

Estado Actual de las Investigaciones y Desarrollo de una Vacuna Anti-Caries *

Edwin Betancor** Marina Angulo***

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de revisión bibliográfica es poner a disposición del lector en español, los avances realizados en el conocimiento de la caries dental y de la posibilidad de su control por medio de una vacuna. En los últimos veinte años se ha acumulado una muy vasta e importante información sobre este tema. En base a la respuesta de muchas preguntas planteadas estamos hoy en los umbrales del comienzo de pruebas clínicas de una vacuna anti-caries, más precisamente anti-*Streptococcus mutans*. Se discute aquí también el papel que puede cumplir una vacuna de estas características en el futuro y los problemas médico-sociales involucrados en esto.

Palabras Claves: Caries Dental; *S. mutans*; Vacunación.
Odont. Postgrado 1987; 1:3-18

INTRODUCCION

En 1969 (8) se publicó el primer trabajo donde se probó experimentalmente la posibilidad de generar inmunidad contra el *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Desde entonces un sinnúmero de trabajos se realizaron en gran cantidad de Laboratorios y Centros Sanitarios, con el objeto de desarrollar una vacuna que fuera efectiva para disminuir la frecuencia de la caries dental.

En los últimos tiempos se han publicado varias revisiones tratando de resumir y sintetizar los adelantos realizados en este campo. (13-24-55-57-73-96-136).

Hay una serie de posturas asumidas sobre el tema de la vacuna anticaries. Por un lado, algunos autores en publicaciones científicas y en la prensa dan la idea de que la producción y aplicación en gran escala de una vacuna contra la caries es una realidad casi inmediata; muy pocos problemas son ya los que faltan resolver. Otros sostienen un punto de vista totalmente contrario. Existen además otros que manifiestan una postura de real aversión, una reacción anti-vacuna. (119).

Pero sin duda en medio de este debate se ha avanzado, tanto en el conocimiento de la caries dental como en su etiología, pero principalmente en los mecanismos de la inmunidad de la mucosa y en particular de las reacciones del huésped ante la flora saprofita de la cavidad bucal. (95).

Nosotros trataremos de abarcar las principales

áreas conflictivas y a la vez resumir e incluir los trabajos más importantes y recientes en este campo.

En primer término trataremos de ver los principales problemas científicos que se presentan y discutir en qué punto se hallan las investigaciones; y en segundo lugar ver el papel que puede cumplir una vacuna de estas características en la Odontología Preventiva de los próximos años.

EL S. MUTANS BASE DE LA VACUNA CONTRA LA CARIES

Durante los últimos 20 años se han acumulado una gran cantidad de datos que muestran al *S. mutans* como el microorganismo más íntimamente asociado con el inicio y el desarrollo de la caries dental. (39-57).

Desde que Clarke en 1924 (22) vincula el *S. mutans* a la caries dental muchos trabajos confirmaron esto y mostraron de manera concluyente que las zonas cariadas o con tendencia a cariarse muestran una mayor cantidad de *S. mutans* que las zonas dentarias sanas. 34-89-98).

Está de más decir que estos hallazgos realizados a través de estudios epidemiológicos transversales no son pruebas de causalidad.

Un cuadro más definido de esta vinculación del *S. mutans* y la caries lo dan los estudios longitudinales realizados en animales (4) y principalmente en las zonas del mundo donde hay mayor

* Aceptado para publicar el 20 de agosto de 1987

** Lab. Fisiología General y Buco-Dental

*** Lab. Microbiología General y Buco-Dental

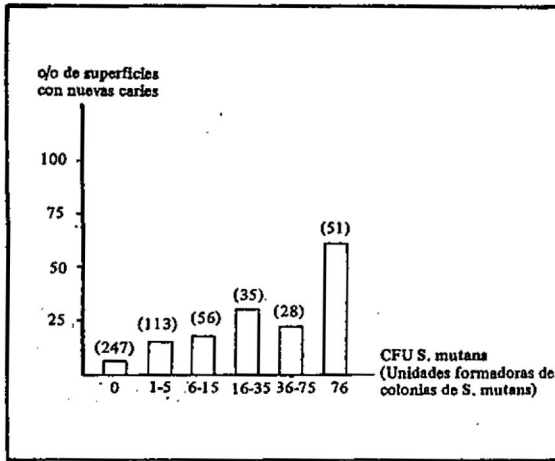


Fig. 1. Relación entre el número de *S. mutans* cultivables en dos muestras de placa dental de las caras mesiales de los segundos molares y caras distales de los caninos, y el desarrollo de nuevas caries en ellas (**).

() - Cantidad de superficies examinadas

(**) - Datos extraídos de Kristofferson y col. *J. Dent. Res.* 1985; 64:58-61 (76)

predisposición a esta enfermedad.

Estos estudios demostraron en forma concluyente que las superficies de los dientes donde hay una gran concentración de *S. mutans* son donde más a menudo se desarrolla la caries. Por lo contrario, en las zonas del diente donde hay menor cantidad, hay menos posibilidad de que se desarrollen caries. (1-6-11-18-59-66-72-88-90-102).

Una buena síntesis de este hecho es el título del trabajo de Kristofferson y Bratthall "The more *Streptococcus mutans*, the more caries on approximal surfaces" (75). También Loetche y col. mostraron que una vez que en una fisura oclusal el *S. mutans* aumenta más allá del 20% del total de los microorganismos cultivados, hay una altísima posibilidad que se desarrolle una lesión inicial de caries en los próximos seis meses. (88) (Figs. 1 y 2).

La sola presencia de altos niveles de *S. mutans* en las fisuras o caras libres de los dientes no es garantía de desarrollo de caries. Otros factores (dieta, resistencia dentaria, propiedades antibacterianas de la saliva, etc.) influyen de una forma compleja y por lo tanto difícil de medir en la relación causa/efecto entre *S. mutans* y la caries dental, tal cual sucede en otras enfermedades infecciosas. (Fig. 3).

Además hay que tener en cuenta que la presencia del *S. mutans* sobre las superficies dentarias así como su concentración está también relacionada a factores vinculados a la vida social, por ejem-

plo: los hábitos alimenticios, los niveles de nutrición, los niveles de vida, las costumbres, etc. En este contexto se encontró que hay distintos factores que influyen sobre los mismos parámetros en países europeos o de América Latina, o las diferencias entre las áreas rurales y urbanas en un mismo país (14-21-43-70). Otro factor a tener en cuenta es el hecho de que cuanto más temprana es la colonización de la cavidad bucal por el *S. mutans* tanto mayor es la experiencia de caries de esa persona y a la inversa, cuanto más avanzada es la edad, la flora nativa es más difícil de variar por lo que la implantación del *S. mutans* se hace más difícil. (71-73).

Tenemos que recordar que otros microorganismos además del *S. mutans* se han relacionado como factores etiológicos de la caries dental.

En bocas con lesiones de caries es muy frecuente encontrar un número aumentado de lactobacilos. (11-59-66).

Otros microorganismos de la placa dental como el *S. sanguis* y el *Actinomyces* que al parecer no tienen relación con la caries de puntos y fisura pueden solos o asociados con otras bacterias, provocar caries en otros sitios. (16).

Es posible que la importancia relativa de las diferentes bacterias en la producción de la caries dental varíe con la localización de las lesiones; por ejemplo, el *S. sobrinus* se correlaciona con las caries de las caras lisas (94). El *Actinomyces* se ha vinculado fundamentalmente a la caries de cemen-

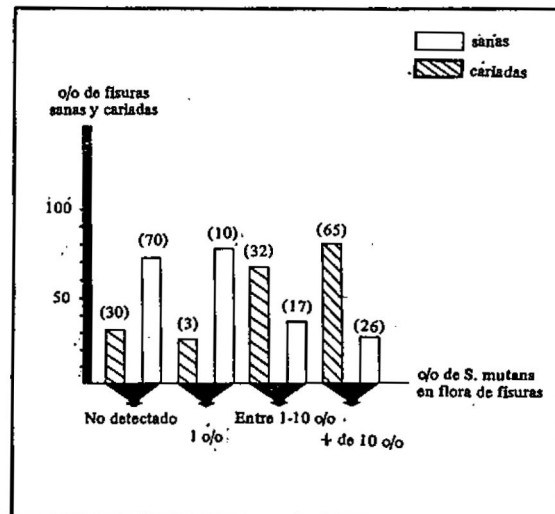


Fig. 2. Distribución de frecuencias de *S. mutans* en fisuras de dientes con caries y sanos (*).

() - Cantidad de fisuras examinadas

(*) - Datos extraídos de Loesche y col. *Infect. Immunol.* 1975; 11:1252-1260 (90).

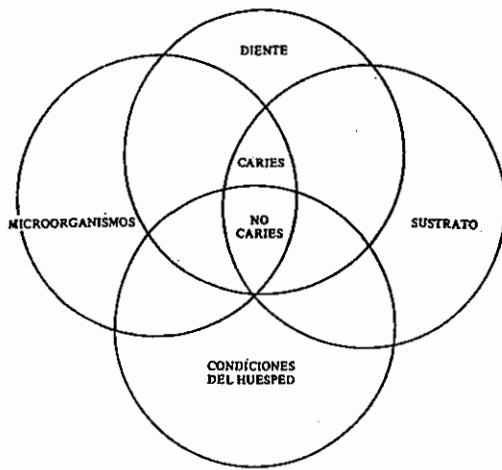


Fig. 3. Multifactorialidad de la iniciación y desarrollo de la caries dental. (Modificado de Roitt y Lehner, 1980).

to de la cual parece ser el principal agente etiológico (37-67); pero en trabajos recientes se ha revalorado el papel del *S. mutans* en este tipo de caries. (38-116).

