

Ruptura de biofilm maduros a partir de la interacción con nanopartículas magnéticas

*Diaz Carolina¹, Lavorato Gabriel¹, Diego Pissinis¹, Fonticelli Mariano¹, Vericat Carolina¹, Schilardi Patricia¹

¹ Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP - CONICET. CC16, Suc 4 (1900) La Plata, Buenos Aires.



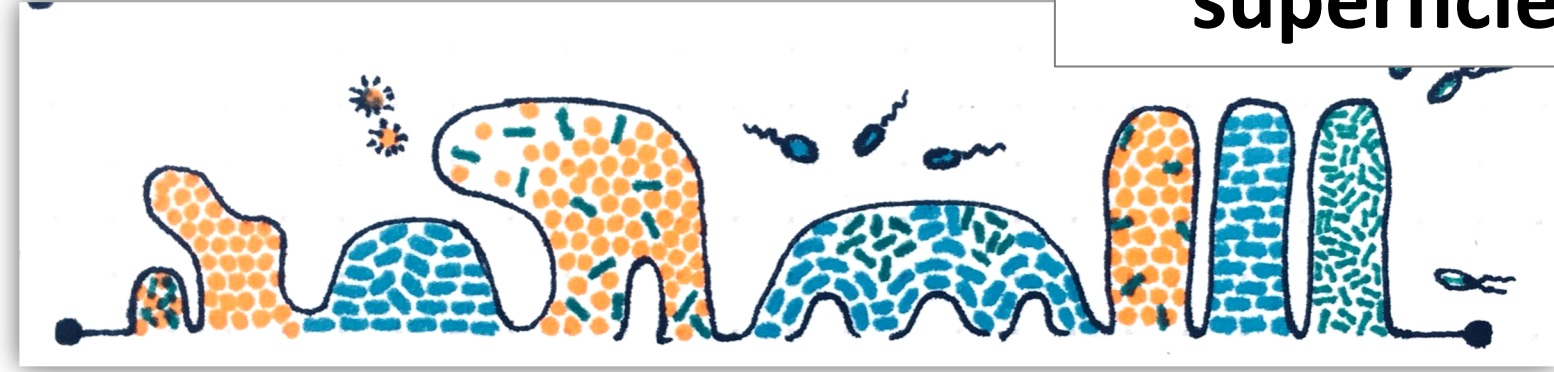
*cdiaz@inifta.unlp.edu.ar

Motivación

Biofilms
Comunidad de microorganismos cuya estructura es muy compleja y que se desarrolla sobre una superficie.

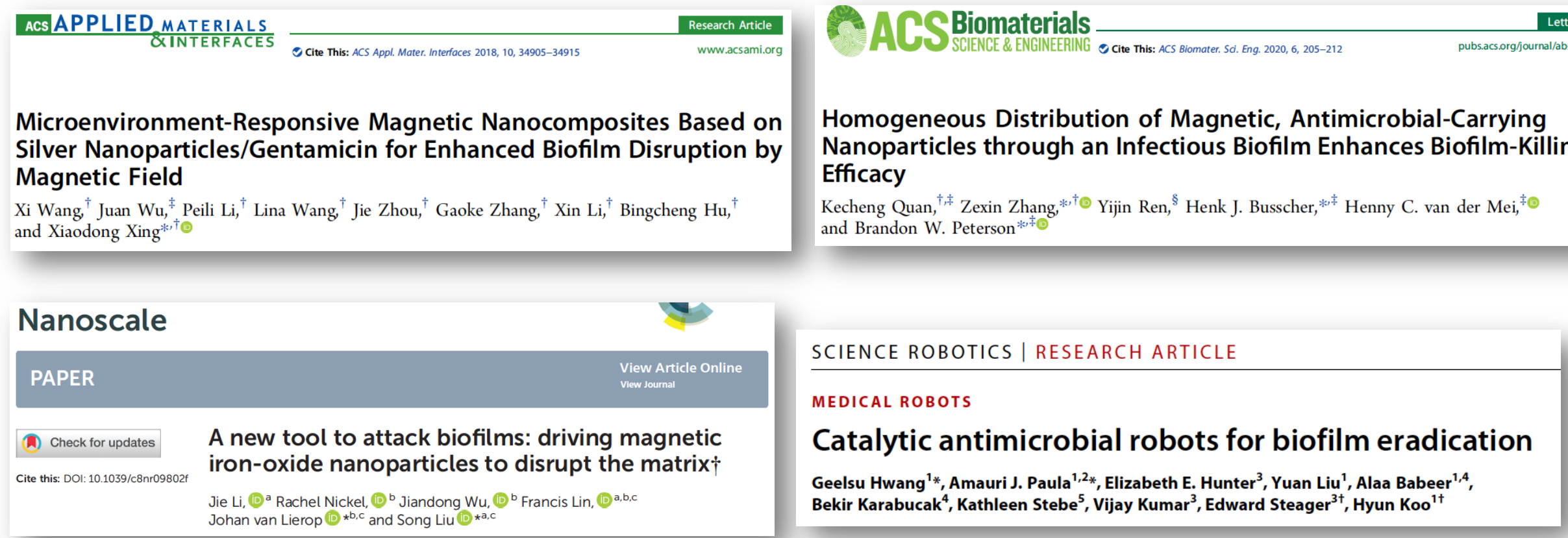
Biofilms maduros
Son muy difíciles de erradicar y son causantes de multiples problemas.

