

***Analysis of oral health status  
and of salivary factors in young  
soccer players: a pilot study***

Analisi dello stato di salute orale e dei fattori  
salivari in giovani calciatori: studio pilota

S. D'ERCOLE, F. RISTOLDO, F. QUARANTA, P. AMADDEO, D. TRIPODI

*Estratto da* MEDICINA DELLO SPORT

Vol. 66 - N. 1 - Pag. 71-80 (Marzo 2013)

---

EDIZIONI MINERVA MEDICA - TORINO

# Analysis of oral health status and of salivary factors in young soccer players: a pilot study

Analisi dello stato di salute orale e dei fattori salivari in giovani calciatori: studio pilota

S. D'ERCOLE <sup>1,2</sup>, F. RISTOLDO <sup>3</sup>, F. QUARANTA <sup>4</sup>, P. AMADDEO <sup>5</sup>, D. TRIPODI <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Experimental and Clinical Science, "G. D'Annunzio" University, Chieti-Pescara, Italy

<sup>2</sup>Department of Medical, Oral, Biotechnological Sciences, "G. D'Annunzio" University, Chieti-Pescara, Italy

<sup>3</sup>Unit of Odontostomatology, Ospedali Riuniti di Bergamo, Bergamo, Italy

<sup>4</sup>Department of Health Sciences, Foro Italico University, Rome, Italy

<sup>5</sup>Team Sanitario Atalanta Bergamasca Calcio

## SUMMARY

**Aim.** The aim of this study was to evaluate the status of oral health of young players and to determine how the practice of physical exercise can influence the key factors that characterize the oral ecosystem.

**Methods.** Sixteen Atalanta players, mean age 13 years, and 40 sedentary individuals (control), mean age 12.5 years, were selected. A self-administered questionnaire was used to obtain data concerning a pathological complete history, a history of oral hard and soft tissues, a family history, oral hygiene practices and snacking habits. Before training sessions (T1), a clinical monitoring was performed and at each patient the following parameters were recorded: DMFT, Plaque Index (PII), Gingival Index (GI). At T1 and after training sessions (T2), stimulated saliva was collected and subjected to microbiological analysis for the detection of lactobacilli, *S. mutans* and total bacterial count, and immunological analysis for the research of S-IgA.

**Results.** The players demonstrated a greater PII (0.85; 0.08 ctr), an increase of dental stains (42.85%; ctr 2%), increased frequency of atypical swallowing (71.42%; ctr 17%) and nail biting (57.14%; ctr 0%) and low frequency of daily brushing (3/die; 0%; ctr 33%) compared with controls. The young players had a statistically higher microbial load than controls, both at T1 and T2. At T1, 31.25% of the players presented *S. mutans* >10<sup>6</sup> and the percentage rises to 68.75% at T2.

With regard to *Lactobacillus* spp only 12.5% of athletes had the count >10<sup>6</sup> and the percentage rises to 31.25% at T2. The training period decreased significantly the concentration of S-IgA.

**Discussion and conclusions.** The young players run an increased risk in the development of oral diseases compared to sedentary individuals caused either by a lack of attention to the oral health that from the effects of both immunological and microbiological changes that occur in training time.

**KEY WORDS:** Oral health - Exercise - Soccer - Immunoglobulin A - Saliva - Dentistry.

## RIASSUNTO

**Obiettivo.** Obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare lo stato di salute orale di giovani calciatori e determinare come la pratica dell'esercizio fisico possa influenzare i principali fattori che caratterizzano l'ecosistema orale. **Metodi.** Sono stati selezionati 16 ragazzi calciatori dell'Atalanta, età media 13 anni, e 40 soggetti controllo, che non praticavano alcuna attività sportiva, età media 12,5 anni.

È stato utilizzato un questionario per ottenere informazioni sulle caratteristiche della disciplina sportiva; abitudini alimentari; anamnesi patologica completa; anamnesi dei tessuti duri/molli del cavo orale; anamnesi traumatologica; anamnesi familiare. Prima dell'allenamento (T1), è stato eseguito un monitoraggio clinico e registrati i seguenti parametri: DMFT, Indice di Placca (PII), Indice Gengivale (GI). Al T1 e dopo l'attività sportiva (T2) è stato eseguito il

prelievo di saliva stimolata. I campioni sono stati sottoposti ad analisi microbiologica per la ricerca di Lattobacilli, *S. mutans*, conta batterica totale, e a ricerca immunologica per la titolazione delle S-IgA.

Risultati. I giovani calciatori hanno dimostrato un maggior PII (0,85; ctr 0,08), maggiore presenza di discromie (42,85%; ctr 2,0%), maggiore frequenza di abitudini viziate (deglutizione atipica 71,42%, ctr 17%; onicofagia 57,14%, ctr 0%) e scarsa frequenza di spazzolamento quotidiano (3/die: 0%; ctr 33,00%) rispetto ai controlli. I giovani calciatori presentavano una carica microbica statisticamente superiore rispetto ai controlli, sia al T1 che al T2. Al T1 il 31,25% dei calciatori presentava una carica di *S. mutans* >10<sup>6</sup> e la percentuale incrementava al 68,75% al T2. Una carica >10<sup>6</sup> di *Lactobacillus* si osservava solo nel 12,5% al T1 dei giovani atleti e nel 31,25% al T2. Al T2 si assisteva ad una diminuzione statisticamente significativa della concentrazione delle S-IgA.