De todo esto queda claro que de la eliminación del *S. mutans* de las bocas puede no necesariamente llevar a la prevención de todas las caries. Por lo que para lograr acercarnos a una prevención total sería necesario que junto con la inmunización se instrumenten medidas preventivas complementarias. Hay que recordar que otras vacunas dirigidas a prevenir otras enfermedades infecciosas raramente son 100% efectivas y tienen, sin embargo, un enorme valor desde el punto de vista de la salud pública.

Los problemas derivados del desarrollo de una vacuna contra las caries, una enfermedad de etiología compleja, son semejantes a los que enfrentaron

los que trabajaron en el desarrollo de vacunas contra agentes etiológicos que son capaces de variación antigénica; eso ocurre en las vacunas contra la neumonía, la meningitis y gripe (115). Los progresos alcanzados en estas áreas están en función del conocimiento más detallado y profundo de los agentes patógenos de su incidencia, vías de infección, epidemiología y la utilización de las últimas técnicas bioquímicas, inmunológicas y genéticas.

Casi la totalidad de los trabajos e investigaciones que se han hecho y se encuentran en marcha están focalizados en el *S. mutans* aunque potencialmente puede pensarse que a largo plazo se puedan desarrollar vacunas multivalentes que tengan un espectro más amplio de actividad. Pero necesariamente para llegar a eso los primeros pasos se deben dar sobre el organismo más significativo, es decir, sobre el *S. mutans*.

¿QUE TIPO DE *S. MUTANS* ES EL MAS IMPORTANTE PARA LOGRAR LA INMUNIZACION?

En trabajos recientes se ha comprobado que el "grupo *mutans*" de streptococcus es un agrupamiento heterogéneo de microorganismos que se pueden subdividir en aproximadamente seis especies distintas (3-26). Dentro de cepas reconocidas como *S. mutans* podemos encontrar microorganismos que se distinguen por el método "serológico" basado en el reconocimiento de diferencias entre los polisacáridos de la superficie bacteriana (16); Estudios más recientes sobre la composición y secuencia del DNA han llegado a identificar especies diferentes dentro del grupo (27). (Ver Tabla 1).

Lo que sí está claro es que los que tienen relación con el desarrollo de las caries en el hombre son: el *S. mutans* (cepas serotípicas c, e y f) y posiblemente el *S. sobrinus* (serotipos d y g). Los otros, *S. cricetus* (serotipo a), *S. rattus* (serotipo b), *S. ferus* (serotipo c) y *S. macacae* (serotipo c)

Tabla 1. Características que diferencian las distintas especies dentro del "grupo *S. mutans*"

ESPECIE	CONTENIDO DE BASE DNA GUANINA/CITOCINA	SEROTIPOS	% DE AISLAMIENTOS EN EL HOMBRE	FERMENTACION DE MANITOL SORBITOL		PRODUCCION DE H ₂ O ₂	RESISTENCIA A LA BACTRACINA
<i>S. mutans</i>	36/38	c e f	80 6 4	+	+	-	+
<i>S. sobrinus</i>	44/46	d, g, h	9	+	+	+	+
<i>S. ferus</i>	43/45	c..	?	+	+	-	-
<i>S. cricetus</i>	42/44	a	0.1	+	+	-	-
<i>S. rattus</i>	41/43	b	1	+	+	-	+
<i>S. macacae</i>	?	c	?	+	-	-	-

son raramente o nunca encontrados en la placa dental del hombre. (Ver Tabla 1).

En estudios realizados en varias zonas del mundo se encontró que entre éstas la especie más común en la boca del hombre es, por lejos, el *S. mutans*. Dentro de las muestras de placas dentales que contienen el "grupo *mutans*" el *S. mutans* representa el 90%. (68).

La otra especie que lo sigue en frecuencia es el *S. sobrinus* se encontró sólo entre el 5 y el 35% de las personas examinadas. (41-54-65-68-72-108-130).

El desarrollo de técnicas que permiten diferenciar las distintas especies de "*mutans*" y el hecho de que evidentemente estas especies presentan diferencias fisiológicas y cumplen distintas funciones en la formación de la placa dental ha revalorado y reafirmado la importancia de las líneas de investigación de largo alcance dirigidas a lograr una inmunidad efectiva contra la caries dental. (47-60).

La vacuna anti-caries sin duda debe dirigirse contra las cepas más prevalentes de *S. mutans* en el hombre (serotipos c., e, f) y también en lo posible sobre el *S. sobrinus* (serotipos d y g).

Los investigadores ingleses que trabajan en el Royal College of Surgeons y en el Guy's Hospital han centrado su esfuerzo sobre el *S. mutans* mientras que por otro lado en Estados Unidos se ha trabajado principalmente sobre el *S. sobrinus* (cepa 6715).

El hecho de que el *S. sobrinus* tiene una gran facilidad para provocar caries experimentales en las superficies lisas de los dientes de ratas ha determinado que investigadores norteamericanos hayan dirigido su interés en investigar el mecanismo sacrosa-dependiente por el cual el *S. mutans* y *S. sobrinus* colaboran con el crecimiento y desarrollo de la placa dental y aumentan su adherencia a las superficies dentales.

Estos diferentes enfoques han aparejado diferencias de opinión entre los investigadores, las cuales son necesarias aclarar.

EL MODO ANIMAL MAS INDICADO PARA PROBAR UNA VACUNA ANTI-CARIES

Los roedores por sus características de fácil manejo y bajo costo, son elegidos de preferencia como animales de experimentación. Otros elementos que ayudan a su selección son: el rápido desarrollo de las caries inducidas por el *S. mutans* cuando los animales ingieren dietas azucaradas, facilidad para formar grandes grupos experimentales y lo preciso del diagnóstico de caries dado lo sencillo del examen de los dientes por corte histológico seriado. Pero frente a todos estos atractivos encontramos que tanto la morfología y características de sus dientes como la composición de la saliva y la susceptibilidad a ser colonizados por los microorganismos, comunes en las placas dentales humanas,

son completamente diferentes entre la rata y el hombre. (124-129-132).

Otros animales usados en experimentación cariológica son los primates, y de preferencia los monos *macaccus* (*Rhesus* y *Cynomolgus*). Estos animales son más directamente comparables al hombre en muchos aspectos. Por ejemplo: el desarrollo y la morfología dentaria, el espesor del esmalte, la microbiología y bioquímica de la placa dental, la respuesta inmune y las caries que desarrollan desde el punto de vista clínico, radiológico e histológico similares a las del hombre (7-9-23-81-91). La desventaja que poseen son por un lado el gran costo de mantenimiento y por otro, la larga duración que tienen los experimentos y el pequeño número de individuos que se puede lograr por cada grupo

Estos comentarios muestran a los monos como un mejor modelo experimental para el estudio de las caries o mejor dicho, un modelo mucho más apropiado que los roedores.

Esto no significa que se descarte el uso del "modelo ratas" para avanzar en el desarrollo de una vacuna, pero usando ratas es necesaria una gran precaución en la extrapolación de los datos de éstas al hombre.

También es necesario un alto grado de cautela en la aplicación o transferencia de los datos obtenidos en las experiencias en monos al hombre.

CARACTERÍSTICAS QUE DEBE POSEER UNA VACUNA ANTI-CARIES

Una característica importante de una vacuna es que no produzca efectos adversos por su administración. Pero es sabido que para muchas vacunas que previenen enfermedades muy peligrosas es necesario aceptar algún pequeño grado de riesgo, de efectos secundarios o reacciones adversas.

Frente a una enfermedad que provoca un alto índice de mortalidad o importantes secuelas en quienes la padecen, las autoridades de la salud pueden decidir que una incidencia de uno en un millón de una reacción adversa producida por una vacuna, es preferible a una tasa de mortalidad de uno en mil cuando ésta no es administrada.

En la actualidad se conoce el grado de riesgo de muchas vacunas. Por ejemplo: estadísticas realizadas por autoridades de la salud indican que 0.3 casos de poliomielitis por millón de niños vacunados son provocados por la propia vacuna antipolio y se calcula que la vacuna contra la viruela provoca entre 3 a 5 casos de encefalitis por millón de personas vacunadas. (103-115).

Para la sociedad se plantea un enorme dilema: cómo medir adecuadamente el balance entre los beneficios y las complicaciones. Se han desarrollado modelos matemáticos con la finalidad de analizar el beneficio que se puede esperar de un gran

número de enfermedades donde se está o se pueden desarrollar vacunas. Los resultados encontrados son ilustrativos en lo que tiene que ver con la relación costo/efectividad de la vacuna basados en programas de prevención (105). Salvar una vida o muchas inclinan cualquier análisis a favor del lado del "beneficio". Pero si la enfermedad no compromete la vida, salvo muy raramente, como en el caso de la caries dental, un balance satisfactorio sólo es positivo si no se corre ningún riesgo. Ni aun el enorme beneficio económico que resulta de la reducción importante de la incidencia de la caries dental justifica una sola muerte o mutilación.

A pesar del excelente resultado de muchas vacunas, como contra el sarampión, difteria, viruela, paperas, tétanos, poliomiélitis, rubeola, hay un grado de desconfianza sobre algunas vacunas (hepatitis B y tos convulsa).

Las vacunas clásicas (a gérmenes enteros, por los múltiples antígenos que poseen tienen mayor posibilidad de provocar efectos secundarios) se pueden mejorar y el desarrollo de vacunas no clásicas es la garantía de este futuro.

La producción de vacunas ha ido avanzando; esta evolución ha seguido una línea que podemos esquematizar de la siguiente manera:

A. *Vacunas tradicionales*: vacunas a gérmenes enteros (vivos, atenuados o muertos). El desarrollo de estas vacunas ha sido empírico.

B. *Vacunas en base a antígenos purificados*: Purificación de los antígenos inmunógenos; aislamiento; clonación de los genes de esos antígenos, determinación de su estructura; utilización de los anticuerpos monoclonales. También aquí hay que incluir la síntesis de antígenos y la utilización de adyuvantes mejorados.

