

Universidad de Ciencias Médicas de La Habana
Instituto de Ciencias Básicas y preclínicas Victoria de Girón

Bioquímica de la caries dental

Biochemistry of dental caries

¹Daniel Pedro Núñez, Lic. Lourdes García Bacallao²

¹Especialista Primer Grado en Bioquímica Clínica. Calle 50 Núm. 1112 entre 11 y 13, Apartamento A. Playa. Ciudad de La Habana. Teléfono: 2051835
daniel.pedro@infomed.sld.cu

²Licenciada en Química. Calle 98 núm.307 entre 3^{ra} A y 3^{ra} B, Municipio: Playa, Ciudad de La Habana. Teléfono: 2091822 lcbacallao@infomed.sld.cu

RESUMEN

La caries dental constituye una de las enfermedades crónicas y transmisibles que con mayor frecuencia afecta a los seres humanos, por lo que es objeto de estudio de numerosos investigadores con el propósito de lograr su prevención y tratamiento.

En el siguiente trabajo, realizamos una revisión bibliográfica con el objetivo de profundizar en los conocimientos teóricos acerca de la caries dental describiendo los factores y mecanismos que propician la aparición de esta patología, así como los mecanismos de acción de los fluoruros, los edulcorantes, los agentes antibacterianos y el ozono.

Palabras clave: Caries dental, fluoruros, edulcorantes, ozono.

ABSTRACT

The dental caries constitutes one of the chronic and transferable illnesses that affects the human beings with more frequency, for what is object of numerous investigators' study with the purpose of achieving its prevention and treatment.

In the following work we carry out a bibliographical revision with the objective of deepening in the theoretical knowledge about the dental caries describing the actors and mechanisms that propitiate the appearance of this pathology, as well as the mechanisms of action of the fluorides, antibacterial agents, the edulcorating and the ozone.

Key words: Dental caries, fluorides, edulcorating, ozone.

INTRODUCCIÓN

La *caries dental* es un proceso o enfermedad dinámica crónica, que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos y, debido al desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de placa circundante, dando como resultado una pérdida de mineral de la superficie dental, cuyo signo es la destrucción localizada de tejidos duros. Se clasifica como una enfermedad transmisible e irreversible.¹

Fejerskov define la lesión cariosa como un mecanismo dinámico de desmineralización y remineralización como resultado del metabolismo microbiano agregado sobre la superficie dentaria, en la cual con el tiempo, puede resultar una pérdida neta de mineral y es posible que posteriormente se forme una cavidad. Concluyendo que la caries es el signo de la enfermedad y no la enfermedad *per se*.²

En el siguiente trabajo, se realiza una revisión bibliográfica acerca de algunos aspectos relacionados con la caries dental abordados desde el punto de vista bioquímico, describiendo los factores y mecanismos que propician la aparición de esta patología, así como los mecanismos de acción de: fluoruros, edulcorantes, agentes antibacterianos y el ozono, utilizados en el tratamiento profiláctico de esta afección.

DESARROLLO

Factores involucrados en el proceso de la caries dental

La caries dental es una enfermedad de origen multifactorial en la que existe interacción de tres factores principales: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), la microflora (infecciones bacterianas) y el sustrato (dieta cariogénica). Además de estos factores, deberá tenerse en cuenta uno más, el tiempo. Para que se forme una caries es necesario que las condiciones de cada factor sean favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un

sustrato apropiado que deberá estar presente durante un período determinado de tiempo.^{1, 3, 4}

Factores relacionados con el huésped

Con respecto al huésped, es necesario analizar las propiedades de la saliva y la resistencia del diente a la acción bacteriana.

