



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

AREA 5

Ricerca clinica ed epidemiologica



Progetto FFC#16/2023

Affrontare la resistenza alla terapia fagica di batteri
Pseudomonas aeruginosa isolati da persone con
fibrosi cistica



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Federica Briani**
(Dipartimento di Bioscienze, Università
degli Studi di Milano)



Ricercatori coinvolti: 5



Qual è la durata dello studio: 2 anni



Finanziamento: € 113.085



Adottato da:

Gruppo di Sostegno FFC Ricerca di
Saviano; Delegazione FFC Ricerca di
Sondrio Valchiavenna; Delegazione FFC
Ricerca di Milano





Perché è importante

Le persone con fibrosi cistica (FC) sono spesso soggette a infezioni di *Pseudomonas aeruginosa*, un batterio resistente a molti antibiotici. Un trattamento alternativo per contrastare queste infezioni coinvolge i fagi, cioè virus che attaccano i batteri in modo specifico.

Nel precedente progetto [FFC#15/2021](#) è stata sviluppata una miscela (cocktail) di 4 fagi in grado di contrastare le infezioni da *P. aeruginosa* in diversi modelli animali. Tuttavia, si è osservato che molti dei batteri responsabili di infezioni in persone con FC sono resistenti a tali fagi. Questo studio mira a sviluppare fagi e cocktail di fagi capaci di uccidere questi batteri resistenti e quindi potenzialmente utilizzabili nella pratica clinica.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono stati usati fagi presenti in natura e, a partire da questi, sono state generate nuove varianti in laboratorio. I batteri usati per gli esperimenti sono stati isolati clinicamente da persone con FC. Sono stati svolti test *in vitro* e successivamente *in vivo* sul modello zebrafish.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

I ricercatori hanno testato la sensibilità ai fagi di batteri isolati da persone con FC in trattamento o meno con Kaftrio e hanno modificato geneticamente alcuni fagi naturali per migliorare la loro capacità di infettare i batteri.

Hanno quindi analizzato i meccanismi genetici alla base della resistenza ai fagi in batteri responsabili di infezioni in persone con FC.

Infine, hanno sviluppato un cocktail di fagi e ne hanno valutato l'efficacia antibatterica *in vivo* in un modello di infezione di zebrafish con CFTR normale o mutata.



Che cosa hanno ottenuto

Gli esperimenti hanno dimostrato che la resistenza ai fagi dipende dal mancato riconoscimento tra i fagi e i batteri, che impedisce l'assorbimento del fago nel batterio e ne compromette quindi l'attività antibatterica. Inoltre si è visto che il trattamento con Kaftrio non è correlato alla comparsa di resistenza ai fagi.

Il cocktail di fagi sviluppato si è dimostrato attivo contro molti isolati clinici di *P. aeruginosa* e sicuro nel modello di zebrafish; tuttavia, i difetti in CFTR limitano l'efficacia della terapia.



Che cosa succederà ora

I risultati ottenuti aprono la strada a studi mirati all'applicazione clinica della terapia fagica. In particolare, sarà necessario capire in che modo i difetti in CFTR interferiscono con l'azione antibatterica dei fagi e come la combinazione di fagi e antibiotici può migliorare l'efficacia del trattamento.

Per saperne di più



Obiettivi

Generare fagi su misura per curare l'infezione delle vie aeree da *Pseudomonas aeruginosa*, modificando in maniera opportuna una serie di fagi naturali già testati per sicurezza e efficacia (THERPHAGE)

La terapia fagica consiste nell'uso di fagi, cioè virus che infettano esclusivamente e in maniera specifica i batteri, per curare le infezioni.

Nel precedente progetto [FFC#15/2021](#), i ricercatori hanno sviluppato una miscela (cocktail) di 4 fagi in grado di curare le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in diversi modelli animali. Tuttavia hanno scoperto che un'alta percentuale di batteri isolati da persone con fibrosi cistica (FC) era resistente al cocktail di fagi usato.

Questo progetto si propone di modificare alcuni fagi naturali, già testati per sicurezza e efficacia, per renderli in grado di uccidere i batteri *P. aeruginosa* resistenti isolati da persone con FC. I fagi verranno anche testati su batteri isolati da persone in trattamento con Kafrio, finora mai analizzati con questo obiettivo.

