
EFECTO ANTI CRIES DE LOS ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS SOBRE UN BIOFILM DUAL DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* Y *STREPTOCOCCUS SANGUINIS*

CONSTANZA JAVIERA ECHEVERRÍA GARCÉS
CIRUJANO DENTISTA

RESUMEN

Antecedentes: El impacto mundial de la caries dental ha alcanzado la cifra de 2,4 mil millones de personas en el mundo. La dieta ocupa un rol fundamental en la formación de la caries, en donde adquiere gran protagonismo la sacarosa, como el hidrato de carbono escogido por la familia *streptococci* para su metabolismo y obtención de energía. El factor protector de los ácidos grasos insaturados en la dieta, como los ácidos oleico y linoleico, es un elemento que ha sido estudiado y que ha evidenciado una disminución de la cariogenicidad en biofilms de *S. mutans* expuestos primero a sacarosa ya que gracias a su carácter anfipático, estos interferirían en la fosforilación oxidativa, generando el colapso de la célula bacteriana en cuestión. Dentro de las cerca de 700 especies que coexisten en el biofilm oral, existe *S. sanguinis*, asociado a cavidades orales con baja experiencia de caries y coexiste *S. mutans*, cuya historia de cariogenicidad ha sido ampliamente estudiada. Al existir las condiciones adecuadas, para las especies participantes en un biofilm dual, se pueden expresar ambas en igual proporción, sin embargo, alteraciones en el medio en que el biofilm se desarrolla podrían ser determinantes en el mecanismo de competición entre especies. Es por esto que el presente trabajo pretende desarrollar un modelo experimental anti caries con un biofilm dual de *S. mutans* y *S. sanguinis* y observar su cariogenicidad bajo ciertas condiciones medioambientales. Materiales y Métodos: Se utilizó un modelo anti caries previamente establecido para el crecimiento de biofilms de *S. mutans* UA159 y *S. sanguinis* SK36 sobre bloques de esmalte dental bovino, que primero fueron sometidos a saliva ultrafiltrada simulando la formación de película adquirida. Durante 5 días, los biofilms fueron sometidos a sacarosa al 10% 3 veces al día por 5 minutos cada vez y luego sometidos a grupos experimentales con ácidos grasos oleico y linoleico en concentraciones 100, 10 y 1 mM, además del control positivo anticaries con Fluoruro de sodio 0,05% y el control negativo anti caries con Cloruro de sodio al 0,9%. El medio de cultivo fue renovado 2 veces al día y se determinó pH después de cada cambio. Los biofilms fueron separados

de los bloques de esmalte y se analizó la biomasa, la desmineralización mediante el porcentaje de pérdida de microdureza superficial (%PDS), concentración de proteínas y acidogenicidad. Los experimentos fueron repetidos dos veces, con cada condición en triplicado ($n=6$). Resultados: La acidogenicidad dio valores de pH de 6 a 6,5 para los bloques tratados con ácido linoleico 100 mM y 10 mM y para el ácido oleico 100 mM, superando el pH de las muestras tratadas con fluoruro de sodio al 0,05% que bordearon valores inferiores a 6. Para la desmineralización y microorganismos viables, se observaron los menores valores en biofilms tratados con ácido linoleico 100 mM, seguido por el ácido linoleico 10 mM y ácido oleico 100 mM, resultados similares a los obtenidos en fluoruro de sodio 0,05%, además se observó diferencia significativa entre estos grupos y cloruro de sodio al 0,9% ($p<0.0001$). Los resultados de biomasa y de proteínas totales no arrojaron diferencias significativas entre los grupos ($p>0.05$), los biofilms expuestos a ácido linoleico al 100 mM y 10 mM mostraron una tendencia hacia una disminución de la biomasa respecto de los demás tratamientos con menores concentraciones de ácidos grasos, obteniendo valores más bajos que los obtenidos en biofilms expuestos a fluoruro de sodio. Conclusiones: El rol anti caries de los ácidos grasos oleico y linoleico en un modelo de biofilm dual con *S. mutans* y *S. sanguinis*, es efectivamente visible mediante la disminución de la perdida de dureza superficial (%PDS), acidogenicidad y microorganismos viables, además de una disminución en la tendencia de formación de biofilm, y de proteínas totales, al aumentar la concentración de estos en 100 o 10 mM, obteniendo un mayor descenso de la cariogenicidad de forma dosis dependiente.

