



Oltre l'antibioticoresistenza MASTITI & biofilm

Abbiamo più volte scritto sulle pagine di questa rivista che la mastite, specialmente bovina, è un problema ancora da risolvere anche se in questi anni si è fatto molto e con risultati apprezzabili. Per immaginare un "attacco finale" è necessario arricchire il paradigma che la mastite è solo una malattia infettiva che si previene con l'igiene e si cura con gli antibiotici, con altri aspetti quali il non scartare a priori il fatto che ci possano essere anche leucocitosi transitorie a prescindere della presenza endo-mammaria di un microrganismo patogeno, e che cronicizzazione e antibiotico-resistenza sono due fenomeni molto complessi.

L'uso razionale degli antimicrobici, che altro non è se non usarli correttamente quando servono (e servono eccome), sta stimolando profonde e proficue riflessioni sull'eziologia e la patogenesi di molte malattie. A contribuire sensibilmente al fenomeno dell'antibioticoresistenza che sta letteralmente dilagando è stato ed è l'uso irrazionale di questi farmaci preziosi e indispensabili.

In Italia, secondo i dati elaborati dall'Ufficio studi di Aia, le bovine che hanno una conta cellulare del latte > 200.000/ml erano circa il 29,2% nel 2017, e quindi hanno la mastite. La media delle cellule somatiche è stata nell'analogo periodo di 348.000 cellule somatiche per millilitro.

Dato piuttosto allarmante è quello relativo alle mastiti croniche ossia di bovine che sono state riscontrate con un contenuto cellulare > 200.000/ml

per tre controlli funzionali consecutivi. Nel 2017 tale percentuale ha oscillato dal 17,3 al 19,7%. Le mastiti - siano esse cliniche che sub-cliniche - si curano con gli antibiotici utilizzati anche per il trattamento sistematico delle bovine alla messa in asciutta. Anche se si segue la corretta prassi della diagnosi eziologica e l'antibiogramma per i patogeni presenti in allevamento, non sempre le mastiti guariscono e spesso cronicizzano.

BIOFILM: UNA FORMA DI COOPERAZIONE

Microrganismi come gli stafilococchi coagulasi-negativi, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Prototheca* spp, *Streptococcus uberis* e *Corynebacterium* spp oltre ad essere presenti nella mammella in forma planctonica, ossia flutuante, lo sono in quella sessile ossia organizzati in biofilm. Sta aprendo fronti nuovi nella gestione della nutrizione dei ruminanti l'aver osservato la complessa organizzazione dei biofilm ruminanti che assomigliano molto a grandi ecosistemi dove specie diverse competono ma al contempo cooperano scambiandosi "cibo", ossia metaboliti secondari, e protezione. Questa struttura è un forma d'aggregazione complessa di microrganismi all'interno di una matrice polimerica costituita da polisaccaridi e proteine, prodotta dagli stessi microrganismi. In Medicina umana molte sono le patologie dove l'organizzazione dei patogeni in biofilm rende difficile il trattamento antibiotico anche se prolungato e a dosaggi molto elevati;

patologie dove spesso gli antimicrobici sono inefficaci e quindi ascrivibili impropriamente alle antibioticoresistenze. Possiamo riscontare organismi patogeni (batteri, funghi e virus) organizzati in biofilm nelle patologie paradontali, nelle otiti, nelle rino-sinusiti croniche, nelle infezioni urogenitali ecc. Pertanto, è d'interesse strategico comprendere questa forma di "resistenza batterica", o di "stile di vita" per utilizzare razionalmente gli antibiotici ed evitarne abusi che, più che a contribuire alla guarigione della patologia contro la quale vengono impiegati, contribuiscono alla nascita dei fenomeni di antibioticoresistenza propriamente detta.