Discussione e conclusioni. I giovani calciatori sembrano correre un rischio maggiore nello sviluppo di patologie del cavo orale rispetto ai soggetti sedentari, causato sia da una scarsa attenzione alla salute del proprio cavo orale sia dagli effetti di alterazioni microbiologiche e immunologiche che si verificano nel tempo dell'allenamento.

PAROLE CHIAVE: Salute orale - Esercizio - Calcio - Immunoglobulina A - Saliva - Odontoiatria.

The main oral problems linked to the performance of the different sports activities are related to gnathologic disorders, trauma, alterations and/or oral diseases such as caries, erosion, dental stains, periodontal disease, and respiratory infections.

Soccer is one of the most popular team sports in the world and the high performance standards required to a soccer player can only be attained by a totally healthy individual.<sup>1</sup>

Previous studies reported that soccer players on an elite level seem to have a somewhat higher risk to develop dental caries than non-players, demonstrating the importance of establishing an oral health program based on health promotion.<sup>2,3</sup>

Dental caries is a lifetime disease, with highest priority risk group between 11-14 years of age group. Environmental factors such as culture, socioeconomic status, life style and dietary pattern can have a greater impact on caries-resistance or development of it.<sup>4</sup>

Dentistry applied to sports focuses on the study, revision, prevention and treatment of orofacial traumatology and it focus its attention on athlete dental health maintenance, on the diffusion of information and new knowledge within the sports medicine community.<sup>1</sup>

The research on young athletes has the aim of shed light on a mixed picture that encompasses various aspects of dentistry such as oral microbiology, oral hygiene and prevention. The results shown will highlight useful tools for identifying subject at risk, risk factors, and consequently for the implementation of primary prevention, such as guidelines on oral hygiene and nutrition, and because of treating sports diseases may be expensive, new preventive strategies and measures are required on economic as well as medical grounds. Before

I principali problemi orali correlati allo svolgimento delle diverse attività sportive sono legati a disturbi gnatologici, traumi, alterazioni e/o malattie orali, come carie, erosione, macchie dentali, malattia parodontale e infezioni respiratorie.

Il calcio è uno degli sport di squadra più popolari al mondo e gli elevati standard di prestazione richiesti a un calciatore possono essere raggiunti solo da un individuo del tutto sano<sup>1</sup>.

Studi precedenti hanno riferito che i calciatori d'élite sembrano manifestare un rischio leggermente più elevato di sviluppare carie rispetto ai non calciatori, a dimostrazione dell'importanza di stabilire un programma di salute orale basato sulla promozione sanitaria<sup>2,3</sup>.

La carie dentale è una malattia che dura tutta la vita, con il gruppo di massima priorità di rischio nella fascia compresa tra 11 e 14 anni. I fattori ambientali, quali cultura, status socio-economico, stile di vita e regime alimentare, possono avere un impatto maggiore sulla resistenza alla carie o sul suo sviluppo<sup>4</sup>.

L'odontoiatria applicata allo sport si concentra sullo studio, il riesame, la prevenzione e il trattamento di traumatologia oro-facciale e concentra l'attenzione sul mantenimento della salute dentale dell'atleta e sulla diffusione di informazioni e di nuove conoscenze nell'ambito della comunità di medicina dello sport<sup>1</sup>.

La ricerca sui giovani atleti ha l'obiettivo di far luce su un quadro eterogeneo, che coinvolga vari aspetti dell'odontoiatria, quali microbiologia orale, igiene orale e prevenzione. I risultati illustrati metteranno in evidenza gli strumenti utili per identificare soggetti a rischio, fattori di rischio e quindi per l'attuazione della prevenzione primaria, ad esempio linee guida in materia di igiene orale e alimentazione e, siccome la cura delle malattie dello sport può essere costosa, sono necessarie nuove strategie e misure di prevenzione per motivi economici e clinici. Prima di intraprendere un programma di

embarking on a program to prevent sports diseases it is necessary at first to define the extent of the problem and identify mechanisms and factors involved in.

The aim of this study was to evaluate the oral health of young soccer players and to determine how the physical exercise can influence the main key that characterizes the oral ecosystem.

## Materials and methods

### Study populations

The study populations were composed of 16 soccer players (study group), with mean age 13 years, and 40 sedentary individuals, with mean age 12.5 years, who don't practice any sport (control group). Young soccer players trained with a very intense time of training (2 h x 5 days/week). Controls were selected from patients referred to the Unit of Paediatric Dentistry, Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences, University of Chieti-Pescara. Both populations had a similar socioeconomic background.

Parental informed consent was obtained for all subjects before their enrolment into the study. The study protocol was approved by the Ethical Committee of the "G. d'Annunzio" University Medical Faculty.

The following inclusion criteria were considered:

- absence of systemic diseases that could affect the immune response or that could condition the bacterial colonization;
- negative use of antibiotics for three months prior to the beginning of the study;
- no orthodontic therapy;
- dental care not in progress.

A self-administered questionnaire was used to obtain data concerning hours and number of weekly training, a pathological complete history, a history of hard and soft tissues of the oral cavity, a family history, oral hygiene practices and snacking habits (supplement consumed, dietary information, such as intake of drinks sport supplements and consumption of chocolates, fruit juices, fluoride intake).

