



Fondazione per la Ricerca  
sulla Fibrosi Cistica - Onlus  
[fibrosicisticaricerca.it](http://fibrosicisticaricerca.it)



## Progetto FFC#18/2019

Terapie dell'infezione broncopolmonare

# Studio della patogenicità e del ruolo clinico di *Achromobacter xylosoxidans* nell'infezione polmonare in fibrosi cistica



**Chi ha condotto la ricerca:**

*Responsabile:*

**Maria M. Lleò**

*Università di Verona, Dip.*

*Diagnostica e Sanità Pubblica*



**Ricercatori coinvolti: 10**



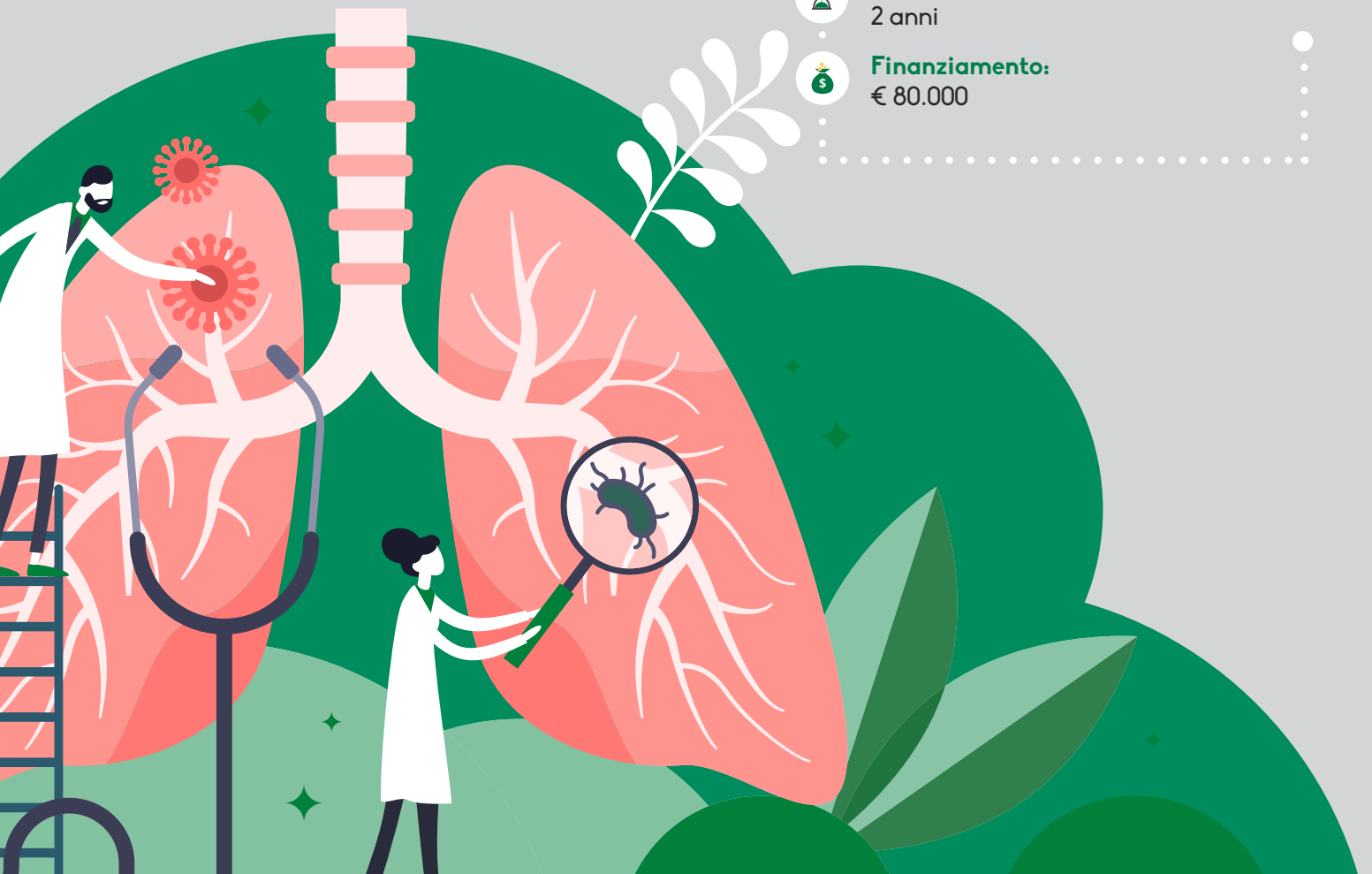
**Qual è la durata dello studio:**

2 anni



**Finanziamento:**

€ 80.000





## Perché è importante

Nella fibrosi cistica (FC) le infezioni da *Achromobacter xylosoxidans* (Ax) sono associate a declino della funzionalità respiratoria e infiammazione polmonare. Tali infezioni sono solitamente complicate dalla resistenza agli antibiotici. Il ruolo clinico di Ax non è ancora chiaro ed è importante conoscere le caratteristiche che lo rendono pericoloso per le persone con FC.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono stati presi in considerazione numerosi tipi di Ax e, per ciascuno di essi, sono stati analizzati tre particolari fattori di virulenza: la capacità di uccidere le larve di *Galleria mellonella* (un insetto usato come modello sperimentale), la capacità di produrre biofilm e la tossicità e il danno su colture di cellule bronchiali ottenute da persone con FC.



