

ENCAPSULACIÓN DEL PÉPTIDO ANTIMICROBIANO AP7121 PARA SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL



Dr. Gastón Delpech¹, Dra. Mónica Sparo^{1*}, Dra. Cecilia García², Bioq. Sabina Lissarrague², Lic. Mónica Ceci¹

¹Departamento Clínico, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Argentina.

²Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina.

*Correo electrónico: monicasparo@gmail.com

Introducción

El péptido antimicrobiano AP7121 (AP), producido por la bacteria probiótica *Enterococcus faecalis* CECT7121, presenta actividad bactericida sobre patógenos Gram positivos de animales para consumo, mascotas y humanos: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, entre otros (1-4).

Aunque no presenta toxicidad, la vía de administración oral está inhibida por la acidez gástrica y enzimas proteolíticas digestivas (1).

Objetivo

Investigar la eficacia de la encapsulación de AP para su administración por vía oral.

Materiales y Métodos

Encapsulación

Fue realizada según el método estandarizado por García (5); por formación de gotas de alginato de sodio estéril 2,2% conteniendo AP (30,0 mg/L, concentración final) y circulando en dispositivo extrusor.

Las gotas se derramaron sobre un baño con CaCl₂ 0,1M que indujo la gelificación (25-30 min). Las cápsulas se colaron y lavaron con H₂O destilada estéril.

Tamaño de cápsulas

Medición con calibrador.

Evaluación de actividad inhibitoria

En cápsulas y solución de CaCl₂, mediante Concentración Inhibitoria Mínima de AP (CIM_{AP}), con *L. monocytogenes* ATCC 19111 (LM, CIM_{AP}: 0,8 mg/L).

Concentración de AP

En cápsula y solución de CaCl₂ por método de Bradford.

Estabilidad frente a enzimas proteolíticas

tripsina, α -quimotripsina, proteinasa K, pronasa E. Se mezclaron 0,5 mL de cada enzima (1 mg/mL) con $n=10$ cápsulas, incubando 1h, 37°C.

Actividad residual

Mediante CIM_{AP} con LM.

Influencia del pH

$n=10$ cápsulas, sumergidas (1, 2, 4 h, 37°C) en solución de HCl, pH=2,5.

Para los estudios del AP encapsulado se disolvió 1,0 g de cápsulas en 9,0 mL de buffer fosfato 0,2 M hasta disolución.

Los experimentos se realizaron tres veces por duplicado.

Resultados

Las cápsulas obtenidas fueron uniformes (0,4±0,01 mm) y se obtuvo una concentración final de AP: 29,7±0,3 mg/L con una CIM_{AP}: 0,8 mg/L para LM.

En la solución de CaCl₂ residual las proteínas no fueron dosables y no se detectó actividad inhibitoria sobre LM.

Frente a enzimas proteolíticas, no se observó descenso de actividad, permaneciendo inalterable en las cápsulas (CIM_{AP} de LM: 0,8 mg/L).

Luego de la exposición a pH=2,5 a 1, 2 y 4 h, solo se observó pérdida significativa de actividad a las 4 h de exposición. CIM_{AP} de LM para 1h: 0,8 mg/L; 2 h: 0,8 mg/L; 4 h: ≥ 16 mg/L.

