

Effect of secretory IgA on the adherence of *Streptococcus Mutans* on human teeth

Acción de la inmunoglobulina A secretora en el proceso de adherencia del *Streptococcus mutans* al diente humano

Adriana Lucía Chamorro-Jiménez,¹ Andrea Ospina-Cataño,¹ Julián Camilo Arango-Rincón,² Cecilia María Martínez-Delgado³

¹Microbiólogas y Bioanalistas. Universidad de Antioquia. E-mail: adrichamorroj@hotmail.com, aospinac@hotmail.com

²Microbiólogo y Bioanalista. MSc. Profesor Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. E-mail: julian.arango@gmail.com.

³Odontóloga Epidemióloga Maestría en Docencia Universitaria. Profesora Facultad de Odontología. Universidad de Antioquia.
E-mail: cmariamartinez@hotmail.com

Recibido: abril de 2013. Aprobado: noviembre de 2013

Abstract

Dental caries is a chronic infectious disease that affects all age groups in which the presence of *Streptococcus mutans* constitutes a decisive but not sufficient cause for development of the disease, and is the most frequently isolated organism in the oral cavity.

On other hand, secretory IgA (IgA-S) as the first immune defense agent that protects oral mucosal surface by impeding bacterial colonization of the tooth through different mechanisms; however there is contradictory evidence regarding the actual role of IgA-S and its relation with the development of dental caries. The purpose was to complete a review of the literature between 1990 to 2008o in order to to explain the action of secretory immunoglobulin A during the adherence process of *Streptococcus mutans* to human teeth.

Key words:

Streptococcus mutans, Secretory immunoglobulin A, Dental caries, Starch synthase, Biofilm, Oral immune response, Saliva.

Forma de citar: Chamorro-Jiménez AC, Ospina-Cataño A, Arango-Rincón JC, Martínez-Delgado CM. Acción de la inmunoglobulina A secretora en el proceso de adherencia de *Streptococcus mutans* al diente humano. Rev. CES Odont. 2013; 26(2) 76-106

Resumen

La caries dental, es una enfermedad infecciosa crónica que afecta a todas las edades, en la cual la presencia de *Streptococcus mutans* se constituye en una causa determinante más no suficiente para el desarrollo de dicha enfermedad, siendo éste el microorganismo más frecuentemente aislado en la cavidad oral.

La Inmunoglobulina A secretora actúa como primer agente de defensa inmunológica de la superficie de la mucosa oral interfiriendo en la colonización bacteriana del diente a través de distintos mecanismos, sin embargo existen evidencias contradictorias sobre el verdadero papel en el desarrollo de la caries dental. El objetivo de este trabajo consiste en explicar mediante revisión bibliográfica desde 1990 hasta el 2009, la acción de la inmunoglobulina A secretora en el proceso de adherencia de *Streptococcus mutans* al diente humano.

Palabras clave:

Streptococcus mutans, Inmunoglobulina A secretora, Caries dental, Almidón sintasa, Placa dental, Respuesta inmune oral, Saliva.

Introducción

La caries dental es una enfermedad compleja, dada su naturaleza multifactorial, en la cual están involucrados muchos componentes, tanto extrínsecos como intrínsecos, que al interactuar entre sí, desencadenan una serie de eventos que son difíciles de categorizar, de tal manera que es casi imposible establecer cuál es el más determinante en cuanto a causalidad.(1)

Streptococcus mutans, un miembro de la microflora bucal es reconocido como agente etiológico de la caries dental; sus propiedades de virulencia se relacionan con la capacidad de metabolizar una variedad importante de azúcares, producir cantidades de ácido láctico y vivir en ambientes ácidos que ellos mismos generan; otro aspecto no menos importante, es la adhesión al esmalte dental, mediada por la síntesis de glucanos y fructanos a partir de enzimas como la glucosiltransferasa (GTF) y por proteínas de superficie que se unen a receptores específicos.(2)

Teniendo en cuenta lo anterior, la saliva cumple un rol dual: por una parte brinda protección contra el ataque ácido de los microorganismos, otra particularidad de su patogenia, y en segundo lugar, sirve de mediador en la adhesión de dichos organismos a la superficie dental. En este proceso se ha conferido especial importancia a la Inmunoglobulina A secretora (IgA-S), un dímero que se localiza en secreciones como saliva, lágrimas, leche humana y calostro.(3) La respuesta inmune contra *Streptococcus mutans* y el papel de la IgA-S, es el núcleo central de la argumentación de este trabajo por el reconocimiento de este doble papel.

La discusión presenta los núcleos básicos de controversia o de acercamiento de los autores frente al tema, y se acompaña de conclusiones principales que sirven de fuente a nuevas preguntas de investigación, para la comprensión de la etiopatogénesis de la caries dental.

Como propósito central se pretende explicar la acción de la IgA-S en el proceso de adherencia de *S. mutans* al diente humano, así mismo describir el metabolismo de Glucosyltransferasa (GTF) proveniente de *S. mutans* y su relación con la adherencia al diente, seguidamente se identifica el papel de la proteína antigénica I/II (Ag I/II) de membrana en la adherencia del *S. mutans* y en la respuesta inmune en humanos y por último, describir la acción de la inmunoglobulina A secretora en la respuesta inmune contra *S. mutans*.

Se realizó una búsqueda de literatura desde el año 1990 hasta 2009, se consultaron bases de datos primarias, secundarias y libros de Cariología, Bacteriología e Inmunología. Los criterios de inclusión para la obtención de la información fueron los siguientes:

- Publicaciones de los últimos 19 años encontradas en bases de datos primarias (Pubmed, Medline Science Direct, Blackwell Synergi) y en literatura gris (libros y revistas no indexadas).
- Las palabras clave para la búsqueda de información fueron: adherencia *S. mutans*, Inmunoglobulina A secretora, Caries dental, Glucosyltransferasa, Antígenos I/II de superficie, Biofilm, Placa dental, Respuesta inmune oral, Película salivar adquirida, Saliva, Factores de virulencia y sus posibles combinaciones.
- Búsqueda en español e inglés.

Caries dental y *Streptococcus mutans*

La caries dental es un proceso patológico infeccioso, localizado, post-eruptivo y transmisible que conlleva a la destrucción del esmalte dental por la acción metabólica de bacterias productoras de ácido, dando lugar a un desequilibrio bioquímico que, de no ser revertido a favor de los factores de resistencia, conduce a cavitación y alteraciones del complejo dentino-pulpar.(4) El papel de la

microbiota bucal ha sido discutido por muchos autores, con mayor fuerza desde 1924, como factor de causalidad de la infección y la enfermedad; actualmente ha cobrado fuerza la hipótesis ecológica del *biofilm* propuesto por Marsh.(5)

Los principales microorganismos asociados al inicio de caries dental son los Streptococcus del grupo Mutans (denominación general de las especies de los *Streptococcus* orales), Lactobacillus spp y *Actinomyces* spp.(6) Los *Streptococcus mutans* (particularmente el serotipo c), y en menor proporción *S. sobrinus*, son los más relacionados con el proceso carioso, especialmente en fosas y fisuras, lo cual se ha demostrado en estudios epidemiológicos en niños susceptibles a caries, y en adultos entre un 4 y 100% en diversas poblaciones.(4) La mayoría de las cepas de *S. mutans* son capaces de afectar a los diferentes tipos de superficie de los dientes como fosas, fisuras y superficies lisas.(7)

S. mutans fue aislado de la caries dental por Killian Clarke en 1924; a pesar de sus observaciones y de reportar el aislamiento de la bacteria de un paciente con endocarditis bacteriana, fue poca la atención dirigida hacia esta especie, hasta la década de 1960, cuando Keyes propuso la "tríada etiológica", teoría modificada posteriormente por Newbrun.(8)

Streptococcus mutans es una bacteria anaerobia facultativa, se presenta en forma de coco, crece en cadenas o en parejas, no móvil, no formadora de esporas y reacciona positivamente a la coloración de Gram. Su nombre lo recibe por su tendencia a cambiar de forma, se puede encontrar como coco o en forma más alargada, pareciéndose a formas bacilares.(6,9)

La colonización por *S. mutans* se da en los primeros meses de vida, en lo que se ha denominado transmisión vertical, porque se han encontrado

los mismos serotipos en los hijos y sus respectivas madres, según estudios de genotipo(10-12) en periodos críticos de susceptibilidad denominada "ventana de infectividad", la cual ocurre entre los 6-24 meses y entre los 6-11 años;(10) se ha demostrado que entre más temprano se adquiera, mayor es el riesgo de desarrollar caries en un corto plazo. Otra posible forma de adquisición es la que propone Mattos-Graner *et al.*, quienes realizaron un estudio en Brasil, en niños que asistieron a salacunas, con edades entre los 12 y 30 meses; casi todos los niños tenían genotipos idénticos de *S. mutans*, lo que indicaría que la transmisión horizontal puede ser otra forma de adquisición del microorganismo,(13) especialmente por contacto con saliva de otros niños, por compartir cubiertos e incluso alimentos.

El grupo Mutans está constituido por siete (7) especies: *S. mutans*, *S. rattus*, *S. cricetus*, *S. sobrinus*, *S. ferus*, *S. downei*, *S. macacae* y ocho (8) serotipos, los cuales se identificaron con letras de la "a" hasta la "h." Actualmente Nakano *et al.*(14) añadieron el serotipo k, muy relacionado con la Endocarditis Bacteriana Subaguda.

Desde el punto de vista estructural, los microorganismos pertenecientes a este grupo no difieren del modelo general de todos los *Streptococcus* salvo en la ausencia de cápsula, polisacáridos C y las fimbrias que cuando existen no son muy prominentes.(6,7) (Tabla 1)

Tabla 1. Características diferenciales del grupo *Streptococcus mutans*

<i>mutans Streptococci</i>	Cariogénico Animales Humanos	Serotipo (s)	Carbohidratos pared celular	Contenido DNA G + C* (mol%)
<i>S. mutans</i>	++	c, e, f	Glucosa, ramnosa	36.38
<i>S. sobrinus</i>	+ ¿?	d, g, h	Glucosa, galactosa, ramnosa	44-46
<i>S. cricetus</i>	+ -	a	Glucosa, galactosa, ramnosa	42-44
<i>S. rattus</i>	+ -	b	Glucosa, ramnosa	41-43
<i>S. ferus</i>	--	C	¿?	43-45
<i>S. macacae</i>	¿? -	c	Glucosa, ramnosa	35-36

Presentan factores de virulencia específicos, además de disponer de los mecanismos adecuados para producir energía y resistir las agresiones del entorno(1) los cuales lo convierten en un microorganismo patógeno, tales como:

Acidogenicidad: Los *Streptococcus* puede fermentar los azúcares de la dieta para producir principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que descienda el pH y se desmineralice el esmalte dental.

Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.

Acidofilicidad: *S. mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H +) fuera de la célula.

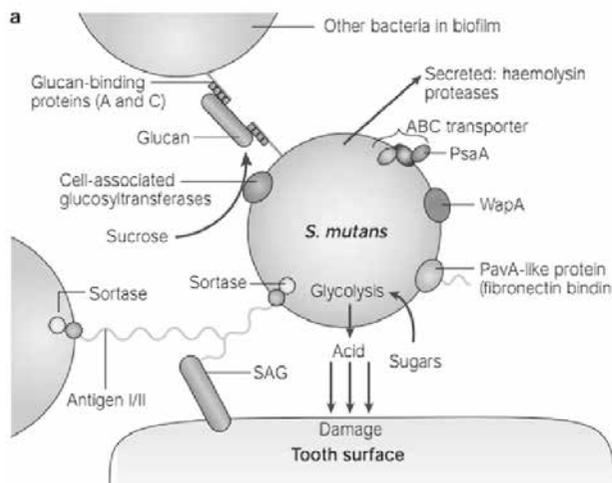
Síntesis de glucanos y fructanos: Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTFs y FTFs), se producen polímeros de glucano

y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes.

Síntesis de polisacáridos intracelulares, como el glucógeno: Sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos aún en ausencia de consumo de azúcar.

