

Efecto de la actividad del *Streptococcus mutans* ante los azúcares alulosa y sacarosa. Estudio *in vitro*.

Effect of *Streptococcus mutans* activity in the presence of allulose and sucrose sugars: an *in vitro* study.

Meléndez Wong Claudia Alicia ¹, Flores Vázquez Cathya Andrea ¹, Hernández Morales Cecilia ¹, Sifuentes López Katia Fernanda ¹, Hernández Quintero María Fernanda ¹, Aguilera Flores Alejandro ¹

¹Facultad de Odontología. Unidad Torreón. Universidad Autónoma de Coahuila. Av. Benito Juárez y Calle 17 C.P. 27000. Torreón Coahuila.

Resumen

Introducción: La caries es una de las enfermedades bucales crónicas de mayor prevalencia asociada principalmente con *Streptococcus mutans*. La sacarosa, estimula un aumento del 50 % en la actividad bacteriana, lo que favorece su reproducción de manera más fácil y rápida, causando un mayor daño. En contraste, la alulosa es considerada un azúcar poco común, con efectos beneficiosos para la salud, que ha sido poco estudiada en la prevención de caries. **Objetivo:** evaluar el efecto *in vitro* de los azúcares alulosa y sacarosa a la actividad del *Streptococcus mutans*. **Método:** Estudio longitudinal, experimental *in vitro*. Se cultivó *S. mutans* ATCC 25175 en caldo BHI. En placas de 96 pozos se evaluó el crecimiento bacteriano de *S. mutans* por espectrofotometría a tiempos de 0, 30, 120 y 240 minutos después de la aplicación de alulosa y sacarosa en distintas concentraciones (25 %, 50 %, 75 % y 100 %). **Resultados:** El número de células bacterianas de *S. mutans* después de ser expuestas a la sacarosa fue mayor (5.1×10^8) que el de las células/mL expuestas a alulosa (3.3×10^8) en cada punto de tiempo, y la acumulación de células bacterianas alcanzó su punto máximo a una concentración de 12.50 %. **Conclusión:** Se observó que los cultivos de *S. mutans* después de ser expuestos al edulcorante de alulosa mostraron menor proliferación de crecimiento que los cultivos con sacarosa. Por lo tanto, el efecto de la actividad antimicrobiana de la alulosa sobre *S. mutans* fue mayor al compararlo con la sacarosa.

Palabras clave: alulosa, anticariogénico, caries, sacarosa, *Streptococcus mutans*.

Abstract

Introduction: Caries is one of the most prevalent chronic oral diseases, primarily associated with *Streptococcus mutans*. Sucrose stimulates a 50 % increase in bacterial activity, making reproduction easier and faster, causing greater damage. Allulose is considered an uncommon sugar with health benefits, but it has been little studied in the prevention of caries. **Objective:** evaluate the *in vitro* effect of allulose and sucrose sugars on the activity of *Streptococcus mutans*. **Method:** Longitudinal, experimental *in vitro* study. *S. mutans* ATCC 25175 was cultured in BHI broth. Bacterial growth of *S. mutans* was evaluated by spectrophotometry at times 0, 30, 120, and 240 minutes after the application of allulose and sucrose at different concentrations (25 %, 50 %, 75 %, and 100 %) in 96-well plates. **Results:** The number of *S. mutans* bacterial cells after being exposed to sucrose was higher (5.1×10^8) than that of the cells/mL exposed to allulose (3.3×10^8) at each time point, and the accumulation of bacterial cells peaked at a concentration of 12.50 %. **Conclusion:** It was observed that *S. mutans* cultures after being exposed to allulose sweetener showed less growth proliferation than cultures with sucrose. Therefore, the antimicrobial activity effect of allulose on *S. mutans* was greater compared to sucrose.

Keywords: allulose, anticariogenic, caries, sucrose, *Streptococcus mutans*.

Manuscrito recibido 30 de enero de 2025.

Revisión aceptada 24 de junio de 2025.