Saliva

La saliva es una solución supersaturada en calcio y fosfato que contiene flúor, proteínas, enzimas, agentes *buffer*, inmunoglobulinas y glicoproteínas, entre otros elementos de gran importancia para evitar la formación de las caries.⁴

El flúor está presente en muy bajas concentraciones en la saliva, pero desempeña un importante papel en la remineralización, ya que al combinarse con los cristales del esmalte, forma el fluorapatita, que es mucho más resistente al ataque ácido.⁴ La saliva es esencial en el balance ácido-base de la placa. Las bacterias acidogénicas de la placa dental metabolizan rápidamente a los carbohidratos y obtienen ácido como producto final. El pH decrece rápidamente en los primeros minutos después de la ingestión de carbohidratos para incrementarse gradualmente; se plantea que en 30 minutos debe retornar a sus niveles normales.⁴

Para que esto se produzca actúa el sistema *buffer* de la saliva, que incluye bicarbonato, fosfatos y proteínas. El pH salival depende de las concentraciones de bicarbonato; el incremento en la concentración de bicarbonato resulta un incremento del pH. Niveles muy bajos del flujo salival hacen que el pH disminuya por debajo de 5-3, sin embargo, aumenta a 7-8 si se acrecienta gradualmente el flujo salival.⁴

Es conocido también que las macromoléculas salivales están comprometidas con la funciones de formación de la película salival. Al estudiar las funciones de las proteínas salivales ricas en prolina, se ha demostrado que estas interaccionan con la superficie del diente, y forman parte de una capa de proteínas que se deposita sobre el mismo, denominada *película adquirida*. Esta está involucrada en procesos importantes como la protección de la superficie dentaria, su remineralización y la colonización bacteriana, entre otras.⁴

En la saliva además de proteínas, se han aislado péptidos con actividad antimicrobiana, como por ejemplo, las beta defensinas. Se considera que además de la defensa de la superficie de la cavidad bucal, pudieran inhibir la formación de la placa dental bacteriana y, por lo tanto, el desarrollo de la caries dental.⁴

Microflora

Del gran número de bacterias que se encuentra en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género estreptococo (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*), así como la *Rothia dentocariosa*, han sido asociados con la caries tanto en animales de experimentación como en humanos.^{1,4-5}

Para comprender la acción de las bacterias en la génesis de la caries dental, es necesario estudiar los mecanismos por los cuales estos microorganismos colonizan el diente y son capaces producir daño (virulencia).

Colonización bacteriana

El paso más importante para que se produzca la caries, es la adhesión inicial de la bacteria a la superficie del diente. Esta adhesión está mediada por la interacción entre una proteína del microorganismo y algunas de la saliva que son adsorbidas por el esmalte dental.

Para la colonización bacteriana, es imprescindible la formación previa de una fina película de proteínas salivales sobre la superficie del diente: la ya mencionada película adquirida.

La interacción se produce en cierta medida a través de cargas electrostáticas. La carga eléctrica de las proteínas se relaciona con la presencia de grupos ionizables en sus aminoácidos constituyentes.⁴

Estudios recientes indican que la unión de las bacterias a la película adquirida y entre sí, no puede ser explicada solamente por uniones electrostáticas, sino que se ha evidenciado la acción de moléculas de naturaleza proteica en la superficie de las bacterias, denominadas adhesinas, que se unen a las proteínas salivales las cuales actúan como receptores y facilitan la adherencia bacteriana. Esto es posible por el fenómeno de reconocimiento molecular. Se ha observado que mientras mayor es la capacidad de adherencia del microorganismo, mayor es la experiencia de caries dental.⁴

Factores de virulencia

En el caso del *Streptococo mutans*, los factores de virulencia más involucrados en la producción de caries son:

1. *Acidogenicidad*: el estreptococo puede fermentar los azúcares de la dieta para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.⁴

2. *Aciduricidad*: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.⁴

3. *Acidofilicidad*: El *Streptococo mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H⁺) fuera de la célula.⁴

4. Síntesis de glucanos y fructanos: por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes.⁴

Las glucosiltransferasas catalizan la hidrólisis de dos moléculas de sacarosa en sus monosacáridos constituyentes: la alfa-D-glucosa y la beta-D-fructuosa. Las moléculas de glucosa resultantes, son polimerizadas por enlaces alfa (1-6), alfa (1-4) o alfa (1-3) y forman los glucanos extracelulares bacterianos y se liberan dos moléculas de fructuosa.⁴

De acuerdo con las características de solubilidad de su producto, las glucosiltransferasas se clasifican en:

GTF-S, las que sintetizan el dextrano, un glucano que posee predominantemente uniones lineales alfa (1-6), es soluble en agua y de aspecto globular, GTF-I,

sintetiza un glucano insoluble y fibrilar con predominio de uniones alfa (1-3) y la GTF-SI, sintetiza ambos tipos de glucanos.⁴

El *Streptococo mutans* secreta los tres tipos de glucosiltransferasas. Al producto de la GTF-I y la GTF-SI, con predominio alfa (1-3), se le denomina mutano. Su insolubilidad en agua, viscosidad y aspecto fibrilar, lo involucra en los fenómenos de adherencia, agregación y acumulación bacteriana en la placa dental.⁴

De esta manera la capacidad de producir mutano, está involucrada en el poder cariogénico del *Streptococo mutans*.

