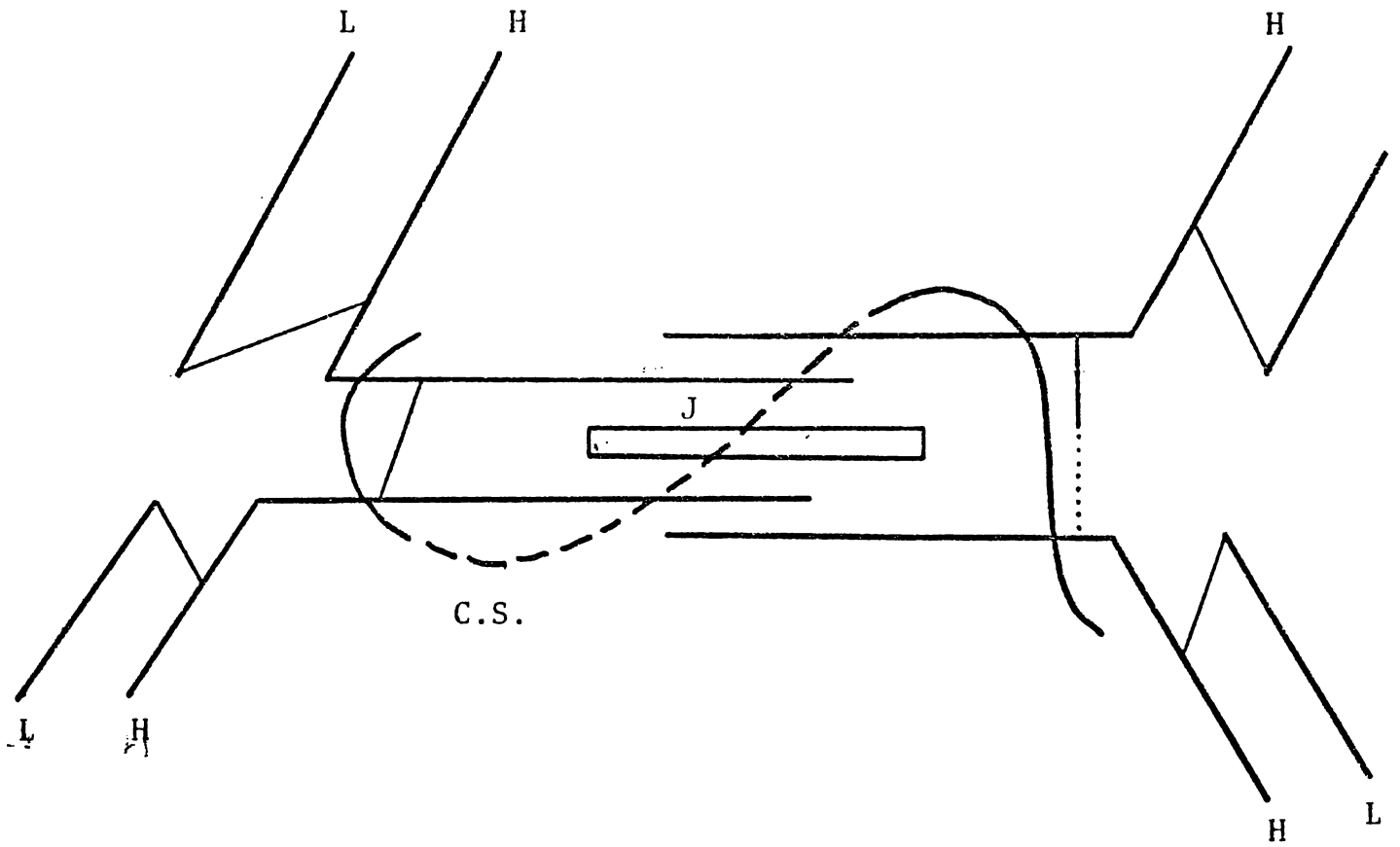


Fig. 2 MODELO DE IgA SECRETORIA.



## SINTESIS Y TRANSPORTE DE LA IgA-S

Se ha sostenido generalmente, que la mayor parte de la IgA-S es producida in situ de las glándulas exócrinas y mucosas siguiendo la estimulación local antigénica. Este concepto es ta fundado en el conocimiento de que la mucosa estimulada antigénicamente, sintetiza y reúne a los componentes de las cadenas de polipéptidos de IgA in vitro o durante los experi--mentos de perfusión, revelando la presencia en la lámina propia de la mucosa, de una gran cantidad de células plasmáti--cas en íntimo contacto con el epitelio glandular adyacente.

La IgA-S y la IgA sérica, provienen de células distintas, --aunque existen estudios reportando que cantidades pequeñas -de IgA pasan del suero a las secreciones externas; se consi--dera que el resto se sintetiza en la lámina propia de las mucosas por las células plasmáticas localizadas en forma de lágunas, en el fluído subepitelial intersticial, sintetizando las moléculas de IgA y las cadenas J, las cuales se difunden y atraviesan la membrana basal uniéndose al componente secretorio, el cual es sintetizado por las células epiteliales y que actúa como proteína receptora, permitiendo el transporte de éstas. (Fig. 3)

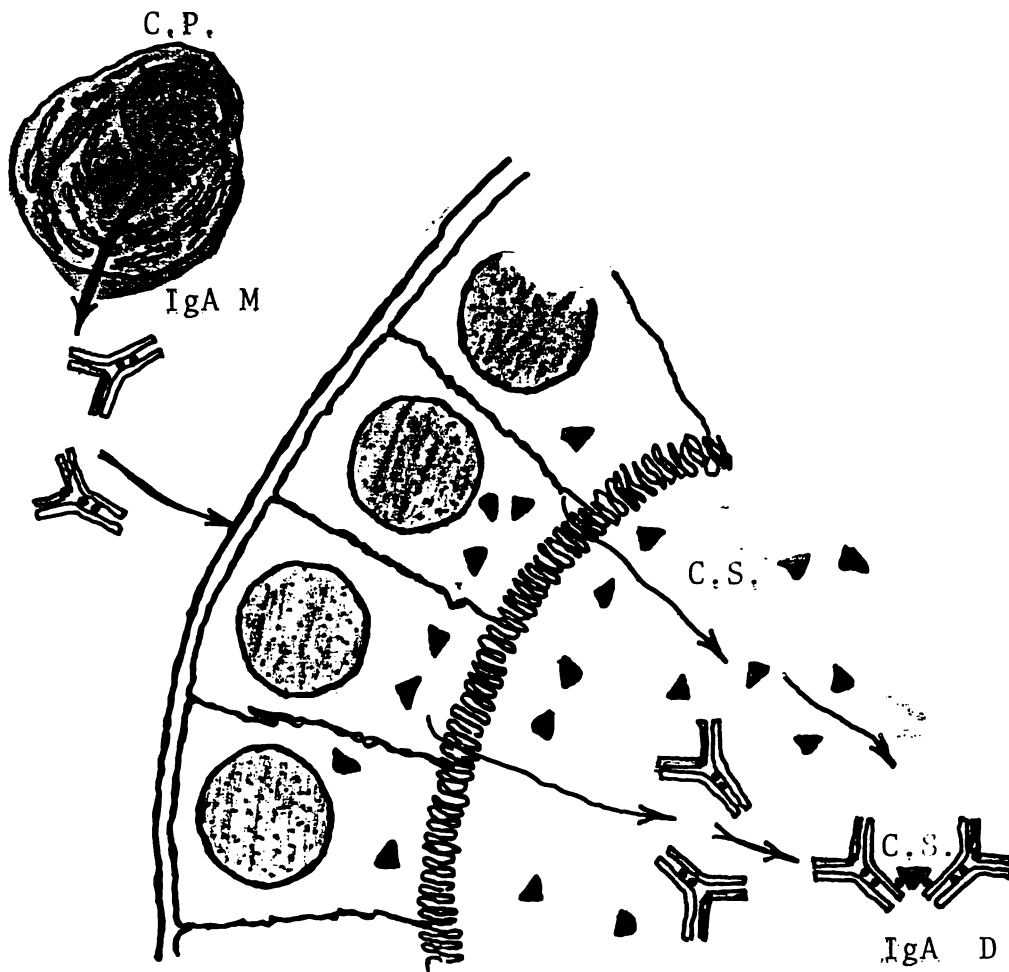


Fig. 3 SINTESIS Y TRANSPORTE DE IgA S.

Se sabe que la IgA-S es sintetizada en las células plasmáticas, en tanto que las células epiteliales producen el componente secretorio: marcadas proteínas infiltran la unión intercelular, sin embargo no son transferidas; la ausencia en la secreción de IgA indica que las reacciones combinadas no tienen lugar en el espacio intercelular, pero sí sobre el epitelio celular.