¿Estrategia para eliminar biofilms maduros de superficies?



Antecedentes

La utilización de nanopartículas magnéticas (MNPs) para tratar superficies con biofilms es un campo de investigación reciente.



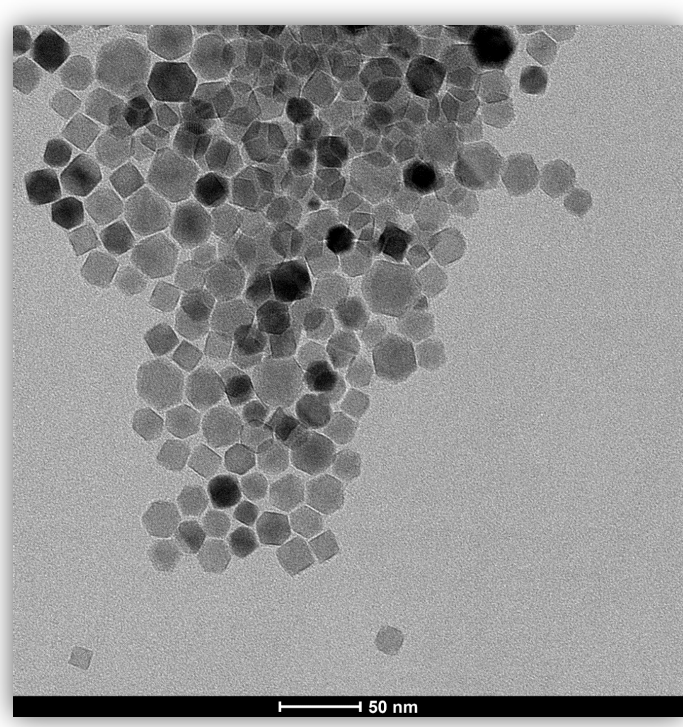
Nuestra propuesta

Estudiar la interacción entre MNPs con biofilms maduros mediante:
Microscopía de fuerza atómica
Microscopía confocal
Técnicas microbiológicas
Magnetoforesis

Desarrollar estrategias adecuadas para el tratamiento de superficies con biofilms maduros

