

ARTÍCULO ORIGINAL

RECONOCIMIENTO DE SACÁRIDOS PRESENTES EN PELÍCULAS ADQUIRIDAS DE ORIGEN SALIVAR FORMADAS IN VITRO SOBRE SUPERFICIES DE ACRÍLICO*

Patricia Inés Díaz Moreno,¹ John Santiago Mejía Tobón,²
Andrés Orozco Gaviria³

RESUMEN. Díaz PI, Mejía JS, Orozco A. Reconocimiento de sacáridos presentes en películas adquiridas de origen salivar formadas "in vitro" sobre superficies de acrílico. CES Odont 1996; 9: 77-81. La cavidad oral es un complejo ecosistema en donde interactúan los microorganismos con el huésped y el medio ambiente. La adhesión bacteriana a las superficies orales se realiza por medio de la interacción entre las bacterias y una película de glicoproteínas de origen salivar que se forma sobre estas superficies. Las bacterias poseen diversos mecanismos de tipo específico e inespecífico para interactuar con esta película. Entre los mecanismos específicos se encuentra la interacción entre moléculas tipo lectina, presentes sobre las superficies bacterianas, con sacáridos terminales de las cadenas laterales de las glicoproteínas salivares. Este estudio se ocupa de la identificación de esos sacáridos presentes en películas salivares formadas in vitro sobre superficies de acrílico. Se trabajó con dos tipos de acrílico (termocurado y autocurado) y se utilizaron 13 lectinas específicas y una técnica histoquímica para el reconocimiento. Se observó que el sacárido terminal presente en mayor proporción en las películas adquiridas estudiadas fue la galactosa, pero también se notó la presencia de galactosamina, manosa, glucosa y fucosa.

Palabras clave: Carbohidratos, Sacáridos, Película adquirida, Lectinas.

ABSTRACT. Díaz PI, Mejía JS, Orozco A. Saccharide recognition in salivary acquired pellicles formed "in vitro" over acrylic surfaces. CES Odont 1996; 9: 77-81. The oral cavity is a complex ecosystem where microorganisms interact with the host and the oral environment. Bacterial adhesion to oral surfaces is carried out by the interaction between bacteria and a glycoprotein pellicle of salivary origin formed over these surfaces. Bacteria have different specific and non-specific interaction mechanisms with these pellicles. One of these mechanisms is the interaction between lectin-like molecules over bacterial surfaces with final saccharides in salivary glycoprotein side chains. This study identified the final saccharides in salivary acquired pellicles formed in vitro over acrylic surfaces. Two types of acrylic resin (heat-cured and autocured), 13 specific lectins and a histochemical technique for saccharide identification were used. It was concluded that the most frequent saccharide present in the studied acquired pellicles was galactose but manose, glucose and fucose were also observed.

Key words: Carbohydrates, Saccharides, Acquired pellicle, Lectins.

INTRODUCCIÓN

Existe evidencia sugestiva de que la formación de la placa dental se inicia por la adsorción de proteínas salivares a las superficies dentales y que las bacterias y los productos bacterianos se adsorben posteriormente a esta cubierta orgánica, llamada película adquirida.¹ También se sugiere que uniones físicas no específicas e interacciones estereoquímicas toman parte en la adhesión de las bacterias a dicha película. Algunas uniones estereoquímicas de las bacterias a las glicoproteínas de la película adquirida se dan por medio de interacciones entre adhesinas bacterianas (ligandos tipo lectinas) con moléculas complementarias (receptores sacáridos) de las proteínas salivares.²

Entre los determinantes sacarídicos que participan en este proceso se encuentran mucinas salivares y componentes de grupos sanguíneos. La mayoría de esas proteínas son glicoproteínas que contienen cantidades variables de carbohidratos.³ Las glicoproteínas mucosas, llamadas mucinas, se originan en células acinares, tienen alto peso molecular, contienen más del 40% de carbohidratos y son las responsables de las propiedades viscosas y pegajosas de la saliva.⁴ Además son heterogéneas, pues contienen una cadena polipeptídica ligada a cadenas oligosacáridas por enlaces O-glicosídicos entre serina o treonina y residuos de N-acetil-galactosamina.⁵