Producción de dextranasa: Además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las GTFs removiendo productos finales de glucano.(1,15,16)

Sus factores de virulencia asociados a los factores predisponentes del hospedero, relacionados con los determinantes de salud, como las condiciones y estilos de vida, el acceso a bienes y servicios y a los productos de higiene oral, conducen o no, al desarrollo de la enfermedad.(17) (Figura 1)



Fuente: Mitchell T. J.17

Figura 1. Principales factores de virulencia de *Streptococcus mutans*

La dieta desempeña un importante papel en el desarrollo de la caries dental. Diversos estudios como los de Vanobberghen y Declerck(18,19) han mostrado la relación que existe entre el consumo de carbohidratos y la alta cariogenicidad, los niños

que ingieren más de dos “bocadillos” por día entre las comidas, tienen un 60% más de probabilidad de desarrollar caries que los que no consumen.(20) Además Declerck *et al.* señalan que el consumo en la noche o entre las comidas, de bebidas que contengan azúcar, se asocia con una alta prevalencia de caries dental en niños preescolares.(18)

Los carbohidratos utilizados por los microorganismos orales, especialmente la sacarosa, contribuyen a su potencial cariogénico. Las actividades microbianas mediadas por los carbohidratos incluyen su utilización para el metabolismo glucolítico y para la síntesis de polisacáridos extracelulares bacterianos, que le permiten a la bacteria adherirse firmemente al diente.(9,18)

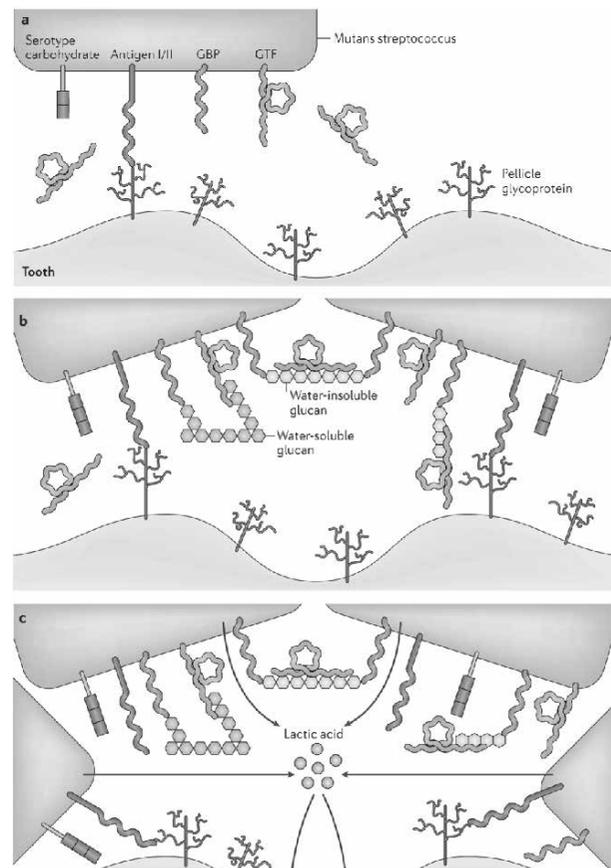
“Este microorganismo es prácticamente homoláctico”,(21) aprovecha sustancias como la glucosa, fructosa, sacarosa, galactosa, maltosa, rafinosa, ribulosa, melibiosa e incluso el almidón,(9) dispone de diversas enzimas que rompen las moléculas de hidratos de carbono y los convierte en varios subproductos de su metabolismo; por lo menos el 90% es ácido láctico y etanol en menor cantidad cuando proliferan con rapidez.(9,21) El sustrato más importante para *S. mutans*, en tanto su papel como agente etiológico de la caries, es la sacarosa, cuya mayor parte la utilizan como fuente energética(21) y como resultado de su metabolismo en el *biofilm* o biopelícula generan ácidos que disuelven la matriz mineral del diente, la cual puede llevar a una cavitación si el mineral continúa siendo expuesto al reto ácido.(9)

La anatomía e histología del hospedero, así como la mala oclusión, influyen en la susceptibilidad de diferentes zonas dentarias a la caries; concretamente

la caries de fosas y fisuras son debidas en parte a la especial anatomía de la superficie oclusal, presentando zonas de retención que favorecen la acumulación bacteriana e impiden la actuación de los mecanismos de limpieza.(4) Por otra parte, el diente es más susceptible a la infección hasta que no hay una completa maduración del esmalte (3-4 años después de la erupción).(4,9)

La saliva desempeña un papel importante en el mantenimiento de las condiciones normales de los tejidos orales y es el factor singular de mayor importancia en el medio bucal.(1,9) Esta contiene varias sustancias antimicrobianas como aglutininas, mucinas, glicoproteínas, fibronectina, lisozima e Inmunoglobulina A Secretora (IgA-S), las cuales promueven la aglutinación y mejoran la remoción bacteriana, además posee proteasas y galactosidasas que destruyen los antígenos de la superficie de *S. mutans* para prevenir su adherencia, y finalmente, puede servir de medio para el transporte de bacterias autóctonas dentro y fuera de la boca.(22,23) “La ausencia de la saliva es un condicionante para la formación de caries. No obstante, existe poca evidencia acerca de la influencia que las pequeñas variaciones del flujo salival pueden ejercer en la tasa de desarrollo de nuevas lesiones”.(4)

La adherencia de los microorganismos a las superficies dentales constituye el paso inicial y el principal en la formación del *biofilm* y posterior desarrollo de la enfermedad.(24) Las investigaciones realizadas con el fin de perfeccionar una vacuna contra la caries dental, se han dirigido hacia factores involucrados en la adhesión y acumulación bacteriana en el esmalte dental.(25) (Figura 2)



Fuente: Adaptado de: Taubman MA, Nash DA.²⁹

A. Ataque inicial de *S. mutans* a las superficies dentales: El antígeno VIII de *S. mutans* interactúa con α galactósidos de las glicoproteínas derivadas de saliva en la película dental, además de otros componentes como las Gbp, carbohidratos específicos de serotipo y GTFs. **B.** Acumulación dependiente de sacarosa: las GTFs de *S. mutans* son capaces de sintetizar glucanos extracelulares en presencia de sacarosa. *S. mutans* une glucanos pre-formados a través de GBP y GTFs, dando lugar a agregados de *S. mutans*. **C.** Producción de ácido. El metabolismo de diferentes carbohidratos (incluyendo la glucosa y fructosa) por las bacterias generan la producción y secreción ácido láctico. Finalmente, puede causar la desmineralización y posteriormente caries dental.

Figura 2. Formación del biofilm por *S. mutans*

“El primer mecanismo por el cual las bacterias se adhieren a la superficie dental tiene que ver con las fuerzas electrostáticas”. Las bacterias se encuentran cargadas negativamente por algunos componentes de la pared celular como polisacáridos, ácido lipoteicoico, glucosiltransferasas y proteínas de unión a carbohidratos (lectinas),(26) los cuales se unen a la superficie dental también cargada negativamente, a través de iones cargados positivamente como el calcio, el hidrógeno y el magnesio, lo cual puede estar influenciado por el pH y por fuerzas iónicas. Otro mecanismo

que permite la adherencia son las interacciones hidrofóbicas, es decir, la proximidad estructural entre las moléculas de la pared celular bacteriana, debido aparentemente a los componentes lipídicos de la misma.(27,28)

Luego de su adherencia, los microorganismos implicados en el proceso de la caries dental se localizan en una biopelícula (*biofilm*) compleja que cubre la superficie del diente.(27) El biofilm es un ecosistema complejo, de gran variabilidad, compuesto por estructuras microbianas densamente agrupadas y sus productos extracelulares, además de glucoproteínas salivares insolubles y detritus alimentario y epitelial en menor proporción, firmemente adheridos al esmalte dental.(11) Todo lo anterior se encuentra implicado en el desarrollo de ciertas enfermedades orales específicas como la caries dental y las enfermedades periodontales.(20) Los fenómenos allí ocurridos permiten comprender los cambios que sufre la microflora, tanto en salud como en enfermedad y la influencia de los factores ambientales que pueden tener sobre los mismos.(27,30)

La coagregación bacteriana, luego de la adherencia temprana, se encuentra estrechamente relacionada con el metabolismo de la sacarosa, el cual es mediado por la acción del sistema enzimático glucosiltransferasas (GTFs)(27) y las proteínas fijadoras de glucano (Gpb), estas últimas son productos extracelulares que unen o asocian glucanos, en presencia de sacarosa, sirviendo de nexo entre las bacterias formando acumulaciones que quedan adheridas a los dientes.(16,31)

Streptococcus mutans produce tres glucosiltransferasas, estas enzimas se encuentran localizadas en la superficie bacteriana, libres en el medio ambiente o absorbidas a la película adquirida, están codificadas por los genes *gtfB*, *gtfC* y *gtfD*, y son las encargadas de sintetizar polímeros de glucano a partir de sacarosa.(15,21)

Estos glucanos desempeñan un papel importante en la adherencia y acumulación de *S. mutans* en las superficies de los dientes y en la formación de polisacáridos extracelulares de la matriz que forma parte de la integridad estructural del *biofilm* dental.(32)

Otro sistema enzimático con que cuenta el *S. mutans* es el de las fructosiltransferasas (FTFs), las cuales son codificadas por un único gen y sintetizan polímeros de fructanos a partir de la sacarosa. Los fructanos actúan como compuestos extracelulares de almacenamiento de carbohidratos que pueden ser metabolizados por las bacterias durante períodos de falta de nutrientes.(33)

Existe evidencia concreta que el sistema inmunitario humano responde contra los microorganismos responsables de la caries y/o sus productos metabólicos. La respuesta inmune es lógica, puesto que la caries es una enfermedad crónica infecciosa y la función esencial del sistema inmunitario es la defensa contra la infección.(34) Los tejidos duros y blandos de la cavidad oral están bajo la protección de factores inmunes específicos y no específicos, cuya función común es limitar la colonización microbiana de la mucosa oral y de las superficies del diente y prevenir la penetración de sustancias nocivas a través de las superficies y el consiguiente perjuicio para los tejidos.(34,35)

“Los factores inmunes no específicos presentes en la saliva incluyen proteínas o glicoproteínas que tienen actividad antimicrobiana innata, como las enzimas lisozima, lactoperoxidasa, mieloperoxidasa y lactoferrina, y no enzimáticos como aglutininas, histatinas, péptidos ricos en prolina y cistatinas”.(9) Contrario a los anticuerpos, estos factores no específicos carecen totalmente de memoria inmunológica y no están sujetos a estimulación específica. Sin embargo, varios de estos factores inmunes no específicos, pueden

interaccionar con inmunoglobulinas salivares, dando como resultado una mutua amplificación de sus actividades respectivas.(35)

El papel de las células NK frente a la protección y susceptibilidad no es muy conocido, pero se plantea su respuesta ante antígenos T independientes de *S. mutans*, sintetizando citoquinas que inducen un cambio de clase y de respuesta específica.(35) Los factores inmunes específicos más destacados son las inmunoglobulinas; la más estudiada es la IgA Secretora (IgA-S) que se sintetiza localmente y se secreta activamente, encontrándose en mayor cantidad en la cavidad oral.(9,34,35) En menor proporción se encuentran la IgA, IgG e IgM séricas, que llegan a través del fluido gingival.(35)

Existen estudios que señalan que los anticuerpos séricos (especialmente IgG) son capaces de opsonizar *S. mutans*. Los leucocitos polimorfonucleares poseen receptores específicos para la porción Fc de la IgG que se enlaza específicamente con *S. mutans*, de este modo, se forma un complejo IgG-*S. mutans*, que se adhiere a la membrana del polimorfonuclear.(34,36) El componente es internado por vacuolas llamadas fagosomas y se combinan con los lisosomas del leucocito formando el fago-lisosoma, razón por la cual, el microorganismo muere por acción de las enzimas lisosómicas.(36)

La presencia de células plasmáticas con capacidad de elaborar IgA secretora en las glándulas salivares, sugiere un mecanismo selectivo programado por linfocitos B para producir esta inmunoglobulina.(35) Las moléculas de IgA-S son considerablemente más resistentes a las enzimas proteolíticas que las IgA, IgG e IgM séricas. Esta resistencia relativa hace que la IgA-S esté mejor adaptada a la cavidad oral y otras membranas mucosas.(35,36)

Entre las funciones antibacterianas de la IgA-S, se le atribuye la reducción de la hidrofobicidad de *S. mutans* evitando su adherencia a la película salival;

se une a colonizadores tempranos, por bloqueo de la interacción adhesina-receptor, ante el Ag I/II, bloqueando la unión que les permite unirse a los colonizadores tempranos. Además, interfiere en la acumulación de placa dependiente de sacarosa inhibiendo la producción de glucanos, mediante el bloqueo a la enzima GTF y a la adherencia, e Inhibe la producción de ácidos y otras actividades metabólicas.(16,31)

La respuesta inmune mediada por linfocitos T es un importante mecanismo de respuesta ya que éste concede memoria inmunológica, pero su acción efectora no es muy potente, aunque puede ser reforzada por la acumulación de bacterias en el *biofilm*.(34,35) Las células estimuladas son principalmente linfocitos CD4⁺; algunos estudios han demostrado que no hay correlación entre el índice de caries y la estimulación de los linfocitos.(35)

Antígenos I/II de membrana de *Streptococcus mutans*

La mayoría de las bacterias del género *Streptococcus* que tienen como hábitat la boca, se identifican como pertenecientes a una misma familia Streptococcaceae que se relaciona de manera antigénica, por las proteínas de superficie que poseen, las cuales facilitan una unión íntima del microorganismo con las glicoproteínas salivares y en consecuencia, con la superficie del diente; esta unión hace que el microorganismo tenga una acción de descalcificación en el esmalte dental, hasta producir su cavitación, conocida como caries dental.(37)

Las moléculas de superficie identificadas en *Streptococcus mutans*, son polisacáridos específicos de serotipo, ácido lipoteicoico, glucosiltransferasas y fructosiltransferasas (GTFs y FTFs respectivamente); éstas últimas convierten

la sacarosa de la dieta humana en glucanos los cuales le sirven para el proceso de adherencia y como fuente de nutrición (Polisacáridos extracelulares);(38) también tienen proteínas de unión a glucanos (Gbp), antígeno D, antígeno III, antígeno A, antígeno C(39) y el antígeno I/II (Tabla 2). Este último antígeno ha sido caracterizado ampliamente por autores como Russell, Lehner Okahashi, Demuth, Ackermans,(40) y ha recibido

varios nombres tales como PAc (Okahashi *et al.*,1990), P1 (Crowley *et al.*,1993) y SR (Orgier *et al.*,1993).(41) Dichas sustancias desempeñan un papel preponderante en las interacciones entre estos organismos y las células hospederas y han sido de gran importancia como candidatos para el desarrollo de una vacuna contra la caries.(39)

Tabla 2. Factores de patogenicidad encontradas en

Streptococcus mutans

Molécula de superficie	Función
Antígenos polisacáridos específicos de serotipo	Resistencia a la fagocitosis y muerte por leucocitos polimorfonucleares humanos.(39)
Ácido lipoteicoico	Puede interactuar con componentes del hospedero cargados negativamente a través de iones de calcio o hidrogeno o por uniones hidrofóbicas.(26)
Glucosiltransferasas (GTFs)	Convierten la sacarosa de la dieta humana en polímeros de glucanos los cuales le sirven para el proceso de adherencia y como fuente de nutrición(38) (polisacáridos extracelulares)
Fructosiltransferasas (FTFs)	Sintetiza polímeros de fructano a partir de sacarosa. Los fructanos actúan como sitios de unión para la acumulación bacteriana(42)
Proteínas de unión a glucanos	GbpA (74 kDa), GbpB (59 kDa) y GbpC (64 kDa): proteínas que sirven de asociación con la superficie de la célula y en el medio extracelular.(39)
Antígeno D	Proteína antigénica de 13 kDa.(39)
Antígeno III	Proteína antigénica de 39 kDa puede ser extraída de la superficie de <i>S. mutans</i> o encontrarse libre en sobrenadante de cultivo. Codificada por el gen <i>wapA</i> .(43)
Antígeno A	Proteína antigénica de 29 kDa. El antígeno A y el antígeno III son considerados la misma proteína.(39)
Antígeno C	Proteína antigénica de 70 kDa.(39)
Antígeno I/II	Proteína fibrilar de superficie celular de 190 kDa, también llamada antígeno Pac, implicado en la adherencia inicial a la película salivar que cubre la superficie de los dientes.(39,42)

Chamorro y cols., 2010

Los *Streptococcus* poseen varios determinantes antigénicos de pared celular, tales como peptidoglicanos antigénicos, polisacáridos y ácido lipoteicoico.(40) Existen proteínas antigénicas de superficie celular que se encuentran en la cápsula o pared de *S. mutans*, las cuales tienen acción en la adhesión a la superficie dental y reciben el nombre de antígenos estreptocócicos (SA). Todas corresponden al serotipo c y se agrupan

de la siguiente manera: antígeno Estreptocócico I, antígeno Estreptocócico II, antígeno Estreptocócico I/II y antígeno Estreptocócico III.(16) El antígeno I/II (Ag I/II) es el más abundante y ha recibido diversos nombres como Proteína B, Spa A, P1, SR, MSL1 y PAc.