### Clinical monitoring and saliva collection

Before training sessions (T1), a clinical monitoring was performed and at each patient (soc-

*prevenzione delle malattie dello sport è necessario in primo luogo definire l'entità del problema e individuare i meccanismi e i fattori coinvolti.*

*L'obiettivo di questo studio era valutare la salute orale dei giovani calciatori e determinare come l'esercizio fisico possa influire sul fattore principale che caratterizza l'ecosistema orale.*

## Materiali e metodi

### Popolazioni dello studio

*Le popolazioni dello studio erano composte da 16 calciatori (gruppo di studio), con età media 13 anni, e 40 soggetti sedentari, con età media 12,5 anni, che non praticavano alcuno sport (gruppo di controllo). I giovani calciatori si allenavano con una tempistica molto intensa (2 ore x 5 giorni/settimana). I soggetti di controllo sono stati selezionati tra pazienti riferiti all'Unità di Odontoiatria Pediatrica, Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotechologiche, Università di Chieti-Pescara. Entrambe le popolazioni avevano un background socioeconomico simile.*

*Prima dell'arruolamento nello studio è stato ottenuto il consenso informato dei genitori di tutti i soggetti. Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato Etico della Facoltà di Medicina Universitaria "G. d'Annunzio".*

*Sono stati considerati i seguenti criteri di inclusione:*

- assenza di patologie sistemiche che potessero influire sulla risposta immunitaria e che potessero condizionare la colonizzazione batterica;
- uso negativo di antibiotici per tre mesi prima dell'inizio dello studio;
- nessuna terapia ortodontica
- cure dentistiche non in corso

*È stato utilizzato un questionario di autovalutazione per ottenere i dati concernenti le ore e il numero di allenamenti settimanali, anamnesi patologica completa, anamnesi di tessuti duri e molli del cavo orale, anamnesi familiare, pratiche di igiene orale e spuntini abitudinari (informazioni dietetiche sul consumo di integratori, ad esempio l'assunzione di bevande a base di integratori sportivi e consumo di cioccolato, succhi di frutta, assunzione di fluoro).*

### Monitoraggio clinico e prelievo della saliva

*Prima delle sessioni di allenamento (T1), si eseguiva il monitoraggio clinico e su ogni paziente (calciatori e soggetti controllo) si registravano i seguenti parametri. È stato registrato il numero di*

cer players and control) the following parameters were recorded. The number of decayed (D), missing (M) and filled (F) teeth (T) were recorded to assess caries prevalence according to WHO criteria.<sup>5</sup>

To evaluate the oral hygiene and periodontal status, a Plaque Index (PI) according to Silness & Løe, and the Løe & Silness Gingival Index (GI) were used, respectively.<sup>6,7</sup>

In addition, an oral examination of intraoral mucosal was performed and assessed the presence/absence of bad habits, malocclusion and parafunctional habits.

Before (T1) and after training sessions (T2) stimulated saliva by paraffin-chewing was collected with the help of a pasteur pipette.<sup>8</sup> The samples were immediately placed on ice and transferred to the laboratories for processing. An aliquot of 500 µL from each sample was transferred to an eppendorf and used for microbiological analysis. The remainder of the sample was placed in eppendorf tube, clarified by centrifugation at 10000 x g for 15 min at 4 °C and frozen at -20 °C for the titration of salivary IgA.

#### Microbiological assessment

The sample of saliva was processed within 60 min from sampling. Patient samples were dispersed by vortexing for 60 s, and each one was then subjected to a series of 10-fold dilutions in 0.1 M phosphate buffer. Aliquots of 100 ml from each dilution were spread onto Trypticase Soy Agar plates (Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, England) with 5% defibrinated sheep blood and incubated at 37 °C for 3 days in an anaerobic chamber (80/10/10, N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>; Don Whitley Scientific Ltd, Shipley, UK; International PBI SpA), for total viable count (TBC). Generally, isolation for microorganisms was carried out by methods previously reported.<sup>9</sup> In particular, for some bacterial strains, special microbiological procedures were applied. In brief, the following plates were inoculated and incubated at 37 °C for 48-72 h in an anaerobic chamber: Rogosa SL Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) to assess *Lactobacillus* spp.; Difco™ Mitis Salivarius Agar (BD) enriched with 10% sucrose and 300U bacitracin (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA) to assess *Streptococcus mutans*.

A definitive identification of all representative isolates was obtained by subculturing onto Brucella Blood Agar (Oxoid) followed by inocula-

zioni (T) cariati (D), mancanti (M) e otturati (F) per valutare la prevalenza della carie secondo i criteri OMS<sup>5</sup>.

Per valutare l'igiene orale e lo stato parodontale, sono stati usati rispettivamente<sup>6,7</sup> l'indice di placca (Plaque Index, PI) di Silness & Løe e l'indice gengivale (GI) di Løe & Silness (GI).

Inoltre, è stato eseguito un esame orale della mucosa intraorale e valutata la presenza/assenza di abitudini viziate, malocclusione e abitudini para-funzionali.