La hipótesis formula que el componente secretorio puede ser verdaderamente un transporte de proteínas, además puede especularse que probablemente sirve para proteger la IgA de las proteínas celulares durante su pasaje transcelular, y se cree que el CS es un homólogo de la inmunoglobulina, específicamente conductor-protector; esto ha sido asumido para asegurar la protección metabólica de la IgA y su transferencia a través de las membranas fetales. Esto se basa en el hecho de que existen evidencias de que el CS se presenta en el tejido fetal desde las 8 semanas de vida, cuando las inmunoglobulinas no han sido detectadas.

La IgA dimérica con cadena J insertada se difunde a través del intersticio, y atraviesa la membrana basal penetrando en el espacio intercelular, el CS que se encuentra en las células epiteliales puede actuar como proteína receptora como ya se dijo anteriormente, formando complejos con la IgA dimérica, y permitiendo su transporte hacia el interior del tejido epitelial; de ahí es transportada a través de la superficie luminal de las células epiteliales, pero también puede difundirse hacia atrás, o sea al sistema linfático y a la circulación; el transporte preferente de la IgA-S hacia el lumen puede incrementarse por la habilidad específica del dímero IgA para combinarse con el componente secretorio.

## FUNCION DE LA IgA SECRETORIA.

Hay una amplia evidencia que la IgA en forma de IgA-S es ver  
daderamente importante en el rol de protección inmunológica  
de las superficies mucosas. Lo más estudiado con respecto a  
la función biológica de la IgA-S, es lo que respecta a infecci  
ones producidas por virus; por lo tanto la inmunidad a mu-  
chos virus respiratorios que producen su enfermedad localmente  
en las mucosas respiratorias, parecen estar medidas por -  
anticuerpos producidos localmente del tipo IgA-S. Ha sido -  
difícil demostrar experimentalmente la actividad antibacteriana  
de la IgA, debido a la falta de un mecanismo eficaz para  
la destrucción bacteriana como es la opsonización y la fijaci  
ón del complemento.

Además del papel de defensa contra los microorganismos, el -  
sistema inmunológico secretorio funciona de la siguiente ma-  
nera las secreciones externas, particularmente las del tracto  
gastrointestinal, contienen una variedad de anticuerpos -  
con especificidad para antígenos no vivos que se ingieren co  
munmente en la comida, estos anticuerpos sirven para impedir  
el acceso de antígenos a la circulación general.

## R E V I S I O N   B I B L I O G R A F I C A .

El decremento, la ausencia o alteración de los niveles de IgA en secreciones externas, pueden ser un factor etiológico de enfermedades infecciosas en boca y tracto respiratorio.

Frecuentemente el foco primario de estas infecciones está localizado en la porción inicial del tracto digestivo; la significación profiláctica de estas enfermedades infecciosas no ha sido enfatizado en relación con la acumulación de microorganismos en la placa, caries, enfermedad periodontal y otras enfermedades supurativas.

Lenher (14) argumenta que la mayoría de los pacientes con deficiencia de IgA sufren de infecciones respiratorias reinicidentes, alergias, enfermedades gastrointestinales, lesiones malignas y enfermedades autoinmunes. Las manifestaciones orales son comunes en el 75% de los pacientes que sufren úlceras orales recurrentes; también son problemas comunes la amigdalitis y la faringitis.

El efecto que ocasiona la ausencia o decremento de IgA sobre la caries dental está sujeto a controversia, debido a las dificultades de interpretación de la IgA, al uso prolongado de antibióticos, y a la importante diferencia de la ingesta de azúcares.

En uno de los primeros estudios sobre Inmunoglobulinas secretorias humanas, Brandzaeg y colaboradores (1) reportan que la concentración promedio de IgA en secreción parotídea estimulada es de 3.95 mg/100 ml; mientras que la concentración de esta inmunoglobulina en saliva total no estimulada es de

19.40 mg/100 ml la IgG y la IgM están presentes en saliva parotídea en pequeñas cantidades, la concentración de IgM es de 0.043 mg/100 ml excediendo en el promedio de la IgG que es de 0.036 mg/100 ml e indicando una secreción selectiva mayor de IgM.

En la saliva total la IgA domina sobre la IgM; la concentración parece estar determinada de acuerdo a la extensión y severidad de la inflamación oral y a los niveles correspondientes.

En 1979 Portilla R. reportó los niveles de IgA salival en un grupo de jóvenes mexicanos a diferentes horas del día, encontrando una concentración de 5.37 mg/100 ml en las primeras horas del día y un decremento de ésta durante el transcurso del día, bajando a 4.15 mg/100 ml en el grupo completo de donantes.

Muchos estudios se han realizado para comprender la función, de la IgA salival y del efecto sobre la caries dental lo cual está sujeto a controversias. Lenher y colaboradores(13) en su estudio sobre mecanismos inmunes en la prevención de la caries, realizados en ratas y simios sugieren 2 mecanismos inmunes; uno que actúa dentro del dominio salival y el otro que involucra el líquido del surco gingival; las glándulas salivales producen anticuerpos IgA-S ya sea por inmunización directa de las glándulas salivales o por inmunización del tejido linfoide asociado al intestino, de donde las células sensibilizadas pueden llegar a las glándulas salivales. Los anticuerpos IgA-S tienen acceso directo a la superficie del diente, pudiendo evitar que los Streptococcus Mutans se adhieran a la superficie del esmalte, evitando la formación de dextranas por inhibición de la actividad de la glucosil -

transferasa.

En un estudio comparativo de IgA, en saliva de niños alimentados con leche materna, y niños alimentados con biberón, - Steven J. Gross (19) postula que la IgA-S de la leche materna provee inmunidad pasiva a los recién nacidos; estudios en vivo e in vitro, han sugerido que la leche materna puede estimular la producción de IgA-S. En dicho estudio, semanalmente se hicieron las determinaciones de IgA en 8 niños; no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de IgA de los dos grupos. En ambos las concentraciones de IgA, permanecen bajas durante los primeros catorce días, 8.71 mg/100 ml; después se observa un incremento en ambos grupos.

Taubman M.A. Smith, en un estudio realizado sobre los componentes inmunes de la placa dental (20) cuestiona que la película dental adquirida aparezca conteniendo primeramente IgA y otras proteínas de origen salival, lo cual comprobaría que la IgA es un anticuerpo que puede interferir con enzimas responsables de la formación de ciertos microorganismos impidiendo directa o indirectamente la inhibición bacteriana, y la adherencia de microorganismos al diente.

En el resumen de la conferencia impartida por el Dr. Lenher (14) sobre anticuerpos salivales reporta que la concentración de la IgA secretoria en saliva es mucho menor en sujetos con alto índice de caries si se les compara con aquellos que tienen una experiencia baja de caries. Esta evaluación puede depender del índice de secreción de la saliva que es difícil de estandarizar; y una mayor proporción de IgA puede ser dada por saliva submaxilar más que por la parótida. Los anticuerpos IgA-S específicos al Streptococcus Mutans, son -

evaluados por aglutinación y hemaglutinación; no se encontró aumento importante de IgA-S a Streptococcus Mutans en sujetos con baja experiencia en caries; parecería que los anticuerpos IgA salivales aumentan con el número de lesiones cariosas, reflejando una experiencia acumulativa. Asimismo describe que en niños de 2 a 5 años de edad en los que sólo ha brotado la dentición primaria, la concentración de IgA e IgG pueden no haber alcanzado los niveles a que se llega entre los adultos.



## MATERIAL Y METODOS.

Material del aspecto inmunológico.

Placas L.C. Partigen.

Suero estándar.

Partigen dispenser.

Capilares.

Regla Partigen.

Lámpara de luz fluorescente (negatoscopio)

Material del aspecto microbiológico.

Instrumental para toma de muestras.

Tubos de ensaye.

Portaobjetos.

Colorantes de Gram.

Colorante de Newman.

Cajas de Petri.

Microscopio óptico.

Se seleccionó un grupo de 18 niños de los que asisten regularmente a la Clínica de Odontopediatría de la Facultad de Odontología, a los cuales se les efectuó una historia clínica general y bucal, haciendo incapié en que los pacientes no presentaran lesiones cariosas, y tuvieran una salud general satisfactoria.

La historia clínica que se elaboró, comprendía los siguientes datos, considerados de importancia.

- a) Información general.
- b) Antecedentes heredofamiliares.
- c) Antecedentes personales no patológicos.
- d) Antecedentes personales patológicos.

- e) Padecimientos infecciosos respiratorios.
- f) Padecimiento actual.
- g) Examen bucal.
- h) Odontograma (caries, obturaciones, Saforide etc.)

El total del grupo fué de 18 niños de 3 a 7 años de edad, 8 niñas y 10 niños.

