

EVALUACION DE UN NUEVO TEST COLORIMETRICO (VIP) PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE LACTOBACILOS EN SALIVA

Dra. Virginia Papone Yorio *

Dr. Enrique Zinemanas **

Palabra clave: Lactobacilos

INTRODUCCION

Los lactobacilos están íntimamente asociados con el desarrollo de caries aislándoselos tanto en caries de superficie coronaria como en caries de superficie radicular (3,4). Se los considera patógenos secundarios de la misma (9). Se puede afirmar que aunque los lactobacilos no son esenciales en la lesión, el aumento de los mismos en saliva nos indica la existencia de lesiones cariosas o condiciones acidogénicas que existen en la boca, como en casos de aparatología y consumo elevado de hidratos de carbono. Mediante este test predictivo describimos una forma cualitativa sencilla y rápida para poner de manifiesto la presencia de lactobacilos en saliva, es decir que mediante el mismo podemos también seleccionar pacientes con futuro desarrollo de caries (17). En esta investigación estudiamos la correlación entre resultados obtenidos y el recuento de lactobacilos en el medio de Rogosa.

MATERIALES Y METODOS

Participantes: El grupo de 92 personas que intervinieron en esta investigación pertenecen a niños preescolares y escolares, y a universitarios que representan grupos con número variable de lactobacilos de acuerdo al método descrito por Rogosa (12).

Muestra de saliva: De cada sujeto aproximadamente 5 ml de saliva estimulada con parafina estéril fue recogida en frascos de vidrio estériles. Se comenzó el procedimiento bacteriológico aproximadamente una hora después de la colección de las muestras de saliva.

Medios de cultivo: Para nuestro estudio usamos el medio de Rogosa (12) modificado con verde de bromocresol (10 ml de solución de verde de bromocresol en 240 ml de medio de Rogosa), vertiendo 4 ml en cada tubo. De cada muestra se hizo una siembra en medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol y una siembra en agar Rogosa para estudio comparativo. Tanto para la primera como para la segunda siembra se diluye la saliva en solución buffer. Para preparar dicha solución se toman 50 ml de solución stock, se le agregan 4 gr de CIK, se lleva a un volumen de agua destilada de 1 litro, se controla el pH (7.3) y se esteriliza. La solución stock consta de 125 ml de 1M K_2HPO_4 y 41.6 ml de 1M KH_2PO_4 . Se diluye entonces 1 ml de saliva en 9 ml de solución

* Bacteriología-Jefe de Lab. Cátedra de Microbiología

** Análisis estadístico- Asistente de Cátedra de Bioquímica

buffer y de esa dilución se toman con pipeta 0.2 ml y se siembra 0.1 ml en medio de Rogosa y 0.1 ml en medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol. Para la técnica de Rogosa se procede de acuerdo al método descrito por Rogosa et al. (12). Se incuban las placas de Rogosa en atmósfera de CO₂ en estufa a 37°C y los tubos con medio de Rogosa modificado con verde bromocresol en estufa a 37°C.

Lectura: Las placas de Rogosa se leen a las 48 horas. Los tubos con medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol se leen a las 24 y 48 horas. Con respecto al medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol, si a las 24 horas hay un viraje del color al amarillo se considera (+++). Si a las 48 horas se observa: un viraje del color amarillo se considera (++), un viraje del color amarillo verdoso se considera (++) si hay un viraje al verde amarillento se considera (+) y si no vira manteniendo el color verde del medio se considera (-).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra la correlación entre el recuento de lactobacilos en medio de Rogosa en placa y el desarrollo en el medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol en tubo. En la figura 2 tenemos la representación gráfica de la tabla 1. En la Fig. 2 la abcisa muestra el viraje de color a las 24 horas y 48 horas y en la ordenada se muestra el alto, mediano, bajo y cero recuento de lactobacilos en el medio de Rogosa en placa.

En la figura 1 se muestra la correlación entre el viraje del color del medio de Rogosa modificado con verde de bro-

mocresol colocado en tubo, a las 24 y 48 horas (abcisa) y el logaritmo del recuento de colonias de lactobacilos obtenidas de la siembra de saliva en placas con el medio de Rogosa (ordenada).

Hay una muy buena correlación entre ambas técnicas como se observa en las gráficas (Fig. 1 y 2).

