**DOTTORATO DI RICERCA IN BIOLOGIA CELLULARE E DELLO SVILUPPOProposta di progetto per Dottorato**

**Titolo della ricerca:**

Attività di farmaci ed espressione genica in micobatteri a crescita lenta e rapida, aerobi, dormienti e persistenti

**Supervisore(i)/Docente guida:**Federico Giannoni, Ph.D., ricercatore presso Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Malattie Infettive
federico.giannoni@iss.it

**Tutor interno al collegio:**Prof.ssa Fiorentina Ascenzioni

**Struttura(e) ospitante(i):**Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Malattie Infettive

**Summary della ricerca (fino 300 parole max)**

I micobatteri causano vari tipi di infezioni, spesso particolarmente gravi. *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) è la principale causa di morte tra le malattie causate da un singolo agente infettivo, mentre i micobatteri non tubercolari (MNT) causano soprattutto infezioni polmonari in soggetti immunocompromessi, con preesistenti patologie polmonari o portatori di malattie genetiche come la fibrosi cistica. *Mycobacterium abscessus* (Mab), un MNT a rapida crescita, è una delle specie più frequentemente isolate dai pazienti con fibrosi cistica. In Mtb e Mab, particolarmente resistenti agli antibiotici, si generano forme dormienti e tolleranti ai farmaci (persisters), responsabili della lunga durata della terapia e delle frequenti recidive.

Lo scopo del progetto è lo studio dell’attività degli antibiotici, singoli e in combinazione, in ceppi di referenza e clinici di Mab e Mtb, con particolare riguardo per: i) la determinazione dell’attività dei farmaci verso le forme replicative aerobie e dormienti (ipossiche e persisters), allo scopo di trovare combinazioni sterilizzanti entrambe le fasi metaboliche; ii) lo studio dei meccanismi molecolari responsabili della farmaco-tolleranza dei persisters. La resistenza fenotipica di ceppi genotipicamente sensibili di Mab e Mtb dipende dalla presenza di sottopopolazioni di persisters, di cui proponiamo di studiarne l’espressione genica mediante qRT-PCR, per determinarne lo status fisiologico, con particolare attenzione verso i geni espressi nella fase dormiente e del metabolismo lipidico, e i sistemi tossina-antitossina.

Mab e Mtb verranno coltivati in provette con tappo chiuso (modello di dormienza di Wayne) per generare condizioni ipossiche, poi verranno aggiunti vari farmaci, singoli e in combinazione. In parallelo, l’RNA estratto dai batteri che sopravvivono dopo il trattamento con i farmaci verrà analizzato mediante qPCR per studiare l’espressione genica dei persisters.

**Pertinent Publications of the proponent (last 5 years)**

1. Iacobino A, Piccaro G, **Giannoni F**, Mustazzolu A, Fattorini L. Mycobacterium tuberculosis Is Selectively Killed by Rifampin and Rifapentine in Hypoxia at Neutral pH. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Feb 23;61(3). pii: e02296-16. doi: 10.1128/AAC.02296-16. IF 4.256
2. Iacobino A, Piccaro G, **Giannoni F**, Mustazzolu A, Fattorini L. Fighting tuberculosis by drugs targeting nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis* bacilli. Int J Mycobacteriol. 2017 Jul-Sep; 6(3): 213-221. doi: 10.4103/ijmy.ijmy\_85\_17. Review. PMID: 28776518.
3. Mustazzolu, A., Iacobino, A., **Giannoni, F.**, Piersimoni, C., Fattorini, L. Improved bactec MGIT 960 pyrazinamide test decreases detection of false *Mycobacterium tuberculosis* pyrazinamide resistance. J Clin Microbiol. 2017. 55(12), pp. 3552-3553.
4. Mustazzolu A, Borroni E, Cirillo DM, **Giannoni F**, Iacobino A; Italian Multicentre Study on Resistance to Antituberculosis Drugs (SMIRA), Fattorini L. Trend in rifampicin-, multidrug- and extensively drug-resistant tuberculosis in Italy, 2009-2016.

Eur Respir J. 2018 Jul 19; 52(1). pii: 1800070. doi: 10.1183/13993003.00070-2018. Print 2018 Jul. No abstract available.

1. Iacobino A, **Giannoni F**, Fattorini L, Brucoli F. Activity of DNA-targeted C8-linked pyrrolobenzodiazepine-heterocyclic polyamide conjugates against aerobically and hypoxically grown Mycobacterium tuberculosis under acidic and neutral conditions. J Antibiot (Tokyo). 2018 Sep;71(9):831-834. doi: 10.1038/s41429-018-0068-5. Epub 2018 May 24.
2. Tanner R, Smith SG, van Meijgaarden KE, **Giannoni F**, Wilkie M, Gabriele L, Palma C, Dockrell HM, Ottenhoff THM, McShane H. Optimisation, harmonisation and standardisation of the direct mycobacterial growth inhibition assay using cryopreserved human peripheral blood mononuclear cells. J Immunol Methods. 2019 Jan 30. pii: S0022-1759(18)30392-2. doi: 10.1016/j.jim.2019.01.006.
3. Mustazzolu A, Piersimoni C, Iacobino A,**Giannoni F**, Chirullo B, Fattorini L. Revisiting problems and solutions to decrease Mycobacterium tuberculosis pyrazinamide false resistance when using the Bactec MGIT 960 system. Ann Ist Super Sanita. 2019 Jan-Mar;55(1):51-54. doi: 10.4415/ANN\_19\_01\_09.PMID: 30968836
4. Iacobino A, **Giannoni F**, Pardini M, Piccaro G, Fattorini L.The Combination Rifampin-Nitazoxanide, but Not Rifampin-Isoniazid-Pyrazinamide-Ethambutol, Kills Dormant Mycobacterium tuberculosis in Hypoxia at Neutral pH. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Jun 24;63(7):e00273-19. doi: 10.1128/AAC.00273-19. Print 2019 Jul.PMID: 31010861.
5. Iacobino, A., Fattorini, L., **Giannoni, F.** Drug-resistant tuberculosis 2020: Where we stand 2020 Applied Sciences (Switzerland) 10(6),2153.
6. Fattorini L, Creti R, Palma C, Pantosti A; Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens; Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens of the Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome. Bacterial coinfections in COVID-19: an underestimated adversary. Ann Ist Super Sanita. 2020 Jul-Sep;56(3):359-364. doi: 10.4415/ANN\_20\_03\_14. PMID: 32959802.
7. Iacobino A, Piccaro G, Pardini M, Fattorini L, **Giannoni F**. Moxifloxacin Activates the SOS Response in *Mycobacterium tuberculosis* in a Dose- and Time-Dependent Manner. Microorganisms. 2021 Jan 27;9(2):255. doi: 10.3390/microorganisms9020255. PMID: 33513836.
8. **Giannoni F,** Lanni A, Iacobino A, the Italian Multicenter Study on Resistance to Antituberculosis Drugs (SMIRA), Cirillo D, Borroni E, Fattorini L. Decreasing trend of drug-resistant tuberculosis in Italy in 2011-2020. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2022 (in press).

**References (other citations, if appropriate)**

Lanni A, Borroni E, IacobinoA, Russo C, Gentile L, Fattorini L, e **GiannoniF.** Activity of drug combinations against *Mycobacterium abscessus* grown in aerobic and hypoxic conditions. Manuscript in preparation.