



Fondazione per la Ricerca
sulla Fibrosi Cistica - ETS
fibrosicisticaricerca.it

AREA 3

Terapie dell'infezione broncopolmonare



Progetto FFC #10/2023

Riposizionamento di farmaci per inibire l'adattamento di *Pseudomonas aeruginosa* all'ambiente polmonare nelle persone con fibrosi cistica



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Giordano Rampioni**
(Dipartimento di Scienze, Università Roma Tre, Roma)



Ricercatori coinvolti: 4



Qual è la durata dello studio: 1 anno

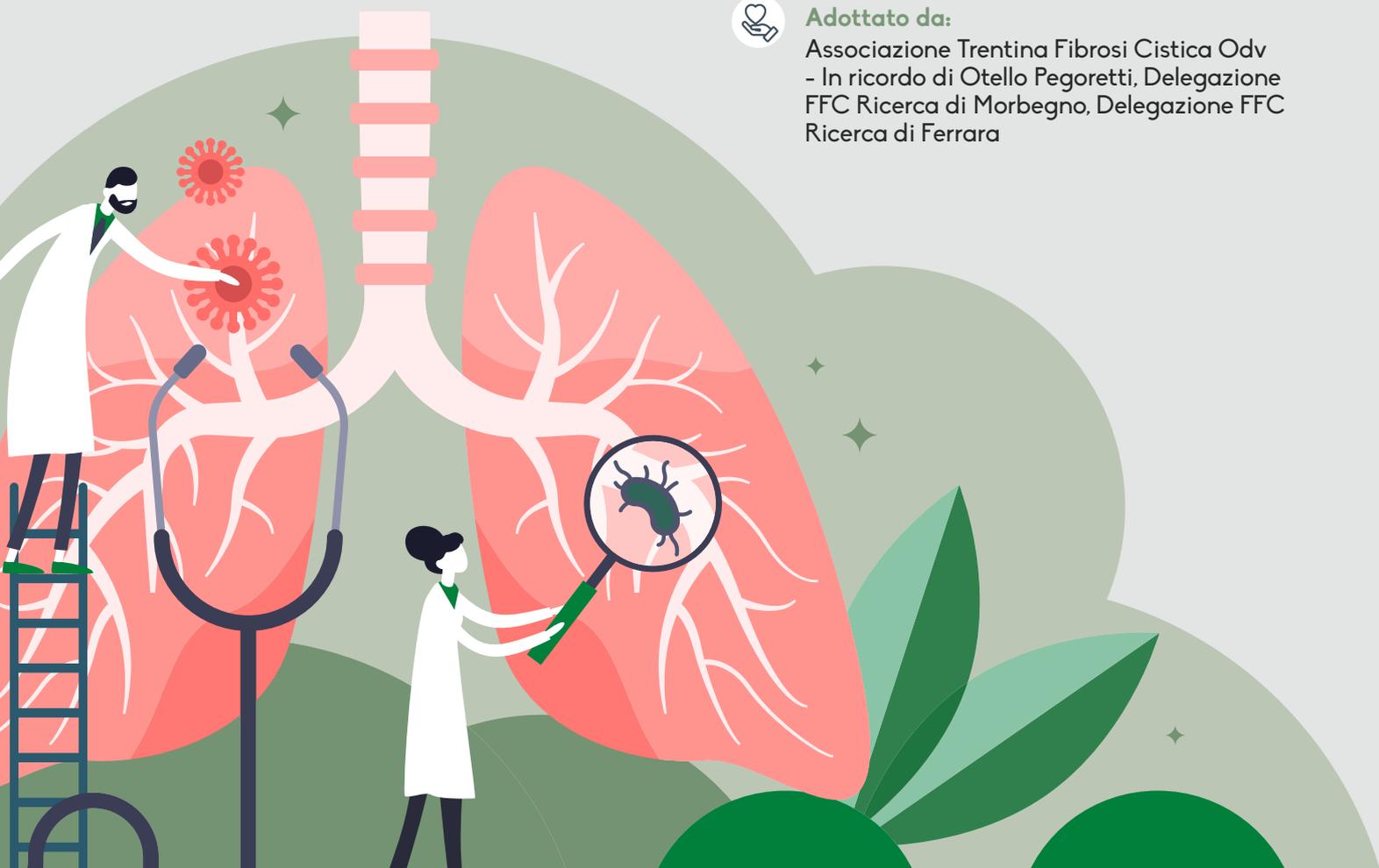


Finanziamento: € 66.150



Adottato da:

Associazione Trentina Fibrosi Cistica Odv
- In ricordo di Otello Pegoretti, Delegazione FFC Ricerca di Morbegno, Delegazione FFC Ricerca di Ferrara





Perché è importante

In fibrosi cistica (FC) le infezioni polmonari causate dal batterio *Pseudomonas aeruginosa* sono difficili da eliminare, perché questo batterio sfrutta il muco presente nei polmoni FC per crescere, produrre fattori di virulenza e formare biofilm resistenti agli antibiotici.

Per questa ragione, è importante identificare farmaci efficaci nell'inibire tali processi in un ambiente così particolare come quello del polmone FC. In questo progetto i ricercatori si sono chiesti se farmaci usati per il trattamento di altre patologie nell'uomo possono essere impiegati anche per contrastare le infezioni polmonari croniche causate da *P. aeruginosa* in persone con FC.



Che cosa hanno usato i ricercatori

I ricercatori hanno usato un terreno di crescita simile all'espettorato polmonare delle persone con FC, detto SCFM, *synthetic CF sputum medium* o terreno sintetico per espettorato FC. Sul SCFM hanno coltivato una variante geneticamente modificata di *P. aeruginosa* (detta biosensore) che consente di identificare molecole con attività anti-virulenza o anti-biofilm. Sono inoltre stati usati isolati clinici di *P. aeruginosa*. È stata anche selezionata una libreria di oltre 3000 farmaci approvati dalla FDA americana.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

I ricercatori hanno usato la variante biosensore per capire se i farmaci appartenenti alla libreria di composti selezionata potessero inibire la crescita, la virulenza o la formazione di biofilm di *P. aeruginosa* nel terreno SCFM.

Le molecole più promettenti identificate durante questa fase di screening sono state ulteriormente caratterizzate *in vitro* per le loro potenziali attività antimicrobiche, anti-virulenza o anti-biofilm su varianti di laboratorio e isolati clinici di *P. aeruginosa*.



Che cosa hanno ottenuto

Alcuni dei farmaci testati si sono dimostrati promettenti nell'inibire la crescita di *P. aeruginosa*, la sua virulenza o la sua capacità di formare biofilm. Queste molecole sono attive nel terreno che mima l'espettorato polmonare e agiscono anche contro varianti di *P. aeruginosa* isolate dai polmoni di persone con FC.



Che cosa succederà ora

I farmaci identificati devono essere ulteriormente caratterizzati ma pongono le basi per lo sviluppo di nuovi trattamenti delle infezioni polmonari causate da *P. aeruginosa* nelle persone con FC.

Per saperne di più



Obiettivi

Screening di molecole già approvate per l'uso nell'uomo per identificare nuovi farmaci in grado di ridurre la crescita e la formazione di biofilm di *Pseudomonas aeruginosa*

Le infezioni polmonari causate dal batterio *Pseudomonas aeruginosa* sono difficili da eradicare nelle persone con fibrosi cistica (FC), anche perché tale batterio forma biofilm protettivi che gli permettono di resistere agli antibiotici. Inoltre, *P. aeruginosa* si adatta molto bene all'ambiente del polmone FC perché usa il muco in esso contenuto come fonte nutritiva per la crescita e la formazione di biofilm.

Nel progetto verrà valutata la capacità di oltre 3000 farmaci già approvati per l'uso nell'uomo di ridurre *in vitro* la crescita e la formazione di biofilm di *P. aeruginosa*. Lo screening verrà eseguito in condizioni che mimano il più possibile l'ambiente polmonare delle persone con fibrosi cistica. L'effetto dei farmaci sulla crescita batterica e sulla formazione del biofilm verrà valutato grazie a un biosensore precedentemente sviluppato dai ricercatori: si tratta di un particolare dispositivo capace di monitorare il numero di cellule batteriche presenti ed emettere luminescenza in base a specifiche condizioni intracellulari di *P. aeruginosa*.