Análisis cualitativos de la saliva submaxilar del humano muestran que, aparte de los residuos de ácido siálico, los carbohidratos que se unen a proteínas incluyen la galactosa, fucosa, galactosamina y rastros de manosa y glucosa.⁶

Se han detectado antígenos de los grupos sanguíneos en la película adquirida. Ciertas observaciones sugieren que individuos secretores de antígeno de grupo sanguíneo en las glicoproteínas salivares tienen menos caries que los no secretores, lo que puede estar relacionado con la afinidad de estas mucinas para aglutinar bacterias cariogénicas. Los ligandos tipo lectinas (adhesinas) pueden estar presentes en fimbrias y/o corresponder a azúcares fijadores de proteínas, enzimas de la pared con funciones específicas de unión, o componentes superficiales con propiedades hidrofóbicas.⁷

La naturaleza del proceso de adsorción de las glicoproteínas salivares a las superficies dentales no está claramente definida. En un trabajo realizado en 1975⁸ se postuló que las características de la superficie podrían determinar la composición de la película adquirida formada sobre ellas. Infortunadamente ese estudio sólo se ocupó de un análisis de aminoácidos y carbohidratos que sólo mostró

*Investigación para optar al título de Odontólogo, CES, 1996.

¹Odontóloga CES, 1996-²Médico, M.Sc., Director del Centro de Investigaciones Básicas, Facultad de Medicina, CES, ³Odontólogo, M.Sc., Profesor CES.

diferencias de tipo cuantitativo pero no cualitativo y no indicó con certeza qué variación podría existir en los sacáridos terminales de las glicoproteínas adsorbidas, los cuales es probable que sean los sitios ecológicamente más significativos.

Se ha encontrado que uno de los mecanismos de adherencia de la *Candida albicans* a las superficies orales son uniones tipo lectina entre proteínas superficiales del hongo y residuos de fucosa o glucosamina presentes en las glicoproteínas del huésped.⁹

Ya que existe evidencia de que las características de una superficie pueden influir en la composición de la película⁸ que se forma sobre ella, puede ser muy importante estudiar los sitios disponibles para la adherencia microbiana presentes en películas adquiridas formadas sobre acrílico.

Comparando los acrílicos de autopolimerización con los acrílicos curados por calor, se aprecia que la porosidad de los primeros es grande, lo cual puede beberse a aire disuelto en el monómero, que no es soluble en el polímero a temperatura ambiente.¹⁰ Según esto, podría plantearse que la porosidad de la superficie acrílica tendría influencia directa sobre las glicoproteínas adsorbidas, lo que determinaría diferencias en los sacáridos expresados en dicha película; por esto es importante determinar las características de los carbohidratos en relación con el acrílico utilizado (autocurado o termocurado).

En la presente investigación se estudiaron los sacáridos terminales presentes en películas adquiridas formadas in vitro a partir de la saliva de un donante sano sobre superficies de acrílico, usadas frecuentemente en restauraciones dentales. Se utilizaron acrílicos de termocurado y de autocurado porque se consideró relevante identificar posibles diferencias significativas en los sacáridos terminales de las películas adquiridas formadas sobre ambos materiales, que podrían alterar el proceso de adhesión específica de las bacterias a ellos. Se debe tener en cuenta que estos dos materiales difieren en la textura de sus superficies, lo que podría tener relación con el tipo de glicoproteínas que se adsorben a ellos.