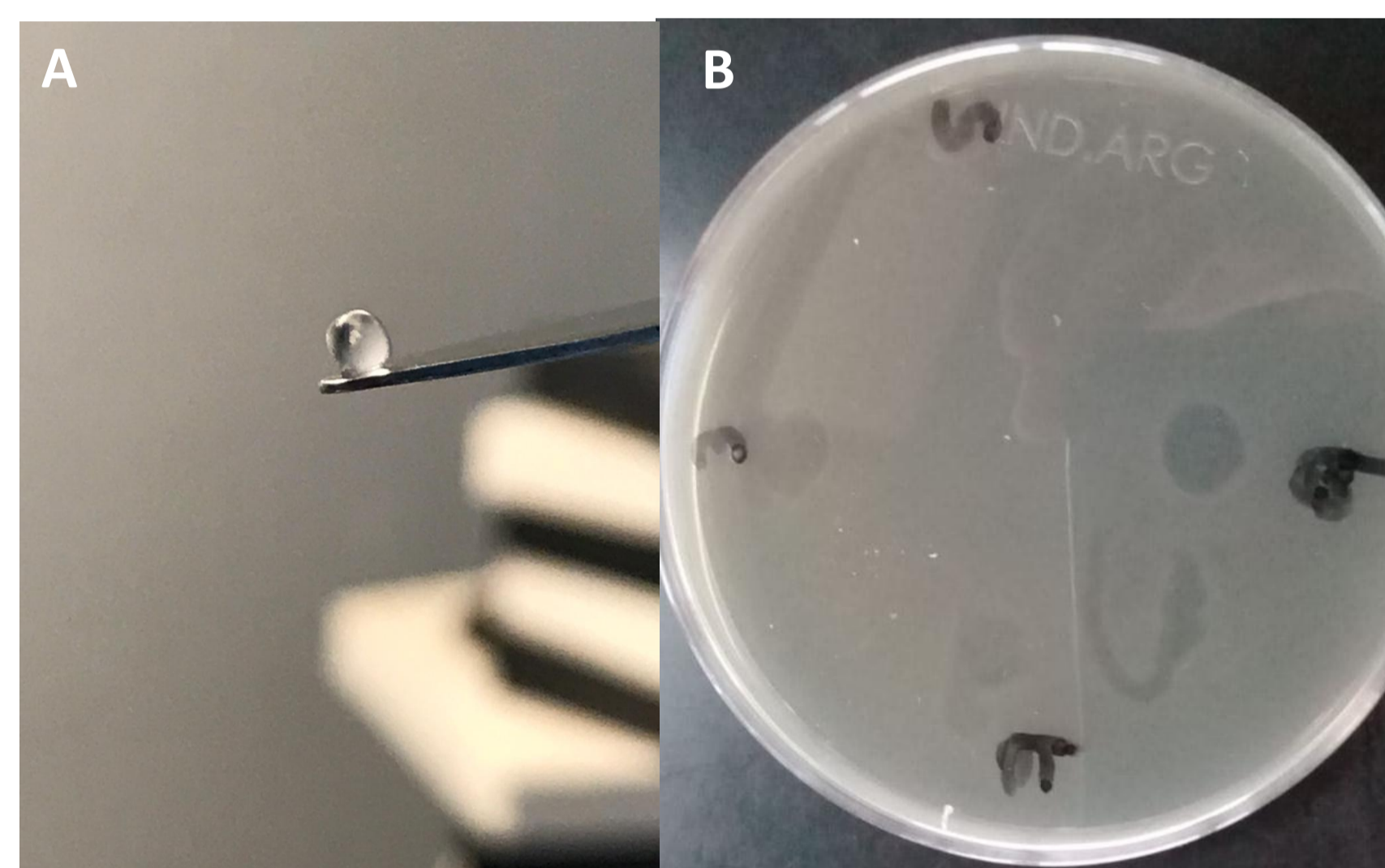


Figura 1. A) Cápsula de alginato con AP. B) Actividad inhibitoria de AP sobre LM previamente a la encapsulación (9), posteriormente a la encapsulación (3) y en el sobrenadante final (S, T).

Conclusiones

Los resultados obtenidos habilitarían la utilización de AP en cápsulas para su administración por vía oral, dada su resistencia al pH ácido estomacal y enzimas proteolíticas, factores limitantes para su uso sin protección de su actividad.

Referencias

1. Sparo M. 2006. Bacteriocins of lactic acid bacteria isolated from corn silage of Tandil County, Argentina. Tesis doctoral. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires.
2. Sparo MD, Castro MS, Andino PJ, Lavigne MV, Ceriani C, Gutierrez GL, Fernández MM, De Marzi MC, Malchiodi EL, Manghi MA. 2006. Partial characterization of enterocin MR99 from a corn silage isolate of *Enterococcus faecalis*. J Appl Microbiol. 100:123-134.
3. Sparo M, Nuñez GG, Castro M, Calcagno ML, García Allende MA, Ceci M, Najle R, Manghi M. 2008. Characteristics of an environmental strain, *Enterococcus faecalis* CECT7121 and its effects as additive on craft dry-fermented sausages. Food Microbiol. 25: 607-615.
4. Delpech G, Ceci M, García Allende L, Sparo M. 2018. *Escherichia coli* O157:H7 isolated from feedlot ground beef: bactericidal activity of AP-CECT7121 and synergistic effect with colistin. Vet.Pharm Therap. 41 (Suppl. 1): 126.
5. García MC. 2013. La encapsulación de bacterias y enzimas como herramienta para la desnitrificación de aguas.. Tesis doctoral. Tandil: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.