



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

SCIENZE
DISVA - DIPARTIMENTO DI
SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE



Corso di laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

“INFEZIONI ENTEROCOCCICHE SOSTENUTE DA BIOFILM”

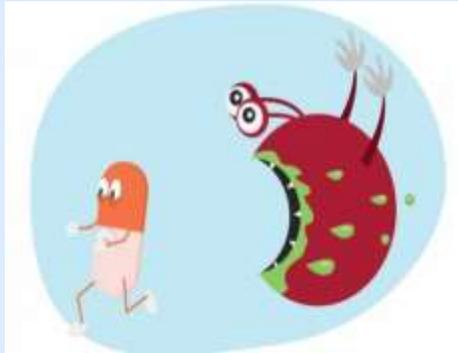
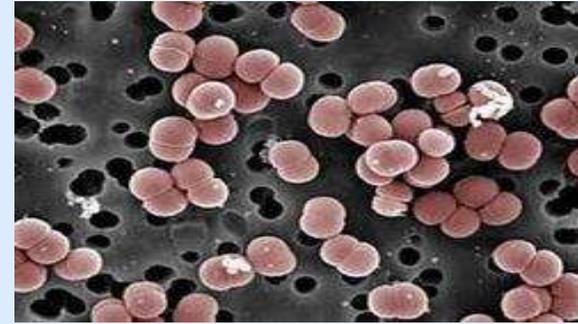
Docente Referente
Prof.ssa Francesca Biavasco

Laureanda:
Arianna Somma

Anno Accademico 2019/2020

ENTEROCOCCUS: membro del microbiota intestinale

- Batteri Gram-positivi
- Aerobi-anaerobi facoltativi
- Tolleranti a diverse condizioni ambientali
- Generalmente NON patogeni in individui “sani”

