

METODO COLORIMETRICO SIMPLE PARA DIAGNOSTICAR LA ACTIVIDAD DE LA CARIES

por el

Dr. M. L. Snyder

EL uso de un simple método colorimétrico para diagnosticar la actividad de la caries está descrito para el uso ordinario clínico en la práctica dental. Está basado en el grado de los cambios de color en un selectivo medio de agar (pH 4.7-5.0), requiere únicamente unas pocas pipetas y un incubador para dar resultados en 48 horas las cuales se comparan favorablemente con aquellas obtenidas por la apreciación cuantitativa del lactobacilo en la saliva^{2,3}.

Dado que esta última técnica exige por lo menos cuatro días y está casi limitada exclusivamente a los laboratorios de bacteriología, las ventajas de la prueba colorimétrica en tiempo, economía y precisión son patentes.

La evidencia de que el método colorimétrico es satisfactorio para el diagnóstico de la actividad de la caries está demostrada por cultivos, periódicamente en más de tres meses con ambos procedimientos, de saliva de sesenta y tres jovenitos comparando los resultados al principio, medio, y fin de este período.

Material y método

La mayor parte de los 63 niños comprendían las edades de 5-8 años. Esta selección se hizo por dos razones: 1) la incidencia de la caries es menor en los niños; 2) Muchos de ellos al asistir al colegio permiten el examen periódico clínico y radiológico.

Las muestras de saliva fueron llevadas al laboratorio en tubos y botellines estériles haciendo chupar a los niños tabletas

de parafina durante tres minutos. Estas muestras fueron recogidas de 8,15 a 9,30 de la mañana a intervalos mensuales, interrumpidas una vez por enfermedad y otra por las vacaciones de verano. Un máximo de nueve de estas muestras fueron obtenidas de un niño cualquiera; el resto, de entre seis o siete.

Las muestras de saliva fueron llevadas al laboratorio, donde antes de serles nada añadido fueron vigorosamente agitadas; cantidades (0.1-0.2 cc) distintas fueron disueltas a temperatura de 45°C.

Cada tubo fué respectivamente solidificado e incubado durante cuatro días con diaria observación.

Al principio fué empleada como indicador dextrosa y lactosa en agar (pH 5.0) conteniendo bromcresol verde. Los resultados indicaron que la dextrosa era más segura que la lactosa y que 0.2 cc de saliva es la cantidad máxima utilizable para inoculación. Más tarde se encontró ser mejor emplear un medio (*) que ahora utilizamos rutinariamente con 0.2 cc. El color de la reacción inducido por la acción bacteriana va desde el verde azulado hasta el amarillo. Otras alteraciones colorimétricas fueron apreciadas, en las cuales el verde no dominaba.

Con objeto de apreciar el lactobacilo que pudiera contener la saliva, 0.1-0.2 cc de dichas muestras fueron colocadas en jugo de tomate-agar (pH-4.8-5.0). Una gran cantidad (0.6-0.8 cc) fué inoculado en caldo, ácido-glucosa para evidenciar la presencia o ausencia en 48 horas del lactobacilo, gran positivo. Después de 96 horas las placas fueron examinadas reconociéndose características colonias de lactobacilos y otros tipos acidófilos, cuyo examen fué hecho con la ayuda del microscopio binocular. De estas maneras fué hecha una comparación entre los resultados colorimétricos y el recuento de lactobacilos, como métodos de diagnóstico de la actualidad de la caries.

Ya anteriormente sabíamos que los colores de las reacciones positivas en 48 horas eran significativos y en el presente estudio el diagnóstico de la actividad de las caries fué hecho

(*) Este medio puede obtenerse en la forma deshidratada o ya preparada en tubos sellados con el nombre bromcresoverde en dextrosa agar.

en relación con las pruebas colométricas, con las siguientes condiciones:

Sin cambio de color en 96 horas: ninguna actividad.

Con reacción crómica positiva en 48-96 horas: pequeña actividad.

Con reacción en 24-48 horas: actividad definida.

Con reacción en 12-24 horas: marcada actividad.

De la misma manera la actividad de la caries se apreció por la ausencia aumento o disminución de los lactobacilos en la saliva. Ambos métodos están limitados por el hecho de que un simple examen bacteriológico no es suficiente para indicar si la caries está en momento activo o no. Un diagnóstico positivo o negativo puede depender de la repetición de pruebas o intervalos que regulen la posibilidad de los hallazgos. De esta forma los resultados circunstanciales o esporádicos positivos o negativos se eliminan.