I ricercatori intendono condurre sui fagi modificati una serie di test preclinici in modelli di infezione di zebrafish, per passare poi a studi in modelli di infezione in topo e in colture di cellule epiteliali bronchiali umane derivate da persone con FC.

I risultati raccolti potranno rappresentare un passo significativo verso l'introduzione della terapia fagica tra le opzioni terapeutiche dell'infezione da *P. aeruginosa*. Infatti, al momento ci sono aspetti normativi che limitano l'applicazione della terapia fagica al trattamento compassionevole, cioè ai casi in cui tutte le altre opzioni terapeutiche hanno fallito. Questa situazione è in rapida evoluzione, grazie anche a quattro studi clinici in corso per la terapia fagica delle infezioni da *P. aeruginosa*.



Risultati

Sviluppati nuovi cocktail di fagi attivi contro *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro* e *in vivo*

Le persone con fibrosi cistica (FC) sono spesso soggette a infezioni di *Pseudomonas aeruginosa*, un batterio resistente a molti antibiotici. Un trattamento alternativo per contrastare queste infezioni coinvolge i fagi, cioè virus che attaccano i batteri in modo specifico.

Nel precedente progetto [FFC#15/2021](#) è stata sviluppata una miscela (cocktail) di 4 fagi in grado di contrastare le infezioni da *P. aeruginosa* in diversi modelli animali. Tuttavia, si è osservato che molti dei batteri responsabili di infezioni in persone con FC sono resistenti a tali fagi. L'obiettivo di questo studio era sviluppare fagi e cocktail di fagi capaci di uccidere questi batteri resistenti e quindi potenzialmente utilizzabili nella pratica clinica.

I ricercatori hanno usato fagi presenti in natura e hanno testato la sensibilità a questi fagi su batteri isolati da persone con FC in trattamento o meno con Kafrio. Sono stati svolti test *in vitro* e successivamente *in vivo* sul modello zebrafish.

Inoltre, partendo dai fagi naturali, sono state generate nuove varianti in laboratorio per migliorare la loro capacità di infettare i batteri. I ricercatori hanno quindi analizzato i meccanismi genetici alla base della resistenza ai fagi in batteri responsabili di infezioni in persone con FC.

Questi esperimenti hanno dimostrato che la resistenza ai fagi dipende dal mancato riconoscimento tra i fagi e i batteri, che impedisce l'assorbimento del fago nel batterio e ne compromette quindi l'attività antibatterica. Inoltre si è visto che il trattamento con Kaftrio non è correlato alla comparsa di resistenza ai fagi.

Infine, i ricercatori hanno sviluppato un cocktail di fagi e ne hanno valutato l'efficacia antibatterica *in vivo* in un modello di infezione di zebrafish con CFTR normale o mutata. Il cocktail di fagi sviluppato si è dimostrato attivo contro molti isolati clinici di *P. aeruginosa* e sicuro nel modello di zebrafish; tuttavia, i difetti in CFTR limitano l'efficacia della terapia. I risultati ottenuti aprono la strada a studi mirati all'applicazione clinica della terapia fagica. In particolare, sarà necessario capire in che modo i difetti in CFTR interferiscono con l'azione antibatterica dei fagi e come la combinazione di fagi e antibiotici può migliorare l'efficacia del trattamento.

Publicazioni







- ***Pseudomonas aeruginosa* DEV phage exploits the essential LptD outer membrane protein as receptor for adsorption**
mBio, 2026



RESEARCH ARTICLE
February 2026 Volume 17 Issue 2 e03561-25
<https://doi.org/10.1128/mbio.03561-25>

***Pseudomonas aeruginosa* DEV phage exploits the essential LptD outer membrane protein as receptor for adsorption**

Jimena Nieto Noblecia ¹, Nathan F. Bellis², Cristian A. Antichi¹, Shirin Aminian¹, Francesca Forti¹, Federica A. Falchi¹, Davide Sposato³, Francesco Imperi ³, Gino Cingolani ², Federica Briani ¹

¹Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy

²Department of Biochemistry and Molecular Genetics, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, USA

³Dipartimento di Scienze, Università degli Studi Roma Tre, Rome, Italy

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Anna E. Ebbensgaard (University of Copenhagen) for providing the *E. coli* JW3606 strain.