5. Producción de dextranasa.

Las bacterias tienen la posibilidad de sintetizar y liberar enzimas glucanohidrolasas, como la dextranasa y la mutanasa. Estas se disponen en la superficie de las células bacterianas en contacto con el glucano, lo hidrolizan y facilitan así el paso de los productos de la hidrólisis hacia el interior de la misma.⁴

Por tanto, los glucanos extracelulares pueden ser utilizados por las bacterias como fuente de energía. Además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano.⁴

Sustrato cariogénico

Dentro de los factores que favorecen el desarrollo de la caries dental, uno de los más estudiados es el consumo excesivo de azúcares simples. Numerosos estudios han demostrado la asociación entre caries y carbohidratos refinados o azúcares, especialmente, la sacarosa o azúcar común. Los azúcares consumidos con la dieta constituyen el sustrato de la microflora bucal y dan inicio al proceso de cariogénesis.^{4, 6}

La sacarosa, formada por dos monosacáridos simples: la fructosa y la glucosa; se considera el más cariogénico, no sólo porque su metabolismo produce ácidos, sino porque el *Streptococo Mutans* lo utiliza para producir glucano, polisacárido extracelular, que le permite a la bacteria adherirse firmemente al diente, inhibiendo las propiedades de difusión de la placa.^{4, 6}

Mecanismos que describen la formación de la caries dental

Varias teorías tratan de explicar la formación de la caries dental, exponemos dos de las más conocidas.

Teoría acidófila de Miller

Esta teoría comprende los hechos principales siguientes:

1. En la cavidad oral existen bacterias capaces de producir ácidos, especialmente el láctico, mediante la vía glucolítica anaerobia, a partir de los azúcares.
2. El esmalte está compuesto, en su mayor parte, por sales de calcio, las cuales pueden disolverse por la acción de los ácidos orgánicos.
3. La formación de ácido en la placa dental se puede observar directamente en la boca, después de ingerir glúcidos.

4. Por la acción de estos ácidos, el pH desciende por debajo de 5,5 (pH crítico), en zonas limitadas de la superficie del esmalte y se inicia la descalcificación.⁷

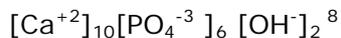
Efecto de los bajos valores del pH

Como se expone en esta teoría, en la cavidad oral existen bacterias capaces de producir ácidos, que liberan gran cantidad de H⁺, lo cual hace descender el pH por debajo del pH crítico, en zonas limitadas de la superficie del esmalte y se inicia la descalcificación.⁷

¿Cómo los bajos valores de pH provocan la desmineralización del esmalte y la dentina?

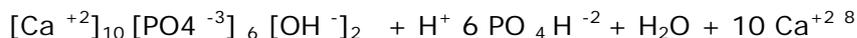
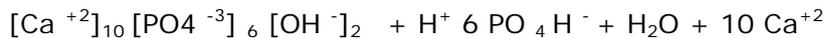
Todos los tejidos contienen minerales, tejidos blandos y duros, cuya diferencia está en cantidad y clase de minerales, y disposición espacial.⁸

En los tejidos duros como el esmalte la mineralización es mayor de 98%. Forma modelos cristalinos que se caracterizan en apatita. Hidroxiapatita



Las altas concentraciones de iones H⁺ provocan la solubilización de la hidroxiapatita y la desmineralización.⁸

Solubilización en medio ácido



Cabría entonces preguntarse:

¿No es posible la remineralización del diente cuando los valores de pH son muy bajos?