Dirección de correspondencia: Aguilera Flores Alejandro, Facultad de Odontología. Unidad Torreón. Universidad Autónoma de Coahuila. Av. Benito Juárez y Calle 17 C.P. 27000. Torreón Coahuila. E-mail: aaguileraflores@uadec.edu.mx

Introducción

La caries dental es una de las enfermedades bucales crónicas de mayor prevalencia a nivel mundial, la cual se asocia principalmente con *Streptococcus mutans*.¹ El *Streptococcus mutans* fue aislado de las lesiones de caries dental humana por Clarke en 1924, determinando que el hábitat natural del *S. mutans* es la cavidad oral del ser humano.² Se considera que la biopelícula adquirida se forma por varios mecanismos, como la precipitación de ácidos, la precipitación de enzimas y las teorías de adherencia bacteriana selectiva y no selectiva; es gracias a los conceptos de adherencia selectiva (específicamente las iónicas, hidrofóbicas y de lectina) que se tiene una mejor comprensión de la colonización inicial de la biopelícula por el *Streptococcus sanguis* y el *S. mitis*. Como una bacteria del ácido láctico, *S. mutans* depende exclusivamente de la glucólisis para la producción de energía.³ La sacarosa es un disacárido β 2.1-enlazado compuesto por glucosa y fructosa que, por diversas razones, ha demostrado ser el más cariogénico de todos los carbohidratos. Al respecto, *S. mutans* ha desarrollado múltiples vías para catabolizar la sacarosa y producir ácido, y varias enzimas glucosiltransferasas convierten la sacarosa en un polímero extracelular similar a un pegamento, llamado glucano, que favorece la formación de biopelículas mediante la adhesión celular a superficies dentales y otros microorganismos orales.⁴

La sacarosa, estimula un aumento del 50 % en la actividad bacteriana, lo que favorece una reproducción más fácil y rápida, causando un mayor daño al huésped.⁵ Por el contrario, la alulosa es considerada un azúcar poco común con efectos beneficiosos para la salud, pero ha sido poco estudiada en la prevención de caries.⁶ La D-alulosa es el epímero en C-3 de la D-fructosa. La D-alulosa es segura para el consumo humano y fue aprobada en el 2011 por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) e los Estados Unidos para aplicaciones alimentarias. No solo puede utilizarse en alimentos y suplementos dietéticos como un edulcorante bajo en calorías, sino que también presenta varias funciones fisiológicas.⁷ Este estudio busca evaluar la capacidad de estos azúcares para influir en el crecimiento y la producción de biopelículas en esta bacteria, lo que podría influir en el desarrollo de estrategias para prevenir la caries dental. El objetivo es evaluar el efecto in vitro de los azúcares alulosa y sacarosa a la actividad del *Streptococcus mutans*

Material y métodos

Estudio longitudinal, experimental in vitro.

Muestra: *S. mutans* ATCC 25175

Variables.

- Independientes: azúcar usada (alulosa o sacarosa)
- Dependientes: Concentración de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

- Preparación de cepa de *S. mutans* ATCC 25175.

Se obtuvo comercialmente de la American Type Culture Collection (ATCC 25175)

Se cultivó a 37°C y 5 % de CO₂ en caldo Brain Heart Infusion (BHI)⁸ durante 24 horas y se ajustaron a una densidad óptica (OD) de 0.5 - 0.6 a 600 nm (1×10^8) UFC/mL) escala de McFarland.

Se realizó tinción de Gram.

Preparaciones stock de alulosa y sacarosa.

Se pesó 1 gramo (alulosa o sacarosa) en 100 mL de agua destilada.

Soluciones de trabajo:

Se prepararon diluciones de cada azúcar (alulosa o sacarosa) al 25 %, 50 %, 75 % y 100 %.

El ensayo en el laboratorio se realizó con tres grupos experimentales o tratamientos.

- Grupo 1. Formado por cultivo de *S. mutans* + alulosa a concentraciones (25 %, 50 %, 75 % y 100 %.)
- Grupo 2. Representado por cultivo de *S. mutans* + sacarosa a las diferentes concentraciones (25 %, 50 %, 75 % y 100 %.)
- Grupo 3. Control, el cual estuvo formado por cultivo de *S. mutans*.

Cada grupo con tres repeticiones y observaciones en el tiempo a las 0, 30, 60 y 240 minutos utilizando una microplaca de 96 pozos.

En cada pocillo se agregaron las soluciones de alulosa y sacarosa por triplicado.