Se sugiere que las moléculas anteriores son indispensables para la adhesión y agregación sobre

el diente, tomando como sustrato las proteínas de la película adquirida. Así mismo dichos factores puede tener varias funciones según la región de la proteína: agregación, en la región amino-terminal hidrofóbica de la hélice alfa de la molécula; adherencia, en el carbono terminal de la región amino-terminal rica en alanina. Por otro lado, pueden unirse al colágeno en los túbulos dentinales, situación importante en el desarrollo de caries radicular. Estas proteínas tienen el inconveniente de ocasionar una reacción autoinmune con el tejido cardíaco, es altamente inmunogénica y ha sido usada como candidata para realizar una vacuna contra la caries dental.(25,35)

Los antígenos I/II son proteínas fibrilares de superficie del *Streptococcus mutans*. (44) Pertenecen a una importante familia de polipéptidos de superficie que se expresan en casi todas las especies de estreptococos orales, siendo ampliamente caracterizadas las cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus gordonii*. Este antígeno fue identificado por Russell y Lehner mientras trabajaban en Londres en una vacuna contra la caries (1978) y designado como antígeno I (ó antígeno B) y antígeno II, (posteriormente demostrado como un producto del antígeno I).³⁷

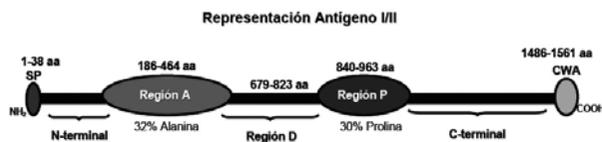
Se ha sugerido que esta molécula posee varios receptores, lo cual implica múltiples dominios de unión, que les permiten interactuar con una variedad de componentes salivares tales como amilasa, proteínas ricas en prolina, lisozima, mucinas salivares y glicoproteína-aglutinina secretada por células de la glándula parótida;(16) muchos de estos componentes están estrechamente unidos a la matriz mineral del esmalte dental humano como constituyentes de la película salivar adquirida. Es importante recordar que la adhesión de los *Streptococcus* a los constituyentes de la película es un aspecto fundamental en la colonización bacteriana del diente³⁷ y que el antígeno I/II es uno

de los factores de virulencia más importantes de la bacteria que contribuye a la patogénesis inducida por la caries.(44)

Diversos estudios han demostrado que toda la organización estructural de la familia de proteínas del antígeno I/II es muy conservada y presentan aproximadamente entre un 65 y un 70% de similitud con la secuencia primaria. Estas adhesinas multifuncionales contribuyen a la iniciación y desarrollo de la biopelícula oral por la mediación de interacciones entre los componentes salivares, células hospederas y otras bacterias orales, incluyendo *Actinomyces*, *Porphyromonas gingivalis*, y *Candida albicans*,(45) estas uniones interbacterianas son promovidas por unas aglutininas salivales, encontradas en las glándulas parótida y submandibular.(46)

Estos antígenos están codificados por un gen, miembro de una familia de genes altamente conservados entre estreptococos orales, localizados sobre la superficie de la pared celular del serotipo a, y ausente en la pared celular del b(4) sin embargo, a pesar de ser altamente conservado, las propiedades funcionales de los miembros de esta familia de proteínas difieren.(45) Este gen está constituido por 4695 pares de bases (pb) y codifica una proteína de 170.773 Da. El producto de dicho gen, contiene un péptido señalizador de 38 residuos de aminoácidos, generando una proteína madura de 166.817 Da.(39)

La organización estructural y la localización de las regiones funcionales del antígeno I/II, puede ser dividido en siete regiones con base en la secuencia principal y son: 1) péptido señal (SP), 2) región N-terminal (N), 3) dominio rico en bloques de alanina (A), 4) región central divergente (D), 5) región rica en prolina (P), 6) región C-terminal (C), y 7) secuencias de anclaje de la pared celular (CWA) (37). (Figura 3)



Fuente: Hajishengallis G *et al*.(48)

El Antígeno I/II, el cual se encuentra implicado en la adherencia inicial y es el principal candidato para el desarrollo de una vacuna contra la caries dental, con particular interés en la región de unión a saliva y la región catalítica. La proteína antigénica I/II posee una secuencia especializada para su anclaje a la pared celular como consecuencia del transporte de un péptido señal por el citoplasma.

Figura 3. Representación esquemática del Antígeno I/II

Cada una de estas regiones de la proteína cumplen diferentes funciones: la región N-terminal hidrofóbica de la hélice α de la molécula, es la encargada de la agregación; la adherencia está dada por el carbono terminal de la región amino terminal rica en alanina. La región repetida rica en alanina (de residuos 219-464, A-región) del antígeno I/II es importante para la interacción de *S. mutans* con la película salivar, teniendo un fuerte poder inmunogénico en humanos, y puede ser un candidato antigénico para inducir la producción de anticuerpos que inhiban la adhesión de *S. mutans* a la superficie del diente.(47)

Munro *et al* (39) reportaron que los anticuerpos monoclonales para prevenir la colonización por *S. mutans in vivo* se unen a un polipéptido recombinante (816-1161 residuos de aa) que contiene la región P-(residuos 847-963), del Ag I/II. Por otra parte, un polipéptido en la misma región impide la adherencia *in vitro* de *S. mutans* a las esferas recubiertas de hidroxiapatita. Estudios citados por Koga *et al*, sugieren que la región N-terminal y las regiones centrales del Ag I/II se unen a la aglutinina salivar en las superficies del esmalte, y ambas son regiones inmunológicamente importantes

Este antígeno I/II es una proteína de 185000 Da. El antígeno II (48000 Da) puede ser separado y aislado del antígeno I/II por digestión con pronasas (una mezcla de proteasas aisladas del líquido

extracelular de *Streptomyces griseus*) las cuales cortan la secuencia correspondiente al antígeno II separándolo del antígeno I, seguido por una cromatografía en columna. El Antígeno I (150000 D) puede ser aislado por cromatografía de afinidad.(49)

Las funciones que cumplen los antígenos I/II, tanto *in vivo* como *in vitro*, son las de una adhesina, formando uniones hidrofóbicas con la película salivar. Se ha establecido que la inmunización con un péptido sintético del antígeno I/II suprime la colonización del *S. mutans* en dientes y que el uso de anticuerpos monoclonales obtenidos de murinos, aplicados directamente a los dientes de primates, impide el proceso de colonización y, por tanto, el desarrollo de caries.(50)

Los mutantes isogénicos de *S. mutans* deficientes para antígeno I/II no pueden formar agregados en presencia de la saliva completa o aglutininas salivares. La habilidad *in vitro* de estos mutantes para adherirse a películas experimentales, disminuye. Otros hallazgos indican que el antígeno I/II participa en la interacción hidrofóbica entre *S. mutans* y el complejo en la superficie del diente, debido a que la hidrofobicidad de estos mutantes deficientes para este antígeno es debida a un complejo de glicoproteína salivar de alto peso molecular, siendo la IgA-S esencial para la unión del antígeno I/II de *S. mutans*. Adicionalmente los residuos de ácido siálico de ese complejo juegan un papel importante en esta interacción.(39)

Finalmente otros estudios experimentales demuestran que los *S. mutans* que carecen o presentan una reducción del antígeno polipeptídico I/II se adhieren de manera deficiente a la película salivar.(49) También se ha evidenciado que las proteínas del antígeno I/II interactúan con el colágeno de ratas y con la fibronectina y laminina en humanos, interacciones que permiten el desarrollo de abscesos y endocarditis infecciosa y puede ser un factor importante en la invasión a los túbulos dentinales por estreptococos.(45)

Glucosiltransferasa (gtfs) y fructosiltransferasa (ftfs) de *Streptococcus mutans*

El proceso de formación de la caries involucra la unión dependiente de sacarosa de *Streptococcus mutans* al esmalte dental que cubre la superficie del diente. Este ataque es favorecido por la producción de glucanos insolubles en agua a partir de sacarosa; luego la bacteria fermenta los carbohidratos disponibles produciendo ácido para la disminución del pH y la desmineralización del esmalte.(51)

El potencial patogénico de *S. mutans* depende de los productos de varios genes, entre ellos se encuentran las acciones de las glucosiltransferasas (GTFs) y fructosiltransferasas (FTFs) que tienen la capacidad de sintetizar glucanos y fructanos respectivamente, a partir de sacarosa.(52)

El complejo enzimático de las glucosiltransferasas presente en *S. mutans* es el encargado de la síntesis de polímeros de glucosa (glucanos) esenciales. Este proceso es dependiente de sacarosa, debido a que sin este disacárido proveniente de la dieta del hospedero, este proceso no se llevaría a cabo. Las GTFs desdoblan la sacarosa en fructosa y glucosa. (52) Mediante estas enzimas *S. mutans* puede producir, glucanos solubles en agua que contienen α 1-6 residuos de glucosa y glucanos insolubles en agua, los cuales contienen α 1-3 residuos de glucosa. La síntesis de glucanos insolubles en agua es requerida para la acumulación del *S. mutans* en la superficie del diente,(39,53) actuando como adhesivo para fijar las bacterias a los dientes,(51) y no para la colonización(54) etapa en la cual participan otras estructuras y moléculas que fueron mencionadas anteriormente.

Las GTFs son enzimas extracelulares de las bacterias ácido lácticas que usan la sacarosa para sintetizar, como ya se mencionó, diferentes tipos de glucanos de alto peso molecular, los cuales

difieren en la longitud de la cadena, el tipo de unión y el grado de ramificación. El catabolismo de las GTFs, probablemente implica dos etapas, la primera etapa consiste en un ataque nucleofílico en la sacarosa para desplazar a la fructosa (FRU) y formar un GTF-glucosilo intermedio. Luego, este éster activado es atacado por un grupo hidroxilo no reducido al final del crecimiento de la cadena de glucano. En vías alternativas, el intermediario también puede reaccionar con el agua o con otros nucleófilos. La reacción de este último ha sido utilizado *in vitro* para transferir la mitad del glucosilo a las moléculas de receptor diferente, normalmente mono-, di- o trisacáridos. La glicosilación de diferentes aceptores, utilizando sustratos fácilmente disponibles como la sacarosa, ha despertado el interés biotecnológico en estas enzimas.(55)

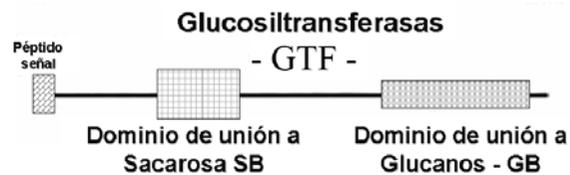
S. mutans produce tres GTFs, las cuales están codificadas por tres genes *gtfB*, *gtfC* y *gtfD*. (15,21) Cada GTF se basa en las características de solubilidad en agua del glucano que producen.(56) Según este criterio *S. mutans* produce: La GTF-I (GTFB), de 162 kDa, la cual genera un glucano insoluble en agua denominado mutano, La GTF-S (GTFD) de 155 kDa,(57) produce un glucano soluble similar al dextrano(58-61) y la GTF-SI (GTFC) de 149 kDa,(57) que produce una mezcla de glucanos solubles e insolubles en agua.(56) Los glucanos insolubles en agua, producidos por las GTFB y C juegan un papel importante en la adhesión y la acumulación bacteriana en las superficies dentales, y en el establecimiento de la matriz extracelular de polisacáridos, responsable de la integridad estructural del *biofilm* oral, proporcionando un microambiente para su crecimiento, metabolismo y supervivencia.(62)

Estas tres isoformas de GTFs hasta ahora, sólo se han investigado en películas experimentales obtenidas *in vitro* de muestras de saliva(59) y la acción cooperativa de todas ellas constituye un

elemento esencial para que *S. mutans* pueda adherirse a la superficie dental,(61) por esto las GTFs de los estreptococos orales son consideradas un factor obligado para la formación de biopelículas sobre las superficies dentales.(57,63)

La GTFB y la GTFD contienen 1475 aa y son altamente hidrofílicas, mientras que la GTFC está compuesta por 1375 aa y presenta un carácter más anfílico (posee partes tanto hidrofóbicas como hidrofílicas en su estructura)(56) debido a pequeños dominios hidrofóbicos, característica que le puede conferir mayor afinidad a la hidroxiapatita del esmalte dental, constituyéndose en la isoforma predominante en la película adquirida.(59)

La estructura tridimensional de las GTFs descritas hasta el momento no se encuentra disponible. Sin embargo, las determinaciones de secuencia y diversos estudios bioquímicos, indican que las GTFs consisten en un polipéptido simple de cadena larga de cerca de 1500 amino ácidos;(55) este se encuentra constituido por cuatro segmentos funcionalmente diferentes: un péptido señal en el N-terminal de aproximadamente 38 aa, esencial para su secreción, seguido de un dominio variable de 200 aa que es característico de cada isoforma y cuya función aún es desconocida, además posee un segmento de cerca de 800 aa que alberga un dominio catalítico (SB), que fija e hidroliza la sacarosa y finalmente un dominio de unión a glucano (GB) de aproximadamente 500 residuos de aas en el C-Terminal (GLU) encargado de la transferencia de la fracción glucosil y la unión de los polímeros de glucanos sintetizados, esta región es además, esencial para la unión de la enzima a la superficie celular bacteriana, esto indica que la adhesión de *S. mutans*, así como su acumulación, puede producirse cuando los glucanos interactúan con la superficie bacteriana a través de la región GLU(64) (Figura 4). Esta región ha demostrado ser esencial para la síntesis de glucano, pero no para la actividad de sacarasa.(39,55,57) "Los dominios SB y GLU son accesibles a la unión de anticuerpos"(39, 55)



Fuente: Adaptado de Hajishengallis G et ál.(48)

Enzimas implicadas en la acumulación celular dependiente de sacarosa de los *Streptococcus mutans*, posible candidato para el desarrollo de una vacuna, siendo la Región de mayor interés la de Unión a Glucanos (GB).