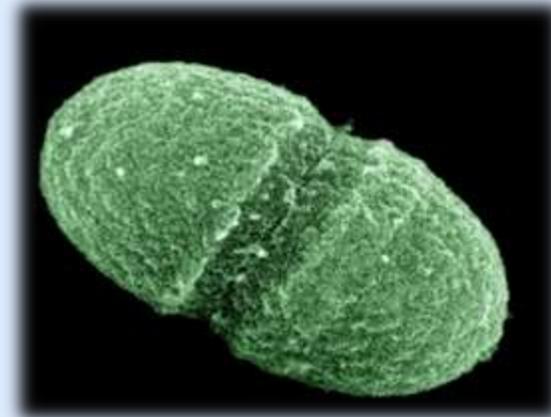


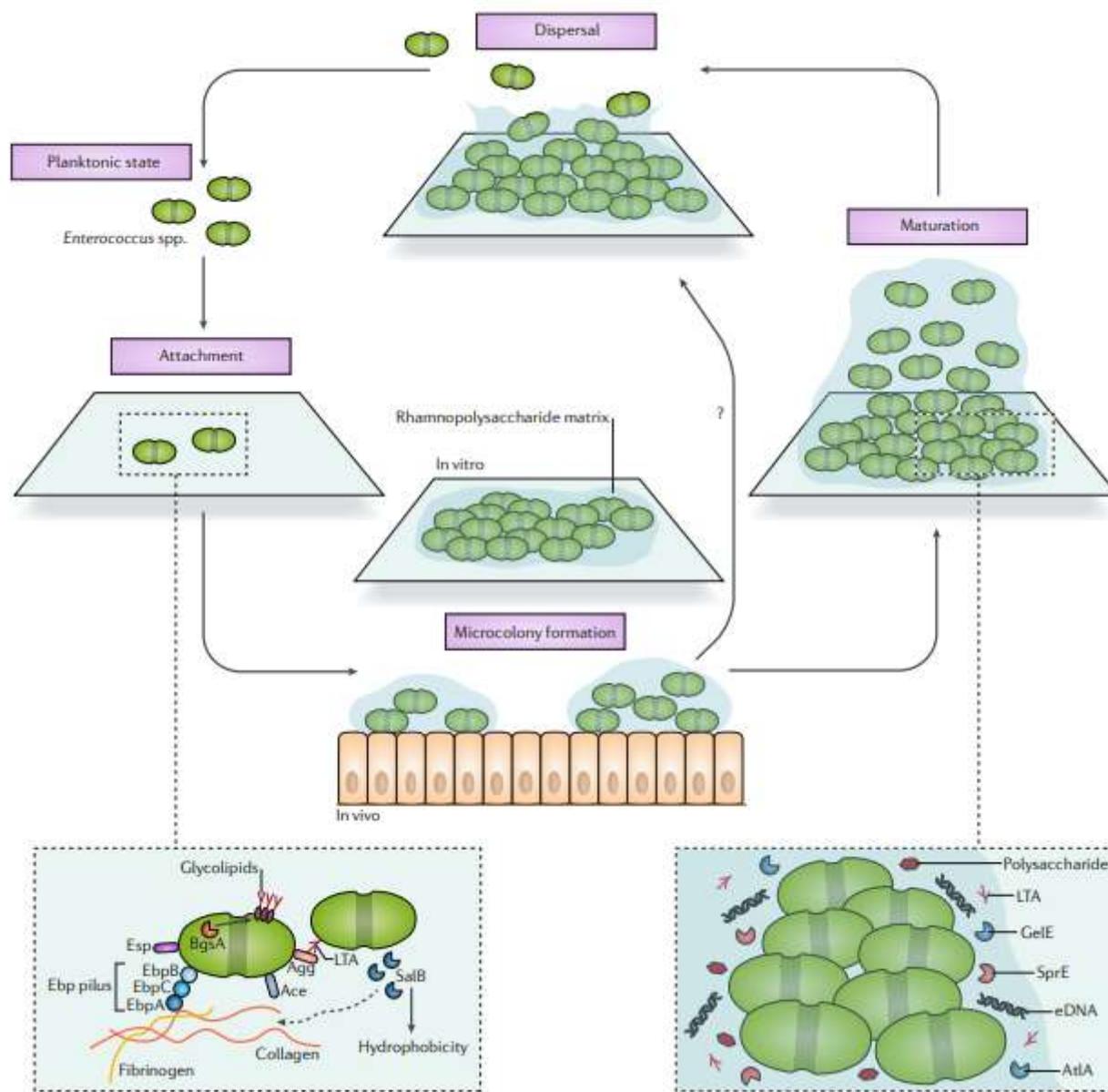
Formano BIOFILM → resistenti ai trattamenti ANTIBIOTICI

- Resistenza agli **AMINOGLICOSIDI**
- Resistenza ai **β- lattamici**
- Resistenza alla **VANCOMICINA**

Causano:

- Infezioni del **tratto urinario** (UTI)
- Infezioni delle **ferite**
- Infezioni da **catetere** (CAUTI)
- **Endocardite**

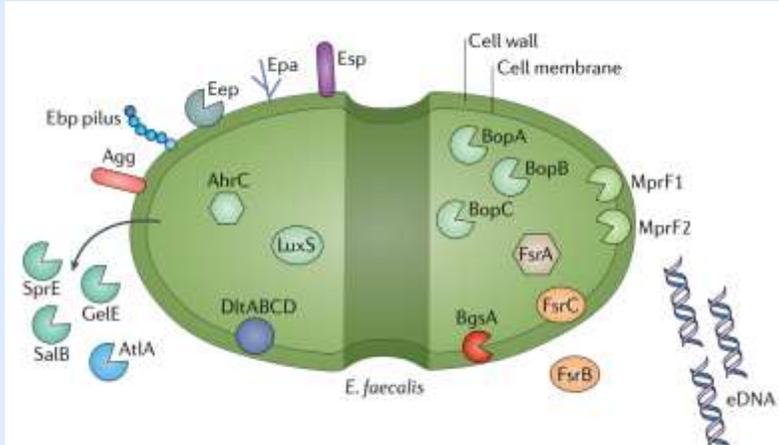




Lo sviluppo del **BIOFILM** comprende **4 fasi**:

- 1. ADESIONE INIZIALE**
- 2. FORMAZIONE DI MICROCOLONIE**
- 3. MATURAZIONE**
- 4. DISPERSIONE**

BIOFILM DI *Enterococcus faecalis*



ADESIONE INIZIALE

Coinvolge:

- **ADESINE** quali Ebp, Esp, Ace, Agg
- **PROTEASI**
- **GLICOLIPIDI**

FORMAZIONE DI MICROCOLONIE

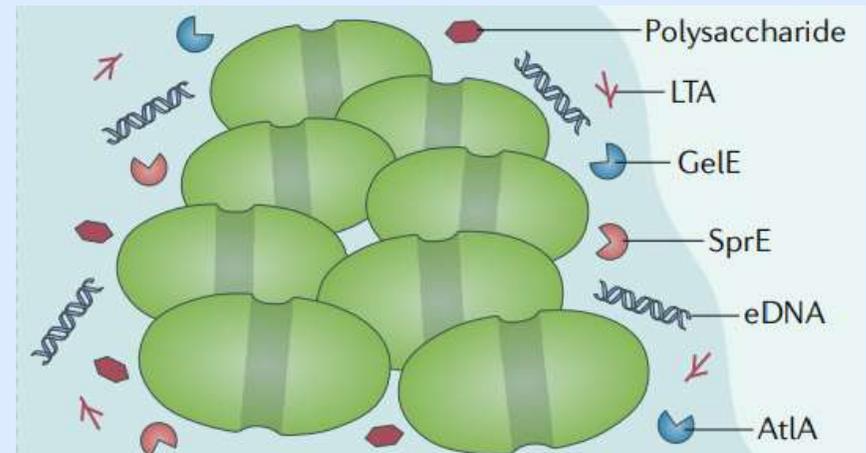
Dopo l'adesione iniziale, i batteri iniziano a moltiplicarsi e producono aggregati noti come **MICROCOLONIE**.

In *E. faecalis*, in un esperimento di **colonizzazione INTESTINALE di topi *germ free***, è stato osservato che **NON** si formano strati di biofilm 2D, ma **MICROCOLONIE DISTINTE le une dalle altre**, che successivamente verranno inglobate in un'unica matrice polisaccaridica.

MATURAZIONE DEL BIOFILM

Richiede l'accumulo di

- **eDNA**, maggior componente della matrice, rilasciata dall'autolisina AtIA
- **Polisaccaridi**
- **Proteasi extracellulari**: GelE, SprE, LTA
- **Glicoproteine**
- **Fosfatidilglicerolo**



QUORUM SENSING

Il processo di comunicazione intercellulare definito quorum sensing, è la risposta adattativa di una popolazione microbica all'alta densità cellulare.

Un sistema di quorum sensing è codificato dal locus *fsr* che è composto da tre geni, *fsrA*, *fsrB* e *fsrC*, situati immediatamente accanto a due geni: uno che codifica una gelatinasi (*gelE*) e l'altro una serina proteasi (*sprE*).

Un altro sistema implicato nella formazione di biofilm è quello basato sull'autoinduttore 2 (AI-2), la cui produzione dipende da LuxS (S-ribosylhomocysteine lyase). La delezione di *LuxS* determina la produzione di un biofilm aberrante caratterizzato da una struttura densa e dalla presenza di aggregati.

BIOFILM DI *Enterococcus faecium*

ADESIONE INIZIALE

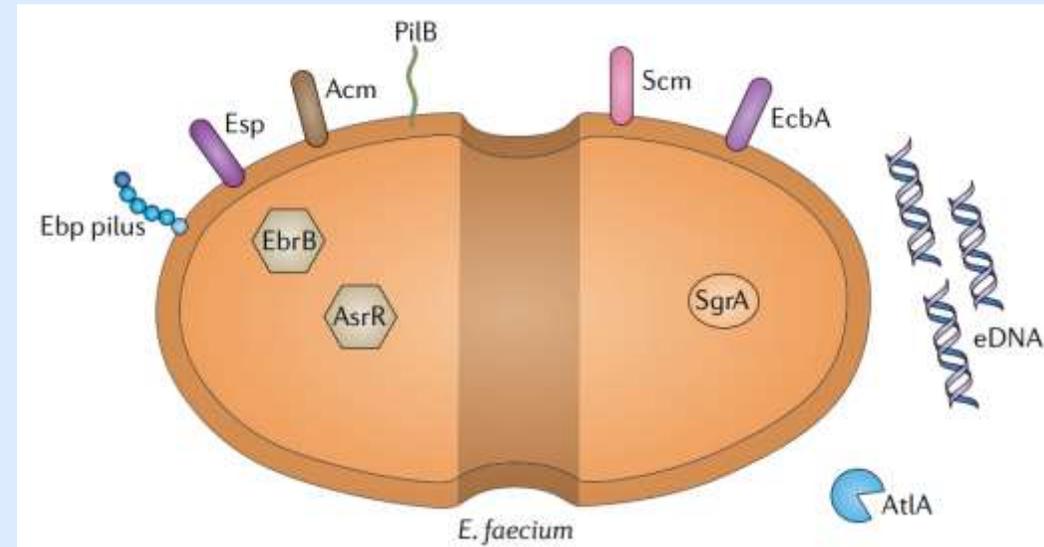
Coinvolge:

- EbpABC
- Esp → regolato da EbrB

CRESCITA E MATURAZIONE DEL BIOFILM

Richiede il rilascio di:

- eDNA → rilasciato dall'autolisina AtlA



La presenza di *persisters*, contribuisce alla tolleranza agli antibiotici dei biofilm, portando a infezioni persistenti.

- La tolleranza di *E. faecalis* agli antibiotici è dipendente dalla produzione dell'allormone ppGpp.
- Il ppGpp ha un ruolo centrale nella formazione delle cellule persistenti.

TOLLERANZA AL BIOFILM

Riuscire a contrastare la tolleranza innata degli enterococchi e la loro resistenza acquisita agli antibiotici è una priorità globale per la salute umana:

- *E. faecium* è intrinsecamente più RESISTENTE agli antibiotici di *E. faecalis*
- *E. faecalis* forma biofilm più spessi di *E. faecium* che contribuiscono alla tolleranza agli antibiotici

Confrontando la sensibilità antibiotica di biofilm neoformati e quelli maturi, si è osservato che i secondi, oltre a contenere più batteri, erano molto più tolleranti al trattamento farmacologico.

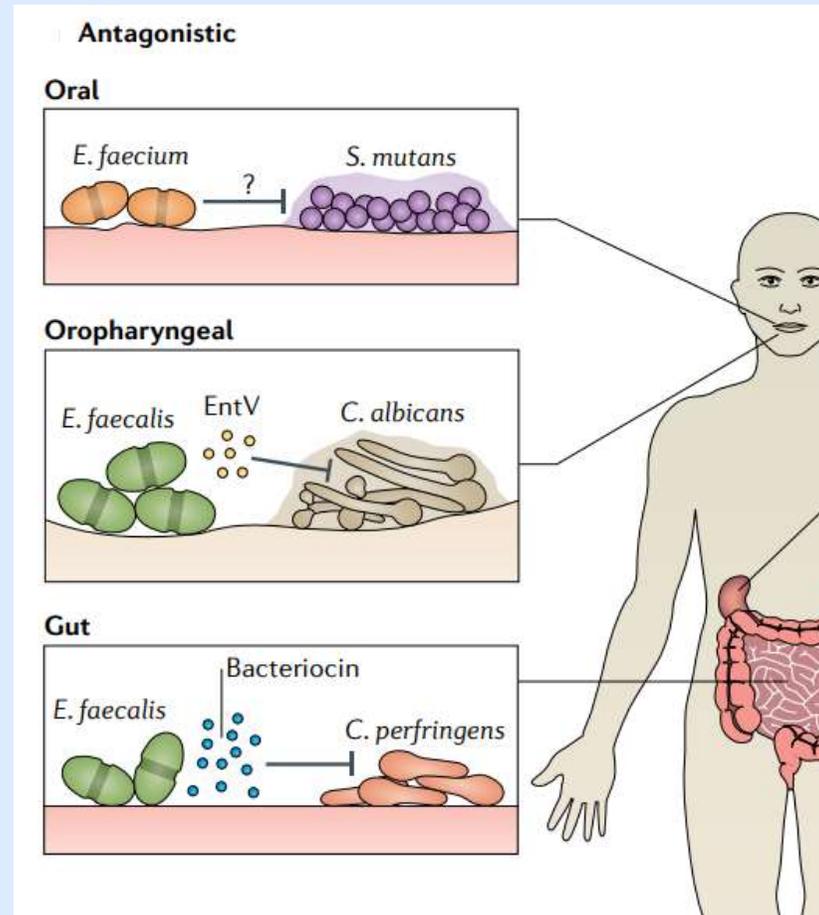
GENI DI RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI

Negli enterococchi, il trasferimento genico orizzontale dei geni di resistenza agli antibiotici è facilitato da

