

17. R. NEGRI e M. PRINCIVALLE — L'importanza dei lattobacilli nella carie dentale e loro sensibilità agli antibiotici (\*).

**Riassunto.** — Dopo una breve rassegna delle principali teorie sulla etiopatogenesi della carie dentale, gli AA. espongono i risultati delle loro esperienze:

a) Sensibilità di dodici ceppi di lattobacilli agli antibiotici: dei nove antibiotici usati (penicillina, bacitracina, streptomina, terramicina, aureomicina, tetraciclina, cloromicetina, tirotricina, eritromicina) si sono maggiormente dimostrati attivi: bacitracina, eritromicina, streptomina, terramicina.

b) Proprietà acidogene dei lattobacilli in esame: tutti i ceppi hanno determinato una marcata acidificazione del terreno colturale, in modo particolare in anaerobiosi ed in presenza di glucosio.

c) Non vi è rapporto tra capacità acidogena e sensibilità agli antibiotici da parte dei ceppi esaminati.

**Résumé.** — Après une revue des principales théories etiopathogéniques concernant la carie dentaire les AA. exposent les résultats de leurs expériences:

a) sensibilité de 12 souches de lactobacilles aux antibiotiques: entre les 9 antibiotiques essayés (pénicilline, streptomycine, terramycine, bacitracine, aureomycine, tetracycline, chloromycetine, tyrothricine, erythromycine) les plus actifs ce sont les suivants: bacitracine, erythromycine, streptomycine, terramycine.

b) Pouvoir acidogène des souches examinées: toutes les souches ont déterminé une acidification marquée du milieu de culture, spécialement en anaérobiose et en présence de glucose.

c) Aucun rapport n'a été relevé entre pouvoir acidogène et sensibilité aux antibiotiques.

**Summary.** — The authors summarize briefly the most important theories on the etiopathogenesis of dental caries and report the results of their experiments.

a) Susceptibility of 12 strains of lactobacilli to antibiotics: of 9 antibiotics used (penicillin, bacitracin, streptomycin, oxytetracycline,

---

(\*) Comunicazione presentata al 1° Symposium Internazionale sulla profilassi della carie, Roma 20 marzo 1934.

aureomycin, tetracycline, chloromycetin, tyrothricin, and erythromycin), the most active were bacitracin, erythromycin, streptomycin, and oxy-tetracycline.

b) Acidifying power of lactobacilli: all the strains caused marked acidification of the culture medium, particularly in anaerobiosis and in the presence of glucose.

c) No relation was found between acidifying power and susceptibility to the antibiotics.

**Zusammenfassung.** — Nach einem kurzen Ueberblick über die bedeutendsten Theorien zur Aetiologie und Pathogenese der Zahnfäule legen die Verfasser die Ergebnisse ihrer Versuche dar:

a) Empfindlichkeit von zwölf Laktobazillenstämmen gegen Antibiotica: Von den neun verwendeten Antibiotica (Penicillin, Bacitracin, Streptomycin, Terramycin, Aureomycin, Tetracyclin, Chloromycetin, Tirotricin, Erythromycin) haben sich Bacitracin, Erythromycin, Streptomycin und Terramycin als besonders aktiv erwiesen.

b) Säurebildungsvermögen der untersuchten Laktobazillen: Alle Stämme bewirkten eine ausgesprochen Säureanreicherung des Kulturbodens insbesondere bei Anaerobiose sowie in Gegenwart von Glukose.

c) Zwischen dem Säurebildungsvermögen der untersuchten Stämme und ihrer Empfindlichkeit gegen Antibiotica besteht kein Zusammenhang.

---

Nell'etiopatogenesi della carie dentale, la grande maggioranza degli AA. concorda nell'indicare, come la principale causa determinante la malattia, un meccanismo chimico-parassitario. Tale meccanismo si esplica per l'azione dei germi acidogeni della flora boccale (principalmente lattobacilli) che, operando la fermentazione di idrati di carbonio di varia provenienza, sempre presenti nella saliva, producono alcuni acidi organici che decalcificano e distruggono i tessuti duri del dente.

Questa teoria, che risale agli studi di MAGITOT <sup>(1)</sup> è stata sostenuta e fatta oggetto di ricerche fino ai nostri giorni <sup>(2,12)</sup>.

