

# SINERGISMO DE SUPERFICIES SUBMICROESTRUCTURADAS Y ANTIBIÓTICOS SOBRE BIOFILMS TEMPRANOS DE *Staphylococcus aureus*

Alejandro Miñán<sup>a</sup>, Patricia Schilardi<sup>a</sup> y Mónica Fernández Lorenzo<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), UNLP – CCT La Plata, CONICET, Casilla de Correo 16, Sucursal 4, 1900 La Plata, Argentina

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, 1900 La Plata, Argentina  
email: agminan@inifta.unlp.edu.ar

## Antecedentes

*Staphylococcus aureus* es un patógeno oportunista que puede formar biofilms en los tejidos del huésped y en numerosos dispositivos médicos implantados [1]. La presencia de biofilms en estos dispositivos es un problema de difícil solución y de peligrosas consecuencias para los pacientes ya que se asocian al desarrollo de infecciones. Los biofilms presentan una notable resistencia a los antibióticos y a la respuesta inmune del huésped, lo cual dificulta significativamente el tratamiento de la infección. Por este motivo se hace imprescindible diseñar y optimizar métodos que eviten la formación de biofilms. Una de las formas posibles es desarrollar materiales que prevengan o minimicen la adhesión bacteriana, lo cual podría incrementar la efectividad de la terapia antibiótica.

## Objetivo

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y evaluar una novedosa estrategia de erradicación bacteriana basada en el uso combinado de superficies submicroestructuradas (SME) y un antibiótico (levofloxacina: LEV) con el fin de reducir la colonización bacteriana en dispositivos biomédicos.

## Materiales y métodos

Se empleó la cepa de referencia de *S. aureus* ATCC 25923 como microorganismo modelo de formación de biofilm. La susceptibilidad de la cepa a LEV se determinó por el método de microdilución en caldo [2]. Como sustratos se utilizaron i) superficies de oro SME, que presenta un arreglo ordenado de canales, cuyas dimensiones coinciden con el diámetro bacteriano y con fines comparativos, ii) oro nanoestructurado (NE) cuya superficie consiste en un arreglo desordenado de granos nanométricos. Los biofilms de *S. aureus* se formaron sobre los sustratos a 28 °C por 2 h en caldo nutritivo [3]. El número total de células viables en el biofilm antes y después de la exposición al antibiótico durante 24 h a 37 °C, se determinó por recuento en placa. La organización bacteriana sobre los sustratos se analizó mediante microscopía de epifluorescencia y microscopía de fuerzas atómicas (AFM).

## Resultados

Primeramente se analizó la adhesión y la organización bacteriana sobre las superficies SME y NE. Sobre la superficie SME se observó una menor adhesión microbiana y la inhibición de la formación de los agregados bacterianos comparado con lo detectado en el sustrato NE. En una segunda etapa se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de LEV en cultivos planctónicos de *S. aureus*, de manera de determinar el rango de concentraciones a utilizar. Posteriormente se empleó LEV a concentraciones de 0,25 y 1 mg/L (0,5 – 2 x CIM) en los biofilms formados sobre ambas superficies (SME y NE), evaluándose la efectividad de la estrategia combinada

basada en el uso de superficies SME y el tratamiento antibiótico con LEV (SME+LEV) para erradicar biofilms de *S. aureus*. Los resultados mostraron un efecto sinérgico de SME+LEV en todo el rango de concentración testado. Asimismo la reducción del número de bacterias viables en el biofilm fue de al menos 3 órdenes con respecto a los tratamientos individuales i) con el antibiótico (LEV: 0,5 y 1 mg/L) o ii) con la superficie SME. Por el contrario, en el caso de los sustratos NE, la reducción de 3 órdenes en el número de las bacterias viables fue alcanzada a 1 mg/L. Este efecto es comparable al encontrado con la combinación de SME+LEV pero con menor concentración de antibiótico (0,25 mg/L). Este hecho pone en evidencia la importancia de la presencia de los canales superficiales para aumentar la efectividad del tratamiento con antibiótico.

### **Conclusiones**

Los resultados mostraron que la actividad antimicrobiana fue más efectiva cuando se utilizó la combinación (SME+LEV) que al emplear los tratamientos individuales (SME y LEV) Asimismo, se demostró que la formación de agregados bacterianos (presente en los sustratos NE e inhibida en los sustratos SME) cumple un rol importante en la resistencia de los microorganismos a la acción de los antibióticos. La estrategia utilizada (SME+LEV) podría contribuir significativamente a la erradicación de biofilms formados sobre diferentes dispositivos y ambientes (instrumentos quirúrgicos, dispositivos implantables, zonas sanitarias, envases de alimentos, etc.).

### **Referencias**

1. Harris, L.G. and R.G. Richards, *Staphylococci and implant surfaces: a review*. Injury, 2006. **37**(2, Supplement): p. S3-S14.
2. CLSI., *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically - Eighth Edition: Approved Standard M7-A8*. 2009, Wayne, Pa.
3. Díaz, C., Miñán, A., Schilardi, P. L., Fernández Lorenzo de Mele, M., *Synergistic antimicrobial effect against early biofilm formation: micropatterned surface plus antibiotic treatment*. Int J Antimicrob Agents, in Press., 2012.