Materiales y métodos

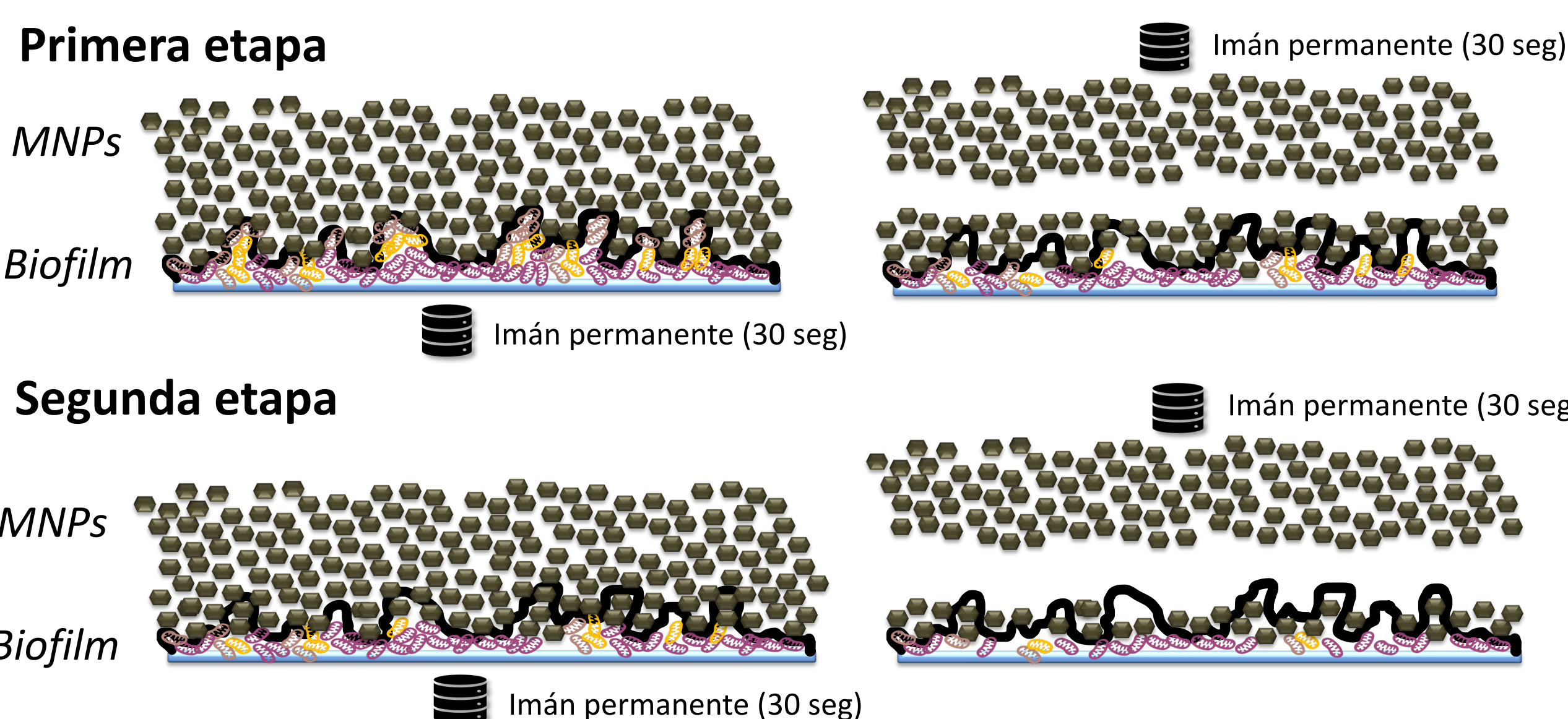
Nanopartículas magnéticas (MNPs)



- Nanopartículas de Fe₃O₄
- Descomposición térmica de acetilacetato de Fe(III) a altas temperaturas en benzileter
- Tamaño: 20,9 ± 2,6 nm
- Transferencia a fase acuosa empleando hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH)
- Carga superficial negativa