La investigación también trató de estandarizar una técnica adecuada para la utilización de lectinas en el reconocimiento de sacáridos en películas adquiridas de origen salivar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la muestra de saliva

Se utilizó saliva total no estimulada y el método sugerido por Screebny¹¹ para su recolección. La saliva se recolectó en un recipiente de vidrio y luego se clarificó por centrifugación a 10.000 rpm. La muestra se tomó en las horas de la mañana a un donante de tipo sanguíneo O, con salud normal y buena higiene oral, al cual se le realizó previamente una prueba de hemoaglutinación para corroborar su condición secretora o no secretora de antígenos sanguíneos en las glicoproteínas salivares y para relacionar esto con los resultados que se obtendrían con las lectinas específicas para grupo sanguíneo, observando si las glicoproteínas que expresan el factor H (propias de

los individuos secretores del grupo sanguíneo O) se adsorben a las superficies de acrílico.

Determinación del fenotipo secretor del donante

La muestra de saliva se diluyó al 50% en una solución de PBS (amortiguador de fosfatos salinos, pH 7.2) y se repartió en alícuotas en tubos Eppendorf de 1.5 ml 300 µl en cada tubo). Luego se centrifugó durante cinco minutos a 10.000 g para remover detritos y células de desca-mación y se utilizó inmediatamente en la siguiente prueba de hemoaglutinación.

Se hicieron diluciones seriadas de las muestras de saliva en placas de hemoaglutinación, usando como diluyente un amortiguador de fosfato salino, pH 7.2, en presencia de albúmina bovina sérica, 1 mg/ml (PBS-BSA). Se agregaron 40 µl de UEA-1, a una concentración de 50 µg/ml, a los pozos con las diluciones de saliva. Después de incubar la mezcla durante una hora a temperatura ambiente, se agregaron 40 µl de una suspensión de eritrocitos del grupo O diluidos en PBS-BSA a un hematocrito del 2%. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y se reportó la aglutinación eritrocitaria. Se definió como fenotipo secretor si la muestra inhibía en una dilución de 1:4 la aglutinación de los eritrocitos por la lectina.

Formación de superficies acrílicas

A lo largo de los cinco estudios realizados se utilizaron 38 conos de acrílico de autocurado y 23 de termocurado, sobre los que se provocó la formación de películas adquiridas de origen salivar. Los materiales empleados para la fabricación de los conos fueron acrílico de autocurado para uso odontológico marca Jet (Lang Dental Mfg. Co., Wheeling, IL. USA) y acrílico de termopolimerización (New Stetic, Medellín, Colombia).

Para la fabricación de los conos de autocurado se tomaron como moldes tubos Eppendorf de polipropileno de 0.5 ml para microcentrifugación, recubiertos previamente con una película de aceite que sirvió de aislante para facilitar la remoción de los conos. Los tubos se llenaron hasta la mitad con el polímero y luego se adicionó monómero hasta saturar la mezcla; se mezcló el contenido del tubo y antes de que terminara su polimerización se introdujo en cada uno un alambre con retenciones para permitir la manipulación del cono.

Los conos termocurados se fabricaron tomando como molde la superficie externa de los tubos de 0.5 ml, por lo que resultaron de mayor tamaño que los autocurados. Se colocaron doce tubos en un molde (mufla) lleno de yeso piedra tipo III. Cuando el yeso hubo fraguado se aisló la superficie con Neo-foil (New Stetic, Medellín, Colombia) y se colocó más yeso sobre el anterior, en otro molde, de tal manera que cuando se separaran los dos moldes y se retirara cada tubo se pudiera obtener un patrón de cada cono acrílico. Se aisló nuevamente el yeso y se realizó el vaciado del acrílico sobre cada molde. Se colocó encima el contra molde y se hizo el prensado de las muflas en una prensa manual. Luego se procedió a la polimerización por calor, mediante un procedimiento similar al que se

utiliza para la fabricación de dentaduras acrílicas, manteniendo los moldes durante 45 minutos en agua a temperatura de ebullición. Luego se retiraron los conos acrílicos del molde. A cada cono obtenido se le colocó un alambre, haciendo una perforación en la parte superior con un motor de baja velocidad y un instrumento rotatorio (pimpolo). El alambre se fijó luego con acrílico de autocurado. Cada cono se pulió con piedra abrasiva, cepillo rotatorio y piedra pómez y en seguida se brilló con tiza W 100 para metal y una copa de caucho, tal como se realizan el pulido y el brillo de una dentadura acrílica convencional.

