

# EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS EN LA FORMACION DE LA CARIES DENTAL<sup>1</sup>

RAYMOND PAULY S.<sup>2</sup> Y THELMA UGALDE B.<sup>3</sup>

## INTRODUCCION

Hoy día es un hecho aceptado en el campo científico, que el papel fundamental en el origen de la caries dental lo desempeña el *Lactobacillus acidophilus* por su acción sobre los carbohidratos. Se admite, asimismo, que estos dos elementos, en conjunto con el diente, constituyen los tres factores básicos en el desarrollo de la lesión.

Pero debe admitirse que la comprobación de este hecho no resuelve por sí sola el problema de la caries dental, ya que para el control y prevención de la misma deben considerarse algunos aspectos que ameritan nuevas investigaciones. Uno de ellos, y quizás de los más importantes, es el de los procedimientos bacteriológicos para el aislamiento, estudio y recuento del *Lactobacillus acidophilus*.

La Sección de Odontología Infantil de la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica ha venido realizando investigaciones de esta índole durante los 3 últimos años, y sus resultados comprueban el papel que desempeñan los carbohidratos y el *Lactobacillus acidophilus* en el origen de la enfermedad, y han permitido asimismo formular una serie de recomendaciones para los programas de salud pública dental tendientes a la prevención de la caries en el medio costarricense. El estudio más reciente, y que se describe en esta ocasión, ha tenido el mismo propósito, y también la finalidad de comprobar el valor de un nuevo medio de cultivo para el *Lactobacillus acidophilus*,

el medio LBS, así como estudiar detenidamente ciertos aspectos de las colonias y del microorganismo en sí.

## MATERIAL Y METODO

El estudio comprende 65 niños de los 3 a 15 años de edad, de ambos sexos, de diferente condición económica y social, y abarca dos aspectos: 1) Interrogatorio y examen clínico de los dientes y 2) Procedimiento bacteriológico.

### 1. *Interrogatorio y examen clínico de los dientes*

El interrogatorio se efectuó en presencia de las madres, con el propósito de obtener datos de la mayor exactitud posible, los cuales se anotaron en la hoja de "control de caries" empleada por la Sección de Odontología Infantil. Algunos de estos datos no corresponden específicamente al estudio, pero se obtuvieron para efecto de ordenamiento y acumular material para futuras investigaciones. Pueden resumirse del siguiente modo:

a) *Datos de orden general.* Nombre, edad, sexo, raza, estatura, peso, condición económica, dirección, padre o encargado.

b) *Condición general de la boca.* Se determinó después del examen clínico, considerando: número de caries, progreso de las mismas, condición de las obturaciones, piezas extraídas e indicadas para extraer (mortalidad dentaria), condición de los tejidos blandos y estado de la higiene. Con esta base, los casos se clasificaron en los 4 grupos siguientes: buena, regular, mala y pésima.

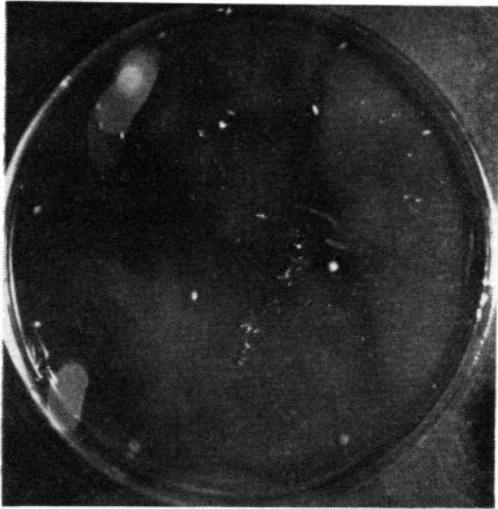
c) *Consumo de azúcar.* Se estimó en forma aproximada, por medio del interrogatorio a la madre y al niño, la cantidad de azúcar que consumía este último durante el día y cada caso se anotó en uno de los siguientes grupos: nada, ocasional, frecuente y excesivo.

