

comunicazioni orali

SESSIONE 8

Infezioni da Biofilm Microbici: antibiotico-resistenza, virulenza, diagnostica e approcci farmacologici

Venerdì 5 ottobre 2007, ore 09.00 - 13.00, AUDITORIUM

CO8.1

FORMAZIONE DI BIOFILM IN VITRO DA PARTE DI CEPPI DI STAPHYLOCOCCUS AUREUS SENSIBILI E RESISTENTI ALLA METICILLINA ISOLATI DA PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA

Lambiase A., Del Pezzo M., *Raia V., Pulcrano G., Roschetto E., Rossano F.

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "L. Califano".

*Centro di Riferimento Regionale per la Fibrosi Cistica.

Dipartimento di Pediatria. Università di Napoli "Federico II".

L'eziologia dell' infezione polmonare in Fibrosi Cistica (CF) è ascrivibile a diversi patogeni batterici che possono essere abili a formare biofilm in tale sede, abilità conferente vantaggi quali protezione dalla risposta immunitaria ed antibiotico-resistenza.

Scopo dello studio è analizzare la capacità di produzione di biofilm da parte di ceppi di Staphylococcus aureus sia sensibili che resistenti alla meticillina (MSSA e MRSA) isolati da campioni respiratori di pazienti CF. A tal fine sono stati utilizzati ceppi di MSSA (n=30) e ceppi di MRSA (n=30) isolati da pazienti in follow-up presso il Centro di Riferimento per la CF Campano, nel periodo 2003-2006.

Per valutare l'aderenza batterica, abbiamo utilizzato un **metodo** spettrofotometrico per cui inoculi batterici cresciuti in TSB sono poi diluiti con TSB fresco e con TSB privo di glucosio. Aliquote di tali inoculi sono poste in micropiastre ed incubate per 18 h a 37°C. Dopo un lavaggio con PBS, i pozzetti sono colorati con cristal violetto e l'aderenza alle superfici è letta allo spettrofotometro (570 nm). Il valore di aderenza risulta calcolato secondo la formula: $\sqrt{(\text{OD in TSB})^2 + (\text{OD in TSB senza glucosio})^2}$. I cut-off utilizzati sono: $\text{OD} \leq 0.120 \rightarrow$ batteri

non aderenti; $\text{OD} > 0.240 \rightarrow$ batteri fortemente aderenti; $\text{OD} > 0.120 - 0.240 \leq \rightarrow$ batteri debolmente aderenti (Christensen et al 1985; 22: 996-1006).

I **risultati** indicano che ceppi MRSA sono significativamente più aderenti rispetto a ceppi MSSA se coltivati in TSB privo di glucosio ($p=0.01$), mentre, se coltivati in mezzo con glucosio, sia i ceppi MRSA che quelli MSSA risultano avere la stessa capacità ad aderire.

Le **conclusioni** di tali dati sembrano correlare la resistenza alla meticillina ed l'abilità ad aderire alle superfici ed evidenziano il ruolo dell'influenza ambientale su tale abilità. Lo studio quantitativo della produzione di biofilm rappresenta uno strumento di conoscenza necessario per caratterizzare ulteriormente i ceppi responsabili di infezioni polmonari in pazienti CF.

CO8.2

CARATTERIZZAZIONE DI UN CEPPO DI STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATO DA PROTESI VASCOLARE

Petrelli D¹; Repetto A²; Ciurnella E.³; Parente B.³; Tavolini V.³; Cao P.³; Ripa C.; Vitali L.A.¹

¹Dip. Biologia MCA - Università di Camerino (Camerino)

²Struttura Complessa di Microbiologia

- Ospedale S. Maria della Misericordia (PG)

³Struttura Complessa di Chirurgia Vascolare e

Endovascolare - Università degli Studi di Perugia (PG)

Introduzione. La formazione di biofilm complica il quadro delle infezioni associate a dispositivi medici impiantabili dovute allo *S. aureus*. Il biofilm rappresenta un fattore di virulenza e ha un notevole impatto sulla patogenesi e la terapia. La rimozione del dispositivo infetto risulta spesso indispensabile aumentando sia il trauma per il paziente che il costo del trattamento. Questo lavoro riporta lo studio delle caratteristiche

fenotipiche e genotipiche di uno *S. aureus* da protesi vascolare alto produttore di biofilm.

Metodi. Il ceppo di *S. aureus* è stato isolato da bypass cross over femoro-femorale dx-sx, rimosso da un paziente ricoverato con segni di infezione associati alla protesi vascolare. È stato eseguito l'antibiogramma per PEN, OXA, ERY, TET, CLI, TEL, GEN, CIP, Q-D, RIF, LZD e VAN. La ricerca dei geni di resistenza e di adesività è stata eseguita mediante PCR. Per la quantizzazione del biofilm è stato applicato il saggio del cristalvioletto (CV) mentre il grado di idrofobicità è stato misurato mediante test di adesione agli idrocarburi (toluene).

Risultati. La crescita del ceppo su piastra dava luogo a colonie mucoidi con consistenza elastico-filamentosa, cui corrispondeva, in liquido, la formazione di ammassi ("clump") fortemente resistenti alla disgregazione. Il ceppo era resistente alla PEN e all'ERY e positivo ai geni *blaZ* e *ermA*.

La quantizzazione della biomassa nel saggio al CV ha dato elevati valori di O.D.₅₄₀ (3.0-6.0). Il biofilm, al microscopio confocale, si presentava particolarmente poroso e spesso. L'aggiunta dell'NaCl o dell'etanolo aumentava la quantità di biofilm mentre quella di glucosio la faceva diminuire. Il ceppo era altamente idrofilico e la sua capacità di autoaggregazione sensibile al sodio-metaperiodato. L'analisi dei determinanti genetici di adesività ha fornito il seguente genotipo: *ica⁺atl⁺pls⁻fbnA⁺clfA⁺clfB⁺cna-spa+bbp+sdrC+sdrD⁻sdrE⁺epbS⁻map/eap⁺sasG⁺bap⁻*.

Conclusioni. La presenza di ceppi di *S. aureus* con particolari proprietà nella capacità di formare biofilm sono un problema serio nella pratica chirurgica che utilizza dispositivi protesici.