Prima (T1) e dopo gli allenamenti (T2) è stata prelevata la saliva stimolata da masticazione di paraffina con l'ausilio di una pipetta pasteur<sup>8</sup>. I campioni venivano immediatamente posti su ghiaccio e trasferiti ai laboratori per l'elaborazione. Un'aliquota di 500 µl di ciascun campione veniva trasferita in una provetta eppendorf ed utilizzata per l'analisi microbiologica. Il resto del campione è stato posto in provetta eppendorf, chiarificato mediante centrifugazione a 10.000 x g per 15 min a 4 °C e congelato a -20 °C per la titolazione di IgA salivari.

#### Valutazione microbiologica

Il campione di saliva è stato trasformato entro 60 minuti dal campionamento. I campioni dei pazienti sono stati dispersi vortexando per 60 s e ciascuno è stato quindi sottoposto ad una serie di diluizioni di 10 volte in tampone fosfato 0,1 M. Aliquote di 100 ml di ciascuna diluizione sono state diffuse su piastre Tryptic Soy Agar (Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, Inghilterra) con 5% di sangue ovino defibrinato e incubate a 37 °C per 3 giorni in una camera anaerobica (80/10/10, N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>; Don Whitley Scientific Ltd, Shipley, Regno Unito; International PBI SpA), per la conta vitale complessiva (TBC, total viable count). In generale, l'isolamento dei microrganismi è stato condotto con i metodi precedentemente riportati<sup>9</sup>. In particolare, per alcuni ceppi batterici, sono state applicate speciali procedure microbiologiche. In breve, le seguenti piastre sono state inoculate ed incubate a 37 °C per 48-72 ore in una camera anaerobica: Rogosa SL Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) per valutare *Lactobacillus* spp.; Difco™ Mitis Salivarius Agar (BD) arricchita con saccarosio al 10% e 300U bacitracina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA) per valutare *Streptococcus mutans*.

L'identificazione definitiva di tutti gli isolati rappresentativi è stata ottenuta mediante subcoltura su Brucella Blood Agar (Oxoid), seguita da inoculo delle colture purificate su un sistema automatizzato disponibile in commercio (bioMerieux). Per ogni dato microbico sono state effettuate registra-

tion of purified cultures onto a commercially packaged automated system (bioMerieux). For each microbial data were recorded as the colony count that formed *per ml* (CFUs/ml) on the growth plate.

#### Quantification of total IgA

The titration of salivary IgA was performed by using IMMAGE®Immunochemistry Systems (IGALC) (Beckman Coulter, Inc, Ireland).

#### Statistical analysis

For statistical analysis the Matched-Pairs Signed-Wilcoxon-rank test have been used. For all analyses a P-value of less than 0.05 was considered significant.

### Results

As shown in Tables I, II and in Figures 1, 2, the young players demonstrated to pose little attention to the health of the oral cavity, characterized a greater PII (0,85; 0,08 ctr), an increase of dental stains (42,85%; ctr 2%), increased frequency of bad habits, such as atypical swallowing (71,42%; ctr 17%) and nail biting (57,14%; ctr 0%) and low frequency of daily brushing (3/die: 0%; ctr 33%) compared to the controls, who did not practice any sport.

There weren't differences between the two

zioni, come conteggio delle colonie formatesi per ml (CFU/ml) sulla piastra di crescita.

#### Quantificazione di IgA totali

La titolazione di IgA salivari è stata eseguita utilizzando sistemi per immunocimica IMMAGE® (IGALC) (Beckman Coulter, Inc, Irlanda).

#### Analisi statistica

Per l'analisi statistica sono stati utilizzati test dei ranghi con segno di Wilcoxon a coppie. Per tutte le analisi, un valore P inferiore a 0,05 era considerato significativo.

### Risultati

Come illustrato nelle Tabelle I, II e nelle Figure 1, 2, i giovani calciatori dimostravano scarsa attenzione alla salute del cavo orale, caratterizzata da un maggiore PII (0,85; 0,08 ctr), un aumento delle discromie dentali (42,85%; ctr 2%), una maggiore frequenza di abitudini viziate, ad esempio deglutizione atipica (71,42%; ctr 17%) e mangiare le unghie (57,14%; ctr 0%) e bassa frequenza di spazzolamento quotidiano (3/die: 0%; ctr 33%) rispetto ai soggetti di controllo, che non praticavano alcuno sport.

Non c'erano differenze tra i due gruppi rispetto al valore di DMFT (calciatori 0,14 vs. ctr 0,12) e la sua componente principale, cioè la presenza di ca-

TABLE I.—Clinical characteristics of study population.  
TABELLA I. — Caratteristiche cliniche della popolazione dello studio.

	Soccer players	Controls
PII	0.85*	0.37*
GI	1	0.89
DMFT	0.14 ± 0.12	0.126±0.130
Decay presence	49.36%	44.12%
Dental stains	42.85%	2.00%
Recurrent aphthous stomatitis	9%	25%
Fluoride intake	27%	50%
Sport supplement drinks	15%	40%
allergies	28.57%	0%

Statistical significance of the differences between the groups: \*P<0.05.  
Rilevanza statistica delle differenze tra i gruppi: \*P<0,05.

TABLE II.—The Angle molar class distribution in both examined groups.  
TABELLA II. — La distribuzione della classe molare di Angle in entrambi i gruppi esaminati.

