



**“ACTIVIDAD DE BACTERIOCINA PsVP-10 PRODUCIDA POR  
PSEUDOMONAS sp R-10 SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS Y  
STREPTOCOCCUS SOBRINUS”**

**ALEJANDRO NAVARRO MIRANDA**

**CIRUJANO DENTISTA**

**RESUMEN**

En el siguiente estudio se analizó la capacidad bactericida *in vitro* de una sustancia antibacteriana elaborada por *Pseudomona* sp R-10 denominada Bacteriocina PsVP-10, aislada de sedimento de pozo de agua, sobre cepas de *S. mutans*, con el fin de determinar la CMI de este agente. Una vez determinada la CMI, fue estudiada la velocidad de muerte de esta bacteriocina comparando cepas de *S. mutans* y *S. sobrinus*.

Para determinar la CMI de bacteriocina PvVP-10, se probaron concentraciones distintas siguiendo el método propuesto por Ericsson y Sherris, utilizando la unidad de medida de  $\mu\text{g/ml}$ , debido a que es universalmente empleada para determinar CMI de agentes antimicrobianos (Ericsson, H.M. and Sherris, J., 1971).

Se utilizaron 46 colonias de *S. mutans* cultivadas en medio agar TYCSB, aisladas a partir de muestras de saliva de pacientes atendidos en las Clínicas Odontológicas de la Universidad de Talca de edades y géneros distintos.

Estas cepas fueron subcultivadas en caldo BHI (Merk) a 37°C por 48 horas, evidenciándose crecimiento bacteriano por turbiedad del medio, la cual se ajustó a MacFarland n° 3.

Posteriormente alícuotas de 5  $\mu$ l de caldo fueron sembradas en placas con medio TYSCB, reemplazando bacitracina del medio original por bacteriocina PsVP-10 en 9 concentraciones diferentes 0.5, 1.0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 y 128  $\mu$ g/ml.

Las placas fueron cultivadas a 37°C por 48 horas en anaerobiosis con el objeto de evidenciar crecimiento bacteriano.

Los resultados obtenidos en este experimento determinaron que una concentración de 2  $\mu$ g/ml de bacteriocina PsVP-10 son suficientes para suprimir el crecimiento de las 46 cepas bacterianas testeadas.

Una vez determinada la CMI de bacteriocina PsVP-10 sobre cepas de *S. mutans*, se procedió a analizar velocidad de muerte de 5 cepas de *S. sobrinus* y 5 de *S. mutans*, elegidas a partir de las 46 cepas iniciales e identificadas por técnica PCR.

Para esto, las cepas fueron sembradas separadamente en tubos con caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas en anaerobiosis. A continuación los cultivos fueron diluidos hasta obtener  $10^5$  ufc/ml, luego se agregó 2  $\mu$ g/ml de bacteriocina para posteriormente sembrarlas inmediatamente, tiempo 0, en placas petri con medio TYCSB e incubadas a 37°C por 24 horas en anaerobiosis para realizar recuento bacteriano. Este ensayo fue repetido para cada cultivo a 30, 60, 120, 180, 240 y 300 segundos respectivamente.

Los resultados nos indican que a los 60 segundos en ambas cepas el recuento disminuye drásticamente 99%.

Es importante manifestar que se detectó diferencias significativa ( $p= 0,002$ ) entre ambas cepas con respecto al recuento. Las cepas de *S. sobrinus* resultaron más resistentes que los *S. mutans* entre los 30 y 120 segundos del experimento.

A los 5 minutos el recuento en ambas especies disminuye en un 99,99%.

Estos resultados muestran a la bacteriocina PsVP-10 como un agente efectivo contra el *S. mutans* y *S. sobrinus*, su posible uso como antibacteriano en el combate de la caries dental debe ser avalado por más estudios.