El estudio se dividió en dos fases: una el aspecto inmunológico y la otra el aspecto microbiológico; la toma de muestras se realizó entre las 10 y las 12 A.M., en tres etapas con intervalos de tres días cada una, efectuando muestras de saliva para la cuantificación de IgA y materia alba para el recuento de microorganismos; la toma de materia alba se hizo de la cara lingual de los dientes anteriores inferiores.

La primera etapa de la muestra, se efectuó en bocas con cepillado normal, después de tres días de no cepillado se tomó la segunda muestra, y la tercera muestra se mantuvo con cepillado y enjuague normal, para conocer las variaciones de IgA y microorganismos, en estas tres etapas.

En total a cada niño se le tomaron tres muestras de saliva y 6 frotis para el conteo de microorganismos.

La medición de la concentración de IgA en las muestras de saliva, se realizó utilizando las placas de Inmunodifusión L. C. Partigen, fabricadas por Behring Institut de Alemania Occidental, y el procedimiento se basa en el método de inmunodifusión radial simple desarrollado por Carbonara y Heremans (ver apéndice).

Dentro del aspecto microbiológico, se tomaron en cada muestra 2 frotis de materia alba de la cara lingual de los dientes anteriores, los cuales se procesaron por medio de la técnica de Gram, para diferenciación de Gram positivos y Gram negativos, y por medio de la Técnica de Newman para la cuantificación de bacterias; (ver apéndice) en este caso la muestra se extendió en 1 cm<sup>2</sup> del portaobjetos, para posteriormente proceder a la tinción y al recuento de microorganismos; esta cuantificación se obtuvo contando 25 campos, sumándolos y sacando el promedio aritmético de cada frotis.

El análisis de los datos se diseñó a fin de cumplir con dos propósitos fundamentales. Primero, describir la población en estudio de acuerdo a los principales parámetros: Media, desviación estándar y coeficiente de correlación. Segundo, describir el cambio sufrido en la población en virtud de los tratamientos proporcionados, para lo cual se utilizó la prueba de Wilcoxon con una probabilidad de error de 0.05 %

## R E S U L T A D O S

Después de efectuado el muestreo y de haber obtenido los datos de cada paciente, se separan los grupos por sexo dando los siguientes resultados:

TABLA I

CARACTERIZACION DEL GRUPO DE NIÑAS EN LO QUE RESPECTA A LOS NIVELES DE IgA ( expresando en mg/ml )

PACIENTE	1a. muestra	2a. muestra	3a. muestra	prom.aritm.
I	3.25	4.60	6.10	4.65
2	1.90	9.99	9.99	7.63
3	2.85	4.95	5.59	4.46
4	2.70	2.85	1.35	2.3
5	3.30	2.40	2.40	2.7
6	2.95	6.15	3.70	4.26
7	5.15	3.0	4.5	2.21
8	7.20	4.60	5.10	5.63

TABLA II

CARACTERIZACION DEL GRUPO DE NIÑOS EN LO QUE RESPECTA A LOS NIVELES DE IgA ( expresando en mg/ml )

PACIENTE	1a. muestra	2a. muestra	3a. muestra	prom.arit.
I	.90	2.70	1.60	1.73
2	.85	.85	1.40	1.36
3	4.70	1.85	4.80	3.78
4	6.90	3.20	5.15	5.08
5	5.60	6.90	.55	4.35
6	7.65	3.75	6.15	5.85
7	2.75	5.80	2.95	3.83
8	.45	.70	3.60	1.58
9	2.70	1.40	2.10	2.06
10	2.10	5.40	4.0	3.83

RESULTADOS DE LA CONCENTRACION DE LA IgA SALIVAL

GRUPO DE NIÑAS

G-1

PACIENTES

8  
7  
6  
5  
4  
3  
2  
1

1a. MUESTRA  
CON CEPILLADO

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 IgA. mg/100ml

8  
7  
6  
5  
4  
3  
2  
1

2a. MUESTRA  
SIN CEPILLADO

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

8  
7  
6  
5  
4  
3  
2  
1

3a. MUESTRA  
CON ENJUAGUE BUCAL

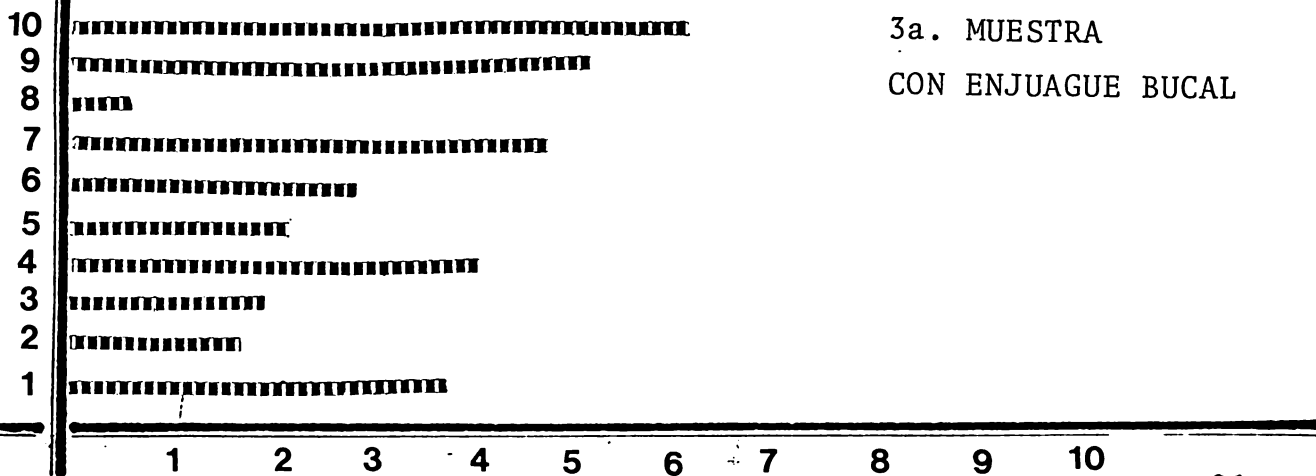
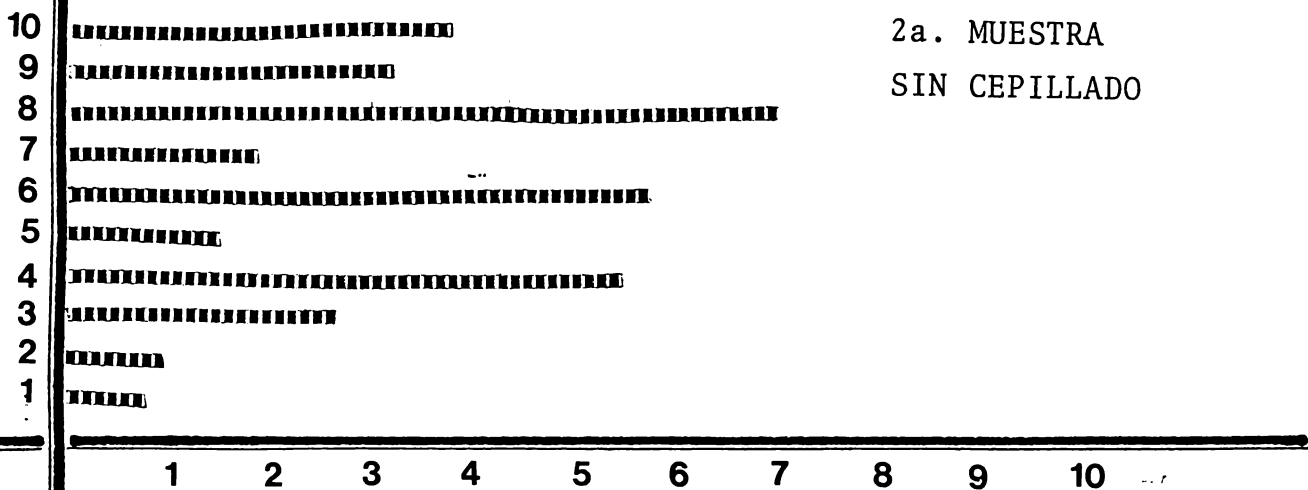
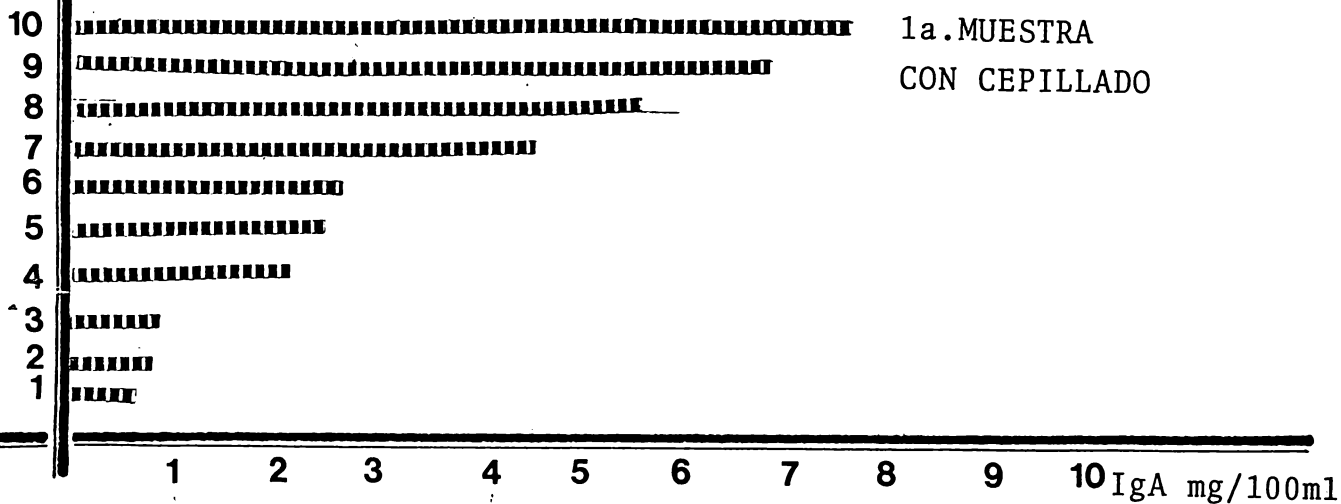
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

