

EFFECTOS SINÉRGICOS DE COMBINACIONES DE COMPUESTOS ANTIMICROBIANOS FRENTE A *Listeria innocua* Y *Staphylococcus aureus*

Verdi¹, MC; Eisenberg^{1,2}, P.; Blanco Massani¹, M.
¹INTI Plásticos; ²3iA-UNSAM.
mverdi@inti.gov.ar

Introducción

Listeria y *Staphylococcus aureus* son microorganismos patógenos oportunistas [1, 2] que han sido asociados a brotes de enfermedades por consumo de alimentos lácteos [3-5]. En los últimos años se han planteado diferentes estrategias de preservación en busca de reducir el impacto de estos microorganismos en la industria de alimentos.

Objetivo

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la combinación de diferentes compuestos antimicrobianos permitidos en la industria láctea, como una estrategia para combatir *Listeria* y *S. aureus*.

Descripción

Microorganismos y condiciones de cultivo.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 y *Listeria innocua* 7 (cedida por CERELA-CONICET) fueron cultivados (18-24 h) a 37°C en medio Mueller Hinton (MH). Hasta su uso las cepas fueron mantenidas a -20°C en 15% de glicerol.

Agentes antimicrobianos. Se prepararon soluciones madre de nisina (Nis) (Maxinis®, Argentina), lactato de sodio (LS) (Sigma, EUA), propionato de calcio (PC) (Inmobal Nutrer, Argentina) y sorbato de potasio (SP) (Inmobal Nutrer, Argentina) en buffer fosfato estéril (KH₂PO₄-Na₂HPO₄ 0,067M, pH 5,4).

Evaluación de la actividad antimicrobiana.

Se estudió la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los antimicrobianos utilizando el método de difusión en agar [6]. Para estudiar el efecto inhibitorio de antimicrobianos combinados, se construyeron isobologramas utilizando combinaciones binarias (Nis+SP, Nis+PC, Nis+LS) y se calculó la curva aditiva dada por la CIM de cada componente [7]. Combinaciones sub-inhedoras fueron evaluadas por el método de difusión en agar. Si la inhibición es dada por un punto debajo de la curva aditiva, la interacción es sinérgica; si la

inhibición es dada sobre la curva, la interacción es aditiva; y si la inhibición es dada por encima de la curva, la interacción es antagonista.

Resultados

Tanto *L. innocua* como *S. aureus* fueron inhibidos por los antimicrobianos evaluados (Nis, SP, PC y LS). Para inhibir el crecimiento de *L. innocua* se requirieron concentraciones menores de todos los antimicrobianos en comparación con *S. aureus*, indicando una mayor sensibilidad de *L. innocua* (Tabla 1). Para ambos microorganismos se observó que el orden de las CIM requeridas fue LS>SP>PC>Nis, sugiriendo una mayor capacidad inhibitoria por parte de Nis.

Antimicrobiano	Concentración Inhibitoria Mínima (mg/ml) frente a	
	<i>L. innocua</i> 7	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Nis	1	3
SP	25	100
PC	12,5	25
LS	60	390

Tabla 1. CIM de los distintos antimicrobianos (pH 5,4) evaluada frente a los microorganismos detallados.

Como se observa en la Figura 1, la combinación de todos los antimicrobianos con Nis, mostró un efecto sinérgico en la inhibición de *L. innocua* y *S. aureus* (Fig 1 A y B). Esto permitió una reducción a concentraciones sub-inhedoras, respecto a la CIM de cada antimicrobiano por separado. En el caso de *L. innocua* la combinación con Nis permitió disminuir las cantidades de los antimicrobianos en un 80% (Nis), 95% (LS), 99% (PC) y 83% (SP). Para *S. aureus*, la reducción fue menor, obteniéndose disminuciones de un 16,7% (Nis), 58,3% (LS), 41,7% (PC) y 33,3% (SP).

[7] Singh (2001). Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. Food Microbiology, 18(2), 133-139

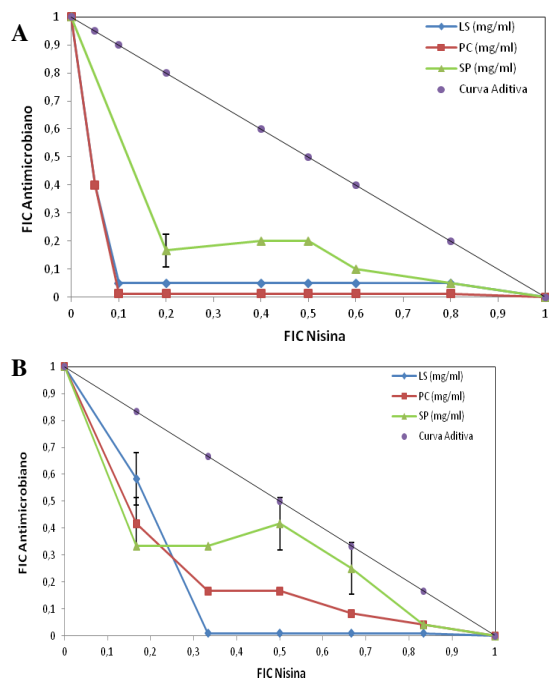


Figura 1. Isoblograma representando el efecto de la combinación de Nis con LS, PC o SP para la inhibición de (A) *L. innocua* 7 y (B) *S. aureus* ATCC25923 (37°C, pH 5,4). FIC = [concentración antimicrobiano en solución/CIM].

Conclusiones

En conclusión, la combinación de SP, PC y LS con Nis produjo un efecto sinérgico frente a *L. innocua* 7 y *S. aureus*. Se requirieron concentraciones sub-inhedoras de los antimicrobianos evaluados para lograr la inhibición de los microorganismos. En el caso de *L. innocua*, la inhibición se logró con concentraciones más bajas que para *S. aureus*. Estos resultados presentan una alternativa promisoriosa para evitar el crecimiento de microorganismos indeseados en la industria láctea.

Bibliografía

- [1] Bortolussi (2008). Public health: Listeriosis: A primer. Cmaj, 179(8), 795–797.
- [2] Landgraf & Destro (2013). Staphylococcal Food Poisoning. Foodborne Infections and Intoxications, 389–340.
- [3] Silk (2013). Vital Signs: Listeria Illnesses, Deaths, and Outbreaks - United States, 2009-2011. MMWR, Vol. 62.
- [4] Carmo(2002). Food poisoning due to enterotoxigenic strains of Staphylococcus present in Minas cheese and raw milk in Brazil. Food Microbiology, 19(1), 9–14.
- [5] Johler (2015). Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. Journal of Dairy Science, 98(5), 2944–8.
- [6] Pongtharangkul & Demirci (2004). Evaluation of agar diffusion bioassay for nisin quantification. Applied Microbiology and Biotechnology, 65(3), 268–272.