Ci è sembrato utile pertanto, condurre una indagine su alcuni aspetti della biologia dei lattobacilli; abbiamo voluto cioè saggiare la sensibilità di alcuni ceppi di tale gruppo nei confronti di 9 antibiotici di più comune uso e, come ricerca complementare, determinarne il potere acidogeno in

varie condizioni ambientali, onde evidenziare una eventuale relazione tra potere acidogeno e sensibilità agli antibiotici.

#### MATERIALI E METODI

*Ceppi.* — Sono stati usati 12 ceppi di lattobacilli provenienti dalla collezione del nostro Laboratorio.

*Terreno colturale.* — E' stato impiegato un terreno a base di infuso di carota e fegato addizionato di peptone e cloruro di sodio (pH 6), terreno da noi abitualmente usato per la coltura dei lattobacilli.

Per determinare il potere acidogeno dei ceppi, a tale terreno è stato aggiunto, in una serie di prove, l'1% di glucosio. Il terreno solido per l'allestimento delle piastre è stato ottenuto mediante aggiunta di agar al 2%.

*Sensibilità agli antibiotici.* — E' stata determinata mediante standards di lavoro, messi in commercio dalla *C.S.C. Pharmaceuticals*, in compresse contenenti dosi note di antibiotico. Per la tetraciclina, eritromicina e tirotricina si sono usate soluzioni da noi allestite nel seguente modo:

1) *Tetraciclina*: Soluzioni in tampone fosfato a pH 6,9 contenenti  $20\gamma$  —  $2\gamma/\text{cm}^3$  di sostanza pura.

2) *Eritromicina*: Soluzione in tampone fosfato a pH 6,2, previa estrazione in alcool metilico. Le soluzioni finali contenevano  $100\gamma$  —  $10\gamma/\text{cm}^3$  di sostanza pura.

3) *Tirotricina*: Soluzione in tampone fosfato a pH 6,2 previa estrazione in alcool etilico a 95°. Le soluzioni finali contenevano  $100\gamma$  —  $10\gamma/\text{cm}^3$  di sostanza pura.

*Preparazione della sospensione microbica.* — L'inoculo per la prova di sensibilità era costituito da  $\text{cm}^3$  1 di una coltura di 24 h. a 37,5°C. nel terreno liquido suddetto, portata nefelometricamente ad una concentrazione standard di circa  $10^6$  per  $\text{cm}^3$ .

*Preparazione delle piastre di prova.* — In capsule di Petri, su agar comune di fondo ( $\text{cm}^3$  24), venivano stratificati accuratamente  $\text{cm}^3$  4 di carota - fegato - agar - germi.

*Determinazione della sensibilità agli antibiotici.* — Ogni ceppo di lattobacillo è stato saggiato nei confronti di nove antibiotici a due diverse concentrazioni.

SENSIBILITA' AGLI ANTIBIOTICI  
(medie delle letture di n. 40 diametri di inibizione espresse in mm.)