C. *Vacunas en base a ingeniería genética*: El clonaje de genes de los antígenos en un vector biológico con la finalidad de mejorar la penetración de los antígenos y la respuesta inmunitaria.

Hoy ya hemos desarrollado la etapa A y parte de la B.

Las modernas técnicas de biotecnología hacen posible andar por caminos nuevos para aproximarnos hacia el objetivo y es por esto que hoy se están investigando vacunas sobre una veintena de enfermedades infecciosas contra las cuales previamente no habían defensas, e incursionado aún en campos como la fertilidad y el cáncer.

Todos estos esfuerzos están en la concepción que la vacunación y la inmunización son la mejor y más lógica forma de controlar las enfermedades y que con el conocimiento y los controles adecuados es el mejor método preventivo (61-85). El mayor conocimiento del sistema inmunitario, sus mecanismos y sus sistemas reguladores posibilitarán esto.

Las consecuencias nocivas que pueda aparejar la inyección de una vacuna bacteriana cruda pueden ser muchas y variadas pero a lo que los *Streptococcus*

conciernen, éstas se focalizan sobre el daño provocado sobre algunos tejidos del huésped. Cuando un animal es inyectado con *S. mutans* enteros se generan anticuerpos que reaccionan no solamente contra el microorganismo sino también contra el tejido cardíaco del huésped, quizás sobre la miosina (74). Aunque no conocemos bien en detalle este mecanismo se cree que anticuerpos inducidos por los antígenos denominados reactivos cardíaco-cruzados (ARCC) causan lesiones en el corazón. Algunos de estos antígenos ARCC del *S. mutans* fueron encontrados e identificados, uno de los cuales está en vías de ser caracterizado. (42-62-105).

En lo que conocemos hoy las reacciones cruzadas no ocurren si evitamos el uso de vacunas con *S. mutans* enteros o el uso de vacunas que demuestren estar libres de ARCC. El mejor camino para esto es la utilización de vacunas cuyo inmunógeno sea un antígeno simple, bien definido y altamente purificado (o una mezcla de antígenos con esas características) y que a la vez no tenga asociada ninguna propiedad adversa.

FRACCIONES DEL *S. MUTANS* USADAS COMO INMUNOGENOS EN VACUNAS

La mayoría o casi todos los experimentos exitosos para generar una resistencia inmune a la caries dental fueron realizados utilizando como inmunógeno el *S. mutans* o *S. sobrinus* intactos. (8-13-24-57-73-96-136).

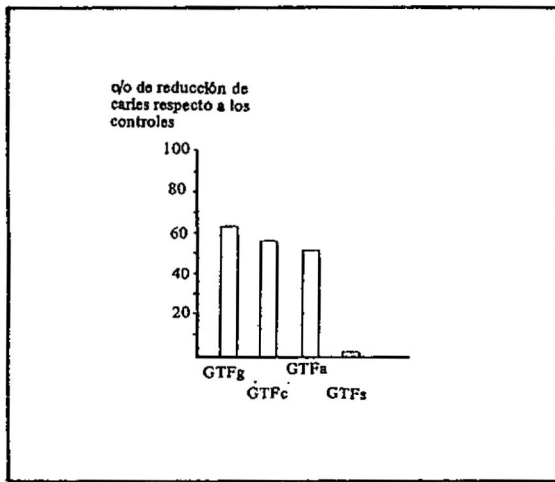
Al día de hoy hemos avanzado en definir e individualizar algunos componentes moleculares responsables de inducir una protección inmune ante estas bacterias. La búsqueda de un antígeno, o grupo de antígenos como candidatos para una vacuna es compleja, y además está íntimamente ligada con los trabajos fundamentales sobre el conocimiento de los mecanismos moleculares en relación con la cariogénesis y la formación de la placa. Esta búsqueda estimula la respuesta de muchas interrogantes que ayudan a aclarar o profundizar nuestro conocimiento en el proceso de la enfermedad.

Muchos aspectos del *S. mutans* fueron estudiados con la finalidad de poder seleccionar alguno de ellos para ser usado como inmunógeno en una vacuna. De estos componentes sub-celulares debemos mencionar principalmente 2:

- * las glucosiltransferasas y
- * las proteínas asociadas a la pared bacteriana

Por otros inmunógenos ver referencias. (24-51-52).

1. *Las glucosiltransferasas (GTF)* son un grupo de enzimas extracelulares bacterianas relacionadas con la síntesis de polímeros (glucanos) a partir



GTFg = de *S. mutans* serotipo g
 GTFc = de *S. mutans* serotipo c
 GTFa = de *S. mutans* serotipo a
 GTFs = de *S. sanguis*

Fig. 4. Efecto de la inmunización con GTF de diferentes cepas sobre el nivel de caries de hamsters infectados con *S. mutans* serotipo g (*)

(*) Datos extraídos de Smit y cols. Proc. Glucosyltransferases, glucans, sucrose and dental caries. I.R.L. 1983.

de la sacarosa. Estos glucanos son responsables de la acumulación de las bacterias sobre las superficies duras del diente. (46).

Se demostró *in vitro* que anticuerpos contra la GTF inhibían la formación de placas artificiales (20-56-76). También se encontró este efecto inhibitorio *in vivo*. La inmunización de ratas y hamsters con GTF provocó la reducción de la formación de placa y también la disminución del número de caries en las superficies lisas de sus dientes cuando comían una dieta cariogénica. (36-121-126-127-128) (Figura 4).

Las vacunas administradas por la vía bucal en estos experimentos eran incompletamente definidas y tenían como base la GTF de la cepa serotipo g del *S. sobrinus*.

Vacunas en base a GTF se usaron en monos utilizando la vía sistémica y en este modelo animal no mostraron ningún tipo de protección contradiciendo los resultados obtenidos en ratas (10-111-114). Recientemente Smith y cols. administrando a voluntarios GTF de la cepa 6715 purificada por afinidad cromatográfica junto con un adyuvante por vía oral encontraron un aumento significativo de los anticuerpos SIgA salivales anti-GTF y una disminución importante de la proporción de *S. mutans* en la saliva de los mismos con respecto al resto de los *streptococcus*. (35-120).

Es evidente que la GTF contribuye en forma importante en el desarrollo de la placa dental y fundamentalmente en el proceso de adhesión de los microorganismos productores de glucanos a la superficie del diente.

Es probable que este tipo de vacunas en base a GTF funcionen bien en roedores para algunas formas de caries como las de las superficies lisas, pero que los mecanismos de producción de caries en estos animales tengan diferencias importantes con los de los primates.

De todas formas se siguen realizando esfuerzos en la investigación de estas enzimas, tanto para acumular nuevos conocimientos sobre la cariogénesis como en el desarrollo de alguna vacuna en base a GTF que junto a otro tipo de inmunización pueda darnos una vacuna multivalente contra la caries dental. Por otro lado, la aplicación de nuevas técnicas como el clonaje de genes en el estudio del grupo de enzimas GTF está aportando luz a formas aún no caracterizadas de ésta que podrían ser probadas como inmunógenos. (29-49-110).

2. *Proteínas asociadas a las paredes bacterianas*. Dos proteínas de la superficie del *S. mutans* del serotipo c se han usado como inmunógenos en vacunas: el antígeno I/II y el antígeno A. El antígeno I/II descrito por Lehner y cols. usado en monos como vacuna por vía sistémica ha sido capaz de desarrollar en éstos, protección contra la caries (84). Al parecer este antígeno es similar al llamado antígeno B descrito por Russell y cols. (112) y se encuentra en todos los serotipos de *S. mutans* y *S. sobrinus* así como en otros *Streptococcus*. Esta característica hace que usándolo como inmunógeno en una vacuna se pueda dar un amplio rango de protección pero se han encontrado reacciones cruzadas con el uso de este antígeno. (5) (Figura 5).

De todas formas con estos hechos este antígeno debe ser visto como inaceptable en las actuales condiciones, pero se abren varios caminos para intentar superar esto. El primero es descartar si el fenómeno, interpretado como una reacción cruzada con el tejido cardíaco, no es efecto de la técnica usada. Una segunda alternativa sería separar del antígeno la fracción responsable de la ARCC aprovechando que aquél es una molécula grande, y obtener así un antígeno más pequeño que genere protección sin efectos secundarios. Esto se puede intentar usando varias técnicas:

- * por ruptura del antígeno original en pequeños fragmentos y pruebas posteriores de éstos
- * por la manipulación de los genes para que sintetizen un producto ya truncado
- * fabricando un péptido sintético que se corresponda con la parte activa del antígeno.

Es decir, incursionar más profundamente en los niveles B y C del desarrollo de las vacunas co-

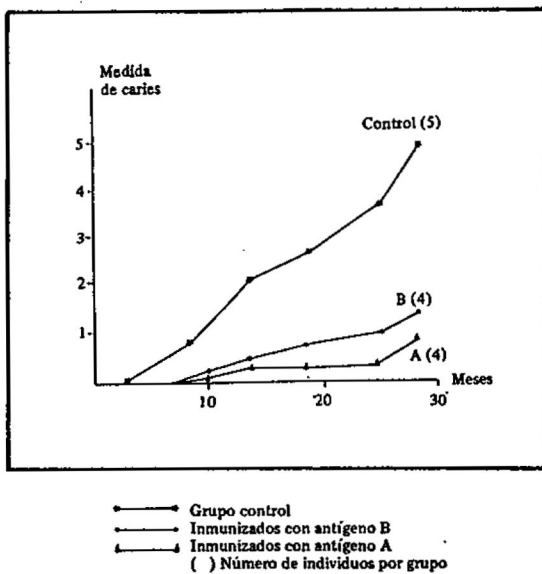


Fig. 5. Efecto de la inmunización de monos (*Macaca fascicularis*) con antígenos A y B, aislados y purificados del *S. mutans*, por la vía subcutánea sobre el desarrollo de caries dentales (*)

(*) Russell y col. *Br.Dent.J.* 1982; 152:81-84 (114).

mo anteriormente lo habíamos expresado.