Palabras claves: Biofilm dual, *S. sanguinis*, *S. mutans*, Ácidos grasos, Modelo anti caries.

SUMMARY

Background: The global impact of dental caries has reached 2.4 billion people in the world. Diet plays a fundamental role in the formation of caries, where acquires prominence sucrose as the carbohydrate chosen by the *streptococci* family for metabolism and energy production. The protective role of unsaturated fatty acids in the diet, such as oleic and linoleic acids, is an element that has been studied and it has shown a decrease in the cariogenic *S. mutans* biofilms exposed first to sucrose and thanks to its amphipathic character, these interfere in oxidative phosphorylation, causing the bacterial cell collapse. Among the 700 species coexist in the oral biofilm, *S. sanguinis* is associated with low caries experience oral cavities and coexists *S. mutans*, whose cariogenicity story has been widely studied. As there are the right conditions for participating in a dual biofilm species can be expressed both in equal proportion, however, changes in the environment in which the biofilm develops could be decisive in the competition mechanism between species. That is why this paper aims to develop an experimental model with a dual anti caries of *S. mutans* and *S. sanguinis* biofilm and observe their cariogenicity under certain environmental conditions.

Materials and Methods: An anticaries model previously established for the biofilms growth of *S. mutans* UA159 and *S. sanguinis* SK36 on bovine dental enamel slabs of, which first underwent ultrafiltered spit simulating the formation of acquired pellicle is used. For 5 days, biofilms were subjected to 10% sucrose 3 times a day for 5 minutes each time and then subjected to experimental groups with oleic and linoleic fatty acids at concentrations 100, 10 and 1 mM, besides the positive anticaries control Fluoride Sodium 0,05% and the negative anti caries control Sodium chloride 0.9%. Culture medium was renewed 2 times a day and after each pH change was determined. The biofilms were separated from the enamel slab and biomass, demineralization was analyzed by the percentage of surface microhardness loss (%SHL), protein concentration and acidogenicity. Experiments were repeated twice, with each condition in triplicate ($n = 6$).

Results: Acidogenicity showed pH 6 to 6.5 values for enamel slabs treated with 10 mM and 100 mM linoleic acid at and 100 mM oleic acid, exceeding the pH of the samples treated with sodium fluoride 0.05% that skirted below 6. Demineralization and viable microorganisms values, showed lower values on biofilms treated with 100 mM linoleic acid, followed by 10 mM linoleic

acid and 100 mM oleic acid, similar results to those obtained in sodium fluoride were observed 0.05%, also significant difference between these groups and sodium chloride 0.9% ($p < 0.0001$) was observed. The results of total proteins and biomass yielded no significant differences between groups ($p > 0.05$), biofilms exposed to 100 mM and 10 mM linoleic acid showed a trend toward a decrease in biomass over other treatments with lower concentrations fatty acids, obtaining lower than those obtained in biofilms exposed to sodium fluoride values.

Conclusions: The anti caries role of oleic and linoleic fatty acids in dual biofilm model with *S. mutans* and *S. sanguinis*, is actually visible by reducing the percentage of surface microhardness loss (%SHL), acidogenicity and viable microorganisms, along with a decrease in biofilm formation tendency, and total protein by increasing the concentration of these in 100 or 10 mM, obtaining a greater reduction of the cariogenicity dose dependent manner.

Keywords: Dual biofilm, *S. sanguinis*, *S. mutans*, **Fatty acids**, anti caries