A todos los pocillos se agregó *S. mutans* (1×10^8 UFC/mL).

Se determinó la absorbancia mediante un espectrofotómetro⁹ DYNATECH a una longitud de onda de 625 nm a los tiempos 0, 30, 60 y 240 minutos.

Estadística

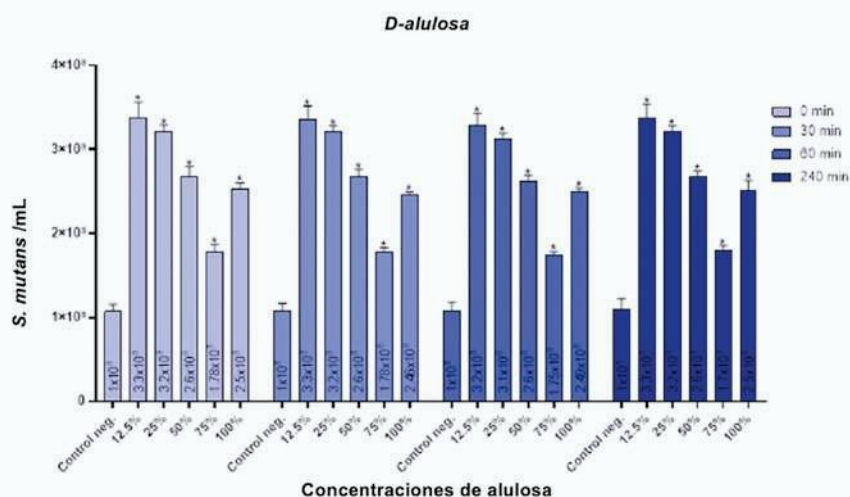
Para evaluar las comparaciones entre las diferentes concentraciones de alulosa o sacarosa, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con post hoc de Dunnett.

El análisis de los resultados se realizó por medio del paquete estadístico GraphPad Prism 8, considerando significancia estadística cuando $p < 0.05$ con el control negativo.

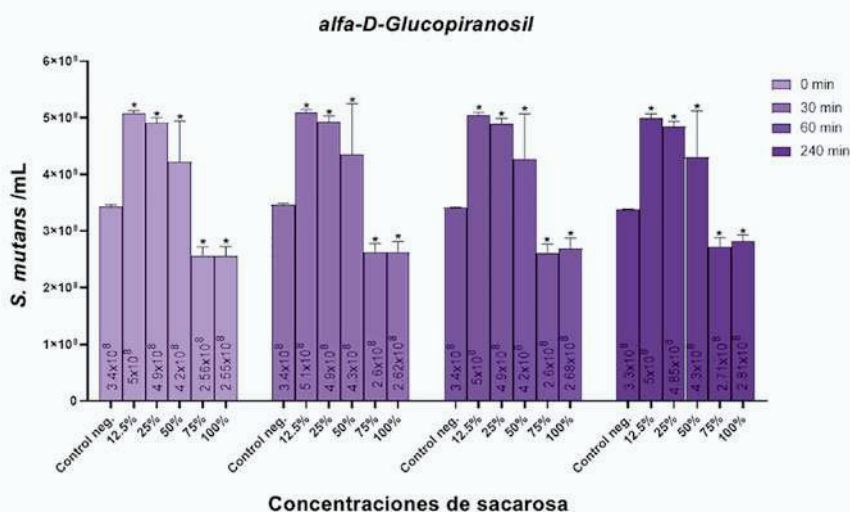
La absorbancia fue directamente proporcional a la concentración de los microorganismos.

Resultados

El crecimiento de células de *S. mutans* posterior a la exposición de la alulosa y sacarosa aumentó con diferencia estadística respecto al control negativo (gráficas 1 y 2).



Gráfica 1. Alulosa a diferentes concentraciones (12.5%, 25%, 50%, 75%, 100%) + *S. Mutans* (en células x 10⁸) a diferentes tiempos. (Fuente propia).



Gráfica 2. Sacarosa a diferentes concentraciones (12.5%, 25%, 50%, 75%, 100%) – *S. mutans* x 10⁸) a diferentes tiempos. (Fuente propia).

