

# VALUTAZIONE DELLA PRODUZIONE DI BIOFILM IN CEPPI DI *CANDIDA SPP.* ISOLATI DA EMOCOLTURE E MATERIALI VARI A DIVERSE TEMPISTICHE

A. Marzucco (1), C. Colosimo (1), M. Fantini (1), M.S. Montanari (1), I. Zaghi (1), M. Morotti (1), V. Sambri (1), M. Cricca (1)  
(1) U.O. Microbiologia - Laboratorio Unico della Romagna, Pievesestina - Cesena

## Introduzione

La formazione di biofilm da parte di *Candida spp.*, è un fenomeno importante per la patogenesi delle infezioni invasive, soprattutto per le infezioni catetere-correlate del torrente circolatorio, che incrementa la possibilità di resistenza ai farmaci antifungini. Per studiare i meccanismi coinvolti nella formazione e nella resistenza del biofilm si possono allestire dei saggi in vitro o di PCR per valutare la biomassa, come Cristal violetto (CV) e coloranti metabolici, in maniera da scegliere la terapia appropriata. Lo scopo è quello di standardizzare dei saggi di valutazione della produzione di biofilm da parte di *Candida spp.* al fine di poterne saggiare la suscettibilità ai farmaci antifungini.

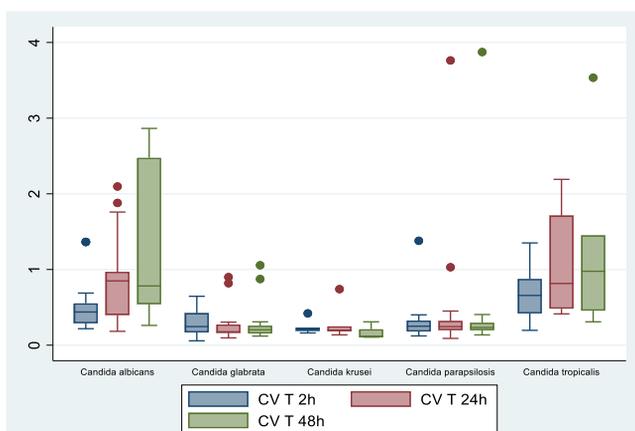
## Metodi

Sono state valutate 59 specie di *Candida* isolate presso l'UO Microbiologia, Laboratorio Unico della Romagna (FC), 13 *C. albicans*, 20 *C. parapsilosis*, 7 *C. tropicalis*, 5 *C. krusei* e 14 *C. glabrata*. Dei 59 isolati, 43 (73%) provenivano da emocolture positive e 16 (27%) da materiali vari, di cui 11 (26%) da catetere venoso centrale (CVC) e 32 da sangue periferico. I ceppi sono stati coltivati in terreno selettivo (CAN2, bioMérieux) per 24 ore a 37°C e risospese in RPMI-1640 (Gibco) ad una concentrazione di  $10^7$  CFU/ml. Della sospensione 100  $\mu$ l sono stati inoculati in sestuplicato in micropozzetti a fondo piatto (T30096, SPL) e incubati 2, 24 e 48 ore a 37°C. La produzione di biofilm alle diverse tempistiche è stata valutata mediante lettura spettrofotometrica a 595 nm dopo colorazione con CV.

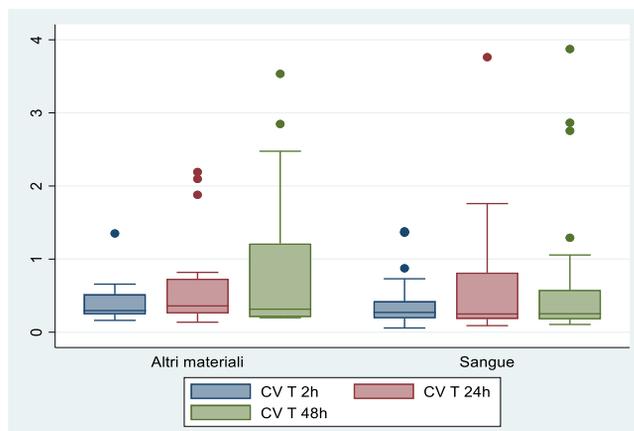


## Risultati

Confrontando la produzione di biofilm dei ceppi isolati da emocolture rispetto ai materiali vari, non si osserva alcuna differenza statisticamente significativa ( $p_{20re}=0.357$ ,  $p_{24ore}=0.147$  e  $p_{48ore}=0.113$ ) alle 3 tempistiche. Analogamente, nessuna differenza è stata osservata tra i ceppi isolati da CVC ( $p_{20re}=0.06$ ,  $p_{24ore}=0.08$  e  $p_{48ore}=0.889$ ) rispetto a quelli provenienti da sangue periferico. Invece, analizzando la produzione di biofilm da parte delle diverse specie di *Candida* isolate da emocoltura, si evince una maggior produzione da parte di *C. albicans* ( $p_{20re}=0.0156$ ,  $p_{24ore}=0.0102$  e  $p_{48ore}=0.0006$ ) rispetto alle altre specie e di *C. glabrata* alle 24 ore ( $p=0.005$ ) e alle 48 ore ( $p=0.0316$ ) rispetto alle altre specie. Nessuna differenza significativa è presente tra *C. parapsilosis* e le altre specie ( $p_{20re}=0.129$ ,  $p_{24ore}=0.320$  e  $p_{48ore}=0.385$ ). L'analisi statistica è stata effettuata con il software Stata 17.



Differenza tra specie alle tre tempistiche



Differenza tra materiali

## Conclusioni

L'analisi della produzione di biofilm a 2, 24, 48 ore mediante CV ha evidenziato una differenza significativa in base alla specie di *Candida* e non in base alla sede di provenienza dell'isolato. Oltre al CV stiamo studiando la formazione di biofilm anche con traccianti metabolici (Alamar blue, Invitrogen) e RT-PCR. La standardizzazione di questi saggi è preliminare allo studio dell'efficacia in vitro di farmaci antifungini.