TABELLA I

| CEPPI BATTERICI                                       | Penicillina |      | Eritromicina |       | Bacitracina |      | Tirotricina |       | Streptomina |       | Terramicina |       | Aureomicina |      | Tetraciclina |      | Cloromicetina |      |
|-------------------------------------------------------|-------------|------|--------------|-------|-------------|------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|------|--------------|------|---------------|------|
|                                                       | 1 U         | 10 U | 10 γ         | 100 γ | 2 U         | 20 U | 10 γ        | 100 γ | 10 γ        | 100 γ | 10 γ        | 100 γ | 2 γ         | 20 γ | 2 γ          | 20 γ | 2 γ           | 20 γ |
|                                                       |             |      |              |       |             |      |             |       |             |       |             |       |             |      |              |      |               |      |
| <i>Lactobacillus leichmannii</i> . . . . .            | —           | 12   | 21           | 26    | 16          | 23   | 6           | 11    | 12          | 16    | 17          | 35    | —           | 16   | —            | 15   | —             | —    |
| <i>Leuconostoc citrovorum</i> . . . . .               | —           | 10   | 16           | 21    | 15          | 22   | 6           | 10    | 15          | 18    | 16          | 30    | —           | 15   | —            | 16   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> . . . . .             | —           | 10   | 20           | 34    | 15          | 25   | —           | 10    | 16          | 18    | 10          | 30    | —           | 15   | —            | 18   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus lactis acidii</i> . . . . .          | —           | —    | 22           | 23    | 10          | 25   | —           | —     | 7           | 16    | 10          | 30    | —           | 16   | —            | 17   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus casei</i> . . . . .                  | —           | 12   | 15           | 25    | 16          | 26   | —           | 8     | 7           | 16    | 18          | 32    | —           | 16   | —            | 14   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> . . . . .            | —           | 15   | 28           | 35    | 18          | 30   | 5           | 8     | 15          | 20    | 18          | 33    | 8           | 18   | 10           | 24   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus arabinosus</i> . . . . .             | —           | 7    | 17           | 26    | 17          | 35   | —           | 8     | 14          | 18    | 17          | 32    | —           | 15   | —            | 15   | —             | —    |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> . . . . .            | —           | 10   | 13           | 25    | 16          | 26   | —           | —     | 15          | 18    | 16          | 25    | 8           | 16   | 10           | 16   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus casei</i> ceppo Doerner . . . . .    | —           | 15   | 28           | 44    | 15          | 24   | 6           | 11    | 13          | 17    | 15          | 24    | —           | 16   | —            | 15   | —             | 13   |
| <i>Lactobacillus casei</i> ceppo Kopenhagen . . . . . | —           | —    | 19           | 24    | 16          | 24   | —           | —     | 10          | 15    | 18          | 30    | —           | 16   | —            | 18   | —             | —    |
| <i>Lactobacillus casei</i> ceppo Utra . . . . .       | —           | 10   | 17           | 24    | 17          | 22   | —           | —     | 15          | 20    | 16          | 28    | —           | 16   | —            | 17   | —             | —    |
| <i>Streptococcus lactis</i> . . . . .                 | 7           | 20   | 13           | 21    | 15          | 20   | —           | —     | 7           | 14    | 16          | 25    | —           | 14   | —            | 15   | —             | —    |

Per ogni concentrazione sono state allestite 2 piastre di carota-fegato-agar-germi.

Sulla superficie di ogni piastra furono deposte 5 compressine standards dell'antibiotico a nota concentrazione; per la tetraciclina, eritromicina, tirotricina, non essendo in possesso di standards, furono usati microcilindri di porcellana (diametro esterno mm 4,5; diametro interno mm 3,5; altezza mm 5) imbevuti per capillarità delle soluzioni a nota concentrazione.

Dopo 24 h. di incubazione a 37°C, veniva eseguita la lettura dei dieci diametri di inibizione, relativi ad ogni concentrazione degli antibiotici saggiati.

La media delle dieci letture, espressa in millimetri, indica la sensibilità del ceppo in esame verso l'antibiotico usato.

*Determinazione della capacità acidogena.* — E' stata eseguita su terreno carota-fegato liquido con e senza glucosio, con inoculo controllato come nella precedente esperienza. Le prove sono state allestite in doppio: in aerobiosi e in anaerobiosi. Dopo 72 h. di incubazione sono state eseguite le determinazioni della concentrazione idrogenionica mediante elettrodo a vetro nell'apparecchio Fisher Titrimeter.

## RISULTATI E CONCLUSIONI.

I risultati delle nostre esperienze vengono riportati nelle tabelle I e II.

TABELLA II

Lecture del pH dopo 72 ore di incubazione a 37°C. (terreno carota-fegato pH 6)

