

MESSA A PUNTO DI UN SISTEMA INNOVATIVO PER MONITORARE IN TEMPO REALE LA FORMAZIONE DI BIOFILM DI PSEUDOMONAS AERUGINOSA SU TUBI ENDOTRACHEALI

A. Sala¹, E. Pericolini¹, B. Colombari¹, G. Ferretti¹, R. Iseppi², A. Ardizzoni¹, M. Girardis¹, A. Castagnoli³, S. Peppoloni¹, E. Blasi¹

¹Dip. Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

²Dip. Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

³Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

INTRODUZIONE

La maggior parte delle infezioni associate all'assistenza sono dovute alla capacità che molti patogeni hanno di produrre biofilm sui diversi dispositivi medici utilizzati. Ad esempio, i pazienti sottoposti a ventilazione assistita sono particolarmente a rischio di sviluppare infezioni respiratorie legate alla formazione di biofilm da parte di *Pseudomonas aeruginosa* su tubi endotracheali (TE), che evolvono spesso in polmoniti severe. La maggior parte delle attuali conoscenze relative alla formazione di tali biofilm sui dispositivi medici derivano da studi in vitro su micropiastre in polistirene o su materiali plastici. Tuttavia, i risultati che derivano da questi studi non rispecchiano pienamente ciò che accade a livello clinico, poiché la formazione del biofilm è fortemente influenzata da parametri quali la forma e la composizione dei materiali usati per produrre i TE, oltre che da fattori di virulenza microbici. In questo studio abbiamo messo a punto un sistema innovativo in vitro per monitorare in tempo reale la formazione di biofilm di *P. aeruginosa* su TE.

METODI

Tramite l'utilizzo di un ceppo batterico geneticamente modificato bioluminescente, è stato possibile monitorare in tempo reale la formazione di biofilm direttamente sui TE, attraverso la valutazione della bioluminescenza (BL). La validità di tale metodo innovativo è stata comparata a metodiche standard (cristal violetto e microscopia confocale). E' stata inoltre valutata la percentuale di cellule vive/morte nel del biofilm formato sui TE, la produzione di piovverdina e la presenza di DNA extracellulare (in fluorescenza).

RISULTATI

Dimostriamo che: 1) *P. aeruginosa* è in grado di produrre biofilm su TE 2) il segnale di BL, emesso solo da cellule vitali, è proporzionale al numero di batteri rilevabili mediante conta delle unità formanti colonia, 3) la quantificazione del segnale consente di misurare il biofilm prodotto tenendo conto non solo del contributo dei fattori microbici ma anche della forma e del materiale di cui sono fatti i TE, 4) è possibile studiare la produzione di fattori di virulenza e l'attività metabolica dei batteri incorporati nel biofilm sui TE.

CONCLUSIONI

Il modello descritto è ad oggi il sistema in vitro che mima più da vicino quello che può accadere nei pazienti con infezioni TE-associate. Per tale motivo potrà avere un'immediata applicazione per lo screening e la valutazione dell'attività anti-biofilm di nuovi farmaci come anche di nuovi materiali per la produzione di dispositivi medici.