Formación de la película adquirida

Los conos se limpiaron con alcohol para retirar el aceite que se usó en el aislamiento del molde. A tubos Eppendorf de 1.5 ml se les agregaron 300 µl de saliva recolectada y diluida al 50% en PBS, como se describió en el experimento anterior. Se insertaron los conos en los tubos, de manera que la saliva cubriera completamente su superficie y se incubaron durante una hora temperatura ambiente para inducir la formación de una película proveniente de la saliva sobre las superficies acrílicas. Se lavaron los conos tres veces con PBS en condiciones adecuadas para minimizar el contacto de los mismos con alguna otra superficie.

Análisis histoquímico

Para la investigación se trabajó con 13 lectinas biotiniladas específicas (Pierce, Rockford, IL USA, Tabla 1) y una técnica histoquímica utilizada en estudios anteriores,¹² la cual identifica la lectina en la superficie por medio de coloración.

Inmediatamente después de la formación de las pelí-

Tabla 1. Características de las lectinas utilizadas

Lectina	Especificidad de grupo sanguíneo	Especificidad-Azúcar
RCA	-	β-D-gal
ECL	-	Gal β1-4 glc NAc
JAC	-	D-gal
PHA-E	-	oligosacárido
PNA	T	β-D-gal(1-3)-D-gal NAc
VvB4	Tn	D-gal NAc
SBA	-	D-gal NAc
SJA	A,B	β-D-gal NAc
DBA	A1	α-D-gal NAc
WGA	-	(D-glc NAc) ₂ , Neu NAc
Con-A	-	α-D-man, α-D-glc
PSA	-	α-D-man
UEA-I	H	α-L-fuc

culas y del lavado subsiguiente se agregaron a cada tubo Eppendorf 300 µl de las siguientes lectinas biotiniladas, disueltas en PBS a una concentración de 10 µg/ml: RCA, PNA, JAC, ECL, PHA-E, VvB4, SBA, SJA, DBA, WGA, Con-A, PSA y UEA-I. Como controles negativos del ensayo se incluyeron conos que se procesaron en au-

sencia o en presencia de saliva pero sin lectina. Los conos se incubaron durante una hora para permitir que la lectina se adhiriera a los carbohidratos terminales de la capa glicoproteica de la película.

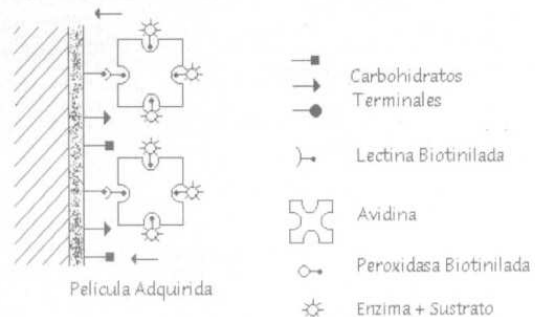
A la hora de incubación, después de que se formaron las películas, se repitió el proceso de lavado descrito anteriormente, se agregaron a cada tubo 300 µl de avidina (solución de clara de huevo en PBS al 10%) y se dejaron los conos en incubación durante una hora.

A este tiempo se repitió el proceso de lavado y se sumergieron los conos en peroxidasa de rábano biotinilada (300 µl a 10 µg/ml). Al cabo de una hora se retiraron los conos, se lavaron y se sumergieron en un sustrato compuesto por 3 mg de 4-cloronaftol disueltos en 1 ml de metanol y esto a su vez disuelto en 5 ml de PBS y 5 ml de peróxido de hidrógeno. Se dejaron los conos sumergidos en 300 µl de esta solución durante 20 minutos, esperando que ocurriera la reacción colorimétrica.

El sustrato precipita todo el complejo haciendo posible la observación de la reacción colorimétrica.