Figura 4. Representación de las glucosiltransferasas (GTF)

Se han realizado diversos estudios sobre la relación estructural y funcional de las GTFs de *S. mutans* y *S. sobrinus* y se han identificado varios dominios importantes y residuos de aminoácidos específicos, implicados en la capacidad de las enzimas de unir glucanos, hidrolizar sacarosa y sintetizar glucanos.(57) Una comparación entre las GTFs de los *Streptococcus* (GTFD de *S. mutans*, GTFT de *S. sobrinus*, GTFK de *S. salivarius*, GTFP de *S. sanguinis*, GTFR de *S. oralis* y GTFG de *S. gordonii*) reveló una región no conservada situada corriente abajo del péptido señal; igualmente que la region 5-terminal del gen *gtf* es conservada en las especies de *S. mutans* y *S. oralis*.(63)

Por otro lado, las fructosiltransferasas (FTFs), sintetizan polímeros de fructano a partir de sacarosa³³ al estar enzimáticamente activas pueden encontrarse, bien sea asociadas a la superficie celular, libre de células (secretadas) en la saliva, o inmovilizadas en la película adquirida o *biofilm*.(33) Tanto GTFs como FTFs son fundamentales para el progreso de la caries dental.(42)

Estas FTFs son codificadas por un único gen *ftf* y sintetizan grandes cantidades de polímeros de fructano tipo inulina.(33) Esta enzima cataliza la ruptura de la sacarosa, y posteriormente realiza una polimerización de las mitades de fructosa a fructano, que son compuestos con una elevada masa molecular y una baja difusibilidad, permitiendo que esta molécula permanezca en la placa dental, después de su producción.(51,65)

Las bacterias pueden mostrar diferentes formas de crecimiento y expresión diferencial de genes en diversas condiciones ambientales, que afectan la transcripción del gen *ftf*, incluyendo el pH del medio, la tasa de crecimiento y la exposición a sacarosa. Sin embargo, el mecanismo exacto de la regulación de las FTFs no se conoce.(66) Estudios realizados por Rozen *et al.*(33) demostraron que la expresión de FTF de *S. mutans* GS-5 en biofilms es regulado por los hidratos de carbono; en biofilms que crecen con sacarosa, se obtuvo una cantidad ligeramente superior de FTF que en aquellas adicionadas con glucosa o fructosa. La distribución de FTF libre o asociada a células depende de la exposición a azúcares y de la profundidad del biofilms.(51)

De manera similar Hudson y Curtiss citados por Grey *et al.*(51) demostraron que la presencia de sacarosa en un medio de crecimiento induce la expresión del gen *ftf*, seguido de una rápida disminución en su expresión con el tiempo; además Kiska y Macrina también han demostrado que células de *S. mutans* que han sido expuestas a la glucosa muestran un rápido aumento de la expresión de *ftf* cuando son trasladadas a un medio que contiene sacarosa.

Otros estudios realizados también por Rozen *et al.*(33) mostraron que la fructosa puede influir en las propiedades de las bacterias, así la adición de fructosa y glucosa a las células bacterianas en crecimiento, lleva a una disminución temporal de la expresión *ftf*CAT durante aproximadamente dos (2) horas, seguida por un aumento de la expresión *ftf*CAT en niveles superiores a los iniciales. También se ha encontrado que inducen la expresión y secreción de ácido lipoteicoico, además de la producción de fructanasa en *S. mutans*.

Los niveles en placa de este polímero de fructosa, producido a partir de sacarosa, han demostrado aumentar durante la ingestión del disacárido. Los fructanos almacenados por la bacteria son

sintetizados por una enzima llamada fructano hidrolasa(53) proporcionando una fuente de hidratos de carbono durante los períodos en que el hospedero no provee suficientes carbohidratos para las necesidades metabólicas de la bacteria(32,51) pero también pueden entrar en el ciclo glucolítico metabolizando ácido láctico, lo cual produce desmineralización de la superficie del esmalte de los dientes, y como resultado la caries dental.(32) La infección de ratas gnotobióticas con *S. mutans*, en las que se haya inactivado el gen de *ftf*, genera una reducción en las lesiones cariosas y en un incremento de la producción de glucano. (32,51)

Varios estudios indican que la expresión de los genes para síntesis de las enzimas de *S. mutans* depende de las condiciones ambientales. Además, el uso de cepas con el gen de fusión de GTFs y FTFs en un *biofilm* fermentador de flujo continuo ha demostrado que los organismos que crecen en biofilms más gruesos y maduros (7 días), tienen mayores niveles de expresión de los genes *gtfBC* en comparación con las células cultivadas en biofilms en suspensión o en diluyente (2 días). Por el contrario, se encontró que FTF es dramáticamente desregulada en biofilms de 7 días en comparación con biofilms de 2 días.

Los mecanismos específicos que rigen la regulación de la síntesis de exopolisacáridos en los biofilms de *S. mutans* aún no se han descubierto. En estudios realizados por Li *et al.*, (62) se demostró que los cambios en el pH, la fuente de carbohidratos y su concentración influye en la transcripción de GTF y FTF por parte de *S. mutans* en biofilms maduros, sin embargo otros factores como la disponibilidad de otros nutrientes y de oxígeno pueden causar variaciones.

En resumen, el papel de las FTFs y GTFs en la virulencia de *S. mutans* fue demostrado en estudios de mutantes FTFs o GTFs negativos que

causan una reducción en el nivel de caries dental, en ratas gnotobióticas,(66) puesto que no ofrece a la bacteria, carbohidratos extracelulares para metabolizarlos en el momento de una privación de nutrientes por parte del hospedero.(32)

Respuesta inmune contra *Streptococcus mutans* y papel de la IgA secretora

La mayor parte de las enfermedades infecciosas que padecen los humanos son causadas por microorganismos.(67) Ante estas amenazas, el cuerpo cuenta con múltiples mecanismos de defensa mediados por las primeras reacciones de la inmunidad innata y la posterior respuesta de la inmunidad adaptativa.(68)

La inmunidad innata (también llamada inmunidad natural) consiste en mecanismos celulares y bioquímicos de defensa que están en el lugar de ingreso del microorganismo incluso antes de la infección,(68) lo que hace que combatan una infección desde su mismo comienzo.(67) Los principales componentes de la inmunidad innata son: (1) barreras físicas y químicas, como la piel, epitelios y sustancias antimicrobianas producidas en las superficies epiteliales; (2) células fagocíticas como polimorfonucleares, macrófagos y células asesinas (Natural Killer-NK); (3) proteínas sanguíneas, incluidos los miembros del sistema de complemento y otros mediadores de la inflamación; y (4) proteínas llamadas citocinas que regulan y coordinan muchas de las actividades de las células de la inmunidad innata. Dichos mecanismos primarios protegen contra microorganismos productores de caries en individuos sanos(68) y no dependen del número de exposiciones al antígeno y tampoco diferencian entre los tipos de sustancias extrañas.(35)

Los componentes de la inmunidad adaptativa (inmunidad específica) son las células presentadoras de antígeno (CPA), linfocitos T (LT), linfocitos B (LB) (inmunidad celular), anticuerpos y complemento (inmunidad humoral).(35) En general la inmunidad

humoral juega un importante papel en la defensa del hospedero contra las infecciones producidas por patógenos extracelulares como *Streptococcus mutans*, mientras la inmunidad celular contribuye a erradicar los patógenos intracelulares (como virus y algunas bacterias y parásitos).(69) La inmunidad específica tiene una extraordinaria capacidad para distinguir entre diferentes microbios y moléculas, aunque estén estrechamente relacionados y de "recordar" y responder, más enérgicamente, a las repetidas exposiciones a los mismos microorganismos.(68)

Los linfocitos T son los principales actores en la respuesta específica. Estos son originados en médula ósea y llevan a cabo su maduración en el timo donde se realiza el procedimiento de tolerancia el cual tiene como fin brindar protección ante un ataque contra los antígenos propios. Existen 2 clases: los LT ayudadores que poseen el marcador de membrana CD4⁺ y los LT citotóxicos, CD8⁺.(35)

Como los LT no reconocen antígenos solubles, su respuesta es dependiente de la presentación antigénica, la cual es limitada al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), definida como clase para los linfocitos CD8⁺. Dicha presentación es realizada por cualquier célula del organismo que contenga antígenos extraños en su citoplasma, conduciendo finalmente a la muerte de la célula blanco; la presentación por moléculas del CMH clase II se da para los linfocitos CD4⁺ y se realiza en presencia de patógenos extracelulares; esta es llevada a cabo por las células presentadoras de antígeno (CPA): macrófagos, linfocitos B y células dendríticas.(35) Las CPA tienen como misión captar, procesar y presentar el antígeno a los linfocitos T. Este tipo de células previo al reconocimiento del antígeno por las células T, lo procesa proteolíticamente en su interior.(70)

Los linfocitos B maduros, expresan en su membrana ciertas inmunoglobulinas específicas (receptor que puede ser IgM o IgD) para reconocer un antígeno (Ag) en particular. Los Linfocitos B participan en la inmunidad humoral, y su rol principal es la

producción de una amplia gama de anticuerpos los cuales se unen a proteínas extrañas, polisacáridos o lípidos en su forma soluble y su diferenciación a células de memoria. Los antígenos proteicos no pueden inducir por si solos la activación de los Linfocitos B, sino que requieren de los Linfocitos CD4⁺ para tal estimulación y producir una expansión clonal.(70,71)

Los anticuerpos también llamados inmunoglobulinas (Ig), son sustancias de una gran importancia en la defensa del organismo al tener la capacidad de protegerlo contra infecciones producidas por microorganismos extracelulares. Son los principales responsables en la respuesta inmune humoral, cuyo funcionamiento normal es imprescindible para la defensa de los organismos.(72)

Los principales anticuerpos presentes en la sangre, la linfa y el líquido de los tejidos conectivos son la Ig G, la Ig A y la Ig M.(67) La IgG, es el principal tipo de Ig en suero y posee 4 subclases: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, mientras que la IgM representa del 5-10% de las Ig en suero, es secretada como un pentámero, además, es la inmunoglobulina producida por primera vez en una respuesta primaria a un antígeno, y también es la primera inmunoglobulina en ser sintetizada por el recién nacido.