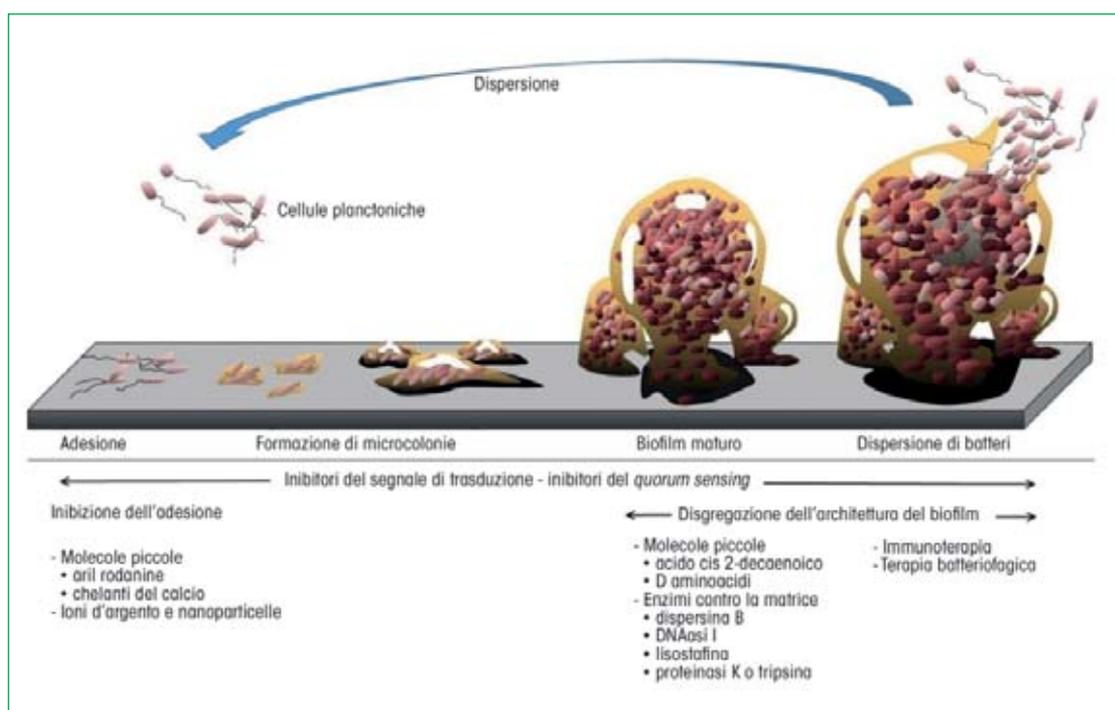
Pertanto, accanto all'antibioticoresistenza, che in alcune ceppi può raggiungere l'aspetto drammatico della "multidrug resistance", ci sono i biofilm da conoscere bene.

La resistenza dei batteri agli antibiotici si concretizza con la possibilità che essi hanno di produrre enzimi che inattivano queste molecole, di prevenirne l'accumulo al proprio interno e di produrre biofilm.

LOTTA AL BIOFILM

Nella fase iniziale dello sviluppo dei biofilm alcuni batteri si attaccano alle superfici, che possono essere di attrezzature oppure tessuti dell'ospite, attraverso un meccanismo iniziale descritto come "forze di Van der Waals" che vede coinvolti pili o fimbrie dei batteri e che poi si completa con la produzione da parte di questi di esopolisaccaridi. Nelle fasi successive all'adesione avviene la formazione definitiva delle colonie batteriche dalle quali si possono allontanare batteri in forma planctonica che andranno a colonizzare altre superfici. Il biofilm rappresenta pertanto un importante fattore di virulenza di alcuni micro-organismi perché all'interno di esso migliora il processo di acquisizione dei nutrienti e i batteri si proteggono dalle molecole antimicrobiche sia naturali, ossia normalmente presenti nei tessuti, sia di sintesi. Per questi ultimi motivi nella descrizione di una antibioticoresistenza accanto alla nota MIC c'è anche la MBCE (minima concentrazione di eradicazione dei biofilm). La seconda definizione ha una misura sempre più alta della prima.

Di grande interesse è lo studio delle sostanze definite "anti-biofilm agents" (ABA), classificabili a seconda se agiscono nella fase propedeutica dell'adesione o disgregando il biofilm già formato. Queste sostanze possono rappresentare un'alternativa agli antibiotici ma più efficacemente un valido supporto alla loro azione. Molte delle sostanze che verranno descritte non sono specifiche per la medicina buiatria ma conosciute perché impiegate nella medicina dell'uomo e per molte di loro non si conosce esattamente il meccanismo d'azione. Esempio su tutti sono i FANS come il di-



Possibili strategie per la gestione del biofilm.

Tratto da: Chung PY, Toh YS. Anti-biofilm agents: recent breakthrough against multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*. Pathog Dis. 2014;70(3):231-239.

clorofenc e l'ibuprofene che hanno una specifica azione antiprostaglandinica e quindi antinfiammatoria, ma anche la capacità di ridurre la formazione dei biofilm di *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. In Medicina umana è riportato che l'associazione di deferoxamina (un sequestrante del ferro) con l'antibiotico tobramicina limita sensibilmente la formazione di biofilm di *P. aeruginosa*. La disponibilità di ferro è fondamentale per la formazione di biofilm tanto è vero che la lattoferrina è una molecola antibatterica naturalmente presente nel latte ma anche nel tratto gastro-intestinale dei neonati che, sequestrando il ferro (Fe^{3+}), esercita un potente effetto antibatterico.

Interessanti sono i peptidi antimicrobici (AMPs) molecole costituite da sequenze di aminoacidi che riescono a modulare a livello batterico l'espressione dei geni che portano alla formazione dei biofilm e classificati in base al numero di aminoacidi, la carica elettrica e l'idrofobicità o meno. Gli AMPs possono agire contro batteri, funghi, virus e alcune cellule tumorali alterando la permeabilità delle membrana cellulare. Di riconosciuta efficacia l'LL-37, l'IDR-1018, il DJK-5 e il DJK-6. Questi ultimi tre deprimono i segnali molecolari mentre l'LL-37 sottoregola i geni associati con lo sviluppo dei flagelli batterici.