En la Fig. 1 se esquematiza el proceso metodológico descrito anteriormente.

Fig. 1. Esquema del proceso metodológico utilizado.



Metodología empleada en el análisis de los resultados

Para el análisis de la reacción colorimétrica que indica la presencia de la lectina en la superficie se establecieron cuatro categorías, designadas por los números 1, 2, 3, y por el signo menos (-).

- = no se observa tinción alguna en ninguna parte de la superficie.

1 = leves rastros de tinción de color morado claro, que no abarcan toda la superficie acrílica y que se distribuyen heterogéneamente.

2 = tinción de color morado claro que cubre toda la superficie o tinción de color morado oscuro de carácter moteado (distribución heterogénea).

3 = tinción de color morado oscuro que abarca más de la mitad de la superficie y muestra un patrón francamente positivo.

La clasificación de los conos la hicieron dos observadores debidamente conocedores de los parámetros de clasificación.

Se realizaron en total cinco estudios.

RESULTADOS

En la Tabla 2 se observan los resultados obtenidos en la hemoaglutinación de eritrocitos del tipo O por la saliva del donante. La aglutinación de los eritrocitos se observa como un punto rojo definido en la mitad del recipiente, rodeado por un líquido completamente translúcido.

Los eritrocitos no se aglutinan en presencia de saliva, seguramente por una interacción entre la lectina UEA-I y el antígeno H de las glicoproteínas, lo que inactiva la capacidad aglutinante de la lectina. Si este antígeno H no se expresara en la saliva de este individuo seguramente sí habría aglutinación.

sente el carbohidrato galactosa, posiblemente en un sitio terminal de la cadena de oligosacáridos; esto se sugiere dada la gran cantidad de resultados altamente positivos para la galactosa a lo largo de los cinco experimentos. La jacalina, que es específica para D-galactosa, fue la que produjo el patrón de tinción más fuerte y constante en todos los casos. Otras lectinas también tuvieron esta constancia, mostrando que existe un fenómeno de adsorción a las superficies del acrílico, específico y repetible. Los resultados del presente estudio deben analizarse tomando en cuenta que para las demás lectinas no se realizaron experimentos como el estudio 5, cumplido para la jacalina;

Tabla 2. Resultados obtenidos en la aglutinación de eritrocitos.

Contenido del pozo	1	2	3	4	A	B
	Saliva en PBS 1/2 UEA-I eritrocitos	Saliva en PBS 1/4 UEA-I eritrocitos	Saliva en PBS 1/16 UEA-I eritrocitos	Saliva en PBS 1/32 UEA-I eritrocitos	UEA-I eritrocitos	PBS eritrocitos
Agglutinación	-	-	-	-	+	-

El signo - indica que no hubo aglutinación; el signo + que sí la hubo. La columna A corresponde al control positivo de la prueba en la cual se aplicaron los eritrocitos en presencia de lectina, pero en ausencia de saliva; la columna B corresponde al control negativo de la prueba en la cual se aplicaron los eritrocitos en ausencia de saliva y de lectina.

En la Tabla 3 se resumen los resultados obtenidos en los cinco estudios realizados.

Tabla 3. Resumen de los resultados obtenidos en los cinco estudios realizados.

Tabla 3. Resumen de los resultados obtenidos en los cinco estudios realizados.

	Est. 1 Auto	Est. 2 Auto	Est. 3 Auto	Termo	Est. 4 Auto	Termo	Est. 5 Auto
RCA	3						
JAC	3	3	3	2	3	3	3
PNA	2	1	1			2	
ECL	3	3	1			3	
PHA-E	2	2	2	2		3	
VvB ₁	-	2				2	
SBA	-	1				-	
SJA	-	-				-	
DBA	-	-				-	
WGA	1	1	-			-	
Con-A	-	1	1			1	
PSA	1	2	1			3	
UEA-I	1	2	2	1		3	
PES-JAC						3	2
Album-JAC							-
B5M-JAC							1

Exp. y número: orden de realización de los experimentos; Auto: conos acrílicos autocurados; Termo: conos acrílicos termocurados. Los valores -, 1, 2, y 3 se ajustan a las convenciones descritas. Se utiliza la abreviatura de cada lectina. PBS es el buffer salino fosfato. Los cuadros en blanco indican que no se trabajó en esa ocasión con la lectina de la misma fila.