Se está trabajando sobre estas líneas en varios lugares, pero pasará todavía algún tiempo antes de obtener resultados. No hay garantía por supuesto, en el sentido de que se pueda separar la parte del antígeno que genera protección de la parte que genera reacción cruzada, pero de todas maneras hay que demostrarlo. Algunos resultados primarios son auspiciosos; una parte del antígeno I/II que tiene un peso molecular de sólo 3.800 (el antígeno I/II entero pesa 185.000) ha brindado, en monos, una buena protección a la caries dental. (45-78-79-83-97).

Otra proteína de la pared celular bacteriana que ha dado resultados interesantes, es el llamado antígeno A aislado por primera vez por Russell y cols. (112) (Figura 5).

Esta proteína es capaz de inducir protección a las caries en monos y en ratas cuando se inyecta vía subcutánea (63-113). La protección generada por este antígeno en los monos inmunizados ha sido mantenida por más de seis años. Este antígeno es producido con técnicas muy sofisticadas que incluyen su purificación usando la afinidad cromatográfica sobre anticuerpos monoclonales. (49).

Es un antígeno puro; su nivel de pureza es mayor que el de otras vacunas actualmente en uso. Se

le han aplicado los más sensibles tests para verificar la posible reacción cruzada sin que se hayan detectado ninguna. Debido a que el anticuerpo monoclonal usado en su purificación es producido por una línea celular derivada de la fusión de una célula de mieloma y una célula productora de anticuerpos es esencial tomar estrictas precauciones contra el posible transporte de algo del DNA de la célula de mieloma. La misma precaución debe ser tomada para todos los nuevos agentes terapéuticos en cuyos métodos de producción se usan los anticuerpos monoclonales de inmunoadsorción. El antígeno A parece ser la primera propuesta de un antígeno de estas características para fabricar una vacuna por este método.

VIAS DE ADMINISTRACION DE LA VACUNA

El tema de las vías de administración está directamente vinculado con el tipo de anticuerpo responsable de la protección. Sobre esto existen divergencias entre los que trabajan con el "modelo rata" y los que trabajan con monos como modelo alternativo.

Las principales clases de anticuerpos responsables de la inmunidad a las caries son:

1) Los anticuerpos circulantes inducidos por inyecciones sistémicas del antígeno (principalmente IgG) que llegan a la cavidad bucal vía fluido gingival. (30-123).

2) Los anticuerpos SIgA y en menor medida SIgM producidos localmente por los plasmocitos de las glándulas salivales que forman parte del Sistema Inmune Común Mucoso. (12-13-28-53).

3) La tercera alternativa es la producción local de IgG en la encía; esto se ha comprobado en el hombre y más recientemente en monos. (53-77-83) (Ver Figura 6).

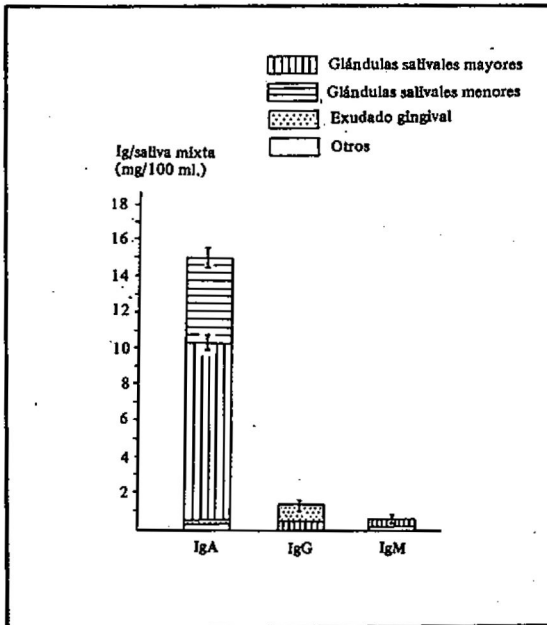
La inmunización efectiva en monos se obtuvo usando la vía subcutánea.

La inmunización por vía bucal para inducir anticuerpos SIgA fue exitosa en el modelo de rata (101), pero en monos no dio resultados positivos (82-86-133). Mc Ghee y cols. usando voluntarios indujeron anticuerpos IgA secretorios haciendo ingerir a éstos cápsulas entéricas conteniendo *S. mutans* (99), pero trabajos posteriores de otros autores no pudieron corroborar estos resultados. (25-44) (Figura 7).

Recientemente Taubman y cols. usando la vía bucal en voluntarios adultos, y como inmunógeno GTF lograron promover la producción de SIgA contra la GTF (120). Uno de los problemas planteados es la corta duración de la respuesta; se está estudiando la posibilidad de que con la asociación de un estimulante inespecífico (adyuvante) se pueda aumentar y prolongar la misma. Otra posibili-

Fig. 6. Concentración y origen de las inmunoglobulinas (Ig) de la cavidad bucal.

La IgA es la principal Ig de la cavidad bucal. La encontramos principalmente en forma dimerica unida a la pieza secretoria (SIgA). El 98 o/o es de origen de las glándulas salivales y de ellas el 30-35 o/o de las glándulas salivales menores (28). Del total de la IgA salival el 90 o/o es de producción local y el otro 8 o/o por difusión plasmática. El 80 o/o de la IgG que encontramos en la saliva mixta proviene del exudado gingival (53); la mayor parte difunde del plasma, una porción pequeña se origina en los plasmocitos gingivales (84). El 20 o/o restante proviene de las glándulas salivales (GS) por difusión plasmática aunque una pequeña porción puede estar originada en las amígdalas (53). El 80 o/o de la IgM se origina en las GS; parte de ella es de producción local; el resto es de origen principalmente gingival.



dad es lo sugerido por Curtiss III (29) y es la de utilizar a cepas de *Escherichia coli* con expresión de determinantes antigénicos del *S. mutans* como inmunógenos intestinales a fin de lograr una mayor respuesta de tejido linfóide asociado al intestino (GALT).

Si bien existe un gran campo de investigación en lo que respecta a la inmunización por la vía bucal los resultados disponibles en la actualidad indican que no se ve en un futuro inmediato una vacuna anti-carie de administración bucal.

También se hicieron intentos de probar la inmunización pasiva como método de prevención de las caries dental (80-137). Se obtuvo protección inmune en ratas por la transferencia pasiva de anticuerpos SIgA e IgG contra el *S. mutans* a través del

calostro y la leche (101). Esto abre la posibilidad de obtener protección inmune pasiva a través del consumo de leche de vacas previamente inmunizadas.

Usando el modelo de monos se administró en forma tópica sobre los dientes de los animales, anticuerpos monoclonales o policlonales contra el *S. mutans*; estos anticuerpos se obtenían previamente por los métodos ya comentados. Los resultados obtenidos fueron positivos. Este método fue recientemente probado en el hombre usando como tópico anticuerpos monoclonales contra el antígeno I/II y se encontró que disminuyó significativamente la colonización del *S. mutans* sobre las superficies dentales en esas bocas (122). Estos resultados requieren una investigación más precisa para determinar la frecuencia, el nivel de dosis necesarias pero lamentablemente en el momento actual son de un costo sumamente elevado.

Se ha sugerido que tanto las vacunas por vía bucal como la inmunización pasiva son métodos preferibles por ser considerados más seguros que

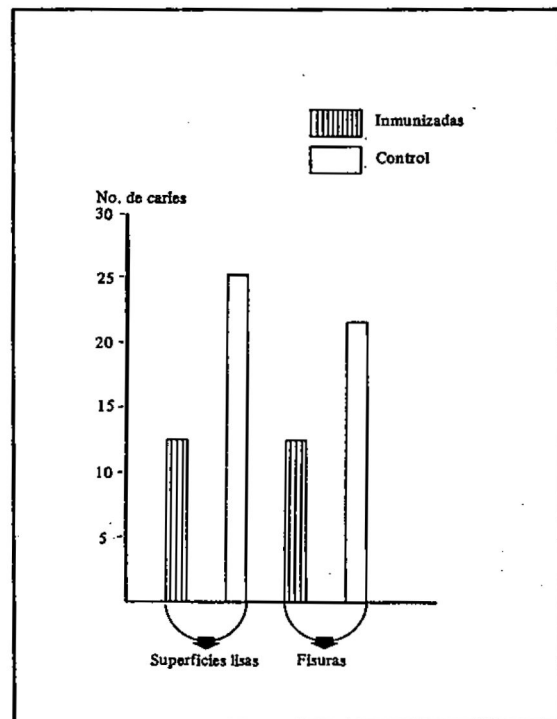


Fig. 7. Efecto de la inmunización por vía oral con *S. mutans* enteros muertos, sobre el número de caries en ratas gnatobióticas infectadas con la misma cepa de *S. mutans* (*).

(*) Datos extraídos de Michalek y col. *Science* 1976; 192:1238-1240 (102).