Biofilms de Staphylococcus aureus – 24 hs de crecimiento

Tratamiento del biofilm con las MNPs

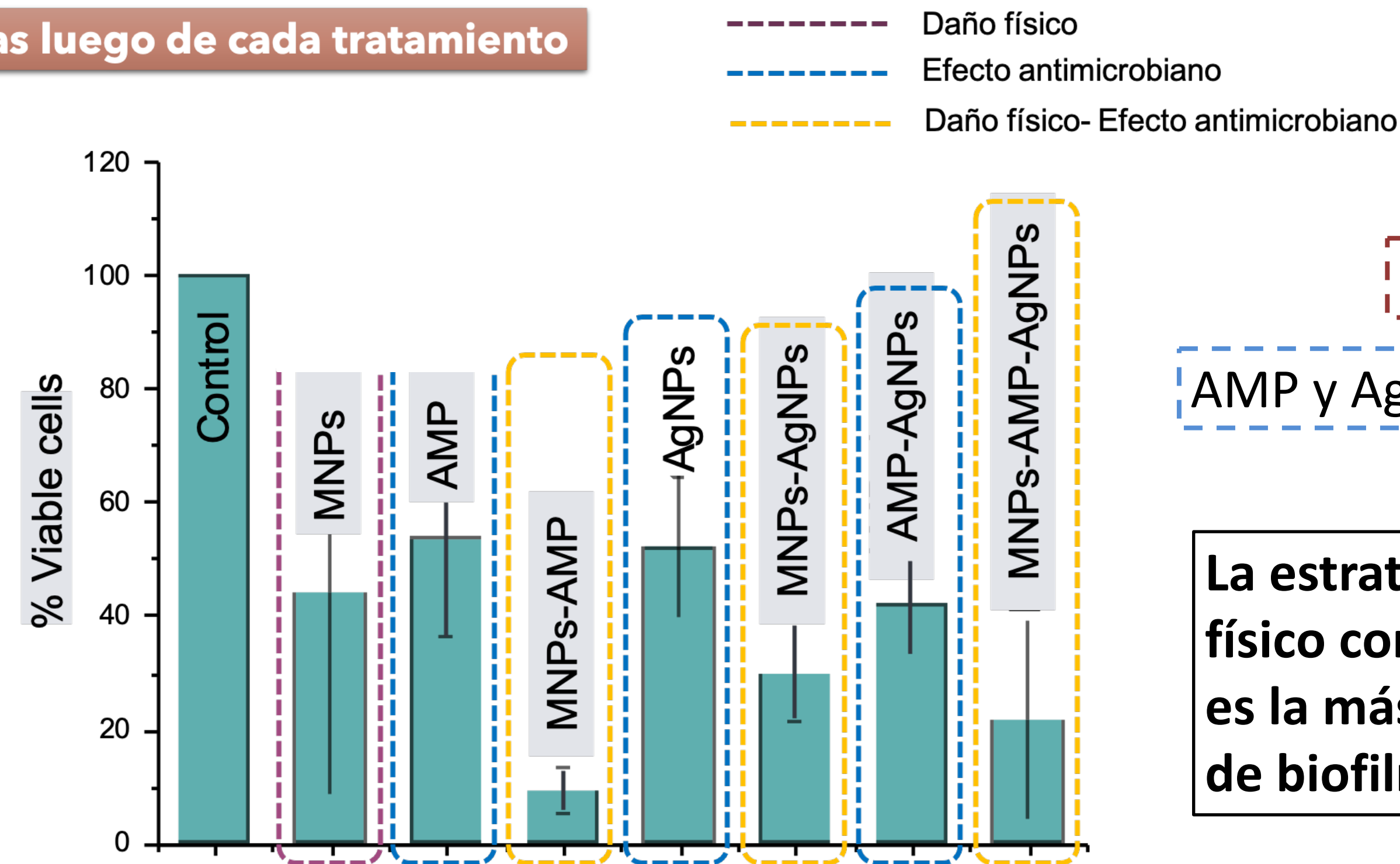


Biofilm sensibilizado con las MNPs y posterior tratamiento con antibióticos y AgNPs