A pesar de que la IgA es el isotipo principalmente encontrado en secreciones, la IgM juega un papel importante accesorio como inmunoglobulina secretora.(67,73) Por otra parte, la IgA también se produce en los tejidos linfoides subyacentes a las mucosas y luego es selectivamente transportada por el epitelio para que se una a patógenos extracelulares y a sus toxinas en las superficies mucosas.(67)

Los anticuerpos pueden interferir mediante el bloqueo de epítopes de las adhesinas de *S. mutans*. De hecho, anticuerpos policlonales y monoclonales

contra el Ag I/II (PAc) y contra la región vinculante de saliva (SBR), fuertemente inhiben la adhesión independiente de sacarosa de *S. mutans* a las células del diente.(39)

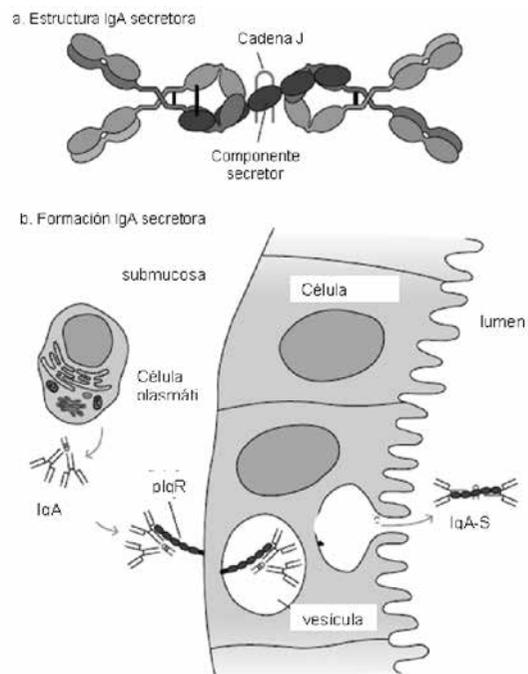
En los seres humanos y otros mamíferos, la inmunoglobulina predominante en las secreciones externas es la IgA Secretora (IgA-S), siendo esta una primera línea de defensa en las mucosas contra patógenos microbianos. Esta Ig es sintetizada localmente y se encuentra en mayor cantidad en la saliva. En menor proporción se encuentra la IgA, IgG e IgM séricas, que llegan a la saliva a través del fluido gingival.(4,74) Estos hallazgos han dado lugar a numerosas investigaciones para determinar la seguridad y eficacia de los diversos procedimientos para la inducción de determinados anticuerpos IgA-S en las secreciones externas.(44) Existen varios estudios que han reportado que la caries está especialmente correlacionada con el nivel de IgA, entre los otros componentes de la saliva.(75)

En humanos existen dos tipos de IgA: La IgA₁ y la IgA₂(76) las cuales se encuentran en similares proporciones en saliva y otras secreciones. Sus cadenas pesadas difieren en solo 22 aa, especialmente por una delección de 13 aa en la región central de la IgA₂, los cuales si se encuentran presentes en la IgA₁. Esta diferencia estructural le brinda a la IgA₂ resistencia ante las proteasas bacterianas generadas por los patógenos en mucosas, los cuales clivan la IgA específicamente en la región central, Interfiriendo con las propiedades protectoras de la IgA.(26,77) La resistencia intrínseca que tiene la IgA a la proteólisis, es reforzada por un componente secretor y ayuda a la preservación de sus funciones biológicas en las secreciones.(26)

Esta IgA es la más heterogénea de las inmunoglobulinas humanas. La IgA es producida

por células plasmáticas adyacentes a los ductos y acinos de las glándulas salivales mayores y menores donde predomina por encima de otros isotipos de Ig producidos.(26,76) Existe como un polímero compuesto por dos o más IgA monoméricas de 300.000 Da, las cuales están formadas por cuatro polipéptidos, dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas unidas por puentes disulfuro covalentemente; una cadena J de 15.600 Da, y un componente secretor (SC) de 70.000 Da, ambos unidos a la región Fc de la molécula por puentes disulfuro. La cadena J se sintetiza por las células plasmáticas y está involucrada en la polimerización de la IgA. Por otra parte el SC es una proteína altamente glicosilada producida por las células del epitelio mucoso y cumple la función de estabilizar la estructura polimérica, además protege la molécula del ataque proteolítico en las secreciones.(26,76,77)

La IgA polimérica que contiene la cadena J, secretada por las células plasmáticas, se une fuertemente a un receptor de las moléculas de inmunoglobulinas poliméricas (plgR) situado en la superficie basolateral de las células ductales y acinares. Después de que la IgA polimérica se une al receptor, el complejo IgA-receptor es transportado e internalizado en vesículas de endocitosis y transportado a la superficie apical de las células epiteliales de la membrana luminal, donde la vesícula se fusiona con la membrana plasmática. El receptor plgR se rompe por vía enzimática de la membrana y se convierte en el componente secretor (SC), que está unido por enlaces disulfuro y es liberado junto con la IgA polimérica en las secreciones mucosas. El componente secretor enmascara los sitios sensibles al desdoblamiento por proteasas en la región bisagra de IgA-S, lo que permite a la molécula polimérica existir ampliamente en el entorno rico en proteasas de las mucosas.(26,73,76,77) (Figura 5)



Fuente: Adaptado de. Kindt T. J et ál(73)

(a) La IgA-S consiste en al menos dos moléculas de IgA, unidas covalentemente entre sí a través de una cadena J y el componente secretor (SC). El SC contiene cinco dominios tipo Ig y está unida a la IgA dimerica por un puente disulfuro entre el quinto dominio y una de las cadenas pesadas de IgA. (b) La IgA-S se forma durante el transporte a través de la membrana mucosa a las células epiteliales. La IgA dimerica se une a un receptor plgR en la membrana basolateral de una célula epitelial y se internaliza por endocitosis - mediada por receptores. Después del transporte del complejo receptor-IgA a la superficie luminal, el receptor plgR es clivado, liberando el componente secretor ligado a la IgA dimerica.(73)

Figura 5. Estructura y formación de la IgA Secretora (IgA-S)

Para inducir una respuesta por parte de la IgA existen dos mecanismos: en el primero, los antígenos orales inducen la producción y diferenciación de células linfoides en las glándulas salivales, donde estos antígenos pueden ser captados por los macrófagos y presentados a los linfocitos T, los cuales activaran a los linfocitos B.(26) La evidencia indirecta de la presencia de un sistema inmune local asociado a las glándulas salivales se deriva de estudios actuales sobre inmunización, es así como la instalación de antígenos en el conducto parotídeo de monos ha demostrado inducir efectivamente IgA-S.

Por otra parte, las glándulas salivales menores poseen conductos cortos que se encuentran

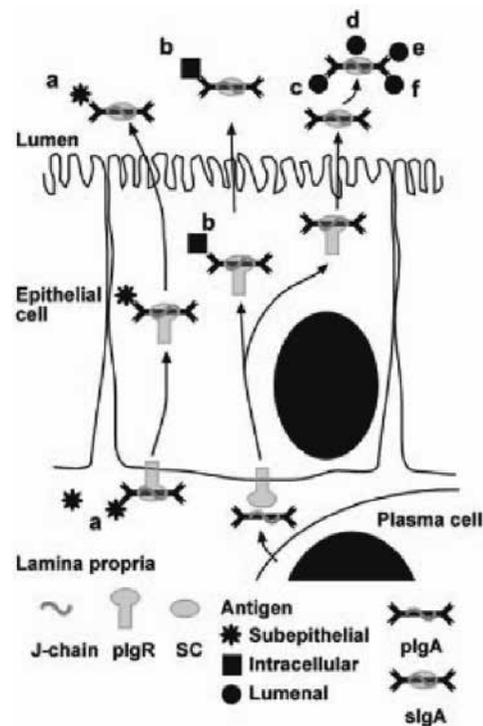
superficialmente a través de la lámina propia de labios, mejillas y mucosa del paladar blando, lo que facilita la exposición continua a antígenos orales que pueden infiltrarse fácilmente por estos conductos, como lo demuestra la detección de bacterias en conductos excretores de las glándulas salivales labiales de primates.(73,78)

Un segundo mecanismo involucra la migración de células B precursoras de IgA sensibilizadas por los antígenos desde el Tejido Linfoide Asociado al Intestino (GALT, por sus siglas en inglés), que es una fuente de células B precursoras capaces de poblar tejidos linfoides distantes a las glándulas salivares.(26) Tras la presentación del antígeno por las células accesorias, las células T y las células B precursoras de IgA salen a través de los vasos linfáticos eferentes a la sangre periférica y migran a la lámina propia del intestino, los pulmones, el tracto genitourinario, y las glándulas secretoras, donde son retenidos selectivamente. Allí sufren expansión clonal y maduran a células plasmáticas IgA, bajo la influencia de las células T. Trabajos experimentales en animales y humanos ha demostrado que la administración oral de antígenos bacterianos específicos induce IgA-S en la saliva.(26,73,78)

La IgA-S cumple una importante función efectora en la superficie de las membranas mucosas, los cuales son los principales puntos de entrada para la mayoría de los microorganismos patógenos. Debido a que es polimérica, la IgA-S puede reconocer antígenos grandes con múltiples epítopes. Dentro de sus funciones, la más importante es la interferencia en la adhesión bacteriana, ya que al unirse a las adhesinas bacterianas reduce la carga negativa y la hidrofobicidad en la superficie de la bacteria, debido a una fuerte glicosilación de la región Fc y SC de la molécula, limitando las interacciones iónicas e hidrofóbicas con los receptores del hospedero, impidiendo finalmente la colonización bacteriana. Otro mecanismo por el cual la IgA-S puede impedir la adhesión es por medio de la aglutinación bacteriana, ya que esta restringe el acceso a las superficies y aumenta la

susceptibilidad a la remoción, siendo así fácilmente atrapados en el moco y luego eliminados por las células ciliadas del epitelio de las vías respiratorias o por el peristaltismo intestinal.(26,73,76)

Además, la IgA-S también puede unirse a antígenos antes de llegar a la luz. Los microorganismos y otros antígenos pueden ser excretados en la luz de los compartimentos intracelulares y subepiteliales, ya que la IgA se traslada a través del epitelio. La importancia de esta función de "excreción" actualmente se desconoce. La remoción microbiana también se ha demostrado por la opsonización mediada por la IgA-S.(76) (Figura 6)



Fuente: McKenzie et.al, 2004.(76)

Figura 6. Transporte de la IgA mucosa y mecanismos de protección mediada por IgA

De igual modo, la IgA-S también puede neutralizar ciertas toxinas microbianas mediante el bloqueo de sus receptores en la célula, evitando el daño a la mucosa;(76) igualmente puede inhibir enzimas extracelulares, sustratos o complejos enzima-sustrato.(79) Por ejemplo "la IgA-S contra las

glucosiltransferasas de los *Streptococcus* pueden inhibir la síntesis de polisacáridos extracelulares y reducir la acumulación de la placa dental.”(26) Sin embargo, su papel en la adquisición y regulación de la microbiota oral normal es todavía controversial.(79)

Por otra parte la IgA-S puede actuar en sinergismo con otros elementos de la inmunidad innata, como la lactoperoxidasa, que ha demostrado un incremento de su actividad contra *S. mutans*, en presencia de esta, ya que al unirse por la región Fc, logra estabilizar su actividad enzimática y antimicrobiana. La lactoferrina aumenta su poder bacteriostático, el cual es inhibido por el hierro generado por las bacterias, pero la IgA-S tiene la capacidad de inhibir la formación de sideróforos bacterianos.(26)

Entre las mucinas y la IgA-S también se ha descrito una actividad sinérgica. Las mucinas salivales (MG), secretadas por la glándulas salivales menores submandibular y sublingual son importantes componentes de la saliva y desempeñan un papel importante en la salud de la cavidad oral.(80) Las MG1 y MG2, son glicoproteínas con un alto grado de O-glicosilación, y son las mucinas más predominantes en la saliva humana. Estos componentes salivales proporcionan la lubricación y protección antimicrobiana para los tejidos orales. La MG1, que se produce en la glándula sublingual, es el medio más eficaz de mucina que contribuye una barrera de protección y lubricación. Del antígeno MG2 se ha reportado que puede interactuar con varias cepas de *Streptococcus* mediante la inducción de aglutinación.(80)

Los anticuerpos IgA-S contra el Ag I/II, también han demostrado inhibir la adhesión de *S. mutans* en un sistema *in vitro* y la colonización y el desarrollo de caries dental en estudios *in vivo*, mediante el bloqueo de los epítopes de esta adhesina.(81) De hecho, anticuerpos monoclonales y policlonales contra Ag I/II (PAC) y la región vinculante con la

saliva (SBR) de los antígenos inhiben fuertemente la adhesión independiente de sacarosa de células de *S. mutans* a la superficie del diente.(39)

Como ya se ha mencionado, la IgA-S puede controlar la colonización de *S. mutans* reduciendo la adherencia inicial a la superficie del diente,(82) sin embargo, a pesar de que varios autores han encontrado un papel protector de la IgA-S contra la caries dental, otros autores han reportado un posible papel mediador del proceso y otros no han encontrado una correlación.(26,82-85) Estas asociaciones son complicadas de definir ya que se han estudiado con diferentes métodos de muestreo, diferentes grupos de pacientes y pruebas de laboratorio.(84) Además la concentración de la Ig en saliva puede cambiar dependiendo del estado emocional, factores hormonales, edad, tasa del flujo salival, actividad física, hábito de fumar, entre otros.(80)

Autores como Gregory *et al* (1990), Tenovuo *et al* (1992), Parkash *et al* (1994), Rose *et al* (1994) y Cogulu *et al* (2006), han correlacionado la IgA-S con la caries dental, al encontrar índices más altos de esta inmunoglobulina en pacientes sin caries,(86) lo que lleva a pensar que la IgA-S juega un papel protector contra esta enfermedad y que niveles bajos de este anticuerpo se asocian con mayor riesgo de enfermedad periodontal y caries.(75)

También se ha observado que durante el desarrollo de la caries dental hay un aumento de los niveles de anticuerpos IgG e IgM en suero y de complejos inmunes compuestos por anticuerpos séricos y antígenos de *S. mutans* que pueden suprimir la estimulación del sistema inmune de mucosas, siendo esta una posible explicación del porqué los niveles de anticuerpos IgA-S se deprimen tras el desarrollo de la caries dental. Este hecho fue apoyado por estudios secuenciales que revelaron que después del tratamiento contra la caries sigue un aumento en el nivel de anticuerpos IgA contra *S. mutans*, coincidiendo con una disminución de los niveles de IgG e IgM en el suero.(26)

Por otro parte, estudios realizados por autores como Farias (2003), Koga-Ito *et al* (2004) y Thaweboon *et al* (2008) encontraron niveles aumentados de IgA-S con un incremento de la actividad de la caries dental. En estos estudios encontraron que niños con caries de la infancia temprana (ECC por su sigla en inglés) presentaron niveles significativamente más altos de IgA-S que niños sin caries dental, asociando la presencia de (ECC) con un incremento en la IgA salival.(87,88) Estos resultados llevan a pensar que a mayor estimulación por parte de cargas microbianas antigénicas en la cavidad oral de estos niños, probablemente genera un aumento de la respuesta inmune que conduce a altos niveles de producción de anticuerpos(89,90) y que la caries dental infantil no se debe a compromisos inmunológicos sino a una dieta inadecuada y factores relacionados con el hospedero y su microbiota.(88)