Resultados

Los sesenta y tres niños sobre los que se hicieron la prueba, hemos de dividirlos según los resultados de la siguiente manera: un grupo negativo de 23 niños que no mostraban cavidades ni obturaciones; otro activo de otros 23 en los que se apreciaban algunas cavidades y obturaciones, y por fin, otro de 17 niños cuyo estado pudiera ser cuestionable o con áreas dudosas. El diagnóstico de la actividad de la caries por las pruebas colorimétricas y los recuentos de lactobacilos, se comparan en estos tres grupos en la siguiente tabla:

DIAGNOSTICO DE LA ACTIVIDAD DE LA CARIES	N.º DE NIÑOS	DIAGNOSTICO DE LABORATORIO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA CARIES					
		NEGATIVO		DUDOSO		ACTIVO	
		Color	Lactob.	Color	Lactob.	Color	Lacto
Negativo	23	22	21	0	1	1	1
Dudoso	17	13	11	2	4	2	2
Activo	23	0	2	3	2	20	19

En total, el método colorimétrico separa los grupos más claramente que los recuentos de lactobacilos.

Estos resultados sugieren que el método colorimétrico es más preciso, pero más recientes investigaciones (todavía sin publicar) establecen ser ambos métodos de parecida eficacia.

Sin embargo, aceptando el método colorimétrico ha de considerarse asimismo los organismos ácidos, otros que el lactobacilo, que participan en el proceso. Así, en lugar de limitar la etiología a una especie o tipo se ampliará el concepto de la producción ácida; pero lo mismo en este estudio que en otro anterior⁵, la única relación entre la presencia y número, en la saliva, de bacterias y la actividad de la caries era aquella que se encontró con lactobacilos y fermentos. Ni estreptococos ni estafilococos fueron aislados más frecuentemente en los casos de actividad de la caries que en aquellos otros casos negativos.

Dado que cantidades variables de saliva fueron inoculados en diferentes medios hidrocarbonados, en la primera parte de este estudio, la frecuencia del lactobacilo y fermentos en las muestras de saliva se compara en la tabla segunda,

ACTIVIDAD CLINICA	N.º DE NIÑOS	N.º de Maestras	LACTOB	Ferment.	CROMORREACCIONES POSITIVAS (HORAS)			
					24	48	72	96
Negativo	23	89	9	3	0	3	10	14
Dudoso	17	78	16	4	2	8	14	16
Activo	23	106	96	12	34	88	101	102

Habiendo utilizado bromocresol verde-dextrosa-agar (pH. 4.7.5.^o) con una inoculación constante de 2 cc. de saliva.

Aparte de otras consecuencias patentes en la tabla segunda, parece que el papel de los fermentos es secundario, pero su influencia en la producción ácida es importante, según los trabajos de Fozdik and Hansen⁶ que han demostrado que la pro-

ducción de ácido láctico en cultivos de lactobacilos aumenta grandemente por la adición de fermentos. Ellos explican esta sinergia sobre la base que el lactobacilo es rico en reductasa, pero deficiente en fosfatasa, el cual es esencial para el comienzo de la descomposición de los hidratos de carbono y que es proporcionada por los fermentos⁷. Cualquiera que sea la acción *in vivo* hay, en relación con la producción de ácido en el tubo de ensayo, un intervalo crítico entre las 48 y las 72 horas antes de que el color positivo de reacción se muestre claro, pero después del cual añaden poco al diagnóstico de la actitud de la caries.

Compárese el papel del lactobacilo en la tabla tercera y segunda.

N.º DE NIÑOS	ACTIVIDAD DE LA CARIES	N.º DE LACTOB.	N.º DE MUESTRAS	CAMBIO DE COLOR (HORAS)			
				24	48	72	96
23	Negativo	0	80			1	5
		0 - 100	4			4	4
		100 - 1.000	4		3	4	4
		1.000 - 10.000	1			1	1
		Total. . . .	89		3	10	14
17	Dudoso	0	62				1
		0 - 100	5			4	5
		100 - 1.000	2		1	2	2
		1.000 - 10.000	5		5	5	5
		10.000 - 100.000	4	2	2	3	3
		Total. . . .	78	2	8	14	16
23	Activo	0	10		4	7	8
		0 - 100	2		1	2	2
		100 - 1.000	11		6	10	10
		1.000 - 10.000	36	7	33	36	36
		10.000 - 100.000	36	16	34	35	35
		100.000 - 1.000.000	11	11	11	11	11
		Total. . . .	106	34	88	101	102

Entre otras consecuencias podemos apreciar la actividad de los casos por el tiempo de las reacciones, las cuales no pueden atribuirse únicamente al número de lactobacilos, sino que pue-

de reconocerse, debido a la presencia o ausencia de la formación de ácido, sin relación con el número de lactobacilos.