Resultados de las técnicas microbiológicas

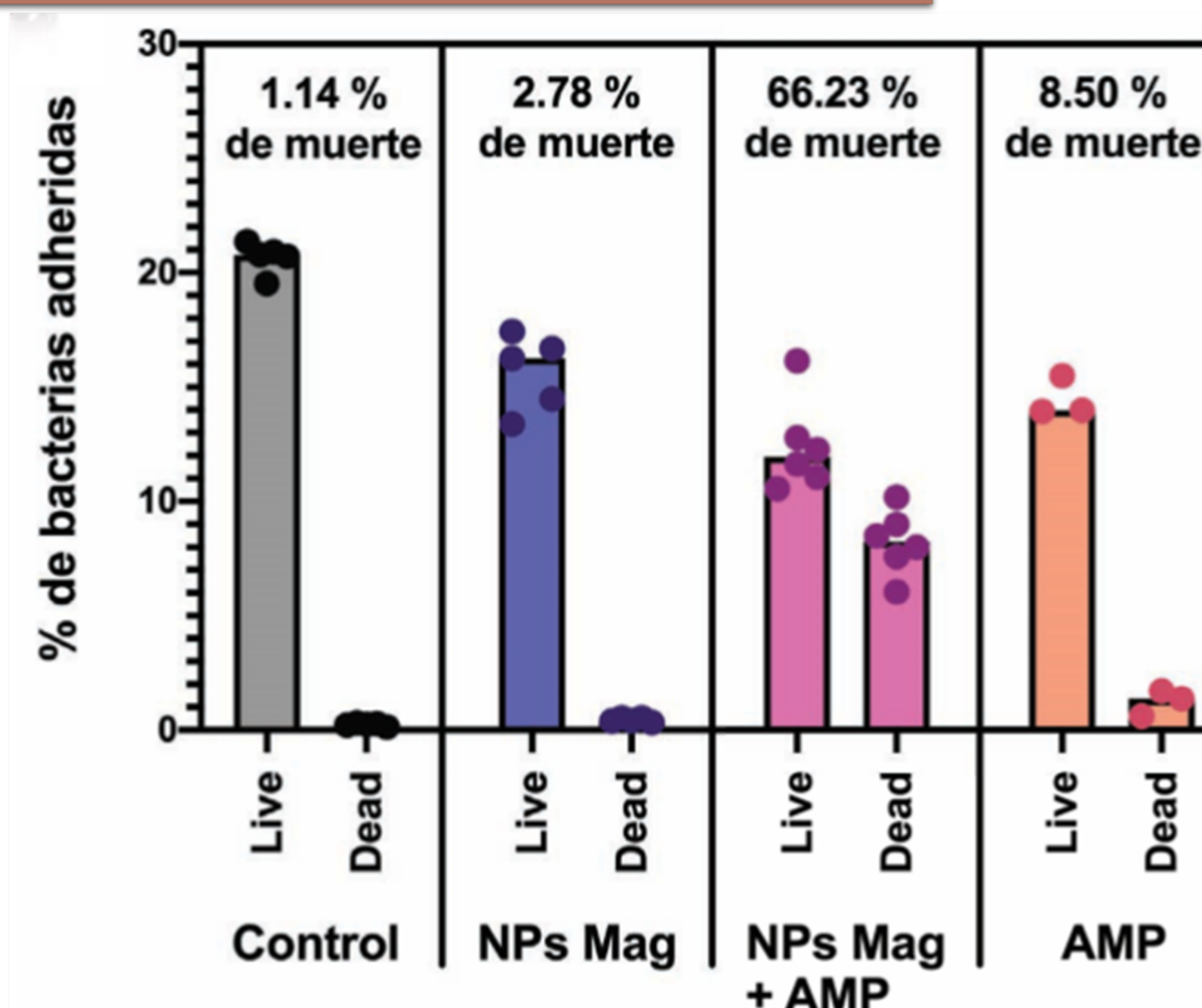
Células vivas luego de cada tratamiento



MNPs – Daño físico
AMP y AgNPs – Efecto antimicrobiano

La estrategia de combinar el daño físico con el efecto antimicrobiano es la más eficiente para la reducción de biofilms maduros.