Por el contrario, Shifa *et al* (2008) no encontraron relación entre niveles de IgA-S y caries dental en este estudio, donde se analizaron grupos de niños entre los 3 y 6 años de edad con y sin lesiones cariosas, sin obtenerse resultados satisfactoriamente significativos de niveles de IgA-S entre los dos grupos.(86) En un estudio similar realizado por Koga-Ito *et al*, a pesar de encontrar una correlación positiva entre los niveles de IgA-S y caries dental en diferentes grupos de niños, esta relación no se encontró al analizar el grupo de adultos jóvenes (18–25 años) ya que en estos el más alto nivel de anticuerpos IgA anti-*S. mutans* se observó entre los individuos libre de caries dental. Esta diferencia en la respuesta inmunológica en ambos puede estar relacionada con las variaciones en las concentraciones de IgA dependientes de la edad como fue informado por Tappuni y Challacombe (1995), quienes observaron concentraciones más bajas de IgA en niños en relación con los adultos.(88)

Estudios realizados por Benderli *et al* (2000) en pacientes inmunosuprimidos demostraron que

bajos niveles de IgA salival causados por un estado de inmunosupresión no se correlacionaron con mayores niveles de caries dental en los primeros 12 meses después del trasplante renal.(91)

Cabe mencionar que la boca es un sitio estéril al nacer, y posteriormente hay transmisión de microorganismos por la contaminación pasiva por alimentos, agua y saliva de las personas que entran en contacto con el bebé, siendo principalmente adquirida a través de la transmisión directa de la saliva de sus madres.(92) Por esta razón, las madres que han tenido una amplia experiencia de caries, es mas probable que alberguen altos títulos de *Streptococcus mutans* en la saliva, de manera que pueden transmitir de manera más eficiente por infección vertical, lo que expone a sus niños pequeños a un riesgo elevado de caries infantil. Además, la boca es muy selectiva, pues el proceso de adquisición de la flora residente depende de la relación entre las propiedades físicas, químicas y/o las características biológicas y la capacidad infecciosa de los microorganismos encontrados durante este proceso ("ventana de infectividad por cuanto las condiciones ecológicas dentro de la cavidad oral varían con la erupción dental y el cambio de la dentición primaria a la permanente, lo cual lo hace un ambiente no uniforme).(93)

Existen controversias sobre la ventana inmunológica reportada en la literatura. Algunos estudios han demostrado que los niños adquieren *Streptococcus mutans* sólo después de la erupción de los dientes primarios.(94) Autores como Tinanoff y Caufield señalan que la adquisición de *Streptococcus mutans* tiene lugar durante una "ventana de infectividad" entre los 19 y 31 meses de edad. Otros como Wang, informa que esta etapa se presenta entre los 25 y 31 meses, pero estudios más recientes indican que *Streptococcus mutans* también puede colonizar la boca de niños predentales, como lo demuestran Florio (Brasil), Carletto (Argentina) y Martínez *et al* (Colombia)

quienes demuestran que la adquisición de *Streptococcus mutans* ocurre entre los 12 a 15 meses, a los 18 meses(95) y en niños menores de 7 meses de edad respectivamente.(12)

Actualmente se están llevando a cabo serios intentos para la inmunización contra la caries dental en humanos. Aunque la experimentación animal indica que la inmunización contra esta entidad es posible, tienen que responderse varias preguntas antes de que este principio pueda aplicarse al ser humano. Las preguntas más importantes conciernen a la seguridad, momento, vías de administración y preparación de los antígenos.(96)

Aunque en los últimos años numerosos productos de superficie bacteriana secretados por *S. mutans* han sido propuestos como candidatos para el desarrollo de vacunas, la atención se ha centrado en tres antígenos: la adhesina fibrilar de superficie conocido como Ag I/II, las glucosiltransferasas (GTF) y la proteína de unión al glucano (Gbp), los cuales como ya se mencionó, han mostrado asociaciones con la virulencia y en el proceso de la colonización en la superficie dental,(60,97) por tanto estudios que relacionan los antígenos de *S. mutans* y la respuesta inmunológica a estos componentes antigénicos son importantes para comprender la lucha contra la caries dental. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el análisis de la especificidad de anticuerpos monoclonales pueden ayudar en la selección de antígenos interesantes para una vacuna anti-caries.(98) En otros estudios se ha observado que anticuerpos monoclonales de ratón (Mab) han sido utilizados con éxito para prevenir la colonización de *S. mutans* y el desarrollo de caries en primates y en ensayos clínicos en humanos.(99) Diferentes estudios han examinado los niveles de producción natural de IgA-S y de anticuerpos IgG séricos, contra antígenos de *S. mutans* en sujetos libres de caries y con caries activa. Otros estudios han demostrado un aumento en los niveles de anticuerpos y reducción de la colonización

por *S. mutans* en humanos y en animales de experimentación luego de la vacunación, resultados que proporcionan evidencia de que las respuestas inmunitarias contra *S. mutans* están dirigidas principalmente a modificar determinantes antigénicos.(100)

Así mismo, la obtención de una región antigénica efectiva para la prevención inmunológica de la caries dental ofrecería ventajas en el diseño de vacunas y la obtención de anticuerpos inhibitorios para la inmunización pasiva. En lo referente a esto, la región A del Ag I/II ha demostrado ser efectiva para la inducción de una fuerte represión de la adherencia y la colonización de los dientes por el *S. mutans*.(101) Además, se han identificado anticuerpos monoclonales frente a un fragmento peptídico, llamado Gtf-P1 de las GTFC, los cuales, según estudios realizados por Jean-San Chia *et al.*, puede actuar como un candidato adecuado para el desarrollo de vacunas que prevengan la caries dental mediante la supresión de la actividad de las enzimas GTF.(57)

Discusión

La caries dental es una enfermedad crónica, que destruye el esmalte dental debido a la producción de ácido por parte de las bacterias cariogénicas, dando lugar a un desequilibrio bioquímico, que puede terminar en la cavitación del esmalte dental. (4) Como principales actores en el desarrollo de la caries dental, se encuentran *Streptococcus* del grupo Mutans; el principal implicado como agente etiológico, *Streptococcus mutans* (serotipo c) afecta de manera general los diferentes tipos de superficie de los dientes como fosas, fisuras y superficies lisas.(31)

Diversos factores de virulencia permiten que *S. mutans* se adhieran tempranamente y su supervivan en la cavidad oral facilitando el proceso

cariogénico: “acidogenicidad, aciduricidad, acidofilicidad, síntesis de glucanos y fructanos, síntesis de polisacáridos intracelulares, producción de dextranasa y fructanasa, y presencia de glucosiltransferasas, proteínas de adhesión celular y proteínas fijadoras de glucano”.(31) Por esta razón, durante varios decenios, diferentes investigaciones han centrado sus esfuerzos para identificar ampliamente los factores de virulencia de estos microorganismos como posibles objetivos para la profilaxis contra la caries dental.(102)

El estudio de la respuesta inmune contra microorganismos cariogénicos ha sido enfocado principalmente hacia el conocimiento de la inmunidad mediada por anticuerpos tales como la inmunoglobulina A secretora (IgA-S), pero también por la IgA, IgM e IgG séricas.(96) De estos anticuerpos, la IgA-Secretora es la que más predomina en las secreciones mucosas de la mayoría de los mamíferos, representando una línea clave de defensa contra patógenos en estas superficies.(77,82) Sin embargo, la relación entre caries dental y los mecanismos inmunes mencionados ha sido complicada de definir ya que los estudios realizados se han llevado a cabo con diferentes tamaños de muestra y métodos de muestreo, grupos de pacientes y pruebas de laboratorio entre otros.(84)

Este trabajo se propuso explicar los posibles roles de la IgA-S en relación con la caries dental, encontrando varias controversias entre los estudios revisados. Por ejemplo autores como Gregory, Tenovuo, Parkash, Rose y Cogulu han encontrado una relación positiva entre caries dental e IgA-S, indicando un papel protector por parte de este anticuerpo,(86) sosteniendo que la IgA-S limita la adherencia de *S. mutans* a la hidroxiapatita de la superficie dental de tal manera que se produce una reducción en la formación de la placa dental por neutralización de los factores de virulencia,(26,89,103) Mientras que autores

como Farias, Koga-Ito y Thaweboon reportan una correlación diferente, entre presencia de caries dental y altos niveles de IgA-S.(87,88) Adicionalmente, otros autores como Shifa, reportan que no existe relación, niños con y sin caries dental no presentan niveles significativamente discrepantes de IgA-S.(86)

Estos resultados contradictorios pueden explicarse en parte por las condiciones experimentales de los modelos empleados. Las diferencias en el tiempo, la dosis, la virulencia y patogenia pueden tener grandes efectos sobre la capacidad de IgA-S para mediar una acción protectora;(76) además los niveles de IgA-S dependen de factores tales como la edad, estado emocional, hábitos de fumar, tasa de flujo salivar, factores hormonales, actividad física, entre otros, condiciones que son difícilmente controlables. Todos estos factores se deben tener en cuenta al momento de evaluar enfoques específicos para la vacunación de la mucosa.(22,76,80)

Una de las dificultades observadas en la interpretación de los resultados de los estudios analizados, fue el hecho de que algunos intentaron correlacionar IgA-S con caries dental de infancia, mientras que otros estudios correlacionaron IgA-S con la presencia de caries activa en adultos, observándose resultados diferentes influenciados posiblemente por la variable edad pues la saliva de niños con colonización reciente (menor a 6 meses) por *S. mutans* contienen niveles más altos de IgA-S que los niños que llevan esta bacteria durante períodos más largos (24 meses)(26) y niños menores de 7 años de edad tienen menos concentración de IgA-S que niños mayores de 7 años de edad o adultos.(104) Estos resultados pueden reflejar también una corta duración de la respuesta del sistema inmune secretor contra la caries dental y puede dar cuenta de las dificultades en la correlación de los niveles de anticuerpos IgA-S y caries.(26)

En estudios similares realizados por Nogueira *et al.*, se evaluó la respuesta inmune en el establecimiento inicial de *S. mutans* en niños; los niños infectados por *S. mutans* en una edad temprana (17 meses) tienden a demostrar una débil respuesta de anticuerpos IgA-S contra las GbpB, mientras que las muestras de saliva de niños no infectados en la misma población a menudo contienen niveles altos de IgA-S contra GbpB, demostrando que las respuestas naturales de anticuerpos de IgA-S a GbpB en una edad temprana puede explicar, en parte, la resistencia a la infección por *S. mutans*. Sin embargo, las condiciones de tales principios siguen sin estar claros.(102,105)

Los criterios tomados para considerar un grupo con caries dental y otro sin caries dental fueron diferentes entre varios estudios. Otra posible causa de resultados contradictorios es la realización de una única medición hecha de los niveles de IgA-S en un único tiempo determinado de la enfermedad, sabiendo que la caries dental es un proceso continuo que requiere varios meses en desarrollarse y que los niveles de este anticuerpo pueden variar con el tiempo y con el grado de estimulación antigénica.(106) Además los niveles medidos de este anticuerpo pueden reflejar estimulación tanto presente como pasada por *S. mutans*.(26)

También se debe tener presente que los altos niveles de IgA-S encontrados en pacientes susceptibles a la caries dental, se debe posiblemente a que las bacterias hayan absorbido gran cantidad de estos anticuerpos, dando lugar a resultados erróneos.(107)

Otras variables que deben ser consideradas ya que puede influenciar la diferencia de resultados entre los estudios, son los diversos constituyentes y el flujo salival. Esta es una mezcla compleja secretada por la glándulas parótida, submandibular, sublingual y glándulas menores. Estas glándulas proporcionan la fuente más importante de IgA-S en el tracto superior.(89) Estudios que realizan la obtención de muestras de saliva parótida o

submandibular mediante la colocación de un colector en los principales conductos de las glándulas salivales, adquieren una fuente no contaminada de la saliva, sin embargo, la cantidad de IgA salival de cada glándula puede ser diferente. (108) Varios investigadores han reportado niveles bajos de IgA-S contra *S. mutans* en saliva total de pacientes con caries dental, pero no encontraron esta relación con muestras de saliva proveniente de la glándula parótida de los mismos pacientes.¹⁰⁷

Algunos estudios han utilizado inmunoensayos, en los cuales se usan células enteras de *S. mutans* como antígeno, midiendo anticuerpos contra todos los componentes de superficie, incluyendo los carbohidratos de la pared celular, glucosiltransferasas, proteínas altamente inmunogénicas (antígenos I/II, I, II, III, C y D) glucanos, proteínas de unión a glucanos y ácidos lipoteicoicos. Debido a esto, hay que tener presente que las cepas de referencia utilizadas en los inmunoensayos pueden ser antigénicamente diferentes de las cepas autóctonas de la cavidad oral y por ende puede presentar falsos resultados de anticuerpos IgA-S. Así, la expresión de proteínas antigénicas puede variar según el tipo de cepas, las condiciones de cultivo y subcultivos repetidos de microorganismos. Por otra parte, los anticuerpos detectados pudieron haber sido inducidos por antígenos de reacción cruzada de otra bacteria oral y no por *S. mutans* específicamente.(26)

El efecto de la respuesta de IgA salival sobre el establecimiento de especies comensales y patógenas proporciona importantes puntos de vista en lo referente a la susceptibilidad a la infección para el entendimiento y el direccionamiento adecuado de estrategias de vacunación para controlar la infección por este patógeno.(105)

En lo que a la búsqueda de una vacuna efectiva se refiere, la inmunización experimental con antígenos de *S. mutans* involucrados en la adherencia y acumulación bacteriana en las superficies dentales