RESULTADOS DE LA CONCENTRACION DE IgA SALIVAL

GRUPO DE NIÑOS

G-2

PACIENTES



En las gráficas 1 y 2, mostramos los resultados individuales dentro del aspecto inmunológico del grupo de niñas y niños.

En el aspecto microbiológico al hacer el recuento de microorganismos, se obtuvieron los siguientes resultados por cada paciente.

TABLA # 3 GRUPO DE NIÑAS.

PACIENTE	1er. Frotis	2o. Frotis	3er. Frotis	Prom. Aritm.
1	1215	655	309	2179
2	509	424	400	1333
3	632	722	312	1666
4	718	373	910	2031
5	1043	2623	2552	6218
6	415	784	204	1043
7	0	110	0	110
8	228	412	128	768

TABLA # 4 GRUPO DE NIÑOS.

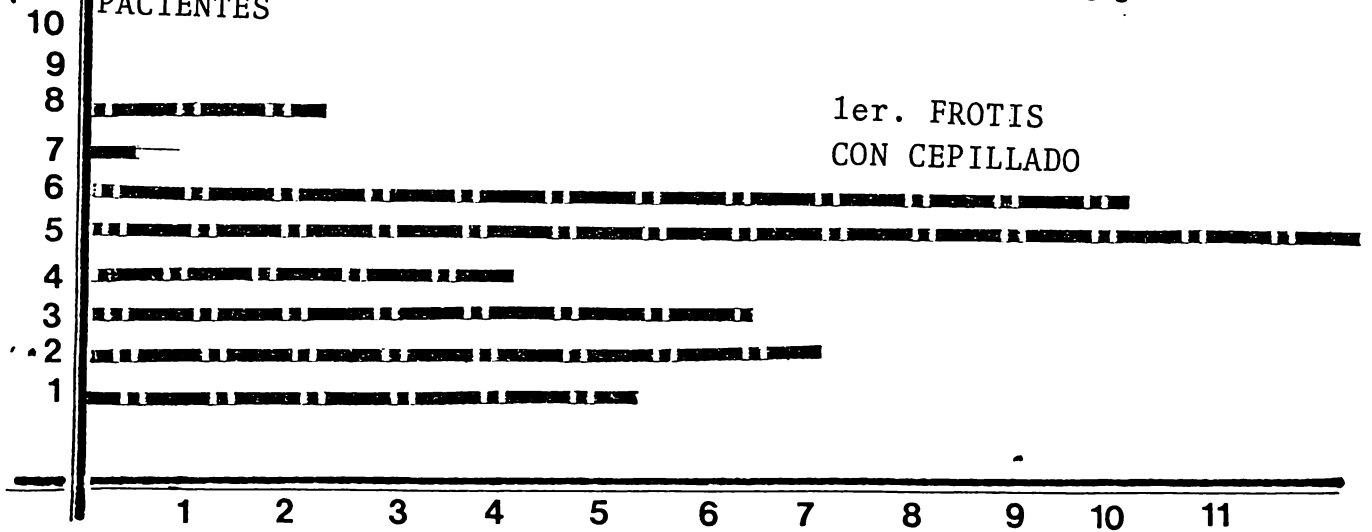
PACIENTE	1er. Frotis	2o. Frotis	3er. Frotis	Prom. Aritm.
1	555	677	611	1843
2	390	456	148	538
3	690	1022	444	1466
4	187	352	111	650
5	206	3597	86	889
6	681	569	292	1542
7	255	277	162	694
8	148	117	218	483
9	362	662	565	1889
10	1882	192	201	4912

Las gráficas 3 y 4 muestran los resultados individuales y se hace notorio el incremento y decremento de microorganismos en cada etapa del estudio.

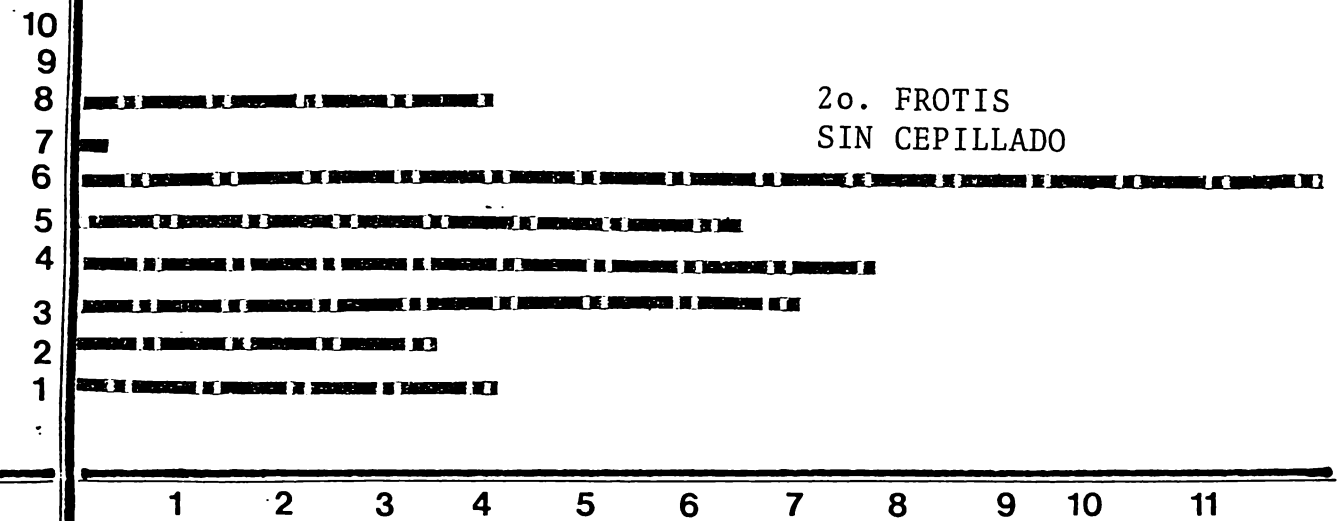
RESULTADO DEL RECUENTO DE MICROORGANISMOS  
GRUPO DE NIÑAS.