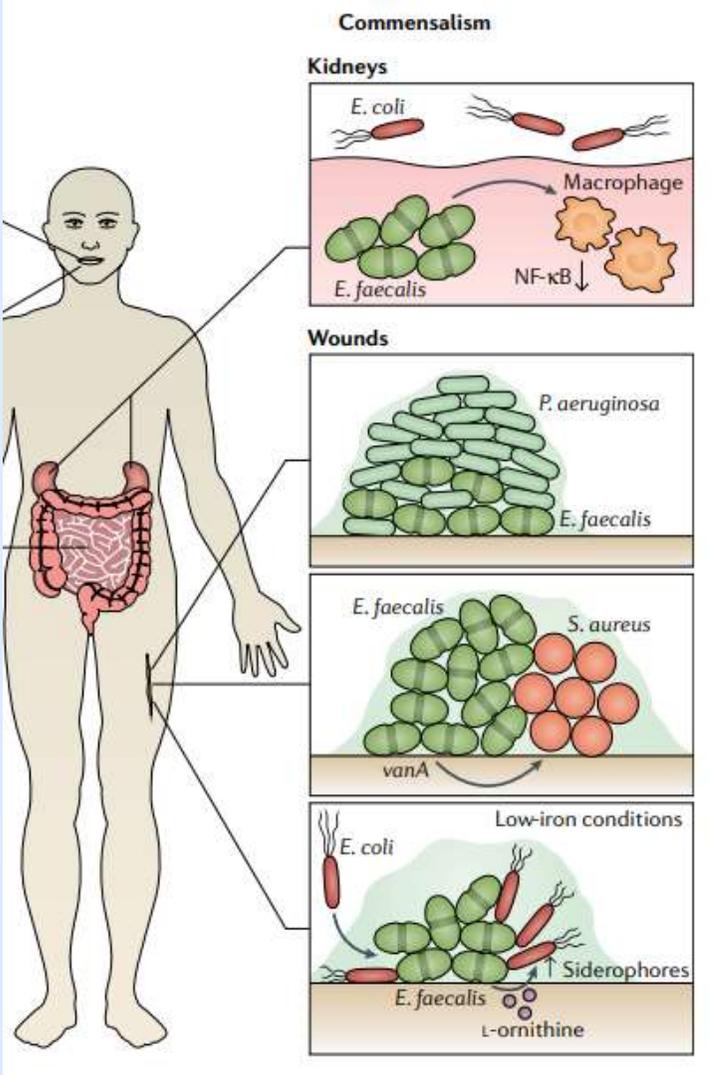
- Ebp → favorisce l'aggregazione cellulare e la formazione di biofilm, facilitando la coniugazione
- EpaI → aumenta la coniugazione mediata da plasmidi di risposta ai ferormoni (pCF10)

La maggior parte delle infezioni associate ai biofilm enterococcici sono **POLIMICROBICHE** (antagoniste o commensali), con due o più specie presenti nel sito di infezione.

ANTAGONISMO TRA ENTEROCOCCHI ED ALTRE SPECIE



COMMENSALISMO TRA ENTEROCOCCHI ED ALTRE SPECIE



LA PREVENZIONE DELLA FORMAZIONE DI BIOFILM

❖ **RIVESTIMENTI SUPERFICIALI:** utilizzati per prevenire la formazione di biofilm sulla superficie di cateteri e impianti

- Rivestimenti di film cationico non rilasciabile: applicati ai **cateteri di silicio**

- Rivestimenti di grafen : applicati al **titanio**

- Rivestimenti di tensioattivi : applicati alle **suture**

- Solfonazione : applicata a **materiali ossei**

❖ **VACCINAZIONE:** la vaccinazione deve essere effettuata con largo anticipo rispetto al cateterismo e gli individui immunocompromessi potrebbero non rispondere adeguatamente.



RIMOZIONE DEI BIOFILM

❖ **MIGLIORAMENTO DELL'EFFETTO ANTIBIOTICO:** quando si sospetta un'infezione associata al biofilm, l'uso di antibiotici come trattamento di prima linea, è indispensabile.

La terapia antibiotica combinata, è stata tentata ma senza molto successo.

❖ **DISINFEZIONE:** efficace contro le cellule planctoniche, ma NON contro i biofilm.

- IPOCORITO DI SODIO → NON è riuscito a sradicare i biofilm di *E. faecalis* coltivati in lastre di dentina.