	1°	2°	3°
Soccer players	42.86%	57.14	0%
Controls	64%	30%	6%

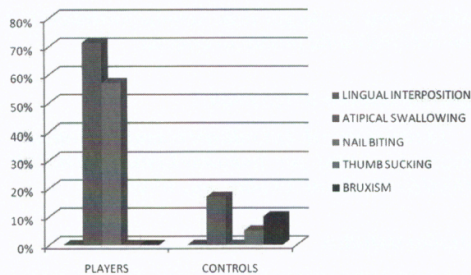


Figure 1.—Prevalence of bad habits of young players and controls.

Figura 1. — Prevalenza delle abitudini viziate nei giovani calciatori e nei soggetti di controllo.

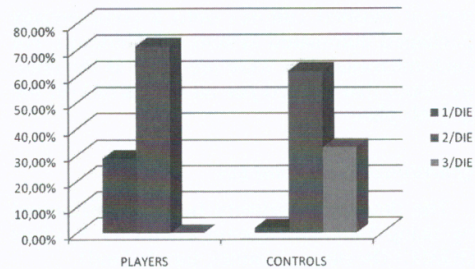


Figure 2.—Oral hygiene habits: frequency of daily tooth-brushing.

Figura 2. — Abitudini di igiene orale: frequenza dello spazzolamento quotidiano dei denti.

TABLE III.—Microbiological and immunological salivary analysis: total bacterial count distribution, presence of main cariogenic microorganisms and levels of IgA in both examined groups.

TABELLA III. — Analisi salivare microbiologica e immunologica: distribuzione del conteggio batterico totale, presenza dei principali microrganismi cariogeni e livelli di IgA in entrambi i gruppi esaminati.

	Soccer players		Controls
	Pre-training (T1)	Post-training (T2)	
TBC	1.35x10 <sup>7</sup> ±1.4x10 <sup>7</sup> *	3.6x 10 <sup>7</sup> ±2.35x10 <sup>7</sup> *	3.70x10 <sup>5</sup> ±2.91x10 <sup>5</sup> *
<i>S. mutans</i>	4.11x10 <sup>8</sup> ±3.61x10 <sup>8</sup> *	6.66x10 <sup>8</sup> ±1.11x10 <sup>8</sup> *	4.09x10 <sup>4</sup> ±4.19x10 <sup>4</sup> *
<i>L. acidophilus</i>	1.70x10 <sup>5</sup> ±6.60x10 <sup>5</sup> *	5.91x10 <sup>5</sup> ±2.20x10 <sup>5</sup> *	2.30x10 <sup>5</sup> ±2.55x10 <sup>4</sup> *
S-IgA	0.109±0.031*	0.07±0.037*	0.033±0.0046*

Statistical significance of the differences between the groups: \* p<0.05.

Rilevanza statistica delle differenze tra i gruppi: \*p<0,05.

groups relative to the value of DMFT (footballers 0.14 vs. ctr 0.12) and its main component, namely the presence of active caries, although the controls were more attentive to the daily intake of fluoride (players 27% vs. ctr 50%).

The young players had a statistically higher microbial load than the controls, both at T1 and T2 (Table III)

As shown in Table III, the training time involved an increase, not significant, in the bacterial load of *L. acidophilus* and *S. mutans*. The bacterial load of *L. acidophilus* and *S. mutans* reported in young soccer players was significantly higher than the control. It was interesting to note (Table IV) that at T1, 31.25% of the players had a charge of *S. mutans* than 10<sup>6</sup> and the percentage increased to 68.75% at T2. With regard to *L. acidophilus* a charge greater than 10<sup>6</sup> was observed only in 12.5% of young athletes and the percentage rised to 31.25% at T2.

After training, it was able to see a statistically significant decrease in the concentration of S-IgA (T1: 0.109±0.031, T2: 0.07±0.037) (Table III). The S-IgA average values were higher,

rie attive, anche se i soggetti di controllo erano più attenti all'assunzione giornaliera di fluoro (calciatori 27% vs. ctr 50%).

I giovani calciatori avevano un carico microbico statisticamente maggiore rispetto ai soggetti di controllo, sia a T1 che a T2 (Tabella III)

Come illustrato nella Tabella III, il periodo di allenamento comportava un aumento, non significativo, della carica batterica di *L. acidophilus* e *S. mutans*. La carica batterica di *L. acidophilus* e *S. mutans* riscontrata nei giovani calciatori era significativamente superiore rispetto al gruppo di controllo. Era interessante notare (Tabella IV) che a T1, il 31,25% dei calciatori aveva una carica di *S. mutans* superiore a 10<sup>6</sup> e che la percentuale saliva al 68,75% a T2. Per quanto riguarda il *L. acidophilus* una carica superiore a 10<sup>6</sup> è stata osservata solo nel 12,5% dei giovani atleti e la percentuale è arrivata al 31,25% a T2.

Dopo l'allenamento, è stato possibile osservare una diminuzione statisticamente significativa della concentrazione di S-IgA (T1: 0,109±0,031, T2: 0,07±0,037) (Tabella III). I valori medi di S-IgA erano superiori a T1, ed inferiori a T2, un dato

TABLE IV.—Number (%) of soccer players with load microbial of cariogenic bacteria >10<sup>6</sup>.  
 TABELLA IV. — Numero (%) di calciatori con carica microbica di batteri cariogeni >10<sup>6</sup>.