Microscopía Confocal- Tinción Live/Dead - Análisis

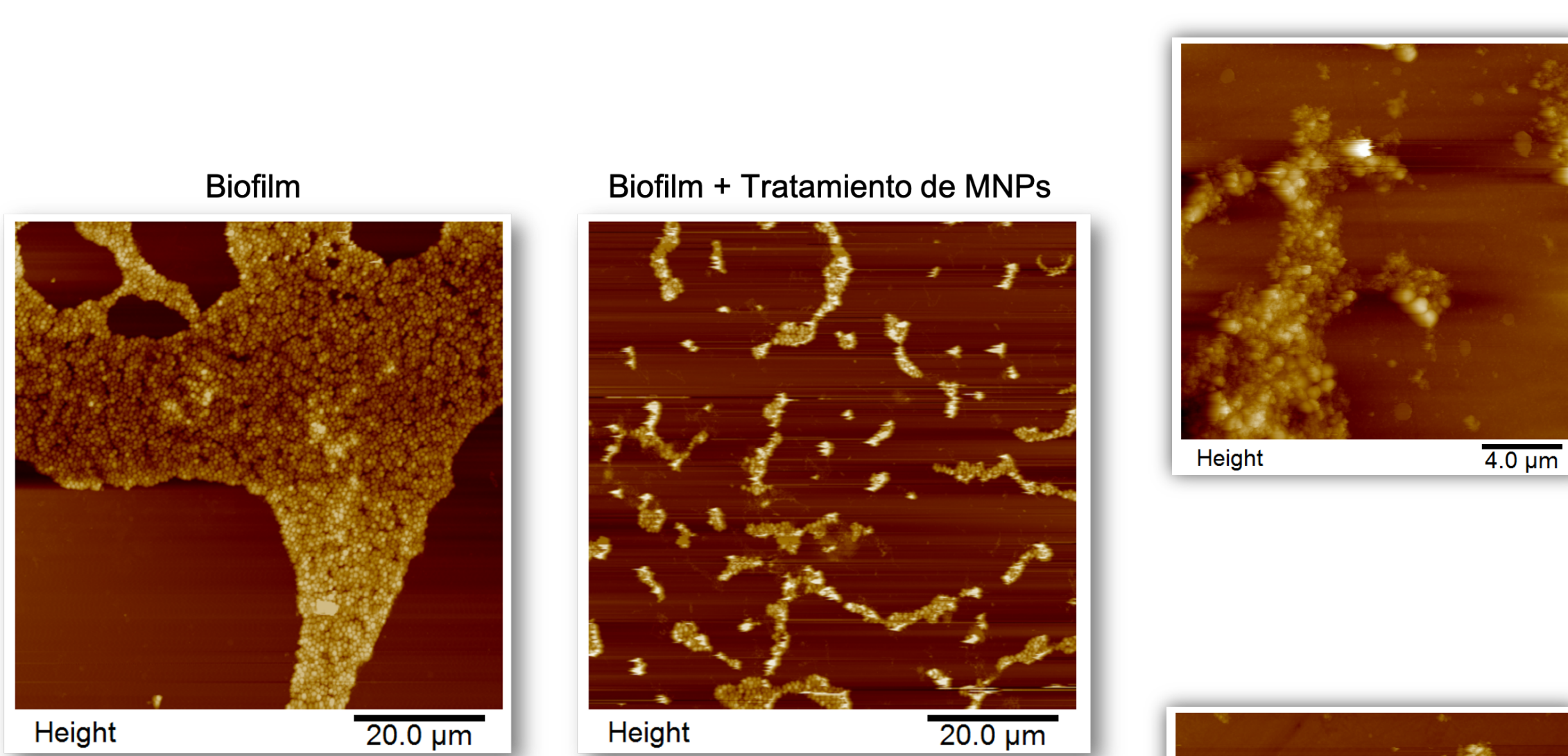


La acción de las MNPs no genera muerte bacteriana sino daño físico al biofilms.

La sola acción del antibiótico (AMP) no es eficiente en biofilms maduros debido a la baja difusión a través del biofilms.

La mayor cantidad de células muertas se consigue luego de sensibilizar el biofilm con las MNPs.

Microscopía de fuerza atómica (AFM)



Primera etapa

Las MNPs interactúan específicamente con las bacterias adheridas a la superficie.