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

Sulla base dei fattori di virulenza, alcuni tipi di Ax sono stati selezionati, classificati in tre gruppi e testati su modelli *in vivo* di topo.



## Che cosa hanno ottenuto

Si è visto che gli Ax ottenuti da casi di infezione occasionale avevano una capacità maggiore di causare alti livelli di virulenza sulle larve di insetto rispetto ai ceppi provenienti da infezioni croniche. Nessuna differenza significativa è emersa quanto riguarda la formazione del biofilm mentre la tossicità degli Ax cronici era maggiore rispetto a quella degli Ax occasionali.

I dati raccolti dai modelli *in vivo* mostrano che i tipi di batterio definiti come altamente virulenti provocano una forte infiammazione e causano la morte dei modelli, al contrario dei tipi di batterio classificati come poco virulenti.



## Che cosa succederà ora

I risultati ottenuti contribuiranno a meglio capire il ruolo di *Achromobacter xylosoxidans* come agente di infezione polmonare in FC. Il genoma dei vari tipi di Ax potrà essere analizzato per la presenza di geni di virulenza, che potrebbero essere usati come marcatori della patogenicità dei batteri.

## Per saperne di più



### Obiettivi

**Studio su modelli cellulari e animali FC per identificare le caratteristiche genetiche del batterio *Achromobacter xylosoxidans* potenzialmente associate a maggiore aggressività clinica.**

*Achromobacter xylosoxidans* (Ax) viene frequentemente isolato da campioni di escreato di pazienti FC. Sebbene il suo ruolo clinico non sia ancora chiaro, l'infezione cronica da Ax è stata associata a declino della funzionalità respiratoria e infiammazione polmonare, ed è solitamente complicata dalla resistenza agli antibiotici. Lo scopo del progetto è identificare alcune caratteristiche genetiche di *Achromobacter xylosoxidans* in grado di distinguere i ceppi (tipi) batterici associati ad andamento peggiorativo della malattia polmonare dell'ospite. La patogenicità di 54 ceppi clinici di Ax derivati da 26 pazienti FC verrà valutata dapprima in larve di *Galleria mellonella* (un insetto molto usato come modello sperimentale). Il genoma dei ceppi batterici verrà sequenziato e analizzato per la presenza di geni di virulenza, allo scopo di identificare dei marcatori genetici associati alla patogenicità osservata nelle larve. Seguiranno poi studi di citotossicità e danno tissutale causato da Ax su cellule epiteliali bronchiali FC primarie (derivate da polmoni FC espianati); l'attività pro-infiammatoria sarà valutata *in vivo* in topi FC con infezione polmonare acuta da Ax. I dati clinici (stato dell'infezione, funzionalità polmonare, esacerbazioni polmonari, trapianto, genotipo) dei pazienti saranno correlati ai risultati ottenuti sulle cellule bronchiali e sui modelli animali. L'obiettivo è identificare marcatori genetici di *Achromobacter xylosoxidans* che distinguano i ceppi più pericolosi per il decorso clinico dell'infezione polmonare FC sostenuta da questo batterio.



### Risultati

**Lo studio di ceppi di *Achromobacter xylosoxidans* ha mostrato differenze tra la virulenza di ceppi occasionali rispetto a quelli cronici. Necessari approfondimenti per comprendere il ruolo di questo batterio in FC.**

*Achromobacter xylosoxidans* (Ax) è un patogeno emergente che sempre più frequentemente si isola dagli escreti dei pazienti con fibrosi cistica. Come tutti i batteri gram-negativi, anche questa specie batterica ha fattori di virulenza conosciuti come il lipopolisaccaridi; fattori specificamente associati ad Ax sono ancora da individuare. *Achromobacter xylosoxidans* sembra essere in grado di causare infezione cronica polmonare, anche se il suo ruolo clinico è ancora da stabilire. In questo progetto di ricerca sono stati presi in considerazione numerosi ceppi di Ax e analizzato per ciascuno tre particolari fattori di virulenza: la capacità di uccidere le larve di *Galleria mellonella* (un insetto usato come modello sperimentale), la capacità di produrre biofilm e l'attività citotossica su colture di cellule bronchiali FC. È stato dimostrato che i ceppi isolati da casi di infezione occasionale avevano una capacità maggiore di causare alti livelli di virulenza sulle larve rispetto ai ceppi provenienti da infezioni croniche mentre non si osservavano differenze significative per quanto riguarda la formazione del biofilm nei due tipi di ceppi. Infine, la capacità citotossica dei ceppi cronici era di grado maggiore rispetto a quella dei ceppi occasionali. Sulla base dei fattori di virulenza, alcuni dei ceppi studiati sono stati selezionati e classificati in tre gruppi. Per valutare l'andamento dell'infezione e dell'infiammazione polmonare causate da *Achromobacter xylosoxidans* e calcolare il tasso di mortalità, sono stati condotti anche esperimenti in modelli sperimentali *in vivo*. Dai dati raccolti è emerso che i ceppi definiti come altamente virulenti hanno indotto una forte infiammazione e causato la morte di tutti i modelli *in vivo* inoculati al contrario dei ceppi classificati come poco virulenti. I risultati ottenuti contribuiranno a meglio capire il ruolo di *Achromobacter xylosoxidans* come agente di infezione polmonare in FC e a usare alcune sue caratteristiche come marcatori del loro livello di virulenza.