Di sicuro interesse è la combinazione degli anti-

biotici con gli AMPs. Interessanti sono anche le nanoparticelle (NPs), ossia aggregati atomici o molecolari con un diametro compreso tra 1 e 100 nm. Per comprendere questi ordini di grandezza basta pensare che le dimensioni della doppia elica del DNA misura 2 nm. Conosciute e utilizzate sono le nanoparticelle d'argento (AgNPs) ma anche di ossido di zinco e rame. Le AgNPs hanno un effetto antibatterico e sui biofilm anche se il meccanismo d'azione non è completamente conosciuto. Gli ioni d'argento sono efficaci nei confronti di *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella spp*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* e *C. albicans* inibendo la replicazione del DNA e l'espressione dei ribosomi. Le NPs polimeriche di sintesi possono essere carrier degli antimicrobici, delle citochine e dell'ossido nitrico, il quale stimola la liberazione di radicali liberi dai tessuti.

Tra le molecole che "scoraggiano" l'adesione dei batteri alle superfici e quindi agiscono nella fase primaria della formazione dei biofilm troviamo i chelanti del calcio e le rhodanine che sono specifici inibitori dei biofilm di *St. aureus*.

Un gruppo a sé stante è quello delle sostanze che distruggono i biofilm. Interessante l'acido grasso a media catena cis-2 acido decenoico (C2DA) prodotto da *Pseudomonas aeruginosa* che può indurre la dispersione dei biofilm dello *St. aureus* e di altri

batteri sia gram-negativi che gram-positivi. Il C2DA ha effetti anche sui biofilm dei ceppi multi-resistenti di *St. aureus* (MRSA). Completano la disponibilità di molecole funzionali alla distruzione dei biofilm la dispersina B, utilizzata in Umana.

Anche in questo ambito la fitoterapia può dare il suo contributo. I componenti polifenolici del tannino inibiscono la formazione di biofilm dello *St. aureus*. L'olio essenziale di *Melaleuca alternifolia*, anche conosciuto come tea-tree oil, l'acido ellagico del *Rubus ulmifolius*, gli estratti di *Krameria*, *Aesculus Hippocastanum*, il *Chelidonium majus* e la cinnamaldehyde della cannella sono ritenuti efficaci.

La riduzione della prevalenza della mastite bovina e della cronicizzazione di questa grave patologia è di fondamentale importanza. Sicuramente la terapia antibiotica ha dato fin ora un importante contributo ma non è più sufficiente. La selezione genomica di animali naturalmente resistenti a questa patologia e una migliore conoscenza di come ridurre la formazione e distruggere i biofilm mammari può sicuramente dare un contributo alla gestione della mastite e a un uso ancor più razionale degli antimicrobici. ■

Alessandro Fantini

Presidente della Società Italiana di Buiatria

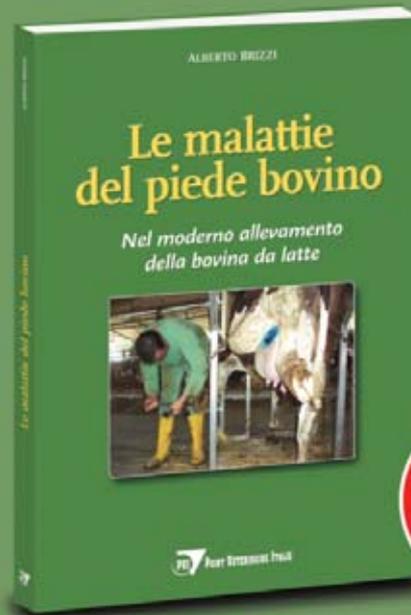
Le malattie del piede bovino

Nel moderno allevamento della bovina da latte

DI **Alberto Brizzi**

CONTENUTI:

Introduzione - Effetti delle zoppie - Anatomia e fisiologia del piede bovino - Alterazioni congenite del piede bovino - Piede bovino e ambiente - Piede bovino e alimentazione - Malattie del piede bovino - Principali lesioni del piede bovino - Complicazioni delle lesioni del piede bovino - Pareggio funzionale - Pareggio terapeutico - Prevenzione delle principali malattie - Affrontare "i problemi di piedi" - Atlante delle principali patologie podali



- ✓ Edizione gennaio 2009
- ✓ 240 pagine, illustrazioni b/n
- ✓ 24 foto a colori
- ✓ Brossura, 160x240 mm

Prezzo di copertina: € 33,00

Prezzo Club*: € 28,00

**sconto
15%
PER GLI
ABBONATI**

* Club degli abbonati al periodo di PV

Spese di spedizione escluse

PVI POINY VETERINAIRE ITALIE Via Medardo Rosso 11 - 20159 Milano

Per informazioni e ordini: www.pointvet.it - diffusionelibri@pointvet.it - Tel. 02 60.85.23.32