G-3

PACIENTES



# DE MICROORGANISMOS  
(X 100)



3er. FROTIS  
CON ENJUAGUE BUCAL

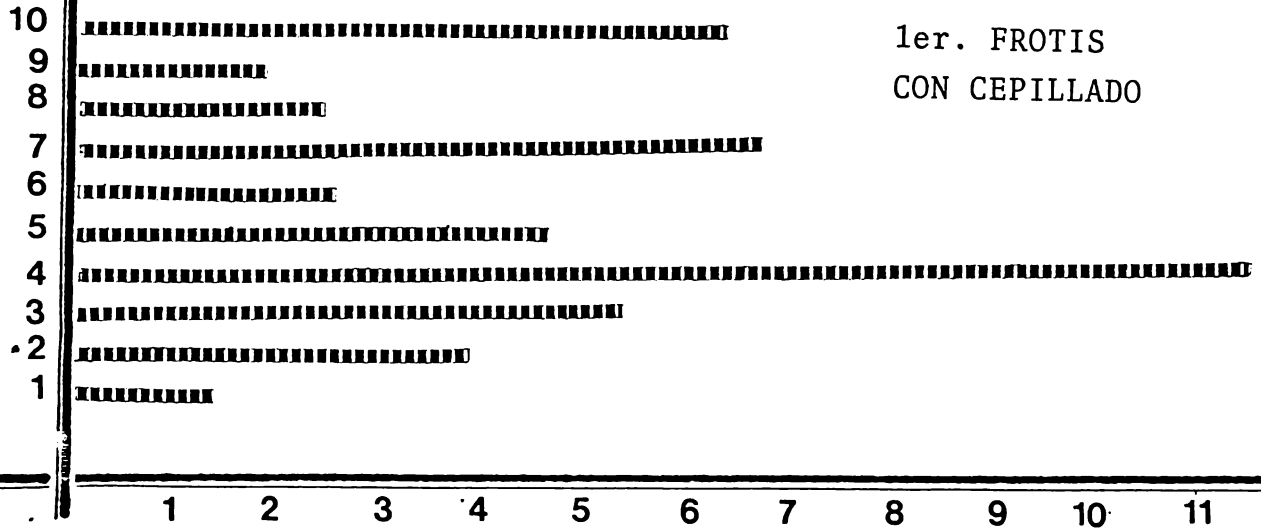




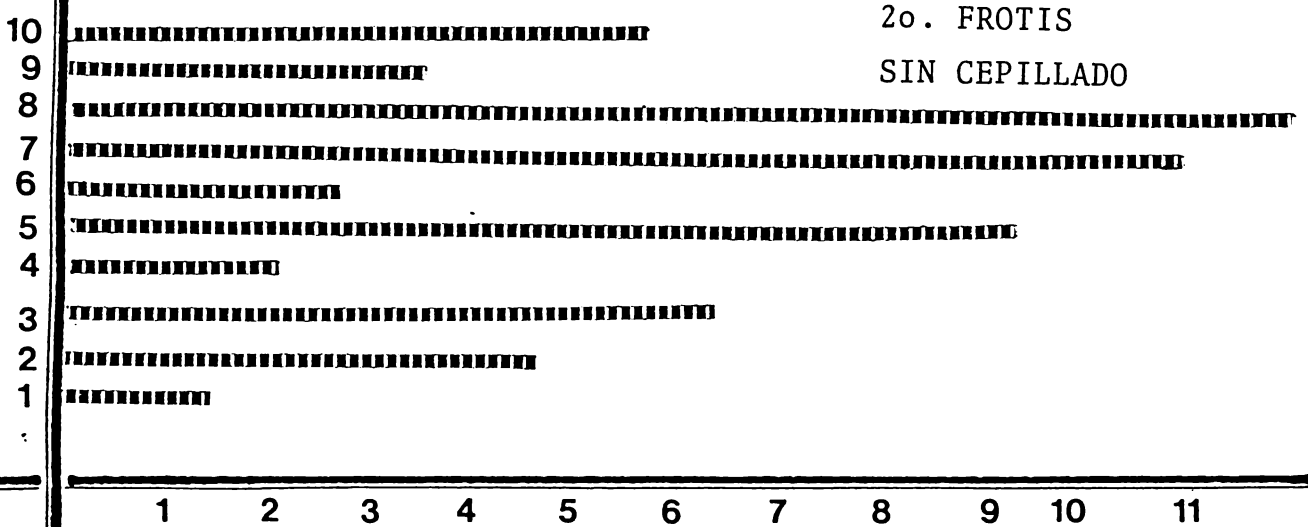
RESULTADO DEL RECuento DE MICROORGANISMOS

GRUPO DE NIÑOS

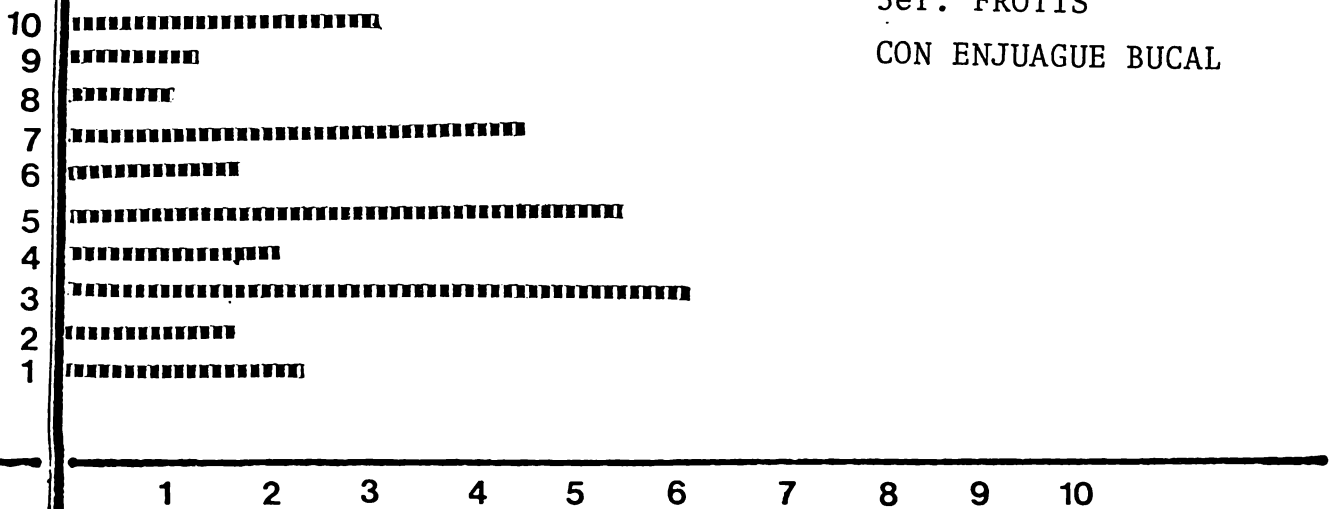
PACIENTES



# DE MICROORGANISMOS  
( X 100 )



3er. FROTIS  
CON ENJUAGUE BUCAL



Sin pretender decir la última palabra al respecto, las gráficas nos dan una idea de lo que sucede en cada paciente de la población en estudio en base al tratamiento realizado.

Una vez separados los grupos por sexo se hizo su correlación

TABLA # 5

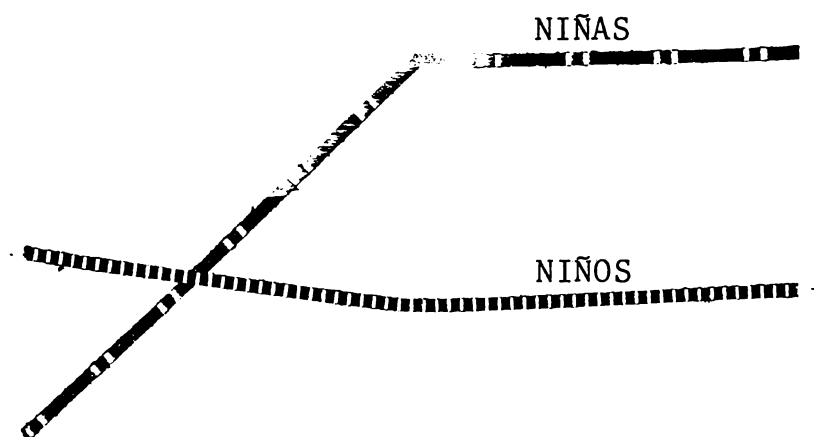
S-1 PACIENTE	EDAD	IgA			MICROORGANISMOS		
		X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3
1	5.75	3.25	4.60	6.10	1215	655	309
2	5.00	1.90	9.90	9.99	509	424	400
3	7.00	2.85	4.95	5.59	632	722	312
4	5.33	2.70	2.85	1.35	718	373	910
5	7.00	3.30	2.40	2.40	1043	2623	2552
6	4.00	2.95	6.15	3.70	415	784	204
7	5.00	5.15	3.00	4.50	0	110	0
8	7.00	7.20	4.60	5.10	220	412	128

En las gráficas 5 y 6 se observan las diferencias de las tres fases del estudio obtenidas en relación al sexo.

En la gráfica # 5 observamos que tanto las niñas como los niños presentan un patrón distinto, dentro del aspecto inmunológico. En la gráfica # 6 se observa que hay un incremento en cuanto al número de microorganismos y posteriormente un decremento.

RECuento TOTAL DE IgA EN TRES MUESTRAS  
OBTENIDAS EN UNA POBLACION DE 18 NIÑOS.