This work was funded by the Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica-ETS, grant FFC#16/2023 to F.B., and by the National Institutes of Health grant R35 GM140733 to G.C. Electron microscopy was carried out in the UAB Cryo-EM Facility (RRID:SCR_025450), supported by the Institutional Research Core Program and O'Neal Comprehensive Cancer Center (NIH grant P30 CA013148), with additional funding from NIH grant S10 OD024978. The authors acknowledge the support of the APC central fund of the University of Milan.

J.N.N., C.A.A., N.F.B., S.A., F.F., F.A.F., and D.S. did the experiments. N.F.B. and G.C. performed cryo-EM structural analysis and AlphaFold3 structural predictions. D.S. and F.I. constructed *lptD* mutants and provided strains with conditional expression of essential genes. F.B. designed and supervised the project. All authors contributed to the writing of the manuscript.

Publicazioni



- **Structure of the giant RNA polymerase ejected from coliphage N4**
Research Square, 2025 (preprint, under review)



Preprints are preliminary reports that have not undergone peer review.
They should not be considered conclusive, used to inform clinical practice,
or referenced by the media as validated information.

Structure of the giant RNA polymerase ejected from coliphage N4

Nathan Bellis

University of Alabama at Birmingham

Ravi Lokareddy

Mikhail Pavlenok

University of Alabama at Birmingham

Stephanie Cooper Horton

University of Alabama at Birmingham <https://orcid.org/0000-0001-9928-002X>

James Kizziah

University of Alabama at Birmingham <https://orcid.org/0000-0002-2608-8595>

Francesca Forti

Università degli Studi di Milano

David Schneider

University of Alabama at Birmingham <https://orcid.org/0000-0003-0635-5091>

Michael Niederweis

University of Alabama at Birmingham <https://orcid.org/0000-0003-4068-8092>

Federica Briani

Università degli Studi di Milano <https://orcid.org/0000-0002-5876-4463>

Gino Cingolani

gcingola@uab.edu

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the National Institutes of Health grants R01 AI191107 and R35 GM140733 to G.C.; R35 GM140710 to D.A.S.; R01 AI184596 and R01 AI175106 to M.N., and by the Fondazione per la ricerca sulla Fibrosi cistica-Delegazioni di Milano, di Sondrio Valchiavenna e di Saviano grant FFC#16/2023 to F.B. Electron microscopy was carried out in the UAB Cryo-EM Facility (RRID:SCR_025450), supported by the Institutional Research Core Program and O'Neal Comprehensive Cancer Center (NIH grant P30 CA013148), with additional funding from NIH grant S10 OD024978. We thank the staff at NCEF and Stanford-SLAC CryoEM Center (S2C2) for their assistance with cryo-EM data collection. NCEF is supported by contract 75N91019D00024; Stanford-SLAC CryoEM Center (S2C2) is supported by the NIH Common Fund Transformative High-Resolution Cryo-Electron Microscopy program (U24 GM129541). We thank Dr. Regine Hengge for providing us with N4 phage. Part of this work was carried out at UNITECH OMICs mass spectrometry platform of the Università degli Studi di Milano.

Publicazioni



- ***In vitro evolution of natural phages addresses the phage resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from chronic airway infections of people with cystic fibrosis***
In preparation

Atti di convegni



- ***Addressing phage resistance to enhance the robustness of phage therapy for Pseudomonas aeruginosa infections in people with cystic fibrosis***
7th World Conference on Targeting Phage Therapy Valletta, Malta, 2024
- ***Tackling phage resistance to increase the robustness of phage therapy for curing Pseudomonas aeruginosa infections in patients with Cystic fibrosis***
19th ECFS Basic Science Conference Valletta, Malta, 2024

Rendiconto economico



AREA 5

Ricerca clinica ed epidemiologica

Progetto FFC#16/2023

Affrontare la resistenza alla terapia fagica di batteri *Pseudomonas aeruginosa* isolati da persone con fibrosi cistica



Responsabile:

Federica Briani

(Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)



Periodo:

01/09/2023 - 27/02/2026



Grant assegnato:

€ 113.085,00

Il grant assegnato ai ricercatori è comprensivo della quota del 5% per la gestione amministrativa di FFC Ricerca.



Usato per:

- Materiale di consumo	€ 45.691,67
- Spese viaggio/convegni	€ 4.185,86
- Borse di studio	€ 43.329,00
- Servizi scientifici	€ 10.358,66
- Overheads UniMI	€ 1.852,00
- Gestione amministrativa FFC Ricerca (5%)	€ 5.385,00



Saldo (usato per altri progetti):

€ 2.282,81