<sup>1</sup> Trabajo presentado en el Primer Congreso de la Federación Odontológica de Centro América y Panamá llevado a cabo en Guatemala, C. A., del 11 al 14 de septiembre de 1957.

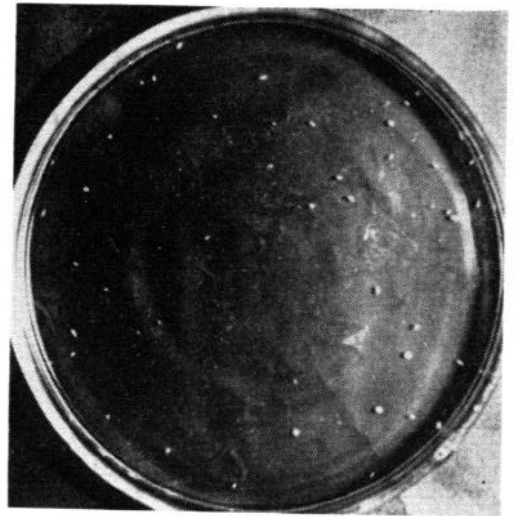
<sup>2</sup> Jefe de la Sección de Odontología Infantil, Cátedra de Odontología Infantil, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

<sup>3</sup> Contribución al estudio para la preparación de su tesis de grado.

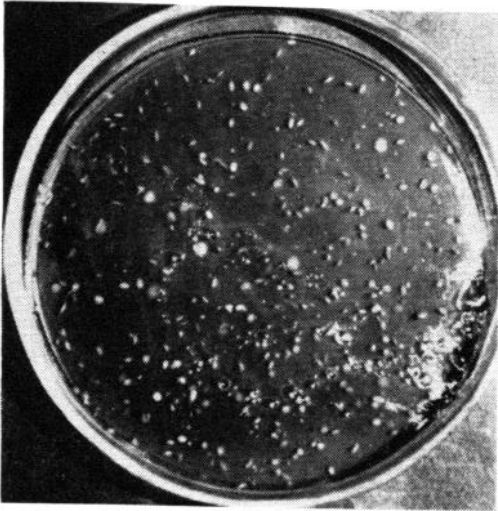
## COLONIAS DE LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS CULTIVADAS EN EL MEDIO LBS



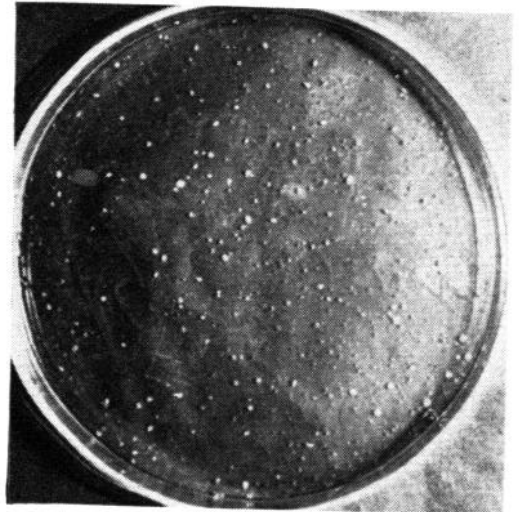
Recuento aproximado de 1.000 L. a./c.c.



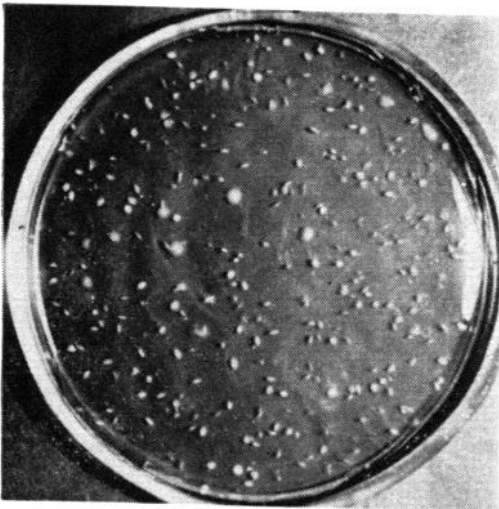
Recuento aproximado de 7.500 L. a./c.c.