TABLA 2 FORMAS DE LOGRAR PROTECCION INMUNE AL S. MUTANS'

VIAS		INMUNOGENO	ANTICUERPOS	
PASIVA	Bucal		{ SIgA * IgG *	
	Tópica		{ IgG Monoopoliclonal anti S mutans IgG Monoclonal antiantígeno I/II	
ACTIVA	Bucal	S. Mutans (Enteros)	SIgA **	Corta Duración
		S. Sobrinos (Enteros)	SIgA **	
		GTF	SIgA **	
	Parenteral	S. Mutans (Enteros)	IgG ***	Larga Duración
		S. Sobrinos (Enteros)	IgG ***	
		Antígeno I/II Antígeno A	IgG *** IgG	

* (Leche maternal) ** (de corta duración) *** (ARCC)

las vacunas inyectadas; por lo general estas generarán un nivel muy alto de anticuerpos circulantes con los riesgos que ello puede traer aparejado, fundamentalmente el incremento de la reacción inflamatoria de los tejidos. En el caso de las mucosas, esto puede traer aparejado un aumento de la permeabilidad y por lo tanto mayor posibilidad de penetración de antígenos (58-69). Pero con una elección y una composición adecuada que no provoque reacciones exageradas e indeseables una vacuna anti-caries por vía parenteral puede ser no menos aceptable que otras vacunas. Indudablemente una vacuna por vía parenteral basada en una proteína purificada como antígeno puede ser mejor tolerada que muchas vacunas a células enteras usadas en la actualidad. (Resumen Tabla 2)

Todavía no podemos determinar con precisión ni el tiempo ni el número de inyecciones requeridas para una adecuada protección en los niños.

Dejando de lado los problemas que trae el uso de una vacuna en forma experimental en el hombre, y la coordinación de esta con otros programas de vacunación, podemos decir que los detalles fundamentales de niveles y duración de las respuestas en el hombre son todavía desconocidas.

Aunque podemos seguir aprendiendo mucho de los modelos animales debemos obtener los datos básicos de pruebas clínicas para así poder determinar el efecto de variables tales como la edad y anteriores exposiciones a los antígenos del *S. mutans*.

RESUMEN Y COMENTARIOS FINALES

Hemos tratado de abarcar los adelantos realizados en el conocimiento de la caries dental y la posibilidad de su control por medio de una vacuna. Disponemos en la actualidad de una vasta e importante gama de información sobre el tema y se continúa en forma intensa las investigaciones.

Los resultados obtenidos usando modelos ani-

males son un índice de este adelanto y ya se vislumbra una vacuna para el hombre y a no dudar dentro de poco tiempo se comenzará con los estudios clínicos de prueba.

Pero tenemos que ser claros; el éxito de la investigación básica se centró sobre todo en la respuesta a las preguntas puramente científicas y no se ha encarado aún lo referente a la instrumentación de una política de vacunación que es, sin duda, lo más complejo.

Los obstáculos para esto no son los esquemas de inmunización ni la preparación de la vacuna en sí. El principal de ellos proviene de los problemas médico-sociales vinculados al presentar una nueva vacuna contra una enfermedad que no implica directamente riesgo de vida.

La preocupación es que la más ligera sugerencia de un riesgo asociado a esta vacuna, puede tener consecuencias negativas no sólo sobre el futuro de la vacuna contra la caries sino también sobre la implementación de otras vacunas más importantes.

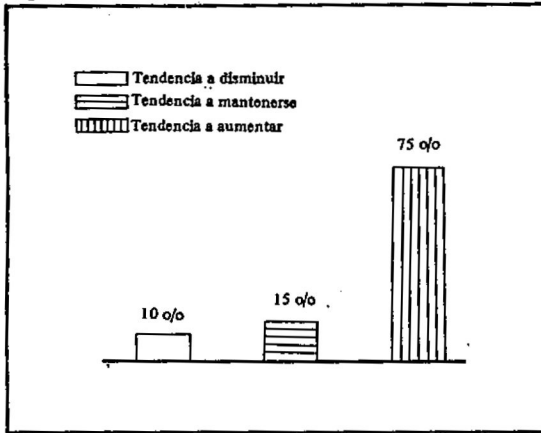
El otro obstáculo es la creencia de que la caries dental está bajo control en varias áreas del mundo y que no es necesario implementar ninguna nueva medida preventiva. Para eso se usa el argumento de que debido a la disminución de la prevalencia de la caries dental entre los niños de muchos países desarrollados en las dos décadas pasadas, ha pasado la necesidad de una vacuna anti-caries. Sin embargo consideramos que el continuar con el estudio y desarrollo de esta vacuna así como las necesarias primeras pruebas clínicas de su seguridad son importantes por una serie de razones.

1. Hay discusión sobre las causas de la tendencia a la disminución de la prevalencia de caries dental y existe la posibilidad de que esta se detenga o aún de que se revierta.

2. Aún en las zonas con tendencia declinante de la caries dental hay una enorme cantidad de niños y adolescentes con alta incidencia.

3. La mayoría de la población mundial presenta por lo contrario una tendencia al aumento de la incidencia, prevalencia y experiencia de caries dental.

Fig. 8. Tendencia de la prevalencia de caries dental en la población mundial.



(*) - Población mundial ajustada a 1987.

Fuentes: O.M.S. Banco de datos.

W.H.O. Dental caries levels at 12 years. May 1985 (136).

Sheikam, A. Dental caries in underdeveloped countries (119).

En lo que tiene que ver con la prevalencia de la caries dental en la población mundial encontramos dos grandes tendencias antagónicas. (107-117).

En varias regiones del mundo, que incluyen principalmente algunos países desarrollados, se ha registrado a través de estudios epidemiológicos que en los últimos 20 años existe una firme tendencia a la disminución de la prevalencia de las caries, principalmente en los niños y adolescentes (50-109). Por otro lado y durante el mismo período de tiempo se pudo constatar un aumento muy importante tanto de la incidencia como de la prevalencia y experiencias de caries dental en todos los grupos etarios de las poblaciones de grandes áreas del planeta, fundamentalmente en el llamado Tercer Mundo. (118-135).

Se ha comprobado también que en un porcentaje importante de poblaciones no se ha producido variaciones sustanciales de los índices C.P.E. (Cariados - Perdidos - Empastados) a pesar de que en muchos de ellos se realizaron importantes esfuerzos sanitarios. (109) (Figura No. 8).

En un balance podríamos resumir:

* En 500 millones de personas, el 10% de la población mundial, encontramos una tendencia a la disminución en la prevalencia de la caries dental.

* En 750 millones de personas, aproximadamente un 15% de la población mundial, una tendencia a que la prevalencia de la caries se mantenga en el mismo nivel.

* En 3750 millones de personas, un 75% de

la población mundial, una fuerte tendencia al aumento de la caries dental.

La tendencia a disminuir de la caries en el 10% de la población mundial ha tenido una gran publicidad, con el objetivo de mostrar que un gran esfuerzo económico, organizativo y de importantes cambios en los planes de salud bucal pueden provocar resultados positivos. A pesar de que algunos autores atribuyen estos efectos positivos y en particular la disminución de la incidencia de caries fundamentalmente, al incremento y a la diversidad de formas de uso del ion fluor en estas poblaciones (31-109), se han planteado dudas de que este sea el principal responsable (32) sin que esto disminuya su importancia preventiva. Algunos piensan que esa sobrevaloración del fluor puede ser la expresión de un entusiasmo exagerado y de valoraciones muchas veces apresuradas. (32)

Una serie de investigadores en trabajos de revisión han llegado a la conclusión de que también son "multifactoriales" las causas de esta disminución de la caries en estas poblaciones (33-93). Muchos de estos factores son difíciles de medir y pueden tener mucha influencia en el "desencadenamiento" de la enfermedad. Como ejemplo podríamos enumerar: cambios en las costumbres alimenticias y en la forma de preparación de las comidas (principalmente en los bebés), el retorno al amamantamiento durante los primeros seis meses de vida (117), el uso de otros azúcares en sustitución de la sacarosa por la industria de la alimentación (17). Otros factores han sido también involucrados como programas escolares de salud, disminución tanto de ingesta total como de la frecuencia de azúcares fermentables, el uso más masivo de antibióticos y también el considerar a la caries como una enfermedad cíclica. (87-125-131).

Aún en las poblaciones con una tendencia a disminuir de la caries encontramos niños y adolescentes con índices CPE altos y con resistencia, a pesar de medidas especiales dirigidas hacia ellas, a descender (50-92-134). También aquí se comprobó un aumento importante de la incidencia de caries de cemento en los grupos etarios mayores. (19-92).

En estudios epidemiológicos recientes, se encontró que comparando en alguno de estos países los índices c p e con los CPE de los mismos individuos, a través de estudios longitudinales utilizando los bancos de datos nacionales, que los niños con índices cpe elevados presentaban en su adolescencia índice CPE bajos y a la inversa los individuos con C p e bajos presentaban posteriormente CPE altos (2). Esto sugiere la influencia de fenómenos inmunitarios que comienzan a observarse más claramente debido a la disminución de la presión de los factores cariogénicos en estas poblaciones.

Por otro lado el factor que se ha identificado como el principal causante del aumento de la prevalencia de la caries en el 75% de la población mundial es el aumento del consumo de azúcar refinado y también la baja tasa de inversiones en salud bucal y la carencia en muchos casos de planes preventivos o de implementación de los mismos. En estas regiones el aumento de la experiencia de caries es más importante en la población urbana que en la rural (40-48-117). Esto se vincula con un mayor consumo de azúcar refinado por los habitantes de las ciudades.

Este panorama de la epidemiología de la caries a nivel mundial refuerza sin duda la necesidad de desarrollar y aplicar medidas preventivas de todo tipo. Creemos que la vacuna anti-caries forma parte de la estrategia para prevenir la caries dental en el mundo. El costo de su puesta a punto, su producción e implementación es difícil de medir hoy, pero sí sabemos lo difícil o quizás imposible que resulta realizar la inversión tanto en recursos humanos, materiales y organizativos para gran parte de los países pobres y dependientes del Tercer Mundo para aplicar todo el arsenal preventivo de que disponemos contra la caries dental; para que esto se realice mucho deben cambiar las disímiles y a veces antagónicas realidades sociales y económicas existentes. Los 1350 millones de niños de menos de 15 años que viven en el Tercer Mundo necesitan y merecen este esfuerzo.