Recuento de lactobacilos (ufc)	Nº tomas	24h	48h
0 colonia (10 tomas)	9 1		- +
Bajo recuento	13		-
1 a 10000 (33 tomas)	13 4 2		+
Mediano recuento (26 tomas)	1 14 11 a 50000 2 1	++++	++ + +++
Alto recuento más de 50000 (23 tomas)	19 2 2	++++	++ +++

Tabla 1.- Recuento de lactobacilos en el medio de Rogosa en placa y viraje a las 24 y 48 horas del medio de Rogosa modificado de 92 tomas de saliva.

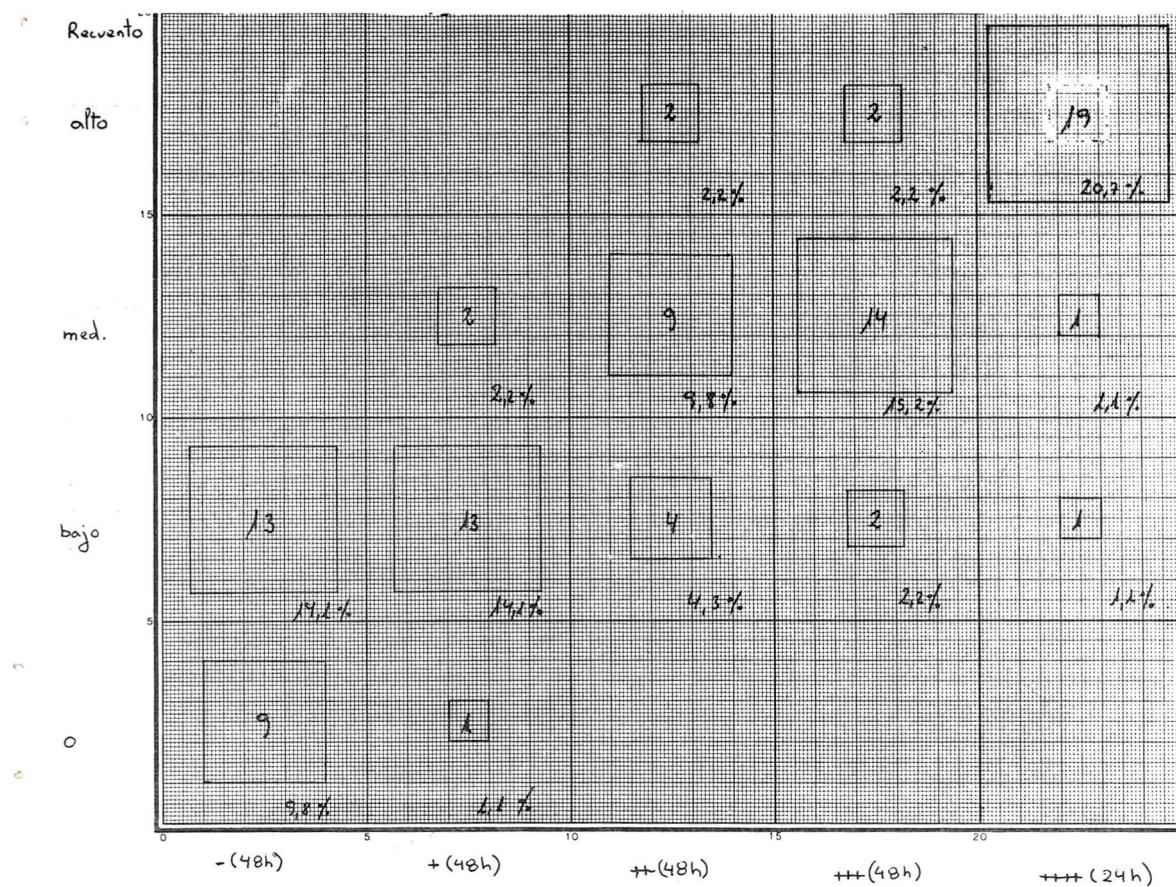


Figura 1.- Correlación entre un test colorímetrico (VIP) y el recuento de lactobacilos en placa