DISCUSIÓN

Los cinco estudios realizados en la presente investigación permiten concluir que en la película adquirida que se forma sobre superficies acrílicas in vitro está pre-

por lo tanto, para las lectinas en las cuales se obtuvo un resultado altamente positivo sería conveniente realizar esta prueba.

Del quinto estudio realizado se puede concluir que la jacalina, la lectina más positiva, no se adsorbe inespecíficamente a la película formada sobre el acrílico; si lo hace, es de una manera muy leve, lo que no justifica la fuerte tinción que se encontró para ella, que más bien podría ser resultado de su unión con carbohidratos del tipo D-galactosa disponibles en la película. Es posible que el grado de tinción 1 obtenido con la jacalina bloqueada previamente con 20 µg de BSM se deba a la falta de saturación de la lectina con el carbohidrato o a pocas uniones de tipo inespecífico que pudieran estar actuando concomitantemente con el reconocimiento sacárido. La alta reactividad de la jacalina en todas las pruebas también podría deberse a la posible presencia de IgA en la superficie de la película.

En los cinco experimentos realizados se observó una constante en la falta de tinción al trabajar con las lectinas SBA y SJA, ambas específicas para los grupos sanguíneos A y B. Ya que se trabajó con saliva de un donante de tipo O, este resultado fue lógicamente el esperado. De igual manera, para la lectina UEA-I, la cual reconoce al antígeno fucosilado H del grupo sanguíneo O, era de esperarse el resultado positivo que se presentó en todos los estudios, aunque con un patrón de poca constancia al comparar los resultados de los experimentos entre sí. Este resultado está de acuerdo con la condición secretora del donante.

Es lógico pensar que la galactosa se encuentre en proporción alta en los sitios terminales en las cadenas oligosacáridas, ya que así lo demuestra la composición de otras glicoproteínas,⁶ pero también es de esperarse

que la molécula que se encuentre en mayor proporción en el sitio terminal de la cadena sacárida en películas de una hora de vida sea el ácido siálico, interfiriendo con la disponibilidad de los residuos de galactosa; por eso sería relevante una investigación utilizando una metodología similar a la de este estudio, con una lectina específica para dicho ácido. Es posible también, y esto no se podría comprobar sino con la utilización de la lectina mencionada, que las glicoproteínas, al adsorberse a una superficie acrílica, no expresen tantos residuos de ácido siálico como lo hacen recién formadas, debido a que su presencia, aunque sea por corto tiempo en el medio ambiente oral, permitiría la hidrólisis del enlace galactosa-ácido siálico por las condiciones del medio o posiblemente por enzimas como la neuraminidasa. Es también posible que en este estudio las condiciones de centrifugación hayan llevado a la liberación de esta molécula, dejando así libre la expresión de los residuos de galactosa en la película adquirida estudiada.

Ningún estudio encontrado en la literatura utilizó una metodología similar a ésta para el reconocimiento de los sacáridos terminales en la película; por lo tanto, la aplicación de esta técnica inmunoquímica en el campo de la adherencia bacteriana a las superficies orales puede ser un método valioso.