(Ag I/II, GTFs y GbpB) han demostrado inducir respuestas de anticuerpos que interfieren con la infección por *S. mutans* y la aparición de caries en modelos animales.(105)

El Ag I/II ha sido ampliamente estudiado como un candidato para el desarrollo de una vacuna contra la caries dental. Se ha informado que la inmunización pasiva en humanos con anticuerpos anti-Ag I/II, confieren protección a largo plazo contra la recolonización con *S. mutans*, debido a que los anticuerpos pueden actuar como agentes inmunomoduladores e influir en la respuesta inmune adaptativa contra los antígenos a los que se unen, por esto una comprensión más completa de dicho fenómeno tiene implicaciones importantes para los enfoques de inmunización, tanto activa como pasiva.(109)

Por otra parte, estudios realizados muestran que la infección con *S. mutans* por sí sola induce una variedad de especificidades de anticuerpos frente a epítopes de dos proteínas esenciales para su acumulación en el *biofilm* oral (GTFs y GbpB). La similitud entre las ratas y los seres humanos en la capacidad de respuesta inmune en mucosa a epítopes de GTF y GbpB presentados naturalmente, sugieren que las ratas puede ser un modelo útil para explorar y definir las respuestas de la mucosa que cabría esperar en los seres humanos.(105)

La exposición de antígenos en los sitios de inducción como el tubo digestivo, cavidad nasal, los bronquios o recto pueden generar IgA-S no sólo en la región de la inducción, sino también en lugares remotos. En comparación con otras rutas de entrada a las mucosas, la administración intranasal es más conveniente y aceptable, porque requiere dosis menores de antígeno, debido a que la inmunización intranasal no expone los antígenos a pH bajos y una amplia gama de enzimas secretadas. Estudios realizados por Xu *et al*, demostraron que la inmunización intranasal con una vacuna anti-

caries de ADN, genera una respuesta de IgA-S específica mucho mayor, en comparación con las administradas via intragástrica e intrarrectal, observándose que ratas inmunizadas vía intranasal muestran la menor cantidad caries.(110)

Conclusiones

La caries dental está asociada no solo con la presencia de *S. mutans* sino también con factores predisponentes del huésped, tanto factores intrínsecos (estado anatómico y funcional de los tejidos de la cavidad oral, calidad y cantidad de saliva, sistema inmunológico), como extrínsecos (higiene bucal, elevado consumo de azúcares, presencia de sustratos requeridos por microorganismos), que proporcionan condiciones favorables para el desarrollo y progreso de la enfermedad.

Varios antígenos de *S. mutans* han sido involucrados en la capacidad de adherencia y su acumulación en los biofilms. Estos antígenos incluyen al antígeno I/II, glucosiltransferasas, fructosiltransferasas y proteínas de unión a glucanos, cada uno de ellos con una función específica. El antígeno I/II implicado en la adherencia inicial a la película salival, las GTFs y FTFs en la producción de glucanos y fructanos respectivamente, a partir de sacarosa, y las proteínas de unión a glucanos implicadas en la asociación de la superficie de la célula y en el medio extracelular.

La composición de la saliva es un importante factor para determinar la prevalencia de caries dental en los individuos. Sustancias antimicrobianas tales como lisozima, lactoferrina, peroxidasa salival, y mucinas puede ayudar a mantener la cavidad oral libre de caries dental. La IgA-S siendo parte de la composición salival y a pesar de ser definida como primera línea de defensa en la mucosa oral, ha tenido varias controversias con respecto a su verdadera función.

El papel de la IgA-S en la caries dental ha sido investigado en muchos estudios tanto en niños como adultos. Sin embargo, los resultados obtenidos han sido muy variables encontrando correlaciones positivas, negativas o ninguna correlación. Estas controversias se deben no solo a que entre los estudios se utilizan diferentes métodos de muestreo, diferentes grupos de pacientes y pruebas de laboratorio sino también a la alta variabilidad intrínseca de los niveles de IgA salival entre los individuos.

Sin embargo, puede pensarse que el sistema inmune causa diferencias en la susceptibilidad al desarrollo de caries dental por *S. mutans*, en la población general, debido a que el sistema inmune mucoso, es un sistema muy complejo que abarca gran cantidad de variables que se hacen necesario comprender para definir los posibles mecanismos que llevan a la bacteria a evadir los anticuerpos IgA-S, lo cual ayudaría a la selección de antígenos diana para la vacunación y hacer que el sistema inmune ofrezca una inmunización a largo plazo.

Todos estos resultados nos llevan a pensar que una amplia comprensión de la respuesta inmune y el esclarecimiento del correcto papel de la IgA-S en la caries dental es indispensable para continuar avanzando en la búsqueda de una vacuna anti-caries efectiva en la prevención de la caries dental aplicable también al control de diversas enfermedades de la mucosa. Por lo tanto, hay que continuar fomentando el interés por llegar a un acuerdo en el papel que desempeña IgA-S en la caries dental, asegurando al máximo, el control de todas las variables mencionadas en este trabajo para obtener resultados más concretos.

Agradecimientos

A la Profesora De la Facultad de Odontología Dra. Diana María Isaza Guzmán por los aportes como jurado evaluador del trabajo.

Referencias

1. Bojanich A, Calamari S, Cornejo L, Barembaum S, Virga C, Dorronsoro S. Efecto de polímeros sobre los niveles de IgAs anti *Streptococcus mutans* y la producción de dextranos de *Streptococcus mutans* autóctonos (estudio in vitro e in vivo). Av Odontoestomatol. 2003; 19(4):225-232.
2. Napimoga M, Höfling JF, Klein MI, Kamiya RU, Gonçalves RB. Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. J. Oral Sci. 2005; 47(2):59-64.
3. Tapia C, Quiroga T. Valores de referencia de inmunoglobulina A secretora (IgAs) en saliva de niños sanos. Rev. Chil. Pediatr. 1998; 6(2):72-76.
4. Rodríguez A, González DO. Fisiopatología de la caries dental. . Univers Odont 2000; 20(supl 1):21-27.
5. Marsh PD. Dental plaque as a *biofilm* and a microbial community - implications for health and disease. BMC Oral Health. 2006; 6(Suppl 1):14.
6. Liébana J. Microbiología oral. Segunda ed. Madrid: McGraw Hill Interamericana. 2002; 334-335.
7. Hardie JM, Whiley RA. The Genus *Streptococcus*-Oral. Prokaryotes 2006; 4:76-107.
8. Chaves M. Caracterización molecular por la técnica de AP-PCR de cepas de *Streptococcus mutans* provenientes de pacientes con caries y libres de ella. Universidad Pontificia Javeriana. Revista de la Facultad de Ciencias. I reunión de la International Association for Dental Research Colombia. 2006; 10(2):91-97.

9. Duque RJ, Pérez A. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. cuba. estomatol.* 2006; 43(1).
10. Berkowitz R. Acquisition and transmission of mutans streptococci. *J Calif Dent Assoc* 2003; 31(2):135-138.
11. Palomer L. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. *Rev. chil. pediatr.* 2006; 77(1):56-60.
12. Martínez MC, Rodríguez A. Estudio de las cepas de *Streptococcus* del grupo Mutans presentes binomios Madre-Hijo. *Revista Facultad de Odontología. Universidad de Antioquia.* 2009; 21(2):177-185.
13. Mattos-Graner RO, Li Y, Caufield PW, Duncan M, Smith DJ. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(6):2313-2316.
14. Nakano K, Nomura R, Nemoto H, Mukai T, Yoshioka H, Shudo Y, et al. Detection of novel serotype k *Streptococcus mutans* in infective endocarditis patients. *J Med Microbiol.* 2007 Oct;56(Pt 10):1413-5
15. Castro VM. Inhibición del crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans* por papaina y sanitrend [Tesis de grado]. Santiago: Universidad de Chile; 2005.
16. Banas JA. Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front Biosci.* 2004; 9:1267-1277.
17. Delgado J. Factores de virulencia de los microorganismos asociados a la caries. *Univers Odont* 2000; 20(supl 1):44-53.
18. Vanobbergen J, Martens L, Lesaffre E, Bogaerts K, Declerck D. Assessing risk indicators for dental caries in the primary dentition. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2001; 29(6):424-434.
19. Declerck D, Leroy R, Martens L, Lesaffre E, Garcia-Zattera MJ, Vanden Broucke S, Debyser M, Hoppenbrouwers K. Factors associated with prevalence and severity of caries experience in preschool children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2008; 36(2):168-178.
20. Mitchell TJ. The pathogenesis of streptococcal infections: from tooth decay to meningitis. *Nat Rev Microbiol.* 2003; 1(3):219-230.
21. Cid M, Martínez I, Morales JM. Ingestión de azúcares en niños menores de 1 año. *Rev medica electron.* 2008; 28(1):113-116.
22. Jaramillo LM. Metabolismo de los microorganismos asociados a la caries dental. *Univers Odont.* 2000; 20(supl 1):49-55.
23. Rudney JD, Pan Y, Chen R. Streptococcal diversity in oral biofilms with respect to salivary function. *Arch Oral Biol.* 2003; 48(7):475-493.
24. López O, Cardona D, Gutiérrez L. Relación entre el recuento de *Streptococcus mutans* y el estado de salud dental. *Revista digital de Salud Universidad Autónoma de Manizales.* 2005; 1(1).
25. Montoya C. Susceptibilidad y severidad de la Caries. *Rev Col Méd.* 2005; 36(2).
26. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62(1):71-109.
27. Delgado J, Martínez M, Cevallos F. Placa bacteriana y caries dental. . *Univers Odont* 2000; 20(supl 1):28-32.
28. Melchora C, Lissera RG, Battellino LJ. Película adquirida salival: revisión de la literatura. *Acta odontol. venez.* 2007; 45(3):1-11.
29. Taubman MA, Nash DA. The scientific and public-health imperative for a vaccine against dental caries. *Nat Rev Immunol.* 2006; 6(7):555-563.
30. Chaves CM, Gómez RS, Martínez MC. Microorganismos asociados al desarrollo de la caries. *Univers Odont.* 2000; 20(supl 1):33-42.

31. Nima G. Vacunas Anticaries [Internet] [consultado 2008 Abr 22] Disponible en: <<http://www.odontologiaonline.com/estudiantes/trabajos/gnb/gnb02/gnb02.html>>.
32. Rozen R, Steinberg D, Bachrach G. Streptococcus mutans fructosyltransferase interactions with glucans. FEMS Microbiol Lett. 2004; 232(1):39-43.
33. Rozen R, Bachrach G, Steinberg D. Effect of carbohydrates on fructosyltransferase expression and distribution in Streptococcus mutans GS-5 biofilms. Carbohydr Res. 2004; 339(18):2883-2888.
34. Thylstrup A. Caries. Barcelona: Ediciones Doyma, 1986.
35. Rodríguez A. Respuesta inmune frente a microorganismos cariógenos. . Univers Odont. 2000; 20(supl 1):56-63.
36. Brown P, Nicolini S, Onetto JE. Caries. Chile: Ediciones de la Universidad de Viña del Mar.1991. 123-134.
37. Jenkinson HF, Demuth DR. Structure, function and immunogenicity of streptococcal antigen I/II polypeptides. Mol Microbiol. 1997; 23(2):183-190.
38. García B, Saldaña A, Basterrechea M. Glucanos extracelulares bacterianos: estructura, biosíntesis y función. Rev Cubana Estomatol. 2009; 45:3-4.
39. Koga T, Oho T, Shimazaki Y, Nakano Y. Immunization against dental caries. Vaccine. 2002; 20(16):2027-2044.
40. Meneses P, Sanchez AS, De Jesús MT, Galaviz E, Florez Y, Florez M, Martinez C, Marroquín R. Índice CPOD, capacidad amortiguadora salival, niveles salivales de Streptococcus mutans y anticuerpos IgA, en escolares de la ciudad de México. ADM. 2006; 63(6):215-219.
41. Tamura H, Yamada A, Saito H, Murai S, Kato H. Identification of another surface protein antigen I/II gene, pacB, and a putative transcriptional regulator gene, par, from Streptococcus cricetus. Genes Genet. Syst. 2004; 79:129-137.
42. Huang M, Meng L, Fan M, Hu P, Bian Z. Effect of biofilm formation on virulence factor secretion via the general secretory pathway in Streptococcus mutans. Arch Oral Biol. 2008; 53(12):1179-1185.
43. Russell MW, Harrington DJ, Russell RR. Identity of Streptococcus mutans surface protein antigen III and wall-associated protein antigen A. Infect Immun. 1995; 63(2):733-735.
44. Katz J, Harmon C, Buckner G, Richardson GJ, Russell MW, Michalek SM. Protective Salivary Immunoglobulin A Responses against Streptococcus mutans Infection after Intranasal Immunization with S. mutans Antigen I/II Coupled to the B Subunit of Cholera Toxin. Infect Immun. 1993; 61(5):1964-1971.
45. Demuth DR, Irvine DC. Structural and Functional Variation within the Alanine-Rich Repetitive Domain of Streptococcal Antigen I/II. Infect Immun. 2002; 20(11):6389-6398.
46. Lamont RJ, Demuth DR, Davis CA, Malamud D, Rosan B. Salivary-agglutinin-mediated adherence of Streptococcus mutans to early plaque bacteria. Infect Immun. 1991; 59(10):3446-3450.
47. Tsuha Y, Hanada N, Asano T, Abei T, Yamaguchi S, Salam MA, Nakao R, Takeuchi H, Kurosaki N, Senpuku H. Role of peptide antigen for induction of inhibitory antibodies to Streptococcus mutans in human oral cavity. Clin Exp Immunol. 2004; 137(2):393-401.
48. Hajishengallis G, Michalek SM. Current status of a mucosal vaccine against dental caries. Oral Microbiol Immunol. 1999; 14(1):1-20.
49. Hajishengallis G, Koga T, Russell MW. Affinity and specificity of the interactions between Streptococcus mutans antigen I/II J Dent Res. 1991; 73(9):1493-1502.
50. Tovar JA, Durán C, Rodríguez A, Jaramillo L. Adhesion of salivary components to Streptococcus mutans peptides. Acta Odontol Latinoam. 2006; 19(2):53-58.