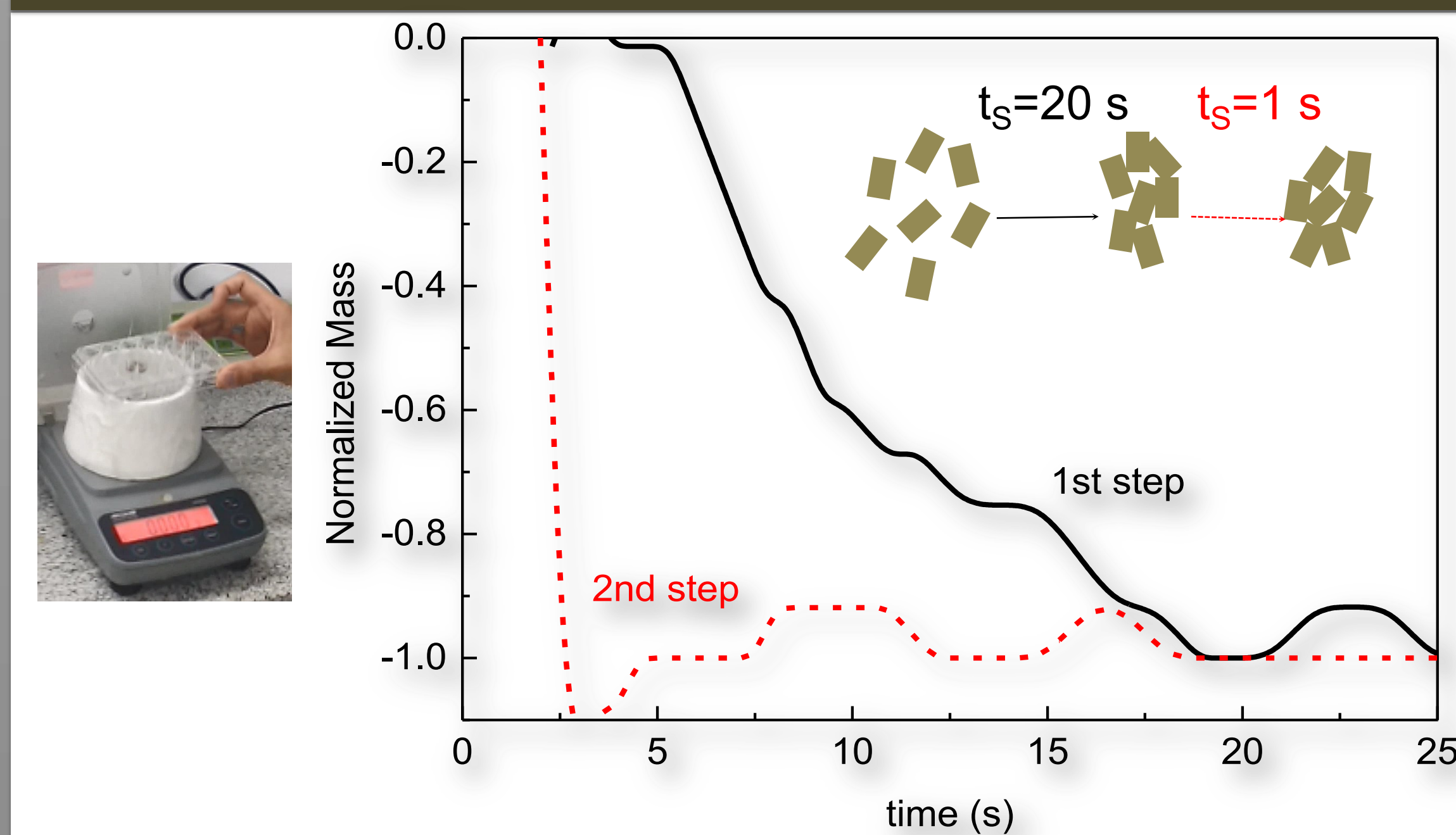
Segunda etapa

Agregados de MNPs más grandes.

Las MNPs interactúan no sólo con las bacterias sino también con la superficie.

Las MNPs rompe la estructura organizada del biofilm maduro sobre la superficie permitiendo que la acción de un antimicrobiano sea más eficiente.

Magnetoforesis



Cálculo teórico

Separación magnética de nanopartículas esféricas no interactuantes de radio R
MNPs aisladas ≈ 3000 segundos para precipitar

Magnetoforesis

≈ 20 segundos para precipitar

- Proceso magnético cooperativo
- Agregados más grandes de MNPs durante la segunda etapa de magnetización. Fuerzas magnéticas más importantes.

Conclusiones

- El tratamiento con MNPs en dos etapas de 30 segundos permite desorganizar la estructura del biofilm y sensibilizar al mismo para el posterior tratamiento antimicrobiano.
- La interacción efectiva de las MNPs con el biofilm y su material polimérico extracelular permite una efectiva remoción del biofilm maduro de la superficie.

Agradecimientos: CONICET, UNLP.

XXII CAFQI – La Plata, Argentina.