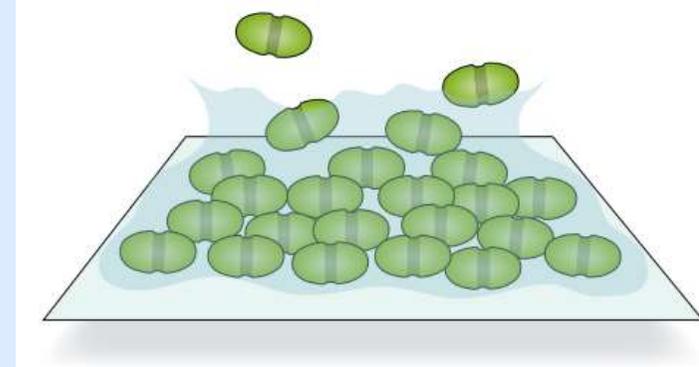


DISPERSIONE DEL BIOFILM

Il rilascio dei batteri in forma planctonica durante la dispersione del biofilm, li rende sensibili agli antibiotici.

La dispersione dei biofilm può essere operata da:

- D-amminoacidi non convenzionali
- BERBERINA CLORIDRATO
- TERAPIA FAGICA



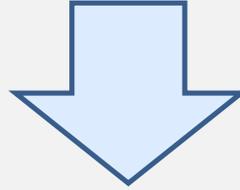
TRATTAMENTO DEI BIOFILM MULTISPECIE

L'unico studio che ha dimostrato un successo limitato, ha utilizzato biofilm a doppia specie di *Enterococcus* e *Staphylococcus aureus*, isolati da un impianto di produzione alimentare.

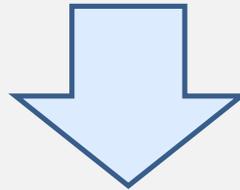
Il trattamento dei biofilm di un giorno, ha prodotto biofilm più piatti e meno organizzati, con una diminuzione dei titoli di *Staphylococcus aureus*, ma nessuna riduzione dei titoli di *Enterococcus*.

CONCLUSIONI

Gli **Enterococchi** che crescono come biofilm su cateteri e ferite sono la **causa più comune di infezioni**, aggravata ulteriormente dalla **resistenza intrinseca agli antibiotici**



Per prevenire e combattere le infezioni associate al biofilm enterococcico, bisogna prima **comprendere i meccanismi alla base della sua formazione**



Presupposto essenziale per progettare **NUOVE ed EFFICACI TERAPIE**

RIASSUNTO

Gli **enterococchi** fanno parte del **microbiota intestinale umano** e sono **cause frequenti di infezioni opportunistiche** associate al biofilm.

Gli enterococchi causano **il 25% di tutte le infezioni del tratto urinario associate all'uso di cateteri**, sono spesso isolati dalle **ferite** e sempre più frequentemente sono isolati da casi di **endocardite infettiva**. In tutti questi casi si tratta di infezioni sostenute da biofilm.

I biofilm enterococcici sono intrinsecamente tolleranti agli antimicrobici e quindi rappresentano un serio impedimento per il trattamento delle infezioni.

In questa *review* sono descritti lo sviluppo spazio-temporale dei biofilm enterococcici e i fattori che promuovono o inibiscono la loro formazione e si discute di come l'ambiente, compresi l'ospite e altri microrganismi co-colonizzatori, influenzino lo sviluppo del biofilm.

Infine, viene fornita una panoramica degli interventi attuali e futuri atti a limitare le infezioni sostenute da biofilm enterococcici.

Nel complesso, **i biofilm enterococcici rimangono un importante problema clinico e conseguentemente si evidenzia l'urgente necessità di comprendere meglio i meccanismi alla base del loro sviluppo e della loro persistenza in modo da mettere a punto trattamenti efficaci.**

BIBLIOGRAFIA

➤ *“Biofilm-associated infection by enterococci”*

Jun-Hong Ch’ng^{1,2}, Kelvin K. L. Chong^{3,4}, Ling Ning Lam^{3,5}, Jun Jie Wong^{3,6}

and Kimberly A. Kline^{3,5}

SITOGRAFIA

- <https://www.microbiologiaitalia.it/batteriologia/enterococcus-faecium/>
- <https://www.biosalus.net/naturopatia/antibiotico-resistenza-allarme-rosso.html>
- https://it.wikipedia.org/wiki/Enterococcus_faecalis
- <https://www.fondazioneveronesi.it/magazine/tools-della-salute/glossario/vaccinazione>