BIBLIOGRAFIA

1. ALALUUSUA, S.; RENKONEN, O.V. *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. Scand. J. Dent. Res. 1983; 91: 453-457.
2. ALVAREZ, J.D.; NAVIA, J.M. Epidemiology of dental caries in deciduous and permanent teeth. J. Dent. Res. 1986; 65: Sp. Iss. IADR Abst. No. 19.
3. BEIGHTON, D. *Streptococcus mutans* and other Streptococci from the oral cavity. En: Isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance. pp 177-190. London: Society for Applied Bacteriology, 1985.
4. BEIGHTON, D., HAYDAY, H.; WALKER, J. The relationship between the number of the *Bacterium S. mutans* at discrete sites on the dentition of macaque monkeys (*Macaca fascicularis*) and the subsequent development of dental caries. Arch. Oral Biol. 1985; 30: 85-88.
5. BERGMEIER, L.A.; LEHNER, T. Lack of antibodies to human heart tissue in sera of rhesus monkeys immunized with *Streptococcus mutans* antigens and comparative study with rabbit antisera. Infect. Immunol. 1983; 40: 1075-1082.
6. BOWDEN, G.H.; HARDIE, J.M.; McKEE, A.S.; MARSH, P.D.; FILLERY, E.D. y SLACK, G.L. The microflora associated with developing carious lesions of the distal surfaces on the upper first premolars in 13-14 years old children. En: "Microbial aspects of dental caries". Edts. Stiles, Loesche y O'Brien. Sp. Supp. Microbiology Abstracts Vol. I, pp. 223-241. I.R.L. Press, Washington, 1976.
7. BOWEN, W.H. Dental caries in primates. En: Tanzer, J.M. (Edt.). "Animal models in cariology", pp 131-135. Washington: IRL Press, 1980.
8. BOWEN, W.H. A vaccine against dental caries. Br. Dent. J. 1969; 126: 159-160.
9. BOWEN, W.H. A bacteriological study of experimental dental caries in monkeys. Int. Dent. J. 1965; 15: 12-53.
10. BOWEN, W.H.; COHEN, B.; COLE, M.F.; COLMAN, G. Immunization against dental caries. Br. Dent. J. 1975; 139: 45-58.
11. BOYAR, R.M.; BOWDEN, G.H. The microflora associated with the progression of incipient carious lesions in teeth of children in a waterfluoridated area. Caries Res. 1985. 19: 298-306.
12. BRANDTZAEG, P. Local formation and transport of immunoglobulins related to the oral cavity. En: McGhee, T. (Edt.) "Host resistance to commensal bacteria. The response to dental plaque". pp. 116-150. Churchill Livingstone, 1972.
13. BRANDTZAEG, P. The oral secretory immune system with special emphasis on its relation to dental caries. Proc. Finn. Dent. Soc. 1983; 79: 71-84.
14. BRATTHALL, D.; SERINIRACH, R.; CARLSSON, P.; LEKFUANGFV, S. *Streptococcus mutans* and dental caries in urban and rural school children in Thailand. Community Dent. Oral Epidemiol. 1986. 14: 274-276.
15. BRATTHALL, D. Demonstration of Five serological groups of streptococcal strains resembling *S. mutans*. Odontol. Revy 1970; 21: 143-152.
16. BROWN, L.R.; DREIZEN, S.; DALY, T.E.; DRANE, J.B.; HANDLER, S.; RIGGAN, L.J.; JOHNSON, D.A. Interrelations of oral microorganisms, immunoglobulins and dental caries following radiotherapy. J. Dent. Res. 1978; 57: 882-893.
17. BURT, B.A.; ISMAIL, A.I. Diet, nutrition and food cariogenicity. J. Dent. Res. 1986; 65: 1475-1484.

18. BURT, B.A.; LOESCHE, W.J.; EKLUND, S. A.; EARNEST, R.W. Stability of *Streptococcus mutans* and its relationship to caries in a child population over two years. *Caries Res.* 1983; 17: 532-542.
19. CARLOS, J.P. Epidemiologic trends in caries: Impact an adult and the aged. En: Guggenheim. "Cariology today", Int. Congr. Zurich 1983, pp. 24.32, Karger, Basel, 1984.
20. CARLSSON, J.; KRASSE, B. Inhibition of streptococcal dextranucrase by sera of rabbits infected with *S. sanguis*. *Arch. Oral Biol.* 1968; 13: 849-852.
21. CARLSSON, P.; OLSSON, B.; BRATTHALL, D. The relationship between the bacterium *Streptococcus mutans* in the saliva and dental caries in children in Mozambique. *Arch. Oral Biol.* 1985; 30: 265-268.
22. CLARKE, J.K. On The bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Cr. J. Exp. Pathol.* 1924; 5: 141-147.
23. COHEN, B.; BOWEN, W.H. Dental caries in experimental monkeys. *Br. Dent. J.* 1966; 121: 269-276.
24. COHEN, B.; PEACH, S.L.; RUSSELL, R.R. B. Immunization against dental caries. En: Easmon CSF, Jeljoszewicz, J. (Edts.) "Immunization against bacterial disease, Medical Microbiology". Vol. 2, pp. 255-294. London Academic Press, 1983.
25. COLE, M.F.; EMMILSON, C.G.; HSU, S.D.; L.A. S.H.; BOWEN, W.H. Effects of peroral immunization of humans with *Streptococcus mutans* on induction of salivary and serum antibodies and inhibition of experimental infection. *Infect. Immunol.* 1984; 46: 703-709.
26. COYKENDALL, A.L.; GUSTAFSON, K.B. Taxonomy of *Streptococcus mutans*. En: Hamada, S.; Michalek, S.M.; Kiyono, H.; Menaker, L.; McGhee, J.R. (Edts.) "Molecular microbiology and immunobiology of *Streptococcus mutans*". pp. 21-28. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ., 1986.
27. COYKENDALL, A.L. On the evolution of *S. mutans* and dental caries. En: Stiles, Loesche y O'Brien (Ed.) "Microbial aspects of dental caries". Vol. III, pp 703-712, I.R.L. Press. WASHINGTON, 1976.
28. CRAWFORD, J.M.; TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J. Minor salivary glands as a mayor source of secretory Immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science* (1975) 190: 1206.
29. CURTISS III, R. Genetic analysis of *S. Mutans* virulence and propsects for an anticaries vaccine. *J. Dent. Res.* 1986, 65: 1034-1045.
30. CHALLACOMBE, S.J.; RUSSELL, M.W.; HAWKES, J.E.; BERGMÉIER, L.A.; LEHNER, T. Passage of immunoglobulins from plasma to the oral cavity in rhesus monkeys. *Immunology* 1978; 35: 923-931.
31. De PAOLA, P.F. The role of fluoride in declining caries prevalence. *J. Dent. Res.* 1984; 63: Sp. Iss. IADR Abst. S. 24.
32. DIESENENDORF, M. The mystery of declining tooth decay. *Nature* 1986; 322: 125-129.
33. DOWNER, M.C. A review of trends in dental health in the United Kingdom. *J. Royal Soc. Health* 1984; 104: 22-26.
34. DUCHIN, S.; van HOUTE, J. Relationship of *Streptococcus mutans* and lactobacilli to incipient smooth surface dental caries in man. *Arch. Oral Biol.* 1978; 23: 779-787.
35. EBERSOLE, J.L.; REGIS, B.P. Oral administration of GTF in man. *J. Dent. Res.* 1986. 65: Sp. Iss. IADR Abst. 979.
36. EBERSOLE, J.L.; TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J. Adjuvants, GTF and caries vaccine. En: Doyle, R.J. y Ciardi, J.E. (Edts.) "Glucosyltransferases, glucans, sucrose and dental caries". pp 241-248. Washington, IRL Press, 1983.
37. ELLEN, R.P. Root caries microbiology: An Agenda. *J. Dent. Res.* 1986; 65: Sp. Iss. Abst. No. 549.
38. ELLEN, R.P.; BANTING, D.W.; FILLERY, E.D. *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* detection in the assessment of dental root surface caries risk. *J. Dent. Res.* 1985; 64: 1245-1249.
39. EMILSON, C.G.; KRASSE, B. Support for and implications of the specific plaque hypothesis. *Scand. J. Dent. Res.* 1985; 93: 96-104.
40. ENWONWU, C.O. Review of oral disease in Africa and the influence of socio-economics factors. *Int. Dent. J.* 1981; 31: 30.38.
41. FITZGERALD, D.B.; FITZGERALD, R.J.; ADAMS, B.O.; MORHART, R.E. Prevalence, distribution of serotypes and cariogenic potential in hamsters of *mutans* streptococci from elderly individuals. *Infect. Immunol.* 1983; 41: 691-697.
42. FORESTER, H.; HUNTER, N.; KNOX, W. Characteristics of a high molecular weigh extracelular protein of *Streptococcus mutans*. *J. Gen. Microbiol.* 1983; 129: 2779-2788.
43. FRENGKEN, J.W.F.M.; TRUIN, G.J.; KONIG, K.J.; RUIKEN, R.M.H.M. y ELVERS, H.J.W. Prevalence of caries, pla-