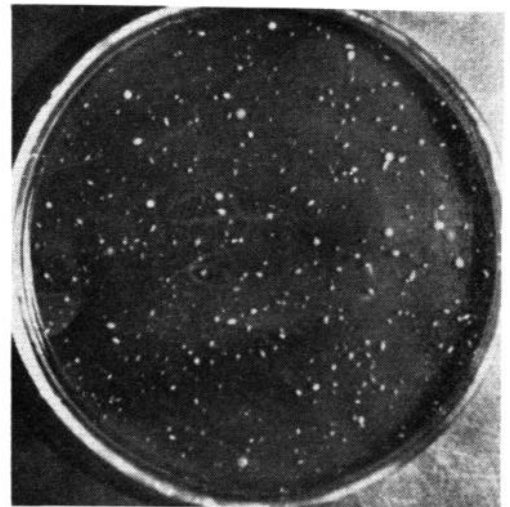
Recuento aproximado de 42.000 L. a./c.c.



Recuento aproximado de 72.000 L. a./c.c.



Recuento aproximado de 141.000 L. a./c.c.



Recuento aproximado de 171.000 L. a./c.c.

(Película de ASA 100, f/5.6, 1/60 seg., aprox. 25 cm.)

El examen clínico de los dientes se efectuó con instrumental adecuado, siguiendo el mismo orden en todos los casos y revisando cuidadosamente todas las superficies, susceptibles o no, de cada pieza. Se anotó el número de caries existentes hasta ese momento, por considerarse el punto básico o la consecuencia directa de la acción del *Lactobacillus acidophilus* a la hora de efectuar los recuentos. Con carácter secundario, se determinó el índice CPO de cada una de las muestras.

## 2. Procedimiento bacteriológico

Este procedimiento se siguió con el fin de determinar el número de *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico de saliva (L. a./c.c.) en cada una de las muestras, y al mismo tiempo, para obtener un material que permitiera efectuar estudios sobre las colonias y los microorganismos. Se empleó el método recomendado por Jay y colaboradores, que se basa en el cultivo de la muestra de saliva en una infusión de caldo de carne con dextrosa pH 5 y tomate agar, pero substituyendo este último por el medio LBS, el cual es específico para el desarrollo de las colonias del *Lactobacillus acidophilus* y elimina los inconvenientes del primero, tales como la contaminación por la humedad en los climas tropicales.

La descripción del método no encierra mayor importancia para el caso, debiéndose mencionar únicamente que, al finalizar el cuarto día de cultivo, los recuentos se efectuaron por medio de la placa contadora de Frost y del microscopio estereoscópico. Con este último se efectuaron también los recuentos de las colonias, y la tinción de sus muestras, para el estudio microscópico del *Lactobacillus acidophilus*, se hicieron por el método de Gram.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados se pueden dividir según dos aspectos: 1) Observaciones sobre los cultivos de las colonias de *Lactobacillus acidophilus* y tinción de las mismas; 2) Observaciones relacionadas con el número

de caries, los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y la edad de los pacientes.

### 1. Observaciones sobre los cultivos y tinción de muestras de colonias

En este punto se pueden citar las siguientes consideraciones:

a) El tipo predominante de las colonias desarrolladas en los cultivos fue la característica, descrita por Hadley, Bunting y Delves (forma discoidea, bordes regulares bien definidos, color amarillo oscuro brillante). Sus tinciones dieron el tipo clásico de *Lactobacillus acidophilus*, en forma de palitos cortos, rectos, gruesos, formando cadenas en algunas ocasiones.

b) En algunos casos se formaron colonias con las mismas características que las anteriores, pero más pequeñas y de un color más claro, y su tinción dio un tipo de *Lactobacillus acidophilus* más corto y, en algunas ocasiones, con apariencia de cocos.

