

**LA DAPTOMICINA IN ASSOCIAZIONE CON LA RIFAMPICINA INDUCE LA DISGREGAZIONE DEL BIOFILM DI S. AUREUS ED ELIMINA LE RESISTENZE PRECOCI INDOTTE DA RIFAMPICINA**

S. Sabbatini<sup>2</sup>, A. Gidari<sup>3</sup>, C. Monari<sup>1</sup>, S. Perito<sup>2</sup>, D. Francisci<sup>3</sup>, A. Vecchiarelli<sup>2</sup>, F. Baldelli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Microbiologia, Università di Perugia, Perugia

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina, Sezione di Microbiologia Medica, Università di Perugia, Perugia

<sup>3</sup>Dipartimento di Medicina, Unità di Malattie Infettive, Università di Perugia, Perugia

**INTRODUZIONE**

I biofilm sono comunità organizzate di microrganismi incorporate in una matrice extracellulare autoprodotta. La formazione del biofilm è spesso associata all'uso di dispositivi medici, come cateteri e protesi, su cui batteri e funghi possono stabilmente aderire. In tali condizioni, i batteri sono "protetti" dalle cellule del sistema immunitario e dagli antibiotici, causando il fallimento della terapia antimicrobica. Lo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) è uno dei batteri che più frequentemente forma biofilm su dispositivi medici impiantati. Lo scopo di questo studio è stato di valutare l'effetto della combinazione di rifampicina e daptomicina nella disaggregazione del biofilm di *S. aureus* e nell'induzione della resistenza agli antibiotici.

**METODI**

La formazione del biofilm di *S. aureus* meticillino-sensibile (SAMS, ATCC 6538), è stata indotta in piastre da 96 pozzetti per 48 h a 30°C. In seguito, il biofilm è stato trattato con multipli delle concentrazioni minime inibenti (MIC) di rifampicina da sola ed in combinazione con daptomicina per 24, 48 e 72 h cambiando il terreno con gli antibiotici ogni 24 h. La biomassa totale del biofilm è stata misurata dopo colorazione con cristalvioletto (CV). Per valutare l'insorgenza delle resistenze alla rifampicina, i biofilm sono stati piastrati in mannitol salt agar (MSA) con dischetti di antibiotico.

**RISULTATI**

Il trattamento del biofilm con rifampicina per 24 h ha causato una riduzione della biomassa alle concentrazioni più alte dell'antibiotico, accompagnata, tuttavia, da una precoce insorgenza di resistenza dose dipendente. Inoltre, per il ceppo di SAMS da noi impiegato, si è osservato un aumento delle MIC anche per altri antibiotici, rimanendo comunque sensibili. Prolungando il trattamento fino a 48 e 72 h si perdeva l'effetto della rifampicina sulla biomassa. Trattando il biofilm con la combinazione di rifampicina e daptomicina si otteneva una significativa riduzione della biomassa dopo 24, 48 e 72 h. Inoltre, non si evidenziava insorgenza di resistenza alla rifampicina per tutte le concentrazioni testate.

**CONCLUSIONI**

Questi dati mostrano come l'utilizzo della daptomicina in associazione con la rifampicina sia in grado di una significativa disaggregazione del biofilm e di inibire l'induzione della resistenza alla rifampicina. L'efficacia dell'associazione di antibiotici risulta essere nota nella pratica clinica, tuttavia, questo studio in vitro è utile per valutare l'effetto di combinazioni di farmaci sia su biofilm pre-formati che sulla regolazione dell'insorgenza di resistenze.