La formación y disolución de cada sólido cristalino depende del equilibrio de dos fuerzas. En el caso de la Hidroxiapatita, tal equilibrio es función de la concentración de iones, Calcio, Fosfato e Hidroxilo en el líquido circulante. La actividad iónica en Equilibrio (cuando no se reforma ni se redisuelve Hidroxiapatita) es una constante resultado de las concentraciones de Calcio, Fosfato y OH que se representa en el Kps (producto de solubilidad).⁸

En la condición de neutralidad, las especies iónicas predominantes en la solución son los fosfatos primarios y secundarios. La forma terciaria sólo existe en cantidades muy reducidas. A un pH de 7,16 el 50% será H₂ PO₄⁻ y el 50% H PO₄⁻².⁸

Se muestran las ecuaciones

El hecho de que los cristales del hueso y el diente se compongan de fosfatos terciarios (HPO₄⁻³) indica una gran afinidad del Calcio por ese ión.⁸

A medida que consume el fosfato terciario en la formación de Hidroxiapatita, los niveles se recuperan por disociación del fosfato secundario.

En soluciones de bajo pH casi todos los fosfatos se encuentran en la forma de ácido fosfórico debido a la alta concentración de protones.

Por tanto, en condiciones de bajos valores de pH, las concentraciones del fosfato secundario en la solución son muy bajas. A un pH de 2,16 solo 50 % del total de fosfato es H_2PO_4 (fosfato primario), especie química precursora del HPO_4^{2-} (fosfato secundario).⁸

Con esto queda claro por qué en bajos valores de pH los niveles de iones HPO_4^{3-} en solución son casi cero, falta un factor del producto iónico HPO_4^{3-} , y como la concentración de OH^- es muy reducida, el bajo pH causa disolución de la Hidroxiapatita.⁸

Críticas a la Teoría acidófila de Miller

1. Cuando los ácidos disuelven el diente, provocan sólo erosión, que no es lo mismo que caries.
2. Se ha demostrado que el esmalte hipocalcificado es más resistente a las caries que el normal.
3. Experimentalmente pueden producirse caries, en condiciones de hipoacididad bucal.⁷

Teoría de la proteólisis-quelación de Schatz y Martín

Atribuye la caries dental a 2 reacciones interrelacionadas, que ocurren simultáneamente:

- Destrucción microbiana de la matriz orgánica del diente mayormente proteínica.
- Disolución de los cristales de apatita por la acción de los agentes de quelación orgánicos (ácidos, aminoácidos, aminas, péptidos y glúcidos), algunos de los cuales se originan como producto de la descomposición de la matriz, otros están presentes en los alimentos, la saliva y en la costra que puede recubrir los dientes o sarro dentario (Figura 1).⁷

Críticas a esta teoría

Se pone en duda la existencia de la acción proteolítica, pues se considera que al ser la proteína del esmalte una escleroproteína del grupo de las queratinas, estas son muy resistentes a la acción de las enzimas proteolíticas.⁷

Uso de los fluoruros en el tratamiento de la caries dental

Durante años, el uso de fluoruros en la prevención de la caries se ha basado, principalmente, en que su consumo durante el período de formación de los dientes es importante para incrementar el contenido de fluoruros en el esmalte y de este modo incrementar la resistencia del esmalte al ataque de la caries.⁹⁻¹⁰

Mecanismo de acción de los fluoruros

En las distintas investigaciones que se han realizado para dilucidar el mecanismo de acción de los fluoruros, se ha comprobado que cuando el fosfato y el calcio de la hidroxiapatita del esmalte y la dentina se exponen a la acción de las soluciones de flúor, se descomponen en fluoruro de calcio y fosfato de sodio:

El fluoruro de calcio precipita como un polvo fino sobre la superficie del esmalte y los demás productos se disuelven, pero como el CaF_2 , no se retiene por completo, una parte de este compuesto puede ser removido por la saliva y participar en una segunda reacción.⁹⁻¹⁰

Las soluciones diluidas de flúor transforman la hidroxiapatita en fluorapatita:⁹⁻¹⁰

Efectos de los fluoruros

1. Uno de los efectos anticaries del flúor, se basa en la producción de cambios en la carga superficial del diente, que impide la formación de la película adquirida y, por lo tanto, la adherencia de los microorganismos al diente.