IgA  
mg/100ml



---

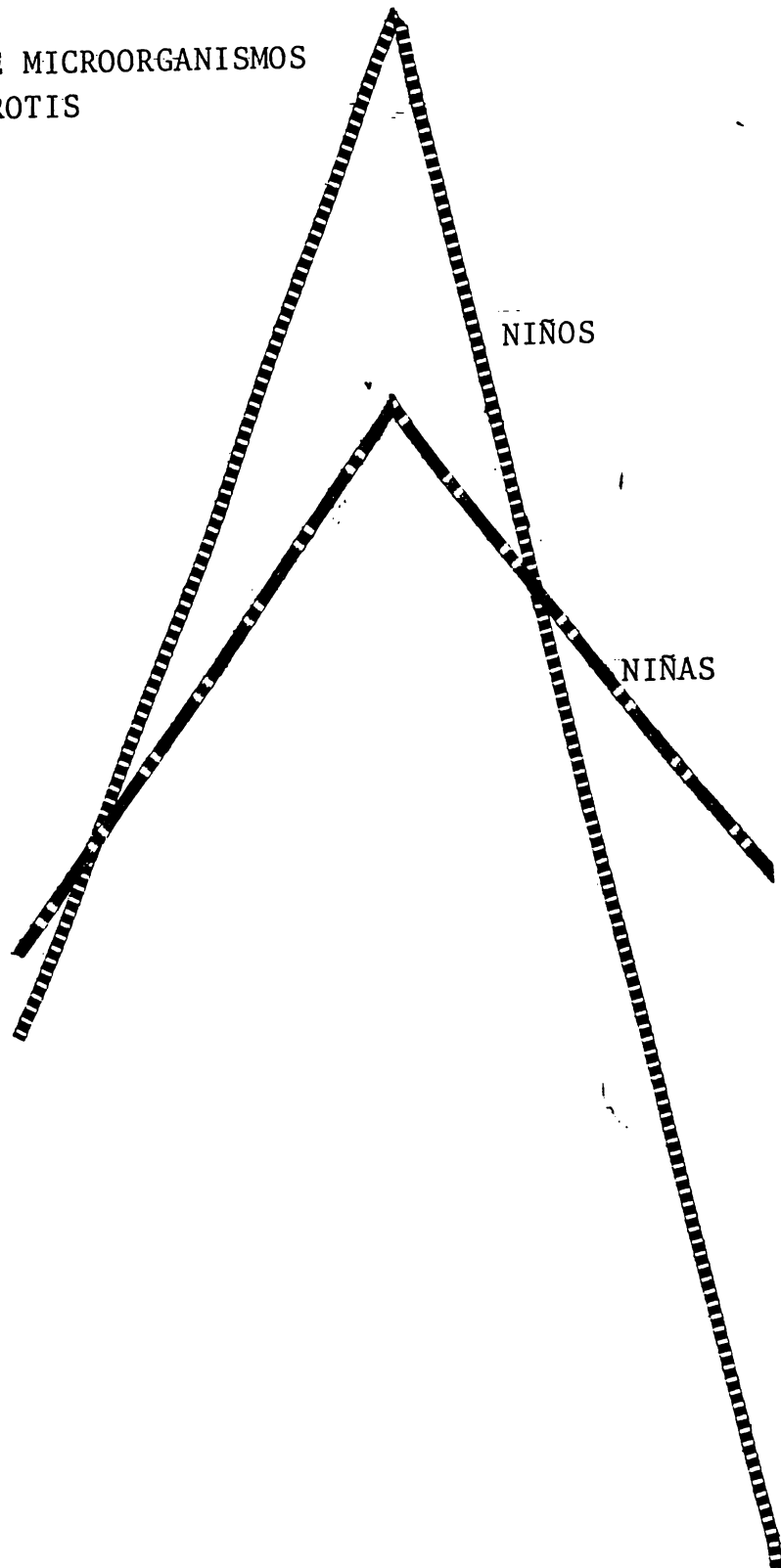
1a. MUESTRA

2a. MUESTRA

3a. MUESTRA

RECuento TOTAL DE MICROORGANISMOS  
ENCONTRADOS EN FROTIS  
REALIZADOS A  
18 NIÑOS

# DE  
MICROORGANISMOS



1er. FROTIS

2o. FROTIS

3er. FROTIS

TABLA # 6

PACIENTE	S-2	IgA			MICROORGANISMOS		
	EDAD	X1	X2	X3	Y1	X2	Y3
1	4.00	0.90	2.70	1.60	555	677	611
2	3.66	0.85	0.85	1.40	390	450	148
3	3.33	4.70	1.85	4.80	187	1022	444
4	4.00	6.90	3.20	5.15	206	352	111
5	3.00	5.60	6.90	0.55	206	3597	86
6	3.66	7.65	3.75	6.15	681	569	292
7	5.00	2.75	5.80	2.95	255	277	162
8	4.16	0.45	0.70	3.60	148	117	218
9	5.00	2.70	1.40	2.10	362	962	565
10	4.16	2.10	5.40	4.00	1882	192	201

Al final de la toma de muestras, debido a la deserción de algunos niños, el promedio de edad en las niñas resultó mayor - al promedio de los niños, provocando "confusión" en el aspecto sexo-edad.

Edad en niñas mínima 4 máxima 7

Edad en niños mínima 3 máxima 5

Realizada la correlación correspondiente para ambos grupos, - se procedió a encontrar los parámetros estadísticos para ambos grupos, obteniendo los resultados que mostramos en las siguientes tablas.

TABLA # 7 S-1

FASE DEL ESTUDIO	PROMEDIO. ARITM. IgA mg/100 ml	DESV. ESTADAR	PROM. ARITM. MICROORG.	DESV. ESTADAR
1ra. muestra	(X1) 3.66	1.69	(Y1) 599	401.80
2a. muestra	(X2) 4.80	2.41	(Y2) 762.87	782.85
3a. muestra.	(X3) 4.84	2.62	(Y3) 601.87	832.68

Se obtiene un promedio de IgA total en el grupo de las niñas de 4.4 mg/100 ml.

TABLA # 8 S-2

FASE DEL ESTUDIO	PROMEDIO. ARITM. IgA mg/100 ml.	DESV. ESTANDAR	PROM. ARITM. MICROORG.	DESV. ESTANDAR
1ra. muestra	(X1) 3.46	2.60	(Y1) 535.60	513.0
2a. muestra	(X2) 3.25	2.60	(Y2) 821.50	1021.73
3a. muestra	(X3) 3.23	1.82	(Y3) 283.80	190.12

Se obtiene un promedio de IgA total en el grupo de niños de 3.3 mg/100 ml.

En la gráfica # 7 se observan las variaciones en el total de la población en estudio en lo que respecta a los niveles de IgA, microorganismos y la cantidad de muestras que obtuvimos.

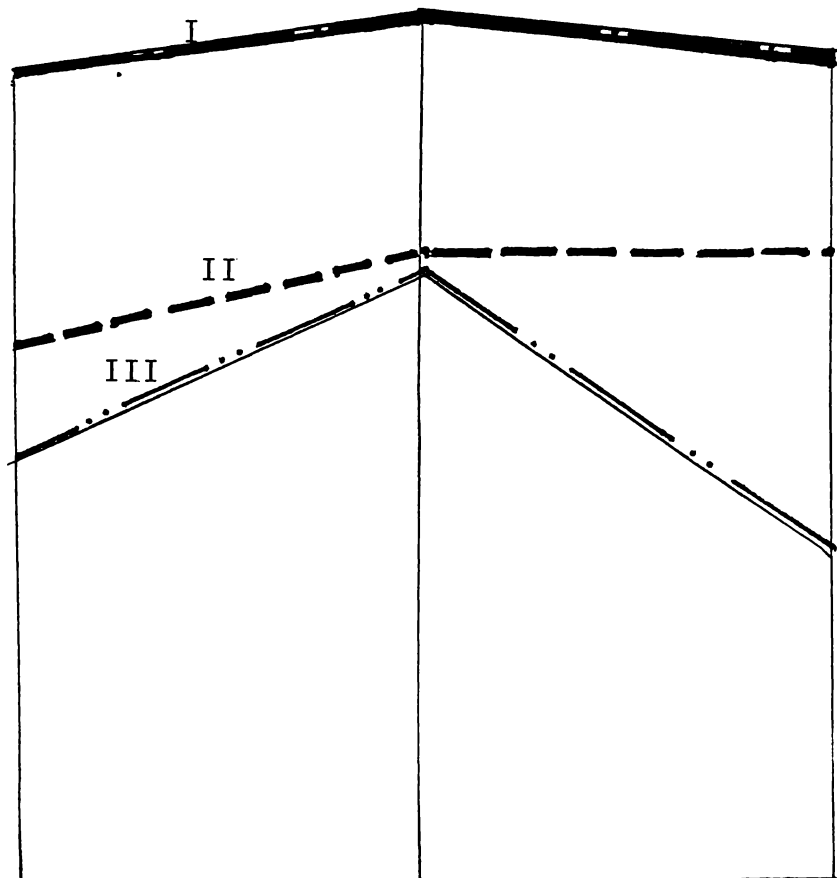
INTERRELACION EN EL COMPORTAMIENTO  
ENTRE LA CANTIDAD DE LA MUESTRA  
LA IgA Y EL NUMERO DE MICROORGANISMOS  
EN LAS TRES MUESTRAS.