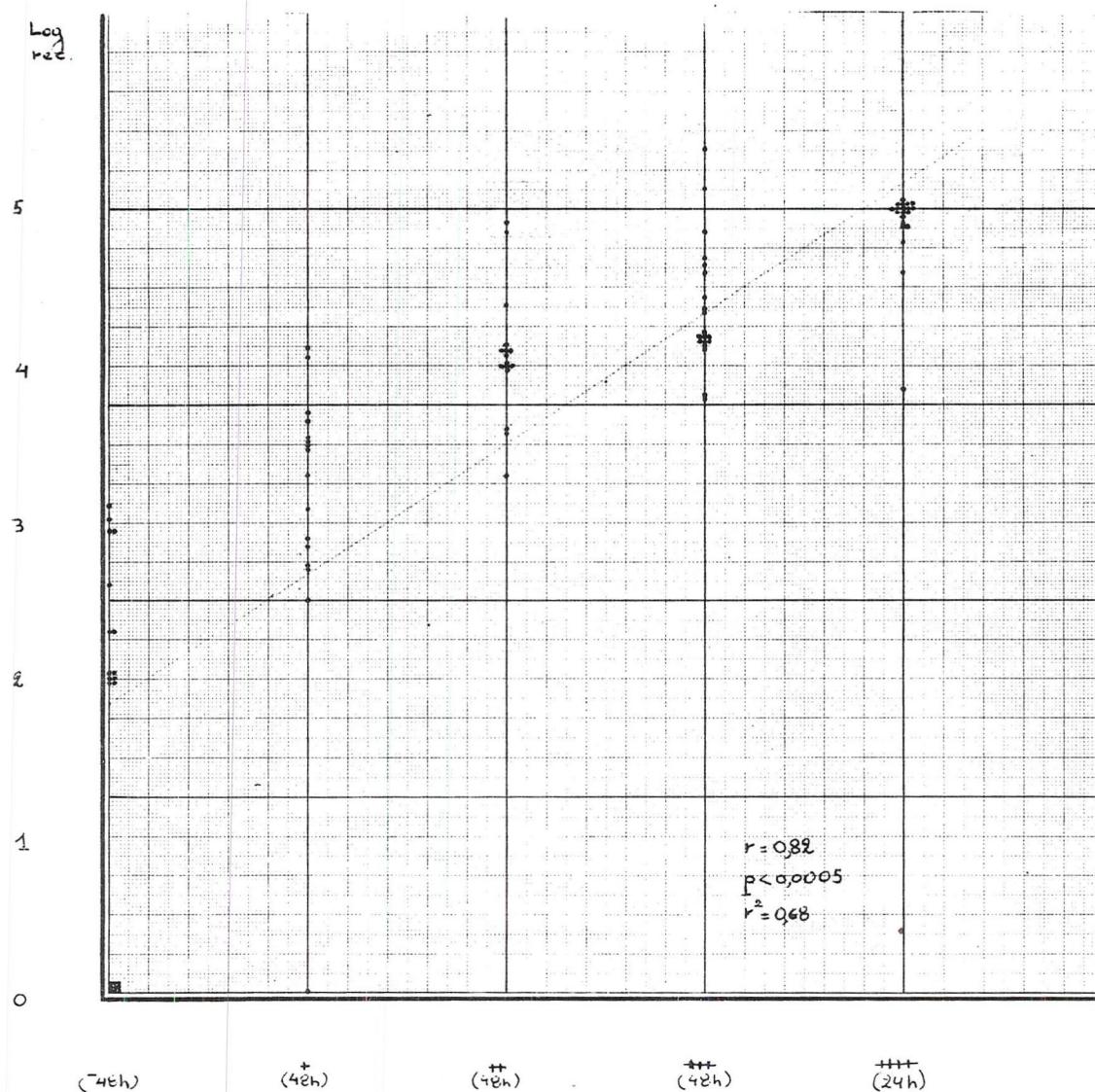


Figura 2.- Representación gráfica de la tabla 1.

DISCUSION

Mediante este test podemos utilizar una técnica rápida y simple para determinar la presencia de lactobacilos en saliva, nos permite ahorrar medio de cultivo, no necesita incubación en atmósfera de CO_2 , ni ocupa mucho espacio en la estufa.

Los resultados obtenidos con este test colorimétrico basado en el medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol muestran coincidencia con aquellos obtenidos con el recuento de lactobacilos en el medio de Rogosa.

Es una técnica útil para estudios clínicos en grupo donde el objetivo es seleccionar pacientes con alto riesgo de caries aunque no nos permite determinar el número exacto de lactobacilos presentes en saliva.