## Pubblicazioni



Genomic characterization of *Achromobacter* species isolates from chronic and occasional lung infection in cystic fibrosis patients, *Microbial genomics*, Volume 7, 2021

MICROBIAL GENOMICS

RESEARCH ARTICLE

Veschetti *et al.*, *Microbial Genomics* 2021;7:000606  
DOI 10.1099/mgen.0.000606



## Genomic characterization of *Achromobacter* species isolates from chronic and occasional lung infection in cystic fibrosis patients

Laura Veschetti<sup>1†</sup>, Angela Sandri<sup>2†</sup>, Cristina Patuzzo<sup>1</sup>, Paola Melotti<sup>3</sup>, Giovanni Malerba<sup>1†</sup> and Maria M. Lleo<sup>2\*,†</sup>

### Funding information

This study was supported by the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (project FFC#18/2019 adopted by Delegazione FFC di Novara, Messina, Lodi, Foggia, Olbia and by Gruppo di sostegno FFC di Seregno and San Giovanni Rotondo). M.M.L. is the grant recipient, A.S. is employed as post-doctoral fellow by the funder.

## Publicazioni



**Mobilome Analysis of *Achromobacter* spp. Isolates from Chronic and Occasional Lung Infection in Cystic Fibrosis Patients, *Microorganisms*, Volume 9, Gennaio 2021**



**microorganisms**



Article

### **Mobilome Analysis of *Achromobacter* spp. Isolates from Chronic and Occasional Lung Infection in Cystic Fibrosis Patients**

Laura Veschetti <sup>1,†</sup>, Angela Sandri <sup>2,†</sup>, Cristina Patuzzo <sup>1</sup>, Paola Melotti <sup>3</sup>, Giovanni Malerba <sup>1,‡</sup> and Maria M. Lleò <sup>2,\*,‡</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurosciences, Biomedicine and Movement Sciences, University of Verona, 37134 Verona, Italy; laura.veschetti@univr.it (L.V.); cristina.patuzzo@univr.it (C.P.); giovanni.malerba@univr.it (G.M.)

<sup>2</sup> Department of Diagnostics and Public Health, Microbiology Section, University of Verona, 37134 Verona, Italy; angela.sandri@univr.it

<sup>3</sup> Cystic Fibrosis Center, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, 37126 Verona, Italy; paola.melotti@aovr.veneto.it

\* Correspondence: maria.lleo@univr.it

† These authors contributed equally to this work.

‡ These senior authors contributed equally to this work.

**Funding:** This study was supported by the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (project FFC#18/2019 adopted by Delegazione FFC di Novara, Messina, Lodi, Foggia, Olbia and by Gruppo di sostegno FFC di Seregno and San Giovanni Rotondo).

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the Centro Ricerca Clinica of Verona (protocols codes CRCFC-CEPPO026 and CRCFC-CEPPO031).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The genomic sequences analyzed in this study are openly available in NCBI SRA database within project number PRJEB40979.

**Acknowledgments:** We thank the Technological Platform Center of the University of Verona for providing the Genomic and Transcriptomic and Computational Platforms used for sequence generation and analysis.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.



## Abstract presentati a congressi scientifici



- Virulence and antibiotic resistance of *Achromobacter* spp. isolates from chronic and occasional lung infection in cystic fibrosis patients, *North American Cystic Fibrosis Conference*, Novembre 2021
- Hypermutation as an evolutionary mechanism for *Achromobacter* spp. in cystic fibrosis lung infection, *43rd European Cystic Fibrosis Conference (ECFC)*, 2020

## Rendiconto economico



### Progetto FFC#18/2019

Terapie dell'infezione broncopolmonare

## Studio della patogenicità e del ruolo clinico di *Achromobacter xylosoxidans* nell'infezione polmonare in fibrosi cistica



Periodo:

01/09/2019 – 31/08/2021



Responsabile:

**Maria M. Lleò**

Università di Verona, Dip. Diagnostica e Sanità Pubblica



Grant assegnato:

**€80.000**



Usato per:

- Materiale di consumo €7.981
- Spese viaggio/convegni €100
- Borse di studio €50.200
- Servizi scientifici €16.637
- Pubblicazioni scientifiche

**€74.918**



Saldo (usato per altri progetti)

**€5.082**