| CEPPI BATTERICI                                 | AEROBIOSI     |               | ANAEROBIOSI   |               |
|-------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                                                 | non glucosato | glucosato 1 ‰ | non glucosato | glucosato 1 ‰ |
| <i>Lactobacillus leichmannii</i> . . . . .      | 3,7           | 3,25          | 3.65          | 2.9           |
| <i>Leuconostoc citrovorum</i> . . . . .         | 3,7           | 3             | 3.75          | 2.8           |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> . . . . .       | 3,65          | 3             | 3.6           | 2.7           |
| <i>Lactobacillus lactis acidi</i> . . . . .     | 3,6           | 3,2           | 3,7           | 2.8           |
| <i>Lactobacillus casei</i> . . . . .            | 3,55          | 3,1           | 3,5           | 2.8           |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> . . . . .      | 3,4           | 3,2           | 3.25          | 2.8           |
| <i>Lactobacillus arabinosus</i> . . . . .       | 3,7           | 3,4           | 3,4           | 3.3           |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> . . . . .      | 3,3           | 3,2           | 3,3           | 3,2           |
| <i>Lactobacillus casei</i> ceppo Doerner . . .  | 3,8           | 3,2           | 3,5           | 3.35          |
| <i>Lactobacillus casei</i> ceppo Copenhagen . . | 3,7           | 3,2           | 3,5           | 3.35          |
| <i>Lactobacillus casei</i> ceppo Utra . . . . . | 3,6           | 3,2           | 3,45          | 3.38          |
| <i>Streptococcus lactis</i> . . . . .           | 3,85          | 3,5           | 3.8           | 3.6           |

Dalle analisi dei dati esposti risulta:

a) I ceppi in esame si sono dimostrati insensibili nei confronti della cloromicetina ( $2\gamma$  —  $20\gamma$ ); scarsamente sensibili alla penicillina (10U), aureomicina ( $20\gamma$ ) e tetraciclina ( $20\gamma$ ), titrotricina ( $100\gamma$ ); la massima sensibilità è dimostrata nei confronti della bacitracina (2U), eritromicina ( $10\gamma$ ), streptomicina ( $10\gamma$ ), terramicina ( $10\gamma$ ).

b) Tutti i ceppi hanno determinato una marcata acidificazione del terreno colturale, in modo particolare in condizioni di anaerobiosi ed in presenza di glucosio.

Non si sono notate accentuate differenze nelle capacità acidogene dei vari ceppi.

c) Dal confronto delle tabelle I-II risulta che non esiste rapporto fra capacità acidogena e sensibilità agli antibiotici da parte dei ceppi esaminati.

Le conclusioni a cui si può giungere dai risultati ottenuti dalle nostre esperienze, indicano l'importanza della scelta di un idoneo antibiotico per una eventuale applicazione a scopo profilattico e terapeutico del processo carioso. Precisamente si può concludere che gli antibiotici dotati di maggiore attività nei confronti dei lattobacilli sono la bacitracina, l'eritromicina, la streptomicina, la terramicina.

In particolar modo la bacitracina, per il suo vasto spettro antibiotico (germi Gram positivi, Gram negativi ed anaerobi), dovrebbe essere il vero antibiotico di scelta.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di microbiologia.

#### BIBLIOGRAFIA

- (<sup>1</sup>) MAGITOT E.: « Traité de la carie dentaire », 1867, Baillière, Paris.
- (<sup>2</sup>) HUNDERWOOD G., MILES S.: Relations du Congr. Intern. des Sciences Méd. Londres, 1881.
- (<sup>3</sup>) FASOLI A., MANICARDI G.: Stomatologia, 6: 373 (1926).
- (<sup>4</sup>) MILLER W. D.: « The micro-organisme of the human mouth », White Philadelphia.
- (<sup>5</sup>) APPLETON J. L.: « Bacterial infection in dental practice », 4<sup>a</sup> ed., Lea and Febiger, Philadelphia (1930).
- (<sup>6</sup>) BENAGIANO A.: « Patologia dentale », I.B.I. Roma (1943).
- (<sup>7</sup>) BLACK G. V.: « Operative dentistry », Med. Dent. Pub., Co. Chicago (1908).
- (<sup>8</sup>) DREIZEN J. S.: J.D.R., 25: 243 (1946).
- (<sup>9</sup>) HILL T. J. et al.: J.A.D.A., 38: 636 (1949).
- (<sup>10</sup>) JORDAN E. O., BURROWS W.: « Textbook of bacteriology », 14<sup>a</sup> ed., Saunders, Philadelphia (1943).
- (<sup>11</sup>) RODRIGUEZ F. E.: J.A.D.A., 18: 2418 (1931).
- (<sup>12</sup>) SNYDER S.: J.A.D.A., 29: 2004 (1942).