RESUMEN

Esta técnica utilizando medio de Rogosa modificado con verde de bromocresol, colocado en tubos (10 ml) conteniendo 4 ml cada uno, fue desarrollada para la estimación cualitativa de lactobacilos en saliva en forma rápida. Con una pipeta sembramos 0.1 ml de saliva diluida en el medio de cultivo citado anteriormente. Se lleva a incubar a 37°C y se hace la lectura a las 24 y 48 horas. Los resultados obtenidos coinciden en gran parte con el recuento de lactobacilos en medio de Rogosa.

SUMMARY

This techniques using Rogosa agar modified with green of bromocresol, placed into tubes (10 ml) conteining 4 ml, was developed for qualitative estimation in saliva of lactobacilli in a quick form. We spotted with a pipette 0,1ml of saliva dilution into different

tubes with the culture medium previously mentioned. The tubes wers incubated at 37°C for 24 and 48 hours. The results obtained showed a great agreement with the number of latobacilli in the agar.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BIRKHED; EDWARDSON ; ANDERSSON. Comparison among a dipslide test plate count and Snyder test for estimating numbers of lactobacilli in human saliva. *J. Dent. Res.*,60(11): 1832-41,1981.-
- 2.-DUCHIN,S.: Relationship of *St. mutans* and lactobacilli to incipient smooth surface dental caries in man. *Arch. Oral Biol.*, 23:779-786, 1978.-
- 3.-ELLEN,R ; BANTING,D ;FILLERY,E.*St. mutans* and lactobacillus detection in the assessment of dental root surface caries risk. *J. Dent. Res.*,64:1245-9,1985.-
- 4.- FURE, S.; ROMAMEC, M.; EMILSON; KRASSE, B. Proportions of *St. mutans*, lactobacilli and *Actinomyces* spp. in root surface plaque. *Scand. J. Dent. Res.* ,95:119-21, 1987.-
- 5.-KINGMAN,A;LITTLE,W.Associations between *St.mutans* and lactobacillus levels and caries incidence in U.S. adolescent population (abst.) .*J. Dent. Res.*, 66 (Spec.Issue):327, 1987.-
- 6.-KLOCK, B., KRASSE, B. A comparision between different methods for prediction of caries activity. *Scan. J. Dent. Res.* ,87:129-139, 1979.-
- 7.-KÖHLER, B.; ANDREEN, I. Effect of caries preventive measures on *St.mutans* and lacto-

- bacilli in selected mothers. *Scand. J. Dent. Res.*, 90:102-108, 1982.-
- 8.- LAMAS, M. Simple test for caries susceptibility. *International Dent.J.*, 35:109-117, 1985.-
- 9.- LOESCHE, W. Isolation of plaque bacteria in Dental caries: a treatable infection .U.S.A.: Charles C. Thomas, 1982, Cap 2, p. 9.
- 10.- MATTE, M. Selection of a micromethod and its use in the estimation of salivary St.mutans and Lactobacillus counts in relation to dental caries in Zanzanian children. *Caries Res.*, 19:497-506; June 1985.-
- 11.- RODRIGUEZ, F. E. Quantitative Incidence of Lactobacillus acidophilus in the oral cavity as a presumptive index of susceptibility to dental caries. *J. Am. Dent. Assoc.*, 18: 2.118-2.135, 1931.
- 12.- ROGOSA, M.; MITCHELL, J.A. A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. *J. Dent. Res.*, 30: 682-689, 1951.
- 13.- SIMS, W. The interpretation and use of Synder test and Lactobacillus count. *American Dent. Asoc.*, 80: 1315, 1970.
- 14.- SNYDER, M.L. Evaluation of laboratory test for the estimation of caries activity. *J. A. D.A.*, 65: 30, july 1962.
- 15.- SNYDER, M. and CLARKE. Evaluation of colorimetric test (Snyder). *J. Dent. Res.*, 29 : 298-303, 1950.
- 16.- STECKSEN; BLICKS, C. Salivary counts of lactobacilli and St. mutans in caries prediction. *Scand. J. Dent. Res.*, 93: 204-212. 1985.
- 17.- STEINLE, C.; MADONIA, J.V. Relationship of lactobacilli to the carious lesion. *J. Dent. Res.*, 46: 191-196, 1967.
- 18.- WESTERGREN and KRASSE. Evaluation of a micromethod for determination of St. mutans and Lactobacillus infection. *J. Clinical Microbiol.*, 82-83, 1978.
- 19.- ZICKERT, I.; EMILSON, C.; KRASSE, B.. Prediction of caries incidence based on salivary St. mutans and lactobacillus counts (abst). *J. Dent. Res.*, 64(Spec. Issue): 346, 1985.-