Bacterial count >10 <sup>6</sup>	Pretraining	Post-training
<i>S. mutans</i>	5 (31.25%)	11 (68.75%)
<i>L. acidophilus</i>	2 (12.5%)	5 (31.25%)

at T1, and lower at T2, a statistically significant compared to the control (0.033±0.0046).

### Discussion

The young soccer players, analyzed in this pilot study, even if belonging to high socioeconomic geographical area and diligently attending a club team, had shown the need to pose little attention to the health of the oral cavity, which was characterized by a larger plaque index, a greater presence of dental stains, high frequency of bad habits and poor frequency of daily tooth brushing compared to the controls that live in different socioeconomic and geographical area and that didn't practice any sport.

The young soccer players of this study presented higher values of plaque compared to the controls, but these values were significantly lower than those reported by Gay-Escoda *et al.*<sup>1</sup> for the players of the C.F. Barcelona (Plaque Index: 2,3), while index values of bleeding were similar.

In addition, Gay Escoda *et al.*<sup>1</sup> reported values of DMFT of 5,7, significantly higher than those reported in this study, most likely due to the difference in mean age of the players analyzed in two different studies (21 Barcelona *vs.* 13 of this study).

In this study, the presence of active caries was found in 49,36% of young athletes, values similar to those reported by de Sant'Anna *et al.*<sup>2</sup> in young female soccer players (57%). These results, if associated with the poor oral hygiene habits demonstrated in this study by the young players, it could confirm the need to establish in soccer players a prevention program for oral health.

The bad habits, like *e.g.* nail biting, constant use of chewing gum, thumb sucking, are common among adolescents and generally they do not involve alterations of the stomatognathic system. However, when the activity exceeds the physiological tolerance of the individual, the system is altered and can develop problems affecting dentition and musculature.<sup>10</sup>

The results of microbiological analysis

statisticamente significativo rispetto al gruppo di controllo (0,033±0,0046).

### Discussione

I giovani calciatori analizzati in questo studio pilota, sebbene appartenenti ad un'area geografica di livello elevato dal punto vista socioeconomico e diligentemente partecipanti ad una squadra di calcio, avevano evidenziato la necessità di prestare scarsa attenzione alla salute del cavo orale, caratterizzato da un indice di placca più alto, da una maggiore presenza di discromie dentali, dall'elevata frequenza di cattive abitudini e dalla scarsa frequenza dello spazzolamento quotidiano dei denti, rispetto ai soggetti di controllo, che vivevano in una diversa area socio-economica e territoriale e che non praticavano alcuno sport.

I giovani calciatori di questo studio presentavano valori più elevati di placca rispetto ai soggetti di controllo, ma questi valori erano significativamente inferiori a quelli riportati da Gay-Escoda *et al.*<sup>1</sup> per i giocatori del C.F. Barcelona (Indice di placca: 2,3), mentre i valori dell'indice di sanguinamento erano simili. Inoltre, Gay Escoda *et al.*<sup>1</sup> riferivano valori di DMFT pari a 5,7, significativamente superiori a quelli riportati in questo studio, molto probabilmente a causa della differenza di età media dei giocatori analizzati nei due diversi studi (21 Barcelona *vs.* 13 di questo studio).

In questo studio, la presenza di carie attive riscontrate era pari al 49,36% dei giovani atleti, valori simili a quelli riportati da De Sant'Anna *et al.*<sup>2</sup> in giovani calciatrici (57%). Questi risultati, se associati alle cattive abitudini di igiene orale rilevate in questo studio da parte dei giovani calciatori, potrebbero confermare la necessità di istituire per i giocatori di calcio un programma di prevenzione per la salute orale.

Le viziate abitudini, come ad esempio mangiarsi le unghie, l'uso costante di gomma da masticare e succhiare il pollice, sono comuni tra gli adolescenti e in genere non comportano alterazioni del sistema stomatognatico. Tuttavia, quando l'attività supera la tolleranza fisiologica dell'individuo, il sistema si altera e può sviluppare problemi di dentizione e muscolatura<sup>10</sup>.

I risultati delle analisi microbiologiche hanno



showed that young players had a statistically higher microbial load than controls, both before and after training. The training involved an increase of the bacterial load of *L. fermentum* and *S. mutans* but these values didn't have significant value to the Wilcoxon rank-test. It was still interesting to note that the presence of *S. mutans* and *Lactobacillus* spp in saliva with values  $10^6$  cfu/ml was found in most of the study samples. In particular, before training the 31.25% of the players had a charge of *S. mutans*  $>10^6$  and the percentage rised to 68.75% after training. With regard to *Lactobacillus* spp a charge than  $>10^6$  was observed only in 12.5% of young athletes and the percentage increased to 31.25% after training.

*Lactobacillus* spp and *S. mutans* play a role in the formation of biofilms and because of the acidogenic and acidophilic properties of those species, and to achieve the maintenance of PH balance in dental plaque, to avoid the demineralization of teeth, it is important to evaluate the presence of both species, in plaque or saliva.<sup>11</sup>

The results of this study are in agreement with De Sant'Anna *et al.*<sup>2</sup> that, in analyzing buccal and salivary profile of 18 girls of a football team (ages 13-19 years) reported a rich presence of cariogenic flora, because 50% of athletes presented  $10^5$  to  $10^6$  *S. mutans* and 66%  $10^3$  of *Lactobacillus*. Analogously, Ljungberg *et al.*<sup>3</sup> have seen in football players, aged between 17 and 30 years, mean values for DFS, plaque index, mutans streptococci and lactobacilli less favourable for the players, but none of the difference was statistically significant.