- que and gingivitis in a urban and rural Tanzanian child population. Community Dent. Oral Epidemiol. 1986; 14: 161-164.
44. GAHNBERG, L.; KRASSE, B. Salivary immunoglobulin A antibodies and recovery from challenge of *Streptococcus mutans* after oral administration of *S. mutans* vaccine in humans. Infect. Immunol. 1983; 39: 514-519.
 45. GIASUDDIN, A.S.M.; LEHNER, T.; EVANS, R.W. Identification, purification and characterization of a streptococcal protein antigen with a molecular weight of 3800. Immunology 1986; 50: 651-658.
 46. GIBBONS, R.J. Importance of glucosyltransferase in the colonization of oral bacteria. En Doyle, R.J.; Ciardi, J.E. (Edts.) "Glucosyltransferase, glucans, sucrose and dental caries". pp 11-19. Washington: I.R.L. Press, 1983.
 47. GIBBONS, R.J.; COHEN, L.; HAY, D.I. Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attack to different pellicle receptors. Infect. Immunol. 1986; 52: 555-561.
 48. GILLESPIE, G.M. Prevention of dental disease in developing countries. En: Guggenheim. "Cariology today". Int. Congr. Zurich 1983. pp 40-48. Karger, Basel 1984.
 49. GILPIN, M.; RUSSELL, R.R.B.; MORRISSEY, P. Cloning and expression of two *S. mutans* glucosyltransferases in *Escherichia coli* K-12. Infect. Immunol. 1985; 49: 414-416.
 50. GRAVES, C.R. Decline of dental caries. J. Canad. Dent. Assn. 1985; 51 (9) 693-699.
 51. GREGORY, R.I. Microbial ribosomal vaccines. Rev. Infect. Dis. 1986; 8: 208-217.
 52. GREGORY, R.I.; MICHALEK, S.M.; SHECHMEISTER, I.L. y McGHEE, J.R. Effective immunity to dental caries: Protection of Gnotobiotic rats by local immunization with a ribosomal preparation from *Streptococcus mutans*. Microbiol. Immunol. 1983; 27: 787-800.
 53. GRONBLAD-SAKSELA, E. Origin of immunoglobulins in human saliva. Proc. Finn. Dent. Soc. 1986; 82: supp. VI.
 54. HAMADA, S.; MASUDA, N.; KOTANI, S. Isolation and serotyping of *Streptococcus mutans* from teeth and faeces of children. J. Clin. Microbiol. 1980; 11: 314-318.
 55. HAMADA, S.; MICHALEK, S.M.; KIYONO, H.; MENAKER, L.; McGHEE, J.R. (Edts.) Molecular microbiology and immunobiology of *Streptococcus mutans*. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. 1986.
 56. HAMADA, S.; TAI, S.; SLADE, H.D. Serotype-dependent inhibition of glucan synthesis and cell adherence of *Streptococcus mutans* by antibody against glucosyltransferase of serotype e *S. mutans*. Microbiol. Immunol. 1979; 23: 61-70.
 57. HAMADA, S.; SLADE, H.D. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol. Rev. d 1983; 44: 331-384.
 58. HANSON, L.A.; ANDERSSON, B.; CARLSSON, B.; DAHLGREN, V.; MELLANDER, L.; PORRAS, O.; SODERSTROM, T. y SVANBORG-EDEN, C. Defence of mucous membranes by antibodies, receptor analoges and non specific host factors. Infection 1984; 12: 111-115.
 59. HARDIE, J.M.; THOMSON, P.L.; SOUTH, J.; MARSH, P.D.; BOWDEN, G.H.; MCKEE, A.S.; FILLERY, E.D. y SLACK, G.L. A longitudinal epidemiological study of dental caries-interim results after two years. J. Dent. Res. 1977; 56: Sp. Iss. C. pp C90-C98.
 60. HARPER, D.S.; LOESCHE, W.J. Effect of pH upon sucrose and glucose catabolism by the various genegroups of *Streptococcus mutans*. J. Dent. Res. 1983; 62: 526-531.
 61. HILLEMANN, M.R. Newer directions in vaccine development and utilization. J. Infect. Dis. 1985; 151: 407-418.
 62. HUGHES, M.; MACHARDY, S.M.; SHEPPARD, A.J. y WOODS, N.C. Evidence for an immunological relationship between *Streptococcus mutans* and human cardiac tissue. Infect. Immunol. 1980; 27: 576-588.
 63. HUGHES, M.; MacHARDY, S.M.; SHEPPARD, A.J. Manufacture and control of a dental caries vaccine for parenteral administration to man. En Doyle, R.J.; Ciardi, J.E. (Edts.): Glucosyltransferases, glucans, sucrose and dental caries. Washington; I.R.L. Press, 1983.
 64. HUGHES, M.; MacHARDY, S.; SHEPPARD, A.; LANGFORD, D.; SHEPPARD, W. Experiences in the development of a dental caries vaccine. En Menaker, L.; Hamada, S.; Kiyono, H.; Michalek, S.M.; McGhee, J.R. (Edts.) "Molecular microbiology and immunology of *Streptococcus mutans*". pp 349-357. Amsterdam. Elsevier Science Publishers, 1986.
 65. HUIS in t VELD, J.H.J.; van PALENSTEIN HELDERMAN, W.H.; BACKER DIRKS,

- O. *Streptococcus mutans* and dental caries in humans: a bacteriological and immunological study. Antonie Van Leeuwenhoek 1979; 45: 25-33.
66. IKEDA, T.; ANDHAM, H.J.; BRADLEY, E. L. Changes in *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in plaque in relation to the initiation of dental caries in negro children. Arch. Oral Biol. 1973; 18: 555-566.
 67. JORDAN, H.V. Microbial etiology of root surface caries. J. Dent. Res. 1986; 65: Sp. Iss. IADR Abst. No. 550.
 68. KEENE, H.J.; SHKLAIR, I.L.; MICKEL, G. J. y WIRTHLIN, M.R. Distribution of *S. mutans* biotypes in five human populations. J. Dent. Res. 1977; 56: 5-10.
 69. KILIAN, M. y BRATTHALL, D. caries immunology. En Thylstrup, A. y Fejerskov, O. (Edts.) "Textbook of cariology". pp. 167-180. Copenhagen-Munksgaard, 1986.
 70. KILIAN, M.; THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Predominant plaque flora of Tanzanian children exposed to high and low fluoride concentrations. Caries Res. 1979; 13: 330-343.
 71. KOHLER, B.; BRATTHALL, D. y KRASSE, B. Preventive measures in mothers influence the establishment of *S. mutans* in their infants. Arch. Oral Biol. 1983; 28: 225-231.
 72. KOHLER, B. PETERSSON, B.M. y BRATTHALL, D. *Streptococcus mutans* in plaque and saliva and the development of caries. Scand. J. Dent. Res. 1981; 89: 19-25.
 73. KRASSE, B.; McBRIDE, B.C. Vaccination: a dead issue. En Guggenheim, B. (Ed.) "Cariology today" pp 285-292. Basel: Karger, 1985.
 74. KRISHER, K.; CUNNINGHAM, M.W. Myosin: a link between *streptococcus* and heart. Science 1985; 227: 413-415.
 75. KRISTOFFERSON, K.; GRONDAHL, H.G.; BRATTHALL, D. The more *Streptococcus mutans*, the more caries on approximal surfaces. J. Dent. Res. 1985; 64: 58-61.
 76. KURAMITSU, H.K.; INGERSOLL, L. Differential inhibition of *Streptococcus mutans* in vitro adherence by antiglycosyltransferase antibodies. Infect. Immunol. 1976; 13: 1775-1777.
 77. LALBY, E.T.; BAEHNI, P.C. y McARTHUR, W. Local immunoglobulin synthesis in periodontal disease. J. Periodont. Res. 1980; 15: 159-164.
 78. LEHNER, T.; CALDWELL, J.; MEHLERT, A.; GIASUDDIN, A.S.M. Immunization with a streptococcal protein antigen of a molecular weight of 3800 daltons, in rhesus monkeys partially protected by a fluoridated diet. J. Dent. Res. 1984; 63 Sp. Iss. Br. Div. IADR Abst. No. 11
 79. LEHNER, T.; CALDWELL, J.; GIASUDDIN, A.S.M. Comparative immunogenicity and protective effect against dental caries of a low (3800) and high (185.000) molecular weight protein in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). Arch. Oral Biol. 1985; 30: 207-212.
 80. LEHNER, T.; CALDWELL, J.; SMITH, R. Local passive immunization with monoclonal antibodies against streptococcal antigen I/II in the prevention of dental caries. Infect. Immunol. 1985; 50: 796-799.
 81. LEHNER, T.; CHALLACOMBE, S.J.; CALDWELL, J. Immunological and bacteriological basis for vaccination against dental caries in rhesus monkeys. Nature 1975; 254: 517-520.
 82. LEHNER, T.; CHALLACOMBE, S.J.; CALDWELL, J. Oral immunization with *Streptococcus mutans* in rhesus monkeys and the development of immune responses and dental caries. Immunology 1980; 41: 857-864.
 83. LEHNER, T.; MEHLERT, A.; CALDWELL, J. Local active gingival immunization by a 3800 molecular weight streptococcal antigen in protection against dental caries. Infect. Immunol. 1986; 52: 682-687.
 84. LEHNER, T.; RUSSELL, M.W.; CALDWELL, J. Immunization with a purified protein from *Streptococcus mutans* against caries in rhesus monkeys. Lancet 1980; 1: 995-996.
 85. LIEW, F.Y. New aspects of vaccine development. Clin. Exp. Immunol. 1985; 62: 225-241.
 86. LINZER, R.; EVANS, R.T.; EMMINGS, F. G.; GENCO, R.J. Use of combined immunization routes in induction of a salivary immunoglobulin: a response to *Streptococcus mutans* in *Macaca fascicularis* monkeys. Infect. Immunol. 1981; 31: 345-351.
 87. LOESCHE, W.L. Possible effects of systemic usage of antibiotics for medical purposes on the decline in caries incidence. J. Dent. Res. 1984; 63: Sp. Iss. IADR Abst. S-26
 88. LOESCHE, W.J.; EKLUND, S.; BARNES, R.; BURT, B. Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay: epidemiological studies in molars shortly after eruption. Infect. Immunol. 1984; 48: 765-772.
 89. LOESCHE, W.J.; ROWAN, J.; STRAFFON, L.H.; LOOS, P.J. Association of *Strepto-*