c) Las colonias llamadas de tipo de "huevo frito" se presentaron muy excepcionalmente y su tinción dio el tipo de *Lactobacillus acidophilus* descrito por Rodríguez (*Lactobacillus odontoliticus*), filamentosos, considerablemente largo, delgado y recto.

d) Ocasionalmente se encontraron simbiosis de colonias, con las mismas características generales que las primeras, aunque de mayor tamaño. Sin embargo sus tinciones no demostraron que fueran originadas por *Lactobacillus acidophilus* típico, sino por un tipo filamentosos, muy grueso y con tendencia a formar cadena. La literatura publicada al respecto, no menciona este tipo de *Lactobacillus acidophilus*.

e) En la mayoría de los casos, los cultivos dieron el mayor número de colonias durante las últimas 24 horas, no habiendo cambios posteriores.

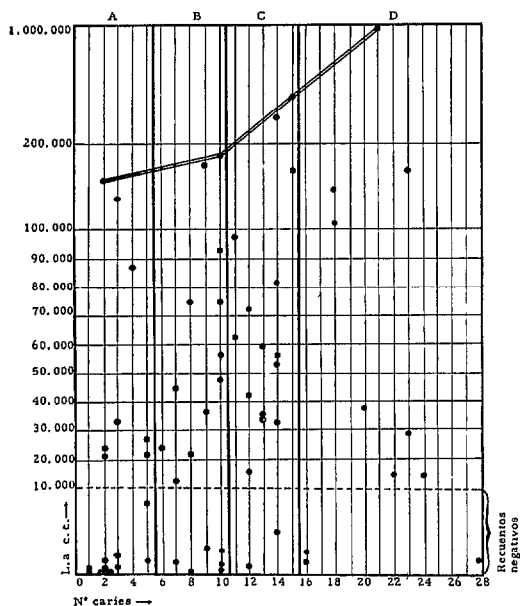
### 2. Observaciones relacionadas con el número de caries, los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y la edad de los pacientes

Los datos obtenidos mediante la interrogación, el examen clínico de los dientes y el

recuento de colonias de *Lactobacillus acidophilus* en las placas de cultivo se presentan en el cuadro y en las 4 gráficas (Figs. 1-4), que se dan a continuación.

La Fig. 1 muestra la distribución de los casos de acuerdo con la relación existente entre los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y el número de caries. Como puede observarse, las ordenadas representan las cifras de los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico de saliva, desde cero a un millón, y las abscisas, el número de caries desde 0 hasta 25 que fue el mayor número encontrado. Por la importancia que el recuento negativo encierra desde el punto de vista práctico, el área correspondiente a las cifras menores de diez mil *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico de saliva, se hizo resaltar con línea de puntos. De acuerdo con el número de caries, los casos se clasificaron en 4 grupos, representados por las siguientes zonas: A, de 0 a 5 caries; B, de 6 a 10 caries; C, de 11 a 16; D, de 17 a 28. Cada caso se representó por un punto negro.

FIG. 1.—Distribución de los casos, según la relación existente entre los recuentos de *L. acidophilus* y el número de caries.



El estudio detenido de esta gráfica muestra, en términos generales, que los porcentajes de los recuentos negativos son mayores en los casos de número reducido de caries (porcentaje del total de los casos que recaen en cada zona), disminuyendo conforme aumentan estas últimas, con una ligera excepción de los casos de la zona D, lo cual bien puede interpretarse como un accidente de grupo, si se considera el reducido número de muestras que comprende el estudio. Se observa, del mismo modo, que los recuentos más altos son tanto menores cuanto menor sea el número de caries, y que, partiendo de la zona A, forman una curva ascendente en forma progresiva hasta la zona D, donde da el máximo de un millón de *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico de saliva.