Comentario

De los dos métodos de laboratorio utilizados para el diagnóstico, el primero o método cuantitativo, estima el número de lactobacilos en la saliva, como índice de la actividad de la caries. Muchas son las objeciones al método, así como a su interpretación.

La prueba colorimétrica pretende simplificar la técnica cuantitativa para el uso clínico. Refleja la producción ácida de todos los organismos de la saliva en un medio hidrocarbonado (pH 4 . 7-5 . 0). Tras el concepto de MILLER fué sugerido que por el color puede reflejarse la formación de ácido sin relación al número de especies bacterianas, detectando la actividad de la caries fácil, rápidamente y con precisión. Esta posibilidad fué demostrada después de un estudio de trece meses en 63 niños.

Este método exige un equipo relativamente pequeño: unas pocas pipetas y una estufa.

Su aplicación puede ser útil, especialmente en el campo de la ortodoncia y en la dentistería preventiva. Actualmente esta prueba es aparentemente poco sensitiva para ser empleada en el control de los efectos consiguientes a la terapéutica dietética, pero esta posibilidad está en curso de investigación.

Resumen

Un método colorimétrico, basado en la producción ácida en medio hidrocarbonado seleccionado (pH 5 . 0), puede utilizarse para el diagnóstico de la actividad de la caries. En un grupo de 63 niños fué posible precisar aquellos que estuvieran en actividad o fueran negativos, comprobado por el examen clínico.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Snyder, M. L.: J. D. Res, 19; 349, August 1940.
- 2.—Rodríguez F. E., Quantitative Incidence of Lactobacillus Acidophilus in Oral Cavity as Presumptive Index of Susceptibility to Dental Caries J. A. D. A., 18; 2.118, September 1931.
- 3.—Hadley, F. P.: J. D. Res., 13; 415, October 1933.
- 4.—Gordon, S. M. Dental Science and Dental Art. (Jay Philip: Bacteriology and Immunology of Dental Caries) Philadelphia; Lea and Febber 1938.
- 5.—Snyder, M. L.: J. D. Res 18; 497, December 1939.
- 6.—Fosdick, L. S. and Hansen H. J. Theoretical Consideration in Relation to Dental Caries J. A. D. A., 23: 401, March 1936.
- 7.—Fosdick, L. S.: Hansen, H. L. and Wessinger, G. D. Reductase Activity of Various Mouth Organisms.
- 8.—Tracy, R. L. J. Bacterios 33; 467, April 1939.
- 9.—Anderson, T. G. and Rettger, L. F.; J. D. Res, 16, 489, December 1937.
- 10.—Hammoud Caroly, and Tunmehff, Ruth J. D. Res., 19: 1. February 1940.
- 11.—Belding, P. H. and Belding, L. J.: D. Itens Int, 62, 303, April 1940.
- 12.—Miller, W. D., Die Mikiorganismen der Mundhele Leipsic; George Thieme 1889.

DESINFECCION DE HORTALIZAS Y FRUTAS

Además de su empleo como desinfectante de utensilios culinarios, el "mikroklene" (Compound Germicidal Rinse) se recomienda para la desinfección de hortalizas y frutas que deben consumirse crudas, conforme al método siguiente: después de eliminar las hojas externas estropeadas o sucias, lávense las hortalizas y frutas en agua potable, sin cortar ni quebrar los tallos tratándose de apio, lechugas, repollo, etc., sino después de la desinfección; colóquense después en un recipiente limpio, cubriéndolos completamente con una solución hecha disolviendo un paquete del germicida (100 gramos) en unos 30 litros de agua potable, por espacio de unos treinta minutos; después de sacarlos de la solución germicida, lávense de nuevo una sola vez, preparándose de nuevo para cada lote de verduras o frutas. (*Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 30 febrero 1945.)

per. Med. Esp.