I farmaci selezionati tramite questo screening dovranno essere ulteriormente caratterizzati per comprenderne il meccanismo d'azione e verificarne l'efficacia su un ampio pannello di batteri isolati da persone con FC e in modelli animali di infezione polmonare. Il fatto che tali molecole siano già state approvate per l'uso nell'uomo faciliterà il loro trasferimento dal laboratorio di ricerca alla pratica clinica.

I risultati ottenuti apriranno la strada allo sviluppo di nuove opzioni terapeutiche per il trattamento delle infezioni polmonari croniche in fibrosi cistica causate da *P. aeruginosa*.



Risultati

Alcuni farmaci già approvati per l'uso nell'uomo inibiscono *in vitro*, su modelli FC, la crescita di *P. aeruginosa*, la sua virulenza o la sua capacità di formare biofilm

In fibrosi cistica (FC) le infezioni polmonari causate dal batterio *Pseudomonas aeruginosa* sono difficili da eliminare perché questo batterio sfrutta il muco presente nei polmoni FC per crescere, produrre fattori di virulenza e formare biofilm resistenti agli antibiotici.

Per questa ragione, è importante identificare farmaci efficaci nell'inibire tali processi in un ambiente così particolare come quello del polmone FC. In questo progetto i ricercatori si sono chiesti se farmaci usati per il trattamento di altre patologie nell'uomo possono essere impiegati anche per contrastare le infezioni polmonari croniche causate da *P. aeruginosa* in persone con FC.

I ricercatori hanno usato un terreno di crescita simile all'espettorato polmonare delle persone con FC, detto SCFM, *synthetic CF sputum medium* o terreno sintetico per espettorato FC. Sul SCFM hanno coltivato una variante geneticamente modificata di *P. aeruginosa* (detta biosensore) che consente di identificare molecole con attività anti-virulenza o anti-biofilm. Sono inoltre stati usati isolati clinici di *P. aeruginosa*. È stata anche selezionata una libreria di oltre 3000 farmaci approvati dalla FDA americana.



I ricercatori hanno usato la variante biosensore per capire se i farmaci appartenenti alla libreria di composti potessero inibire la crescita, la virulenza o la formazione di biofilm di *P. aeruginosa* nel terreno SCFM.

Le molecole più promettenti identificate durante questa fase di screening sono state ulteriormente caratterizzate *in vitro* per le loro potenziali attività antimicrobiche, anti-virulenza o anti-biofilm su varianti di laboratorio e isolati clinici di *P. aeruginosa*.

Alcuni dei farmaci testati si sono dimostrati promettenti nell'inibire la crescita di *P. aeruginosa*, la sua virulenza o la sua capacità di formare biofilm. Queste molecole sono attive nel terreno che mima l'espettorato polmonare e agiscono anche contro varianti di *P. aeruginosa* isolate dai polmoni di persone con FC.

I farmaci identificati devono essere ulteriormente caratterizzati ma pongono le basi per lo sviluppo di nuovi trattamenti delle infezioni polmonari causate da *P. aeruginosa* nelle persone con FC.

Publicazioni



Evolution and host-specific adaptation of Pseudomonas aeruginosa
Science, 2024

RESEARCH

RESEARCH ARTICLE

CLINICAL MICROBIOLOGY

Evolution and host-specific adaptation of *Pseudomonas aeruginosa*

Aaron Weimann^{1,2,3,4}, Adam M. Dinan^{1,2,3}, Christopher Ruis^{1,2,3,4}, Audrey Bernut⁵, Stéphane Pont⁵, Karen Brown^{1,2,6}, Judy Ryan^{1,2}, Lúcia Santos⁷, Louise Ellison², Emem Ukor^{2,6}, Arun P. Pandurangan^{1,8,9}, Sina Krokowski^{1,2}, Tom L. Blundell^{1,8,9}, Martin Welch⁸, Beth Blane⁹, Kim Judge¹⁰, Rachel Bousfield^{9,11}, Nicholas Brown¹¹, Josephine M. Bryant¹⁰, Irena Kukavica-Ibrulj¹², Giordano Rampioni^{13,14}, Livia Leoni¹³, Patrick T. Harrison⁷, Sharon J. Peacock^{9,11}, Nicholas R. Thomson^{10,15}, Jeff Gauthier¹², Jo L. Fothergill¹⁶, Roger C. Levesque^{12*}, Julian Parkhill^{4*}, R. Andres Floto^{1,2,3,6,9,11*}