En la Fig. 2 se presenta la distribución de los casos de acuerdo con la relación existente entre los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y la edad en años. Las cifras de los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico de saliva se encuen-

FIG. 2.—Distribución de los casos, según la relación existente entre los recuentos de *L. acidophilus* y la edad en años.

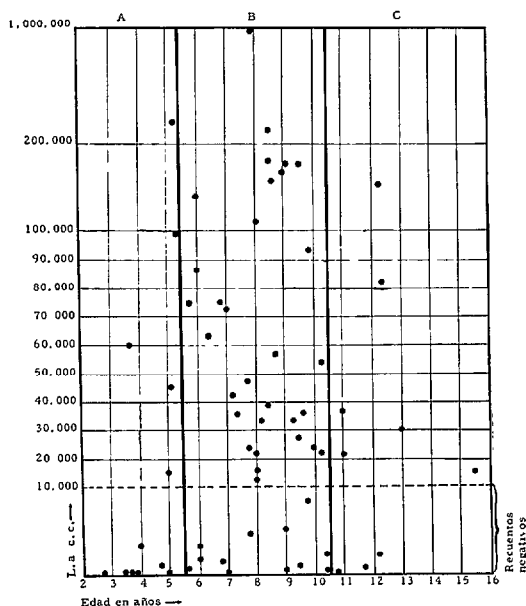


FIG. 3.—Porcentajes de los recuentos negativos de cada uno de los grupos, clasificados según la relación existente entre los recuentos de *L. acidophilus* y el número de caries.

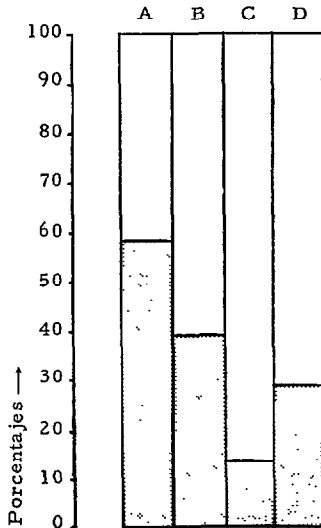
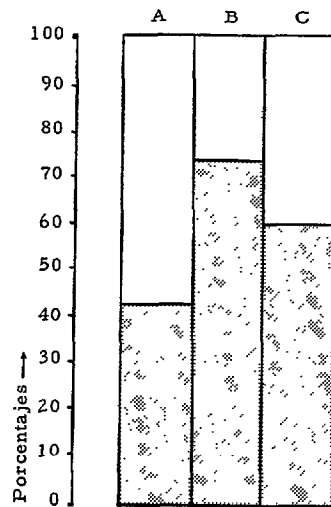


FIG. 4.—Porcentajes de los recuentos positivos de cada uno de los grupos, clasificados según la relación existente entre los recuentos de *L. acidophilus* y la edad en años.



tran representados en la misma forma que en la Fig. 1, sólo que las abscisas representan en este caso la edad en años, de los 2 a los 16. Del mismo modo, resalta la zona de los recuentos negativos. De acuerdo con la edad, se dividieron los casos en tres zonas, tomando en cuenta el factor susceptibilidad a la caries: A, de los 2 a los 5 años; B, de los 6 a los 10; C, de los 11 a los 16. Cada caso se representó igualmente por un punto negro.

Esta gráfica muestra un porcentaje menor de recuentos positivos entre los 2 y los 5 años (zona A), recayendo el mayor porcentaje de los mismos entre los 5 y los 10 años (zona B), lo cual tiene una explicación lógica, por ser una época de mayor susceptibilidad del niño. Puede observarse también que en esta zona recae el recuento más alto de todos, de un millón de *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico. De los 11 a los 16 años (zona C), el porcentaje de los recuentos positivos disminuye, en comparación con la zona B, por ser una época de menor susceptibilidad que la anterior.

En la Fig. 3 se da el porcentaje de los recuentos negativos de cada uno de los

grupos, clasificados según la relación existente entre los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y el número de caries. En otras palabras, expresa el porcentaje de los recuentos negativos de cada una de las zonas de la Fig. 1. Por consiguiente no requiere mayor discusión y puede resumirse del siguiente modo: zona A, 57,8%; zona B, 38,8%; zona C, 11,5% y zona D, 27,2%.