51. Grey WT, Curtiss R, Hudson MC. Expression of the *Streptococcus mutans* Fructosyltransferase Gene within a Mammalian Host. *Infect Immun.* 1997;2488–2490.
52. Wunder D, Bowen WH. Action of agents on glucosyltransferases from *Streptococcus mutans* in solution and adsorbed to experimental pellicle. *Arch oral biol.* 1999; 44:203-214.
53. Wexler DL, Hudson MC, Burnel RA. *Streptococcus mutans* Fructosyltransferase (ftf) and Glucosyltransferase (gtfBC) Operon Fusion Strains in Continuous Culture. *Infect Immun.* 1993; 61(4):1259-1267.
54. Shimamura A, Nakano YJ, Mukasa H, Kuramitsu HK. Identification of amino acid residues in *Streptococcus mutans* glucosyltransferases influencing the structure of the glucan product. *J Bacteriol.* 1994; 176(16):4845-4850.
55. Swistowska A, Gronert S, Wittrocka S, Collisi W, Hecht H, Hofer B. Identification of structural determinants for substrate binding and turnover by glucosyltransferase R supports the permutation hypothesis. *FEBS Lett.* 2007; 581(21):4036-4042.
56. Banas JA, Vickerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003; 14(2):89-99.
57. Chia JS, Shiao YS, Huang PT, Shiao YY, Tsai YW, Chou HC, Tseng LJ, Wu WT, Hsu PJ, Lou KL. Structural analysis of the functional influence of the surface peptide Gtf-P1 on *Streptococcus mutans* glucosyltransferase C activity. *J Mol Model.* 2003; 9(3):153-158.
58. Duque J, Hidalgo Gato I, Pérez J. Técnicas actuales utilizadas en el tratamiento de la caries dental. *Rev. cuba. estomatol.* 2006; 43(2).
59. Hannig C, Ruggeri A, Al-Khayer B, Schmitz P, Spitzmuller B, Deimling D, et al. Electron microscopic detection and activity of glucosyltransferase B, C, and D in the in situ formed pellicle. *Arch Oral Biol.* 2008; 53(11):1003-1010.
60. Chia JS, You CM, Hu CY, Chiang BL, Chen JY. Human T-cell responses to the glucosyltransferases of *Streptococcus mutans*. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001; 8(2):441-445.
61. Nakano K, Tsuji M, Nishimura K, Nomura R, Ooshima T. Contribution of cell surface protein antigen PAc of *Streptococcus mutans* to bacteremia. *Microbes Infect.* 2006; 8(1):114-121.
62. Li Y, Burne RA. Regulation of the gtfBC and ftf genes of *Streptococcus mutans* in biofilms in response to pH and carbohydrate. *Microbiology.* 2001; 147(Pt 10):2841-2848.
63. Hoshino T, Kawaguchi M, Shimizu N, Hoshino N, Ooshima T, Fujiwara T. PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using gtf genes. *Diagn microbiol infect dis.* 2004; 48:195-199.
64. Xu QA, Yu F, Fan MW, Bian Z, Chen Z, Peng B, Jia R, Guo JH. Protective efficacy of a targeted anti-caries DNA plasmid against cariogenic bacteria infections. *Vaccine.* 2007; 25(7):1191-1195.
65. Burne RA, Chen YY, Wexler DL, Kuramitsu H, Bowen WH. Cariogenicity of *Streptococcus mutans* strains with defects in fructan metabolism assessed in a program-fed specific-pathogen-free rat model. *J Dent Res.* 1996; 75(8):1572-1577.
66. Lee SF, Delaney GD, Elkhateeb M. A two-component covRS regulatory system regulates expression of fructosyltransferase and a novel extracellular carbohydrate in *Streptococcus mutans*. *Infect Immun.* 2004; 72(7):3968-3973.
67. Parhman P. *Inmunología.* Segunda ed. Buenos Aires: Editorial médica paramericana S.A, 2005. 3, 28, 247.
68. Abbas A, Lichtman A. *Cellular and Molecular Immunology.* Sexta ed. Madrid: Saunders Elsevier, 2007. 9

69. Kaufmann S. Immunity to Intracellular Bacteria. *Annu Rev Immunol.* 1993; 11:129-163.
70. Montserrat J, Rodríguez B, Reyes E, Álvarez M. Células presentadoras de antígeno. Sistema mayor de histocompatibilidad. Moléculas coestimuladoras. Receptores PAMP/Toll. *Dialnet.* 2005; 9(33):2153-2161.
71. Castellanos R, Guevara M, Robinson R, Vázquez L. Respuestas inmunes innata y adaptativa. *MEDISAN* 2000; 4(2):64-74.
72. Rojas W. Inmunología. Inmunidad Humoral. 13 ed. Colombia: CIB. 2004. 145.
73. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA, Kuby J. *Immunology.* Quinta ed: W. H: Freeman and Company. 2003. 90-93.
74. Cole MF, Bryan S, Evans MK, Pearce CL, Sheridan MJ, Sura PA, Wientzen RL, Bowden GH. Humoral immunity to commensal oral bacteria in human infants: salivary secretory immunoglobulin A antibodies reactive with *Streptococcus mitis* biovar 1, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, and *Enterococcus faecalis* during the first two years of life. *Infect Immun.* 1999; 67(4):1878-1886.
75. Jafarzadeh A, Hassanshahi GH, Kazemi-Arababadi M, Mostafae A, Sadeghi M, Nematollahi MA. The Comparison of Salivary IgA and IgE Levels in Children with Breast- and Formula- Feeding During Infancy. *J Dent Res.* 2007; 4(1):11-17.
76. McKenzie BS, Brady JL, Lew AM. Mucosal immunity: overcoming the barrier for induction of proximal responses. *Immunol Res.* 2004; 30(1):35-71.
77. Woof JM, Kerr MA. IgA function - variations on a theme. *Immunology.* 2004; 113:175-177.
78. Ogra PL. Mucosal immunity: Some historical perspective on host-pathogen interactions and implications for mucosal vaccines. *Immunol Cell Biol.* 2003; 81(1):23-33.
79. Wallengren ML, Hamberg K, Ericson D. Salivary IgA reactions to cell-surface antigens of oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol.* 2004; 19(3):188-195.
80. Baughan LW, Robertello FJ, Sarrett DC, Denny PA, Denny PC. Salivary mucin as related to oral *Streptococcus mutans* in elderly people *Oral Microbiol Immunol.* 2001; 15(1):10-14.
81. Zhang P, Jespersgaard C, Lamberty-Mallory L, Katz J, Huang Y, Hajishengallis G, Michalek SM. Enhanced immunogenicity of a genetic chimeric protein consisting of two virulence antigens of *Streptococcus mutans* and protection against infection. *Infect Immun.* 2002; 70(12):6779-6787.
82. Shukairy H, Amoudi N, Masoud I, Farsi N. Assessment of secretory immunoglobulins (s.IgA) and cariogenic bacteria in stimulated saliva of mothers and children with severe early childhood caries (SECC) *Egyptian Dental Association.* 2006; 52(2.1).
83. Chia JS, Chang WC, Yang CS, Chen JY. Salivary and serum antibody response to *Streptococcus mutans* antigens in humans. *Oral Microbiol Immunol.* 2000; 15(2):131-138.
84. Bagherian A, Jafarzadeh A, Rezaeian M, Ahmadi S, Rezaity M. Comparison of the Salivary Immunoglobulin Concentration Levels between Children with Early Childhood Caries and Caries- Free Children. *Iran J Immunol.* 2008; 5(4):217-221.
85. Bolton RW, Hlava GL. Evaluation of salivary IgA antibodies to cariogenic microorganisms in children. Correlation with dental caries activity. *J Dent Res.* 1982; 61(11):1225-1228.
86. Shifa S, Muthu M, Amarlal D, V. R. Quantitative assesment of IgA levels in the unstimulated whole saliva of caries-free and caries-active children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2008; 26(4):158-161.
87. De Farias DG, Bezerra AC. Salivary antibodies, amylase and protein from children with early childhood caries. *Clin Oral Investig.* 2003; 7(3):154-157.

88. Koga-Ito CY, Martins CA, Balducci I, Jorge AO. Correlation among mutans streptococci counts, dental caries, and IgA to *Streptococcus mutans* in saliva. *Braz Oral Res.* 2004; 18(4):350-355.
89. Thaweboon S, Thaweboon B, Nakornchai S, Jitmaitree S. Salivary secretory IgA, pH, flow rates, mutans streptococci and *Candida* in children with rampant caries. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2008; 39(5):893-899.
90. Corby PM, Bretz WA, Hart TC, Filho MM, Oliveira B, Vanyukov M. Mutans streptococci in preschool twins. *Arch Oral Biol.* 2005; 50(3):347-351.
91. Benderli Y, Erdilek D, Koray F, Telci A, Turan N. The relation between salivary IgA and caries in renal transplant patients. *Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000; 89(5):588- 593.
92. Boggess K, Edelstein B. Oral Health in Women during Preconception and Pregnancy: Implications for Birth Outcomes and Infant Oral Health. *Matern Child Health J.* 2006; 10(Suppl 1):169-174.
93. Kimura S, Ohara-Nemoto Y. Early childhood caries and childhood periodontal diseases. *Pediatric Infectious Diseases Revisited.* 2007:177-197.
94. Poureslami HR, Van Amerongen WE. Early Childhood Caries (ECC): an Infectious Transmissible Oral Disease. *Indian J Pediatr.* 2007; 76(2):191-914.
95. Pérez R, Díaz R. Niveles de infección de *Streptococcus mutans* en niños menores de dos años y sus madres en el Instituto Nacional de Perinatología. *Perinatol Reprod Human.* 2006; 20(1-3):27-32.
96. González O, García M, Gutiérrez S, Jaramillo L, Rodríguez A. Respuesta inmune humoral mediada por IgA e IgG contra *S. mutans* de niños en etapa pre dental. *Univers Odont.* 2002; 21:78-84.
97. Russell MW, Childers NK, Michalek SM, Smith DJ, Taubman MA. A Caries Vaccine? The state of the science of immunization against dental caries. *Caries Res.* 2004; 38(3):230-235.
98. Canettieri AC, Kretchetoff FY, Koga Ito CY, Moreira D, Fajarra FJ, Unterkircher CS. Production of monoclonal antibodies against *Streptococcus mutans* antigens. *Braz Oral Res.* 2006; 20(4):297-302.
99. Van Dolleweerd CJ, Chargelegue D, Ma JK. Characterization of the Conformational Epitope of Guy's 13, a Monoclonal Antibody That Prevents *Streptococcus mutans*: Colonization in Humans *Infect Immun.* 2003; 71(2):754-765.
100. Gregory RL. Modified immunogenicity of a mucosally administered antigen. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001; 8(3):540-544.
101. Senpuku H, Matin K, Abdus SM, Kurauchi I, Sakurai S, Kawashima M, Murata T, Miyazaki H, Hanada N. Inhibitory effects of MoAbs against a surface protein antigen in real-time adherence in vitro and recolonization in vivo of *Streptococcus mutans*. *Scand J Immunol.* 2001; 54(1-2):109-116.
102. Nogueira RD, Alves AC, King WF, Goncalves RB, Hofling JF, Smith DJ, Mattos-Graner RO. Age-specific salivary immunoglobulin A response to *Streptococcus mutans* GbpB. *Clin Vaccine Immunol.* 2007; 14(6):804-807.
103. Rashkova M, Baleva M, Peneva M, Toneva N, Jegova G. Secretory immunoglobulin a (SIgA) and Dental caries of children with Different diseases and conditions Influencing oral medium. *Journal of IMAB.* 2009; Book 2.
104. Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. *J Clin Immunol.* 1992; 12(1):45-49.
105. Nogueira RD, King WF, Gunda G, Culshaw S, Taubman MA, Mattos-Graner RO, Smith DJ. Mutans streptococcal infection induces salivary antibody to virulence proteins and associated functional domains. *Infect Immun.* 2008; 76(8):3606-3613.

106. Nogueira RD, Alves AC, Napimoga MH, Smith DJ, Mattos-Graner RO. Characterization of salivary immunoglobulin A responses in children heavily exposed to the oral bacterium *Streptococcus mutans*: influence of specific antigen recognition in infection. *Infect Immun*. 2005; 73(9):5675-5684.
107. Rose PT, Gregory RL, Gfell LE, Hughes CV. IgA antibodies to *Streptococcus mutans* in caries-resistant and -susceptible children. *Pediatr Dent* .1994; 16(4):272-275.
108. Widerstrom L, Bratthall D, Hamberg K. Immunoglobulin A antibody activity to mutans streptococci in parotid, submandibular and whole saliva. *Oral Microbiol Immunol* .1992; 7(6):326-331.
109. Isoda R, Robinette RA, Pinder TL, McArthur WP, Brady LJ. Basis of beneficial immunomodulation by monoclonal antibodies against *Streptococcus mutans* adhesin P1. *FEMS Microbiol Lett*. 2007; 51(1):102–111.
110. Xu QA, Yu F, Fan MW, Bian Z, Chen Z, Fan B, Jia R, Guo JH. Immunogenicity and persistence of a targeted anti-caries DNA vaccine. *J Dent Res*. 2006; 85(10):915-918.



UNIVERSIDAD CES
Un Compromiso con la Excelencia
Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1371 del 22 de marzo de 2007