P202

Antimicrobici

DIFFERENTI EFFETTI DI ENZIMI DEGRADANTI LA MATRICE NEI CONFRONTI DEL BIOFILM DI ISOLATI CLINICI DI E. FAECALIS E E. FAECIUM

R. Torelli [2], M. Cacaci [2], M. Papi [3], C. Martini [2], F. Paroni Sterbini [2], B. Posteraro [1], V. Palmieri [3], M. De Spirito [3], M. Sanguinetti [2], F. Bugli [2]

[1]*Institute of Hygiene, Università Cattolica del SC, L.go F. Vito 1, 00168, Roma, Italy*

[2]*Institute of Microbiology, Università Cattolica del SC, L.go F. Vito 1, 00168, Roma, Italy*

[3]*Institute of Physics, Università Cattolica del SC, L.go F. Vito 1, 00168, Roma, Italy*

INTRODUZIONE

Gli enterococchi sono batteri Gram-positivi presenti nel tratto gastrointestinale e importanti patogeni opportunisti responsabili di infezioni nosocomiali. E. faecalis e E. faecium causano infezioni biofilm-relate del tratto urinario altamente resistenti alle terapie. Con l'obiettivo di trovare una nuova strategia per il trattamento di queste infezioni, abbiamo utilizzato enzimi destrutturanti la matrice del biofilm in combinazione con la vancomicina.

METODI

MICs e formazione del Biofilm: Le MIC alla vancomicina sono state calcolate con il metodo di microdiluizione in brodo (criteri CLSI e EUCAST). Il biofilm è stato formato coltivando gli enterococchi in BHI e glucosio 0,75% per 48h a 37°C in piastre da 96 pozzetti. Sono state quindi aggiunte diluizioni scalari di vancomicina (da 512 a 0,25 mg/L) in presenza/ assenza di Alginate lyase ([AlgL]=15U) o di Deoxyribonuclease I ([DNase I]=100 mg/L). E' stata poi valutata la minima concentrazione di eradicazione del biofilm (MBEC).
Saggi Cristal violetto e XTT: Per misurare la quantità di matrice prodotta abbiamo colorato il biofilm con cristal violetto 0,1% e letta l'assorbanza a OD_{595}. Per valutare la vitalità batterica all'interno del biofilm è stata aggiunta una soluzione contenente XTT e menadione. Dopo 2h a 37°C è stata letta l'assorbanza a OD_{490}.

RISULTATI

Effetto sulla matrice del biofilm delle combinazioni Vancomicina/DNase I e Vancomicina/AlgL: negli isolati di E. faecalis l'aggiunta di DNasi I alla vancomicina ha spostato i valori MBEC verso quelli di MIC (planctonica), fenomeno non osservato con la combinazione vanco/AlgL. Di contro AlgL e vancomicina sono efficaci nella riduzione dei valori MBEC degli isolati di E. faecium.
Effetto sulla vitalità dei batteri nel biofilm delle combinazioni Vancomicina/DNase I e Vancomicina/AlgL: le combinazioni di vancomicina con gli enzimi causano una significativa diminuzione della vitalità delle cellule del biofilm rispetto all'effetto della sola vancomicina. DNase I ha aumentato l'attività di vancomicina contro il biofilm di E. faecalis, mentre per i ceppi di E. faecium abbiamo osservato una maggiore efficacia della vancomicina contro le cellule di biofilm con AlgL.

CONCLUSIONI

Tali risultati suggeriscono che i componenti della matrice, come il DNA extracellulare e l'Alginato, agiscono come barriere impedendo l'accesso degli antibiotici all'interno del biofilm. L'uso di una terapia combinata basata su un antibiotico convenzionale associato ad enzimi in grado di degradare tali componenti della matrice del biofilm potrebbe rendere più efficace l'intervento terapeutico.