En la Fig. 4 se da el porcentaje de los recuentos positivos de cada uno de los grupos, clasificados según la relación existente entre los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y la edad en años. En otros términos, expresa el porcentaje de los recuentos positivos de cada una de las zonas de la Fig. 2. Lo mismo que la anterior, no requiere discusión y puede resumirse así: zona A, 44,6%; zona B, 72% y zona C, 60%.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación, permiten sacar las siguientes conclusiones:

1. El medio LBS es altamente satisfactorio, ya que no exige efectuar un diagnóstico diferencial de colonias, y, en

consecuencia, los recuentos pueden considerarse bastante aproximados. Por otro lado, no requiere que se tomen medidas asépticas extremas, pues no es contaminable.

2. Es recomendable no efectuar los recuentos antes del cuarto día, ya que pudo observarse que el mayor desarrollo de colonias tiene lugar durante las últimas 24 horas.

3. Los resultados obtenidos al comparar los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* con el número de caries, muestran que dicho bacilo juega un papel de máxima importancia en el desarrollo de la lesión. No puede sin embargo considerarse en términos matemáticos, que un determinado número de *Lactobacillus acidophilus* ocasionen otro determinado número de caries, pero sí es evidente que, cuanto mayores sean las cifras de los recuentos, mayor incidencia de caries habrá.

4. Parece asimismo, que el *Lactobacillus acidophilus* se encuentra en relación directa con el factor susceptibilidad, ya que los mayores porcentajes de recuentos elevados recaen dentro de las épocas en que el niño tiene mayor propensión a la enfermedad.

5. De acuerdo con los resultados de este estudio, la cifra de diez mil *Lactobacillus acidophilus* por centímetro cúbico de saliva como límite de inmunidad a la caries, no parece muy evidente, ya que de 22 casos que están dentro del área de los recuentos negativos, solo 6 de ellos no presentaron caries. Cabe considerar, sin embargo, que en ello interviene una serie de factores, como la hora de tomar la muestra, la posibilidad de que existan caries detenidas, formadas en época anterior, o bien puede pensarse en una inmunidad temporal. Esto último, por supuesto, ameritaría un estudio en escala considerable.

6. De todo esto se deduce que, para que se produzca la caries deben considerarse 3 factores: el diente, el *Lactobacillus acidophilus* y el azúcar. Si se considera entonces que el microorganismo en condiciones normales es un saprofito de la cavidad bucal (excepto en aquellos casos en que no se desarrolla por una inmunidad natural del