2. Los fluoruros disminuyen la solubilidad del esmalte a los ácidos por su presencia en el mismo o en la fase acuosa. Potencia la precipitación de Ca y PO_4 (presentes en saliva) en el esmalte, para reemplazar las sales solubles de manganeso y carbonato perdidas, como consecuencias de la desmineralización inducida por las bacterias de la placa, este proceso ocurre en la remineralización de lesiones incipientes de caries. Los fluoruros en aplicaciones tópicas (enjuagues, dentífricos, geles), desde la saliva o desde la placa dental, pueden interactuar con los tejidos duros del diente suprimiendo la desmineralización y promoviendo la remineralización. Se considera que la función protectora más importante que ejercen los fluoruros es su capacidad para alterar las condiciones de saturación en los líquidos bucales (placa, saliva) que rodean la superficie de diente; así, podemos esperar que una alta concentración de fluoruros en la fase acuosa, contrarreste la disolución del esmalte y promueva la remineralización.⁹⁻¹⁰

3. En concentraciones reducidas, efecto antibacteriano.

- Inhibe la glucosil transferasa, impidiendo la formación de polisacáridos extracelulares a partir de la glucosa; se reduce de este modo la adhesión bacteriana.
- Inhibe la formación de polisacáridos intracelulares al impedir el almacenamiento de carbohidratos (limita el metabolismo bacteriano entre las comidas).

4. En concentraciones elevadas, efecto antibacteriano.⁹⁻¹⁰

- Bactericida para algunos microorganismos bucales como el *Streptococcus mutans*.

Es importante destacar, que sea cual fuere el modo de aplicación de fluoruros a emplear para individuos y poblaciones es preciso tener presente que los fluoruros pueden interferir en la enfermedad desde su inicio, y evitar la formación de lesiones clínicamente visibles o, en caso de lesiones iniciales, revertir el proceso carioso mediante la remineralización, así como reducir la velocidad de progresión de los síntomas.⁹⁻¹⁰

Utilización de los edulcorantes

En los últimos años se ha incrementado el empleo de edulcorantes como sustitutos del azúcar en la dieta humana. Las investigaciones se han centrado principalmente en los polialcoholes (sorbitol, manitol, maltitol y xylitol); almidones hidrolizados (lycasin); proteínas (monellina); sintéticos químicos (sacarina, ciclamatos y aspartamos). A diferencia de los azúcares, todos estos son pobremente metabolizados por las bacterias bucales, o bien metabolizados por vías que no conducen a la formación ácida. Incluso algunos de ellos reducen el metabolismo bacteriano y, como consecuencia, el desarrollo de la placa sobre los tejidos bucales.^{4,10}

El *Xilitol* es considerado un polialcohol con poder edulcorante y perfil de sabor similares a los de la sacarosa, y poco metabolizado por los microorganismos bucales. Su acción consiste en inhibir la desmineralización, mediar en la remineralización, estimular el flujo gingival, disminuir los efectos del *Streptococo mutans* y estabilizar la caries.^{4,10}

Los microorganismos presentes en la cavidad bucal incluido el *Streptococo mutans*, no tienen enzimas que les permitan utilizar el Xilitol como fuente de energía y, por lo tanto, no pueden producir ácidos a partir de este como ocurre con la sacarosa. Por ello, el pH de la placa dental bacteriana no desciende, sino por el contrario se eleva, asociado también a la estimulación del flujo salival que provoca el Xilitol. Por lo que se inhibe la desmineralización de la superficie dentaria y se estimula su remineralización. Todo esto conduce a una disminución del riesgo de caries dental.^{4,10}

Uso de agentes antibacterianos

El uso de los antibacterianos está ampliamente documentado; se utilizan en el tratamiento preventivo de la caries dental. La Clorhexidina es un antimicrobiano catiónico de amplio espectro. Su acción está dada por la reducción de la formación de la película adquirida y la adhesión microbiana a la superficie dental, por tanto previene la transmisión de microorganismos cariogénicos.¹⁰

El uso del ozono en el tratamiento de la caries dental

La importancia que tiene básicamente el uso del ozono en las caries está fundamentado en su acción bactericida, pero también otras acciones como la antiinflamatoria ayudan a predisponer a los tejidos expuestos a él, a remineralizar rápidamente, no dando tiempo a las bacterias a recolonizarse.¹¹

La remineralización mostrada después de la aplicación de ozono se debe a que este es el más poderoso oxidante natural que nos indica que tiene la habilidad de remover proteínas de las lesiones de caries y permite que los iones de fosfato y de calcio se difundan dentro de la lesión, ese fenómeno resultante es la remineralización de la caries.¹¹

CONCLUSIONES

La caries dental es un proceso patológico complejo de origen infeccioso y transmisible que afecta a las estructuras dentarias y se caracteriza por un desequilibrio bioquímico; que puede conducir a cavitación y alteraciones del complejo dentino-pulpar. Es una enfermedad de origen multifactorial en la que

existe interacción durante un período de tiempo de tres factores principales: un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado.