The major human bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa* causes multidrug-resistant infections in people with underlying immunodeficiencies or structural lung diseases such as cystic fibrosis (CF). We show that a few environmental isolates, driven by horizontal gene acquisition, have become dominant epidemic clones that have sequentially emerged and spread through global transmission networks over the past 200 years. These clones demonstrate varying intrinsic propensities for infecting CF or non-CF individuals (linked to specific transcriptional changes enabling survival within macrophages); have undergone multiple rounds of convergent, host-specific adaptation; and have eventually lost their ability to transmit between different patient groups. Our findings thus explain the pathogenic evolution of *P. aeruginosa* and highlight the importance of global surveillance and cross-infection prevention in averting the emergence of future epidemic clones.

Pubblicazioni



Hydrogen sulfide production does not affect antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2024



Antimicrobial Agents
and Chemotherapy

MECHANISMS OF RESISTANCE
April 2024 Volume 68 Issue 4 e00075-24
<https://doi.org/10.1128/aac.00075-24>

Hydrogen sulfide production does not affect antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*

Lorenzo Caruso¹, Marta Mellini¹, Ortensia Catalano Gonzaga¹, Alessandra Astegno², Elena Forte³, Adele Di Matteo⁴, Alessandro Giuffrè⁴, Paolo Visca ^{1,5,6}, Francesco Imperi ^{1,5,6}, Livia Leoni¹, Giordano Rampioni ^{1,5}

¹Department of Science, University Roma Tre, Rome, Italy

²Department of Biotechnology, University of Verona, Verona, Italy

³Department of Biochemical Sciences, Sapienza University of Rome, Rome, Italy

⁴CNR Institute of Molecular Biology and Pathology, Rome, Italy

⁵IRCCS Fondazione Santa Lucia, Rome, Italy

⁶NBFC, National Biodiversity Future Center, Palermo, Italy

Hydrogen sulfide (H₂S) has been proposed to protect bacteria from antibiotics, pointing to H₂S-producing enzymes as possible targets for the development of antibiotic adjuvants. Here, MIC assays performed with *Pseudomonas aeruginosa* mutants producing altered H₂S levels demonstrate that H₂S does not affect antibiotic resistance in this bacterium. Moreover, correlation analyses in a large collection of *P. aeruginosa* cystic fibrosis isolates argue against the protective role of H₂S from antibiotic activity during chronic lung infection.

KEYWORDS antibiotic resistance, *Pseudomonas aeruginosa*, cystic fibrosis, H₂S, antibiotic adjuvants

Abstract presentati a congressi



- **Drug repurposing to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* adaptation to the CF lung environment**
Cortona Procarioni, Cortona, Italy, 27-29 June 2024
- **Drug repurposing to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* adaptation to the cystic fibrosis lung environment**
Flagship Project 7 Mid-term Plenary Workshop, Rome, Italy, 13 June 2024
- **Drug repurposing to inhibit *Pseudomonas aeruginosa* adaptation to the CF lung environment**
XIII Congress of Microbiologists of Serbia, Belgrado, Serbia, 4-6 April 2024
- **Set up of a whole-cell biosensor-based screening system to identify molecules inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* growth or pathogenicity in the lung of individuals with cystic fibrosis**
EureStop COST Action General Meeting, Rome, Italy, 21-22 March 2024

Rendiconto economico



AREA 3

Terapie dell'infezione broncopolmonare

Progetto FFC #10/2023

Riposizionamento di farmaci per inibire l'adattamento di *Pseudomonas aeruginosa* all'ambiente polmonare nelle persone con fibrosi cistica

	Responsabile: Giordano Rampioni (Dipartimento di Scienze, Università Roma Tre, Roma)	
	Periodo:	01/09/23 - 31/08/24
	Grant assegnato:	€ 63.000,0
	Usato per:	
	- Materiale di consumo	€ 34.925,4
	- Borse di studio	€ 23.000,0
	- Servizi scientifici	€ 3.691,2

		€ 61.616,6
	Saldo (usato per altri progetti):	€ 1.383,4
	Al grant assegnato ai ricercatori è stata addizionata una quota del 5% per la gestione amministrativa di FFC Ricerca.	