ORDENAMIENTO DE CASOS DE ACUERDO CON LAS CIFRAS DE LOS RECuentOS

No. del caso	Edad		No. de <i>L. acidophilus</i> por c.c.	No. de caries	Consumo de azúcar
	años	meses			
7	2	8	0	2	frecuente
13	3	5	0	1	excesivo
5	3	8	0	2	ocasional
33	3	11	0	2	excesivo
14	5	5	0	1	excesivo
12	7		0	2	excesivo
19	10	5	100	8	nada
62	10	8	150	3	frecuente
3	5	7	200	10	excesivo
30	9		200	2	excesivo
50	11	9	300	12	frecuente
59	9	5	400	10	ocasional
63	6	9	900	5	frecuente
58	6		1.000	7	frecuente
4	4	8	1.050	16	frecuente
20	10	6	2.000	3	ocasional
38	6		2.500	16	excesivo
27	12	2	2.600	10	frecuente
36	4		3.500	9	excesivo
26	7	9	4.800	28	frecuente
28	9		5.000	14	frecuente
65	9	9	7.450	5	frecuente
51	8		12.000	7	ocasional
11	8		15.000	12	frecuente
18	5		15.000	24	excesivo
55	15	5	15.000	22	excesivo
56	8		21.000	5	ocasional
8	10	3	21.000	2	ocasional
21	11		21.000	8	frecuente
32	7	9	24.000	2	excesivo
37	10		24.000	6	frecuente
46	9	5	27.000	5	frecuente
53	13		30.000	23	excesivo
41	8	2	33.000	14	frecuente
64	9	4	33.000	3	frecuente
43	7	3	36.000	13	excesivo
15	11		36.000	13	ocasional
31	9	7	36.000	9	excesivo
53	8	3	39.000	20	frecuente
44	7	2	42.000	12	frecuente
17	5	1	45.000	7	ocasional
45	7	7	48.000	10	frecuente
16	10	3	54.000	14	ocasional
10	8	10	57.000	10	ocasional
39	10	5	57.000	14	frecuente
47	3	7	60.000	13	excesivo
48	6	5	63.000	11	frecuente
29	7		72.000	12	frecuente
24	5	9	75.000	8	frecuente
60	6	10	75.000	10	frecuente
22	12	4	81.000	14	frecuente
9	6		87.000	4	ocasional
49	9	10	93.000	10	frecuente
34	5	6	99.000	11	excesivo
42	8		117.000	18	excesivo
57	6		141.000	3	excesivo
1	12	3	153.000	18	ocasional
54	9		165.000	9	excesivo
40	8	6	168.000	2	ocasional
25	9	5	168.000	15	frecuente
61	9	1	171.000	23	excesivo
2	8	5	186.000	10	frecuente
23	8	5	250.000	14	ocasional
35	5	5	327.000	15	excesivo
6	7	11	1.050.000	21	frecuente

individuo a la caries), de la cual no puede ser eliminado y que el azúcar constituye su medio de cultivo específico, el control de la enfermedad deberá basarse fundamentalmente en la eliminación del azúcar, o cuando menos, en la recomendación de ciertas normas para su consumo.

## RESUMEN

1. El presente estudio tuvo por fin determinar el papel que desempeña el *Lactobacillus acidophilus* en la formación de la caries dental, así como estudiar aspectos bacteriológicos del mismo mediante el empleo del medio LBS.

2. La parte experimental comprende el examen clínico de la boca, interrogatorio

pertinente, cultivos de muestras de saliva en el medio LBS y recuentos de colonias de *Lactobacillus acidophilus* de 65 niños, entre los 3 y los 15 años de edad.

3. En la discusión de los resultados se enfocaron dos aspectos: a) Observaciones sobre los cultivos y tinción de muestras de colonias; y b) Observaciones relacionadas con el número de caries, los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* y la edad de los pacientes.

4. Las conclusiones se formulan de acuerdo con lo expuesto anteriormente y se deduce en resumen: que el medio LBS es ampliamente satisfactorio y que el *Lactobacillus acidophilus* tiene un papel fundamental en la formación de la caries dental.