El número de células bacteriana de *S. mutans* después de ser expuestas a la sacarosa fue

mayor (5.1×10^8) que el de las células/mL expuestas a alulosa (3.3×10^8) en cada punto de tiempo ($p < 0.05$), y la acumulación de células bacteriana alcanzó su punto máximo a una concentración de 12.50 % (gráfica 1).

A medida que transcurría el tiempo, el *S. mutans* expuesto a la alulosa presentó un incremento en la cantidad de células bacterianas, siendo su valor más bajo a los 0 minutos con

1.78×10^8 y su valor más alto a los 240 minutos con 3.386×10^8 , como muestra la gráfica 1, mientras que después de la exposición a sacarosa los valores fueron más altos 0 minutos con 2.56×10^8 y su valor más alto a los 240 minutos con 5.1×10^8 (gráfica 2).

Discusión

Alshahrani y Gregory¹⁰ consideraron que el *S. mutans* es una de las principales bacterias implicadas en la caries

dental, así como los hábitos alimenticios, especialmente el consumo de sacarosa y las prácticas de higiene bucal.

Hu y colaboradores⁷ mencionaron que la D-alulosa ha ganado cada vez más atención debido a sus excelentes propiedades, como bajo en calorías, con un 70 % de dulzor de sacarosa, 0.4 kcal/g de energía dietética por lo que el presente estudio buscó determinar la capacidad anticariogénica, una característica sobre la cual no se han reportado resultados en otras investigaciones.

Los resultados obtenidos revelaron que el número de *S. mutans* en presencia de alulosa fue menor a el número de células bacteriana de *S. mutans* en presencia de sacarosa, sin embargo, no se encontraron resultados en otros análisis para compararlos.

Conclusión

Según los resultados obtenidos se observó que los cultivos de *S. mutans* mostraron menor proliferación de crecimiento después de ser expuestos al edulcorante comercial de alulosa comparados con los cultivos con sacarosa. Por lo tanto, el efecto de la actividad antimicrobiana de la alulosa sobre *S. mutans* fue mayor al compararlo con la sacarosa.

Agradecimientos

A la facultad de Odontología de la Unidad Torreón de la Universidad Autónoma de Coahuila, al Laboratorio de Investigación de la misma, así como a la Dra. Cecilia Hernández y la Q.F.B. Brenda Mora, por la obtención de datos.

Referencias:

1. Ojeda JC, Oviedo E, Salas LA. Streptococcus mutans and dental caries. Rev CES Odontol. 2013;26(1):44–56. Disponible en: <https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2684/1859>
2. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans. Microbiol Rev. 1980;44(2):331–384. doi: 10.1128/mr.44.2.331-384.1980
3. Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol Rev. 1986;50(4):353–380. doi: 10.1128/mr.50.4.353-380.1986
4. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA et al. The Biology of Streptococcus mutans. Microbiol Spectr. 2019;7(1) doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018
5. Giacaman RA. Sugars and beyond. The role of sugars and the other nutrients and their potential impact on Caries. Oral Dis. 2018;24(7):1185–1197. doi: 10.1111/odi.12778
6. Fernández LA, Pellegrino N, Contigiani EV, Alzamora SM, Pita Martín de Portela ML. Alulosa como edulcorante alternativo para reducir el índice glucémico y las calorías de los alimentos: aspectos biológicos, legales y tecnológicos. Actualización en Nutrición. 2023;24(3):215–225. doi: 10.48061/SAN.2022.24.3.215
7. Hu M, Li M, Jiang B, Zhang T. Bioproduction of D-allulose: Properties, applications, purification, and future perspectives. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2021;20(6):6012–6026. doi: 10.1111/1541-4337.12859
8. Asna ZH, Karmaker M, Sarker UJ. Brain Heart Infusion Agar: A Surrogate of Agar Blood. Bangladesh J Med Microbiol. 2018;12(1):24–6. doi: 10.3329/bjmm.v12i1.51688
9. Díaz NA, Bárcena Ruiz JA, Fernández Reyes E, Galván Cejudo A, Jorrián Novo J, Peinado Peinado J, et al. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. [sin fecha]. Disponible en: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
10. Chen X, Daliri EBM, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial etiology and prevention of dental caries: Exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. Pathogens. 2020;19(7):1–15. doi: 10.3390/pathogens9070569