According to these authors, it can conclude that soccer players on an elite level seem to have a somewhat higher risk to develop dental caries than nonplayers and recommend the regular use of fluoride-containing toothpaste probably to some part compensates for this increased risk.

In this study, after training, there was a statistically significant decrease in the concentration of S-IgA. The S-IgA average values were higher before training, and lower after training, in a statistically significant way compared to the control values.

The results of this study confirmed as reported in the majority of studies that acute bouts of exercise can reduce salivary IgA levels. In fact, salivary IgA concentrations have been shown to be reduced after intense exercise in elite athletes training in a variety of endurance sports, including soccer.<sup>12-16</sup>

*dimostrato che i giovani calciatori avevano un carico microbico statisticamente maggiore rispetto ai soggetti di controllo, sia prima che dopo l'allenamento. L'allenamento comportava un aumento della carica batterica di L. fermentum e S. mutans ma questi valori non avevano un valore significativo al test dei ranghi di Wilcoxon. È stato comunque interessante notare che la presenza di S. mutans e di Lactobacillus spp nella saliva con valori di  $10^6$  cfu/ml è stata riscontrata nella maggior parte dei campioni di studio. In particolare, prima dell'allenamento, il 31,25% dei giocatori aveva una carica di S. mutans  $>10^6$  e la percentuale saliva al 68,75% dopo l'allenamento. Per quanto riguarda il Lactobacillus spp una carica superiore a  $10^6$  è stata osservata solo nel 12,5% dei giovani atleti e la percentuale è arrivata al 31,25% dopo l'allenamento.*

*Lactobacillus* spp e *S. mutans* svolgono un ruolo nella formazione delle biopellicole e, a causa delle proprietà acidogene e acidofile di tali specie, e per ottenere il mantenimento dell'equilibrio del PH nella placca dentale ed evitare la demineralizzazione dei denti, è importante valutare la presenza di entrambe le specie, nella saliva o nella placca<sup>11</sup>.

*I risultati di questo studio sono in accordo con De Sant'Anna *et al.*<sup>2</sup> che, nell'analizzare il profilo boccale e salivare di 18 ragazze di una squadra di calcio (età 13-19 anni), riferivano una ricca presenza di flora cariogena, perché il 50% delle atlete presentava da  $10^5$  a  $10^6$  *S. mutans* e il 66%  $10^3$  di *Lactobacillus*. Analogamente, Ljungberg *et al.*<sup>3</sup> hanno osservato nei calciatori di età compresa tra i 17 e i 30 anni, valori medi per DFS, indice di placca, streptococchi mutans e lattobacilli meno favorevoli per i giocatori, ma nessuna differenza era statisticamente significativa.*

*Secondo questi autori, si può concludere che i calciatori d'élite abbiano un rischio leggermente più elevato di sviluppare carie rispetto ai non giocatori e raccomandano l'uso regolare di dentifricio contenente fluoro, che probabilmente in parte compensa questo aumento del rischio.*

*In questo studio, dopo l'allenamento, è stata osservata una diminuzione statisticamente significativa della concentrazione di S-IgA. I valori medi di S-IgA sono risultati più alti prima dell'allenamento e inferiori dopo l'allenamento, in modo statisticamente significativo rispetto ai soggetti di controllo.*

*I risultati di questo studio confermano quanto riportato nella maggior parte degli studi, vale a dire che sessioni acute di esercizio fisico possono ridurre i livelli di IgA salivari. In effetti, le concentrazioni di IgA salivari hanno dimostrato una diminuzione dopo l'esercizio intenso dell'allenamento degli atleti d'élite in diversi sport di resistenza, compreso il calcio<sup>12-16</sup>.*

Several studies demonstrated that the Salivary IgA concentrations changes may render the athletes more vulnerable to respiratory infections after exercise and even at rest during the later stages of the competitive season.<sup>14, 15</sup> Secretory IgA (S-IgA) constitutes the main immunoglobulin isotype found in saliva and it is considered to be the first line of defense of the host against pathogens which colonize or invade the oral cavity.<sup>14, 15, 17</sup> A drop in S-IgA levels determines a depression of mucosal immunity and so the athletes can experience a high incidence of infections and this could impact on oral health, in particular on caries development.

From this pilot study it was apparent that the training time is the period in which there is a massive growth of intraoral bacteria, accompanied by a statistically significant decrease in the concentration of S-IgA.

### Conclusions

In conclusion, the young players appeared to run an increased risk in the development of oral diseases compared to sedentary individuals, caused either by a lack of attention to the health of the oral cavity from the effects of both immunological and microbiological changes that occur in time will. It was clear the need to establish in footballers a prevention program to the health of the oral cavity. This study suggested that the values to be analyzed to determine a profile of subjects at risk of caries were: age of the subject; prevalence of *S. mutans*, *Lactobacillus* spp; titration of S-IgA; frequency and quantity in sugar consumption; intensity, duration and frequency of training. The counts of cariogenic bacteria could be combined with the clinical data (DMFS, PL, BOP), and in such a way, we would be able to measure and identify with greater predictability of the high-risk individuals.