## REFERENCIAS

- Becks, Hermann: Carbohydrate restriction in the prevention of dental caries using the L. a. count as one index. *Calif. S. Dent. Assn. Jour.*, 26:53-8, 1950.
- Bergey, D. H.: *Determinative Bacteriology*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1939, págs. 362-78.
- Bibby, B. G.: Is acid the primary cause of dental caries? *N. Y. S. Dent. Jour.*, 18:82-6 (fbro.) 1952.
- : Evaluation of caries-producing potentialities of various foodstuffs, *Am. Dent. Assn. Jour.*, 42:491-509 (agto.) 1951.
- Charlton, George: The relative efficiency of two selective media for the isolation of bacillus species of the mouth, *Jour. Dent. Res.*, 35: 800-3 (obre.) 1956.
- Easlick, K. A. (editor): *Dental caries: mechanism and present control technics*, St. Louis, Mosby, págs. 22-29, 1948.
- Easlick, K. A.: Sugar and dental caries: the effect on the teeth of sweetened beverages and other sugar containing substances, *Am. Dent. Assn. Jour.*, 47:387-415 (obre.) 1953.
- Englander, H. R., y Fosdick, L. S.: The formation of lactic acid in dental plaques caries immune individuals, *Jour. Dent. Res.*, 35:793 (obre.) 1956.
- Fosdick, L. S.: The role of sugar in dental caries, *Calif. S. Dent. Assn. Jour.*, 26:19-27 (mayo-jun.) 1950.
- Green, E. G., y Dood, J. M.: A study of the bacterial flora of caries susceptible and caries immune saliva, *Jour. Dent. Res.*, 35:527-38 (agto.) 1956.
- Gruebel, A. O.: The Michigan workshop on the evaluation of dental caries control technics. *Am. Dent. Assn. Jour.*, 36:3-22 (eno.) 1948.
- Haldi, John: Reorientation on the dental caries problem, *Geo. Dent. Assn. Jour.*, 23:13-18, ab. 1950.
- : Symposium of dental caries. *N. Y. S. Dent. Jour.*, 19:167-69 (mzo.) 1953.
- and Winfrey, Wynn: Role of plaque in acid formation on a tooth surface, *N. Y. S. Dent. Jour.*, 21:78-80 (fbro.) 1955.
- Jay, Philip, et al.: *Dietary program for the control of dental caries*, Ann. Arbor, Overbeck, 39 págs., 1951.
- : Laboratory tests for caries activity, and their applications. págs. 110-35, en: Pelton W. J., y Wisan, W. M.: *Dentistry in Public Health*, Philadelphia: Saunders, 1949.
- , y Bennet, A. S.: Role of the diet in dental caries, *Am. Dent. Assn. Jour.*, 52:18-25 (eno.) 1956.
- Onisi, Masao, y Kondo, Wataru: Establishing an environment for growth of aciduric bacteria in the oral cavity, *Jour. Dent. Res.*, 135:546-62 (eno.) 1956.
- Pauly, Raymond: Caries dentaria. Diagnóstico bacteriológico y control por la reducción de azúcares, págs. 515-25. en: *Memoria IV Congreso Nacional*, La Habana: Gráficas Universitario, 1954.
- : Contribución al estudio de la caries den-

- taria en niños costarricenses, *Rev. Biol. Trop.*, 3:79-94, 1955.
- : Caries y otras condiciones de la boca de niñas escolares de diferente nivel económico y social, *Rev. Biol. Trop.*, 203-25, 1956.
- Rae, J. J., y Glegg, C. T.: Lactic acid production in saliva, *Jour. Dent. Res.*, 35:612-14 (agto.) 1956.
- Rosen, H. R., y Hoppert, C. A.: The frequencies of oral lactobacilli in the Hunt-Hupper caries-resistant and caries-susceptible, *Jour. Dent. Res.*, 35:586-90 (agto.) 1956.
- Stephan, R. M., y Hemmes, E. S.: Studies of changes in the pH produced by pure cultures of oral microorganisms, *Jour. Dent. Res.*, 26:15 (fbro.) 1947.
- Winfrey, Wynn, y Haldi, John: Differences in the caries-producing effect of two purified diets containing the same amount of sugar, *Jour. Nutrition*, 50:267-74 (jun.) 1953.

---

### ROLE OF LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS IN THE PRODUCTION OF DENTAL CARIES (*Summary*)

1. The purpose of this study was to determine the role of *Lactobacillus acidophilus* in the production of dental caries, investigating its bacteriological characteristics with the use of LBS culture media.
2. Experimental studies included clinical examination of the mouth, interrogation, culture of saliva samples in LBS media, and colony counts of *L. acidophilus* in a group of sixty-five children aged from three to five years.
3. The discussion of results centered around two aspects of the studies.
  - a) Observations on cultures and stained colony samples.
  - b) Observations relating to number of caries, *L. acidophilus* counts, and age of the patients.
4. Conclusions are given for the above points, the general deduction being that the LBS medium is fully satisfactory and that *L. acidophilus* plays a fundamental role in the production of dental caries.