Los componentes de la saliva previenen la desmineralización del esmalte, tienen un importante papel en la remineralización y son esenciales en el balance ácido-base de la placa. Las macromoléculas salivales están comprometidas con la funciones de formación de la película adquirida. Así también se han aislado en la saliva, péptidos y proteínas con actividad antimicrobiana,

Los microorganismos involucrados en la producción de las caries dentales sintetizan enzimas, las cuales catalizan la formación de glucanos extracelulares bacterianos los que además de facilitar la adhesión de las bacterias pueden ser utilizados por estas, como fuente de energía.

Existen varias teorías que tratan de explicar la formación de la caries dental, entre ellas se encuentran: la Acidófila de Miller y la Teoría de la proteólisis- quelación de Schatz y Martín.

Los fluoruros disminuyen la solubilidad del esmalte a los ácidos, participan en la remineralización de lesiones incipientes, además en concentraciones reducidas actúan inhibiendo la formación de polisacáridos extracelulares, y en concentraciones elevadas tienen efecto bactericida. Los edulcorantes inhiben la desmineralización, median en la remineralización, y estimulan el flujo gingival. Los antibacterianos de amplio espectro previenen la transmisión de microorganismos cariogénicos.

La utilización del ozono en el tratamiento de la caries está hoy bien documentada, dada sus propiedades bactericidas, antiinflamatorias y de remineralización de los tejidos dentarios, constituye una opción para el tratamiento no invasivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guías prácticas clínicas de caries dental. [Monografía en Internet]; 2004. [Citado 2004 Abr 30]. Disponible en: <ftp://ftp.sld.cu/ftphosting/UVS/sbucal/clin/guiascaries>
2. González M, Balda R, Gózález O, Solórzano A, Loyo K. Estudio comparativo de tres métodos de diagnóstico de las caries. Acta. Odontol. Venez. 27 (3): 15-25; 1999, Dic 19.
3. Hidalgo I, Duque de Estrada J, Pérez JA. La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. Rev. Cub. Estomatología.; 23 (3):56-61; 2007, Oct 26.
4. Duque de Estrada J, Pérez JA, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev. Cub. Estomatología. 43(1);2006, Jan-Mar.
5. Pardi G, Perrone M, Acevedo AM, Mazzali de Ilja R. Estudio sobre *Rothia dentocariosa* en pacientes con carie dental. Acta. Odontol. Venez.; 41(3): 83-9; 2003, Ago 20.
6. Cid María del Carmen, Martínez I, Morales JM. Ingestión de azúcares en niños menores de 1 año. Revista Médica Electrónica. 28 (1):113-6;2008.

7. Cardellá L, Hernández R. Bioquímica Médica. 1er ed. Ciudad de La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 1999, t. IV.
8. Salgado J. Tema 24. Bioquímica de Enfermedades Relacionadas con la Placa [Monografía en Internet]; 2005. [Citado 2005 Jun 10]. Disponible en: <http://www.uv.es/~salgado/odonto/.files/Tema24.pdf>
9. Balda R, Solórzano AI, González O. Tratamiento de la enfermedad de caries dirigido al agente causal. Uso de los fluoruros. Acta. Odont. Venez.; (3): 284-7; 1999, Dic 14.
10. Duque de Estrada J, Hidalgo I, Pérez JA. Técnicas actuales utilizadas en el tratamiento de la caries dental. Rev Cubana Estomatología. 43 (2): 2006, Abr-Jun.
11. Bazzano N, Corso A, Schejtman L, Basbus E, Murillo M. Ozonoterapia oral en caries y enfermedad periodontal. [Monografía en Internet]; 2007. [Citado 2007, Abr 26]. Disponible en: www.ozono.cubaweb.cu