### References/Bibliografia

- 1) Gay-Escoda C, Vieira-Duarte-Pereira DM, Ardèvol J, Pruna R, Fernandez J, Val-maseda-Castellón E. Study of the effect of oral health on physical condition of professional soccer players of the Football Club Barcelona. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16:436-9.
- 2) De Sant'Anna GR, Simionato MR, Suzuki Me. Sports dentistry: buccal and salivary profile of a female soccer team. *Quintessence Int* 2004;35:649-52
- 3) Ljungberg G, Birkhed D. Dental caries in players belonging to a Swedish soccer team. *Swed Dent J* 1990;14:261-6.
- 4) Farsi N. Dental caries in relation to sal-

- ivary factors in Saudi population groups. *J Contemp Dent Pract* 2008;9:16-23.
- 5) Oral health survey basic methods. World Health Organization, 1997
- 6) Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:121-35.
- 7) Løe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-51.
- 8) Giuca MR, Giuggioli E, Metelli MR, Pasini M, Iezzi G, Ercole S *et al*. Effects of cigarette smoke on salivary superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity. *J Biol Regul Homeost Agents* 2010;24:359-66.

*Diversi studi hanno dimostrato che i cambiamenti delle concentrazioni di IgA salivari possono rendere gli atleti più vulnerabili alle infezioni respiratorie dopo l'esercizio e anche a riposo, durante le ultime fasi della stagione agonistica*<sup>14, 15</sup>. *L'IgA secretoria (S-IgA) costituisce l'isotipo principale di immunoglobulina rilevato nella saliva ed è considerata la prima linea di difesa dell'ospite contro i patogeni che colonizzano o invadono la cavità orale*<sup>14, 15, 17</sup>. *Una diminuzione dei livelli di S-IgA determina una depressione dell'immunità mucosale e così gli atleti possono subire un'elevata incidenza di infezioni e questo potrebbe influire sulla salute orale, in particolare sullo sviluppo di carie.*

*In questo studio pilota era evidente che l'allenamento è il periodo di massiccia crescita di batteri intraorali, accompagnata da una diminuzione statisticamente significativa della concentrazione di S-IgA.*

### Conclusioni

*In conclusione, i giovani calciatori sembravano correre un maggiore rischio nello sviluppo di malattie orali rispetto ai soggetti sedentari, causato da una mancanza di attenzione per la salute del cavo orale, o dagli effetti dei cambiamenti immunologici e microbiologici che si verificano nel tempo. È risultata evidente la necessità di stabilire un programma di prevenzione per la salute del cavo orale dedicato ai calciatori. Questo studio ha suggerito quali fossero i valori da analizzare per determinare un profilo di soggetti a rischio di carie: età del soggetto; prevalenza di *S. mutans*, *Lactobacillus* spp; titolazione di S-IgA; frequenza e quantità del consumo di zucchero; intensità, durata e frequenza dell'allenamento. I conteggi dei batteri cariogeni potrebbero essere combinati con i dati clinici (DMF, PL, BOP) e in tal modo, saremmo in grado di misurare e identificare con maggiore prevedibilità gli individui ad alto rischio.*

- 9) D'Ercole S, Catamo G, Tripodi D, Piccolomini R. Comparison of culture methods and multiplex PCR for the detection of periodontopathogenic bacteria in biofilm associated with severe forms of periodontitis. *New Microbiol* 2008;31:383-91.
- 10) Winocur E, Littner D, Adams I, Gavish A. Oral habits and their association with signs and symptoms of temporomandibular disorders in adolescents: a gender comparison. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:482-7.
- 11) Llena-Puy MC, Montañana-Llorens C, Forner-Navarro L. Cariogenic oral flora and its relation to dental caries. *ASDC J Dent Child* 2000;67:42-6.
- 12) Novas AM, Rowbottom DG, Jenkins

- DG. Tennis, incidence of URTI and salivary IgA. *Int J Sports Med* 2003;24:223-9.
- 13) Francis JL, Gleeson M, Pyne DB, Callister R, Clancy RL. Variation of salivary immunoglobulins in exercising and sedentary populations. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37:571-8.
- 14) Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* 2007;103:693-9.
- 15) Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC *et al*. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2011;17:6-63.
- 16) Tripodi D, D'Ercole S, Pasini M, Nas-  
tasio S, Bonini S, Giuca MR. Inflammatory and immunitary modifications in saliva of subjects with labial and tongue piercing. *Eur J Inflamm* 2011;9:175-183.
- 17) Marcotte H, Lavoie MC. Oral Microbial Ecology and the Role of Salivary Immunoglobulin A. *Microbiol. Mol Biol Rev* 1998;62:71-109.

---

*Conflicts of interest.*—None.

The paper has been presented at the XXXII World Congress of Sport Medicine, Rome 27-30 September 2012.

Received on April 23, 2012 – Accepted for publication on February 14, 2013.

Corresponding author: D. Tripodi, Department of Medical, Oral, Biotechnological Sciences, "G. d'Annunzio" University, Via dei Vestini 31, 66100 Chieti, Italy. E-mail: tripodi@unich.it