I - No. de Muestra (cantidad placa)

II - IgA ( mg/100 ml.)

III - No. de microorganismos

II I III



I MUESTRA

II MUESTRA

III MUESTRA

Se efectúa el apareamiento de las muestras para lograr una correlación en el grupo de sexo masculino, encontrando que no se puede lograr dicha correlación debido a que la probabilidad de error es muy grande.

El promedio de IgA que se obtuvo en el grupo de los 18 niños fué de 3.76 mg/100 ml; el que se obtuvo en las 8 niñas fué de 4.4 mg/100 ml. a diferencia del promedio en niños que fué de 3.3 mg/100 ml.

#### CONTENIDO DE IgA EDAD Y SEXO.

En virtud de la deserción de algunos niños, se procedió a separar la población de acuerdo al sexo, observando una correlación alta entre el sexo y la edad, de manera tal que el grupo de niñas es mayor al grupo de niños. (tabla 9)

TABLA # 9

#### CARACTERIZACION POR EDADES DE LOS GRUPOS DE NIÑAS Y NIÑOS DE LA POBLACION EN ESTUDIO.

MEDIA	DESV. ESTANDAR	VALOR MINIMO	VALOR MAXIMO
NIÑAS 5.76	1.1370	4.0	7.0
NIÑOS 3.99	0.6438	3.0	5.0

Lo anterior es de importancia, pues como se observa en la siguiente tabla, el contenido de IgA promedio total, es mayor en las niñas que en los niños.



TABLA # 10

CONTENIDO DE IgA PROMEDIO TOTAL PARA LOS GRUPOS DE NIÑAS Y NIÑOS EN ESTUDIO (expresado en mg/100 ml)

POBLACION	MEDIA	VALOR MINIMO	VALOR MAXIMO
NIÑOS	3.315 mg/100ml	0.45	7.65
NIÑAS	4.436 mg/100ml	1.35	9.99

CONTENIDO DE IgA Y MICROORGANISMOS POR SEXO.

En la tabla II se muestran los coeficientes de correlación y su probabilidad de error, para las correlaciones entre contenido de IgA (X) y microorganismos (Y). Los subíndices 1,2 y 3 se refieren al momento en que fué tomada la muestra siendo el número 1 para la toma de la muestra con cepillado con pasta dental, el número 2 para la toma de muestra posterior al tratamiento sin lavado bucal y el número 3 para la toma posterior al enjuague bucal.

TABLA # 11

COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE CONTENIDO DE IgA Y MICROORGANISMOS POR MUESTRA.

	XI - Y1	X2 - Y2	X3 - Y3
NIÑOS	-0.09218 0.8001	0.47523 0.1651	-0.05856 0.8723
NIÑAS	-0.51662 0.1899	-0.31339 0.4497	-0.45232 0.2605

En esta tabla se observa que existe una tendencia de comportamiento tal, que cuando se presenta un alto contenido de IgA - se presenta también un bajo contenido de microorganismos, ó - dicho de otra manera, que cuando se presenta un alto contenido de microorganismos, se presenta un bajo contenido de IgA. Sin embargo no es posible asegurar que esta tendencia sea un hecho, en virtud de las probabilidades de error tan altas que acompañan a cada coeficiente de correlación, aunque se puede afirmar que las niñas tienen un comportamiento más confiable que los niños.

#### CAMBIO EN EL CONTENIDO DE IgA Y MICROORGANISMOS DEBIDO A LOS TRATAMIENTOS.

En la tabla # 12 se muestran los resultados de aplicar la -- prueba de Wilcoxon a los datos obtenidos, en todos los casos la probabilidad de error es del 5%.

TABLA # 12

#### RESULTADO DE APLICAR LA PRUEBA DE WILCOXON.

NIÑAS	$X1 < X2$	$X2 < X3$	$Y1 < Y2$	$Y2 > Y3$
NIÑOS	$X1 > X2$	$X2 < X3$	$Y1 < Y2$	$Y2 > Y3$

Así se puede afirmar que el contenido de IgA ( X ) en las niñas tiende a ser mayor cuando no hay lavado bucal que cuando éste se realiza con pasta dental. En los niños la situación es inversa. Para ambos sexos existe una tendencia a aumentar el contenido de IgA cuando se pasa de una situación de no lavado a una de enjuague bucal; de igual manera hay un aumento en el número de microorganismos cuando después de cepillarse se interrumpe la higiene, y vuelve a disminuir cuando la higiene se reinicia.

## D I S C U S I O N.

Contenido de IgA teniendo en cuenta edad y sexo.

Los resultados muestran que el contenido promedio de IgA es mayor en las niñas que en los niños, siendo para el grupo de niñas de 4.4 mg/10 ml y para el grupo de los niños de 3.3 mg/100 ml, que como lo muestra Portilla R. (1979) el contenido de IgA promedio en adultos jóvenes es de 5.37 mg/100 ml. En este trabajo los resultados muestran una relación entre el sexo y la edad, debido probablemente a la deserción de algunos niños.

Por lo cual se sugiere realizar futuras experiencias utilizando una población estabilizada en lo que se refiere a sexo y edad.

Contenido de IgA y Microorganismos por sexo.

Se efectúa el apareamiento de las muestras para lograr la correlación, encontrando entre XI (IgA) y YI (microorganismos) una correlación de -0.51662, con un margen de error de 0.1899 lo que nos indica que hay una correlación negativa entre IgA y microorganismos, lo que hace suponer que a una mayor cantidad de microorganismos hay una menor cantidad de IgA; estos datos corresponden a la primera toma de las muestras.

En lo que respecta al segundo muestreo X2 (IgA) y Y2 (microorganismos) se obtuvo una correlación de -0.31339 con un margen de error de 0.4497, existiendo una correlación negativa entre IgA y microorganismos, sin poderse afirmar estadísticamente nada hasta el momento.

En la correlación del tercer muestreo, encontramos una correlación negativa, siendo ésta de  $-0.4523$  con un margen de error de  $0.2605$ .

Después de aplicar la prueba de Wilcoxon, se puede explicar - que el aumento en el contenido de IgA en las niñas al dejar - de usar pasta, y la situación inversa en los niños puede explicarse por el hecho que al tener un promedio de edad mayor, el grupo de niñas ha creado una mayor cantidad de mecanismos de - defensa.

## R E S U M E N.

Se seleccionaron 18 niños de 3 a 7 años a los cuales se les realizó una historia clínica general y bucal haciendo énfasis en que no presentaran lesiones cariosas ni enfermedad periodontal.

El estudio se dividió en dos fases, una fue el aspecto inmunológico y la otra el microbiológico; la toma de muestras se realizó en tres etapas con intervalos de tres días cada una, efectuando muestras de saliva para la IgA y materia alba para el recuento de microorganismos.

Dentro de las tres etapas del estudio, el primer muestreo se llevó a cabo con las bocas cepilladas, el segundo se efectuó después de tres días de no lavado, y el tercer y último muestreo lo realizamos con las bocas cepilladas nuevamente.

Una vez obtenidas las muestras, se procesaron bajo las siguientes técnicas; para la medición de IgA la técnica de inmunodifusión radial simple desarrollada por Cabonara y Heremans.

El recuento de microorganismos se efectuó bajo la técnica de Newman y se realizó la tinción de Gram para observar la presencia y predominio de Gram positivos y Gram negativos.

Después de efectuada la recolección de muestras y haber obtenido los datos de cada paciente, obtuvimos los siguientes resultados:

El patrón de edades difería entre las niñas y los niños; la edad media en las niñas era de 5.76 % con un valor mínimo de 4 y un valor máximo de 7; en los niños la edad media era de 3.99 % con un valor mínimo de 3 y un valor máximo de 5. Esto fué de importancia, porque el contenido de IgA promedio total fué mayor en las niñas que en los niños, siendo para el grupo de niñas un promedio de 4.43 mg/100 ml con un valor mínimo de 1.35 mg/100 ml y un valor máximo de 9.99 mg/100 ml, y para el grupo de niños un valor promedio de 3.31 gm/100 ml con un valor mínimo de 0.45 mg/100 ml y un valor máximo de 7.65 mg/100 ml.

Se efectúa el apareamiento de las muestras para lograr una correlación encontrando dentro del grupo de las niñas una correlación negativa, lo que hace suponer que a una mayor cantidad de IgA hay una menor cantidad de microorganismos. Dentro del grupo de los niños encontramos un patrón diferente ya que los niveles de IgA varían muy poco de una muestra a otra; sin -- embargo, en lo que respecta a los microorganismos, hay un incremento y decremento de éstos cuando se pasa de una situación a otra; pero las niñas muestran un patrón más confiable debido a que según los datos obtenidos estadísticamente sus probabilidades de error son menores.