Bacterias como *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Bacteroides intermedius* y *Leptotrichia buccalis*^{13,14,15,16} tienen sistemas de reconocimiento para la galactosa que puede ser de primordial importancia para la colonización de esas bacterias. La alta proporción de este carbohidrato en la película facilitaría su adherencia inicial. De todas maneras, las observaciones de este estudio llevan a pensar que otros sacáridos también se encuentran disponibles en las películas adquiridas de origen salivar formadas sobre acrílico, tales como residuos de glucosa, manosa, fucosa y galactosamina, los cuales, aunque en menor proporción que la galactosa, también fueron reconocidos por las lectinas utilizadas. Algunos de esos residuos pueden ser utilizados por otros microorganismos, como la *C. albicans*, para su adherencia inicial a las dentaduras acrílicas. La interferencia en este proceso inicial de adherencia, necesario para la posterior colonización, podría tener mucha importancia clínica en la prevención de diversas enfermedades orales.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se observó que sobre los conos acrílicos termocurados se producía un patrón de tinción más regular y homogéneo que para los conos de autocurado. Esta diferencia en el reconocimiento puede deberse a las irregularidades presentes en mayor proporción en la superficie del acrílico autocurado, ya que los sitios de más tinción coincidieron con estas irregularidades, lo que podría conducir a una adsorción localizada de

mayor cantidad de glicoproteínas en aquellos sitios; por lo tanto, este tipo de acrílico podría facilitar la adherencia inicial de los microorganismos en aquellos lugares donde se presentó mayor concentración de carbohidratos disponibles, haciendo más fácil la colonización posterior de las demás bacterias. La hipótesis anterior se basa en observaciones de la superficie de acrílico realizadas durante el estudio. Sería importante, en estudios futuros, determinar exactamente las características químicas y físicas de estas dos superficies para inferir una conclusión basada en mediciones exactas. Sería recomendable, para más adelante, el empleo de un método más exacto y estandarizado para la medición de los patrones de tinción obtenidos sobre los conos acrílicos después de la reacción colorimétrica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sönju T, Röllä G. Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. *Caries Res* 1973; 7: 30-38.
2. Gibbons RJ. Adhesion of bacteria to surfaces of the mouth. En: RCW. Berkeley JM et al. Microbial adhesion to surfaces. England Society of Chemical Industry. Chichester: Ellis Horwood Ltd., 1980: 351-388.
3. Thylstrup A, Fejerskor O. Textbook of cariology. Copenhagen: Munksgaard, 1986.
4. Guyton AC. Fisiología humana. Mexico: Nueva Editorial Interamericana SA, 1987: 513-514.
5. Malamud D. Influence of salivary proteins on the fate of oral bacteria. En: Mergenhagen SE, Rosan B. Molecular basis of oral microbial adhesion. Washington DC: American Society for Microbiology, 1985.
6. William RAD, Aleut JC. Bioquímica dental básica y aplicada. Mexico: Manual Moderno, 1990: 86-89.
7. Beachey EH. Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J Infect Dis* 1981; 143: 325-345.
8. Sönju T, Glantz PO. Chemical composition of salivary integuments formed in vivo on solids with some established surface characteristics. *Arch Oral Biol* 1975; 20: 687-691.
9. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res* 1995; 74: 1152-61.
10. Combe EC. Materiales dentales. Barcelona: Editorial Labor, 1990.
11. Screebny LM. Salivary flow in health and disease. *Compend Contin Educ. Dent Suppl* 13: S461-S469.
12. Murase N, Hosaka M, Takai Y, Tanimura T, Mori H. Histochemical demonstration of lectin binding sites and keratin in inflamed human gingiva. *J Period Res* 1985; 20: 625.
13. Davis G, Gibbons RJ. Accessible sialic acid content of oral epithelial cells from healthy and gingivitis subjects. *J Period Res* 1990; 25: 250-253.
14. Gibbons RJ, Childs WC. Selective modulation of bacterial attachment to oral epithelial cells by enzyme activities associated with poor oral hygiene. *J Period Res* 1990; 25: 172-178.
15. Cadavid GJ, Gibbons RJ. Efecto del tratamiento con neuroaminidasa y proteasas en la inserción de ciertas bacterias periodontopáticas a películas salivares experimentales. *CES Odont* 1988; 1: 68-74.
16. Gibbons RJ. Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. *J Dent Res* 1989; 68: 750-760.

Correspondencia: Patricia I. Díaz Moreno
Calle 49B No. 64B-15
Medellín, Colombia