- coccus mutans* with human tooth decay. Infect. Immunol. 1975; 11: 1252-1260.
90. LOESCHE, W.J.; STRAFFON, L.H. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. Infect. Immunol. 1979; 26: 498-507.
 91. LOFTIN, K.C.; BROWN, L.R.; LEVY, B.M. Comparison of the predominant cultivable microfloras in the dental plaque of *Macaca mulatta* (Rhesus) and *Macaca fascicularis* (Cynomolgus). J. Dent. Res. 1980; 59: 1606-1612.
 92. MANDELL, I.D. Changing patterns of dental caries. Quintessence Int. 1985; 1: 81-87
 93. MARTHALER, T.M. Explanation for changing patterns of disease in the western world. En Guggenheim (Edt.) "Cariology today". Int. Congr. Zurich 1983; pp 13-23, Karger, Basel, 1984.
 94. MASUDA, N.; TSUISUMI, N.; SOBU, S.; HAMADA, S. Longitudinal survey of the distribution of various serotypes of *Streptococcus mutans* in infants. J. Clin. Microbiol. 1979; 10: 497-502.
 95. McGHEE, J.R. (Edt.) "Secretory immunity and infection". Plenum Press, Mestecky, J. y Babb, J.L. New York, 1978.
 96. McGHEE, J.R.; MICHALEK, S.M. Immunobiology of dental caries: microbial aspects and local immunity. Ann. Rev. Microbiol. 1981; 35: 595-638.
 97. MEHLERT, A.; LEHNER, T. Preparation and characterization of a streptococcal protein antigen with a molecular weight of 3800 daltons. J. Dent. Res. 1984; 63 Sp. Iss.: Br. Div. IADR Abst. No. 10.
 98. MEIERS, I.C.; WIRTHLIN, M.R.; SHKLAIR, I.L. A microbiological analysis of human early carious and non-carious fissures. J. Dent. Res. 1982; 61: 460-464.
 99. MESTECKY, J.; McGHEE, J.R.; ARNOLD, R.R.; MICHALEK, S.M.; PRINCE, S.J.; BABB, J.L. Selective induction of an immune response in human extraoral secretion by ingestion of bacterial antigen. J. Clin. Invest. 1978; 61: 731-737.
 100. MICHALEK, S.M.; McGHEE, J.R. Effective immunity to dental caries: passive transfer to rats of antibodies to *S. mutans* elicits protection. Infect. Immunol. 1977; 17: 644-650.
 101. MICHALEK, S.M.; McGHEE, J.R.; MESTECKY, J.; ARNOLD, R.R.; BOZZO, L. Ingestion of *Streptococcus mutans* induces secretory immunoglobulin A and caries immunity. Science 1976; 132: 1238-1240.
 102. MILNES, A.R.; BOWDEN, G.H.W. The microflora associated with developing lesions of nursing caries. Caries Res. 1985; 19: 289-297.
 103. NEWBY, T.J.; STOKES, C.R. The intestinal immune system and oral vaccination. Veterinar. Immunol. Immunopathol. 1984; 6: 67-105.
 104. NEW VACCINE DEVELOPMENT. Establishing priorities. Vol. I. Diseases of importance in the United States. Washington DC: National Academy Press, 1985.
 105. NISENGARD, R.J.; STINSON, M.W.; ALBINI, B. Kidney and heart pathology in rabbits immunized with *Streptococcus mutans*. J. Dent. Res. 1983; 62: 193 Abst. No. 210.
 106. NUTT, G.; van WYK, C.W. The distribution of biotypes of *Streptococcus mutans* in some isolated communities in the Western Cape. J. Dent. Assoc. S. Afr. 1978; 33: 585-589.
 107. O.M.S. Murray, J.J. (Edt.) "El uso correcto de los fluoruros en salud pública". pp. 32-36. OMS Ginebra, 1982.
 108. QURESHI, J.U.; GOLDNER, M.; le RICHE, W.H.; HARGREAVES, J.A. *Streptococcus mutans* serotypes in young schoolchildren. Caries Res. 1977; 11: 141-152.
 109. RENSON, C.E.; CRIALAEERS, P.J.A.; IBICUNLE, S.A.J.; PINTO, V.G.; ROSS, C.B.; INFIRR, J.S.; TAKAZOE, I. Changing patterns of oral health and implications for oral health manpower (Part I). Int. Dent. J. 1985; 35: 235-251.
 110. ROBESON, J.P.; BARLETTA, R.G.; CURTISS, R. Expression of a *S. mutans* glucosyltransferase gene in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 1983; 153: 211-221.
 111. RUSSELL, M.W.; CHALLACOMBE, S.J.; LEHNER, T. Serum glucosyltransferase-inhibiting antibodies immunized against *S. mutans* Immunology, 1976; 30: 619-627.
 112. RUSSEL, R.R.B. Wall-associated protein antigens of *S. mutans*. J. Gen. Microbiol. 1979; 114: 109-115.
 113. RUSSELL, R.R.B.; BEIGHTON, D.; COHEN, B. Immunization of monkeys (*Macaca fascicularis*) with antigens purified from *S. mutans*. Br. Dent. J. 1982; 152: 81-84.
 115. SASSON, A. Las vacunas modernas. Mundo científico. 1986; 6: 816-822.
 116. SCHACKEN, M.J.M.; KELTJENS, H.M.A.M.; FRANKEN, H.C.M.; van der HOEVEN, J. S. Root surface caries in periodontal patients. Caries Res. 1986; 20: 191.
 117. SHEIMAN, A. Changing trends in dental caries. Int. J. Epidemiol. 1984; 13: 142-147.
 118. SHEIMAN, A. Dental caries in underdeveloped countries. En Guggenheim (Edt.)

- "Cariology today". Int. Congr. Zurich 1983; pp. 33-39 Karger, Basel 1984.
119. SIMS, W. *Streptococcus mutans* and vaccines for dental caries; a personal commentary and critique. Community Dent. Health 1985; 2: 129-147.
 120. SMITH, D.J.; TAUBMAN, M.A.; KING, W. F.; RITCHIE, M.E.; EBERSOLE, J.L.; REGIS, B.P. Oral administration glucosyltransferase (GTF) in man. J. Dent. Res. 1986; 65 Sp. Iss. Br. Div. IADR Abst. No. 979.
 121. SMITH, D.J.; TAUBMAN, M.A.; EBERSOLE, J.L. Effect of oral administration of glucosyltransferase antigens on experimental dental caries. Infect. Immunol. 1979; 26: 82-89.
 122. SMITH, J.M.; LEHNER, T. Local passive immunization with monoclonal antibodies to streptococcal antigen I/II in preventing colonization of the human mouth by *Streptococcus mutans*. J. Dent. Res. 1986; 65: 502. IADR Brit. Div. Abst. No. 131.
 123. SMITH, R.; LEHNER, T.A. radioimmunoassay for serum and gingival crevicular fluid antibodies to a purified protein of *Streptococcus mutans*. Clin. Exp. Immunol. 1981; 43: 417-424.
 124. TANZER, J.M. (Edt.) "Animal models in cariology". Washington I.R.L. Press, 1980
 125. TANZER, J.M. Is the apparent decline of caries experience a tidal phenomenon? J. Dent. Res. 1984; 63: Sp. Iss. IADR S-27.
 126. TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J. Effects of local immunization with glucosyltransferase fractions from *Streptococcus mutans* on dental caries in rats and hamsters. J. Immunol. 1977; 118: 710-720.
 127. TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J.; EBERSOLE, J.L.; HILLMAN, J.D. Immunological interference with accumulation of cariogenic microorganisms on tooth surface. En Stober, W.; Hanson, L.A.; Sell, K.W. (Edts.) "Recent advances in mucosal immunity". pp. 371-382. New York: Raven Press, 1982.
 128. TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J.; EBERSOLE, J.L.; HILLMAN, J.D. Protective aspects of immune response to GTF in relation to dental caries. En Doyle, R.J.; Ciardi, J.E. (Edts.) "Glucosyltransferase, glucans, sucrose and dental caries". pp. 249-258. Washington: I.R.L. Press, 1983.
 129. THOMSON, L.A.; BOWEN, W.H.; LITTLE, W.A.; KUZMIAK-JONES, H.M.; GOMEZ, I.M. Simultaneous implantation of five serotypes of *Streptococcus mutans* in gnotobiotic rats. Caries Res. 1979; 14: 158-161.
 130. THOMSON, L.A.; LITTLE, W.A.; BOWEN, W.H.; SIERRA, L.I.; AGUIRER, M.; GILLESPIE, G. Prevalence of *Streptococcus mutans* serotypes *Actinomyces*, and other bacteria in the plaque of children. J. Dent. Res. 1980; 59: 1581-1589.
 131. VAN HOUTE, J. Dietary carbohydrate consumption, dental plaque flora and cariogenic potential of dental plaque. J. Dent. Res. 1984; 63: Sp. Iss. IADR S-25.
 132. VAN HOUTE, J.; RUSSO, J. Variable colonization by oral streptococci in molar fissures of monoinfected gnotobiotic rats. Infect. Immunol. 1986; 52: 620-622.
 133. WALKER, J. Antibody responses of monkeys to oral and local immunization with *Streptococcus mutans*. Infect. Immunol. 1981; 31: 61-70.
 134. WHELTON, H. Changes in the frequency distribution of dental caries in 12 years old Irish children between 1961-65 and 1984. J. Dent. Res. 1986; 65: 569.
 135. W.H.O. Dental caries levels at 12 years. May 1985. Geneva WHO. Ref. 850503 0373 V/0000A.
 136. WILTON, J.M.A. Future control of dental disease by immunization: vaccines and oral health. Int. Dent. J. 1984; 34: 177-183.
 137. WILTON, J.M.A.; BOWLER, A.J.; SMITH, R.; LEHNER, T. Inhibition of *S. mutans* adherence to hidroxyapatite by monoclonal antibodies against cell surface antigens. J. Dent. Res. 1984; 63 Sp. Iss. Br. Div. Abst. No. 13.