Se aplica la prueba de Wicoxon a los resultados obtenidos con probabilidad de equivocarse del 5 %, pudiendo afirmar que el contenido de IgA tiende a ser mayor cuando no hay lavado que cuando éste se efectúa.

En los niños la situación es inversa, (Para ambos sexos existe una tendencia a aumentar el contenido de IgA cuando se pasa de una situación de no lavado a una de lavado), de igual - manera hay un aumento en el número de microorganismos cuando

después de lavarse con pasta dental se interrumpe el lavado -  
y disminuye cuando éste se reinicia.

## C O N C L U S I O N E S .

- 1.- Los resultados muestran que el contenido promedio de IgA es mayor en las niñas que en los niños, lo que se puede establecer como cierto, debido a que la edad promedio de las niñas es mayor que la de los niños. Por esto se sugiere realizar futuras experiencias utilizando una población estratificada por sexo y edad.
- 2.- Los valores encontrados para los coeficientes de correlación indican una relación de los microorganismos y la IgA siendo el comportamiento de las niñas más estable que en los niños, comportamiento debido quizá a patrones socio-culturales sobre los cuales convendría hacer énfasis.
- 3.- El aumento en el contenido de IgA en las niñas al dejar de usar pasta dental y cepillado, y la situación contraria en los niños puede explicarse por el hecho que al tener un promedio de edad mayor, el grupo de las niñas ha creado una cantidad mayor de mecanismos de defensa, que impulsan una producción también mayor de IgA cuando hay aumento en el número de microorganismos.
- 4.- Los datos obtenidos estadísticamente presentan probabilidades de error altas, debido quizá al tamaño reducido de las muestras; por lo tanto se sugiere un grupo más grande para estudios posteriores.
- 5.- Todos los resultados obtenidos aun cuando significativos - deben tomarse con las reservas que implica el utilizar saliva total.



C I T A S   B I B L I O G R A F I C A S .

- 1.- Brandtzaeg, P., Fjellanger, I., and Gjeruldsen St. .(1970  
a) Human secretory immunoglobulins, I salivary secretions  
for individuals with normals or lows levels of serum inmu  
noglobulins. Scand. J. Hemat. Suppl, 12, pp 1-83
- 2.- Brandtzaeg. P ( 1971 b )  
Human secretory immunoglobulins. II Salivary secretions  
from individuals with selectivety excessive or defective  
synthesis of serum immunoglobulins. Clin. Exp. Immunol.  
8-69
- 3.- Brandtzaeg, P. ( 1971 c )  
Human secretory immunoglobulins III Immunochemical and  
fhisicochemical studies of secretory IgA and free secreto  
ry piece.  
Acta path. microbiol. Scand. section B, 79-1975
- 4.- Funderberg H. Hugh ( 1978 )  
Manual de Inmunología Clínica.  
Editorial El Manual Moderno
- 5.- Gordon B L ( 1975 )  
Lo esencial de la Inmunología  
Segunda edición El Manual Moderno
- 6.- Hodgson H. W. Matsutani K.K. Shklair ( 1971 )  
Antibody in parotid saliva of children to cariogenic  
streptococci. 49th. Gen. Session IADR Abst. 53, p 66

- 7.- Jawetz Ernest (1978 )  
Manual de microbiología médica  
El Manual Moderno Edición
- 8.- Kraws F.W. and Jiro Konno ( 1963 a)  
Antibodies in saliva ANN. N.Y. Acad. Sci. 106., 311.329
- 9.- Kraws F.W. and Konno J. ( 1965 b )  
The salivary secretions of antibody, Alabama Journal of  
Medical Sciences 2 (1) Jan 1965
- 10.- Kerr A.C. and Weddeburn, D.L. ( 1958 )  
Antibacterial factors in the secretions of human parotid  
an submaxillary glands. B. R. Dent J. 105 321-326
- 11.- Kakizawa T, Noma H, and Omori R. ( 1973 )  
The evaluation of secretory IgA in human saliva, Bull,  
Tokio Dent coll. 14 125-139
- 12.- Lamm E Michael ( 1976 )  
Cellular aspects of inmunoglobulin A  
Advances en inmunology. vol 22 pp. 223-290
- 13.- Lehner T. Cardwell J. E. and Clarry ( 1967 )  
Inmunoglobulins in saliva and serum in dental caries,  
Lancet I 1924
- 14.- Lehner T. ( 1980 )  
Resumen del curso impartido en la Clínica Padierna  
Facultad de Odontología, U.N.A.M.

- 15.- Mancini, Carbonara and Heremans ( 1965 )  
 Immunochemical quantitation of antigens by singles radial  
 immunodifusions, Immunochemistry 2, 235-254
- 16.- Mestecky Jiri and Lawton Alexander.  
 The inmuglobulin A system. University of Alabama vol 45  
 in Advances in experimental Medicine an Biology.
- 17.- Nolte, A. William. 3ra. Ed. ( 1977 )  
 C.V. Mosby.  
 Microbiología Bucal.
- 18.- Sims, W. ( 1972 )  
 The concept of inmunity in dental caries, II specific.  
 Inmune Responses. Oral Surg. 34,69
- 19.- Steven J. Grss and Buckley ( 1980 )  
 IgA in saliva of breast-fed and bottle-fed infants.
- 20.- Taubman M. A. ( 1973 )  
 Role of inmunization in dental disease. Comparative inmu  
 nology of the oral cavity. S. Margenhagen and H. W.  
 Schrps.  
 Eds. DHEW publ No. 73 438

## A P E N D I C E

Las técnicas que se emplearon para la recopilación de datos durante este estudio fueron, para el aspecto inmunológico: las muestras de saliva en tubos de ensaye lavados y esterilizados, las cantidades de la muestra fueron de 1.5 a 2 ml. - aproximadamente.

La medición de la concentración de IgA de las muestras de saliva se llevó a cabo utilizando placas de inmunodifusión L. C. Partigen fabricadas por Behring Institut, Alemania Occ. El procedimiento se basa en el método de Inmunodifusión radial simple, desarrollado por Mancini Carbonara y Heremans.

Los discos Partingen contienen en su interior un gel con un anticuerpo específico para la proteína que nos interesa, los discos contienen 12 pocillos de aplicación. Los primeros 3 pocillos nos sirven para establecer la curva de referencia, para lo cual se deposita suero humano estabilizado estándar con una concentración de IgA de 242 mg/100 ml. en diluciones 1:25, 1:50 y 1:200 para establecer las curvas de referencia; estas diluciones tienen una concentración de IgA de 9.68 de 4.82 y 1.21 mg/100 ml. En los pocillos restantes se depositaron 20 microlitros de saliva en cada uno de ellos empleando para ello el partigen dispenser o micropipeta.

La difusión de las moléculas de IgA se realizó dentro del fluido en forma radial hasta que todo el complejo se ha combinado y precipitado; esta difusión se realiza durante dos días a temperatura ambiente, procediéndose a su lectura que se lleva a cabo midiendo el diámetro al cuadrado de los anillos de precipitación; esta medición se hace colocando -

la placa sobre una lámpara especial de luz fluorescente que da suficiente contraste para poder apreciar los anillos de precipitación. Se aplica sobre el anillo de precipitación una regla Partigen especial en la que se puede leer el diámetro así como el cuadrado de este diámetro.

Los valores obtenidos para las tres diluciones del suero estándar, establecen la curva de referencia; estos datos se trasladan a papel milimétrico, permitiendo trazar una recta en la que se puede leer la concentración de las muestras.

Con los valores dados por los anillos de precipitación de las diluciones estándar y los valores de concentración conocidos de estas diluciones, se establece la curva de referencia que da la relación entre el  $d^2$  y la concentración para traducir los valores que tenemos en  $d^2$  a valores de concentración en mg/ml.

La cuantificación de microorganismos se realizó empleando la técnica de Newman; para esta técnica se tomaron, frotis, los cuales se extendieron en un  $\text{cm}^2$  del portaobjetos. La técnica se llevó a cabo de la siguiente manera: se fijan los frotis durante 30 minutos en la estufa, se sumergen los frotis en un vaso de Koplick con el colorante de Newman durante tres minutos, se dejan secar y se sumergen en otro vaso con agua bidestilada dejándolos en ésta durante tres minutos y se dejan secar, para posteriormente proceder a su lectura, para lo cual se utilizó microscopio óptico; se leyeron 25 campos de cada frotis y se sacó el promedio por muestra.

Como dato complementario, diré que en el recuento de microorganismos utilizamos la técnica de Gram para establecer predominio de Gram positivos y Gram negativos; ésta se efectuó fi j an d o l o s f r o t i s p o r m e d i o d e c a l o r, se gotea cristal violeta se lava en agua corriente, se gotea lugol, se procede nueva-- mente al lavado con agua corriente, se aclara con alcohol acetona, se gotea safranina se lava y se deja secar para proce-- der a su lectura.