

Descrizione dettagliata del Progetto

Il progetto FINI si propone di realizzare sistemi terapeutici innovativi in grado di eradicare infezioni associate a biofilm consentendo così una terapia antimicrobica specifica senza citotossicità ed effetti collaterali. A questo scopo si intende condurre una caratterizzazione fisico-chimica e morfologica esaustiva delle infezioni associate a biofilm prodotte da microrganismi antibiotico-resistenti a diversi stadi di maturazione, unitamente ad una valutazione delle variazioni della loro organizzazione dinamica dopo trattamenti con nanoparticelle antimicrobiche (NPs) innovative. Verranno utilizzate spettroscopie vibrazionali complementari a infrarossi (IR) e micro-Raman per identificare la composizione del biofilm e per ottenere informazioni sui diversi *environment* a legame idrogeno relativo dell'acqua all'interno della struttura polimerica del biofilm. Verranno prodotte NPs polimeriche, NPs con ciclodestrine caricate positivamente e NPs d'oro (funzionalizzate, se necessario) cariche di agenti attivi antimicrobici per ottenere sistemi in grado di riconoscere selettivamente bersagli molecolari nel biofilm, bloccandone la produzione o causando la rottura e la dissoluzione di quelli già formati. Le NPs prodotte saranno oggetto di una completa caratterizzazione tecnologica al fine di valutare gli effetti della temperatura e dei diversi parametri formulativi sulla loro stabilità. Verranno inoltre studiate le interazioni fisico-chimiche tra i principi attivi antimicrobici e le NPs realizzate. Verranno impiegate tecniche correlate alla microscopia elettronica a trasmissione e scansione per studiare la morfologia dei batteri presenti sulla superficie biotica o abiotica e per l'enumerazione dei batteri adesi prima e dopo i trattamenti antimicrobici. Verranno, infine, condotti studi in vitro/ex vivo su linee cellulari e su tessuti espuntati infettati da batteri produttori di biofilm resistenti agli antibiotici (BPB) per indagare il meccanismo d'azione, l'efficacia e l'attività antinfiammatoria delle NPs prodotte.

IL GRUPPO DI RICERCA

Le due unità di ricerca (RU), coinvolte nel progetto FINI, costituiscono una rete "scientifica" con esperienze complementari che comprendono l'intero processo produttivo delle nanoparticelle proposte, dalla progettazione alla sintesi organica, fino alla caratterizzazione, test in vitro e ai modelli ex-vivo.

Unità 1 – Università degli Studi di Messina

- **VENUTI** Valentina (P.I.)
<https://unime.unifind.cineca.it/get/person/010171>
- **CARIDI** Francesco
<https://unime.unifind.cineca.it/get/person/026777>
- **PALADINI** Giuseppe
<https://unime.unifind.cineca.it/get/person/123864>
- **TOMMASINI** Silvana
<https://unime.unifind.cineca.it/get/person/009093>
- **VENTURA** Cinzia Anna
<https://unime.unifind.cineca.it/get/person/019604>

Unità 2 – Università degli Studi di Catania

- **PISTARA'** Venerando (responsabile di unità)
<https://www.dsfi.unict.it/docenti/venerando.pistara>
- **SALMERI** Mario
<https://www.biometec.unict.it/docenti/mario.salmeri>

OBIETTIVI PRINCIPALI

- **Sviluppare piattaforme nanotecnologiche con proprietà superficiali e dimensioni specifiche indirizzate a ridurre la formazione di biofilm antibiotico-resistenti su vari modelli di cellule eucariotiche umane e organi espuntati, per inibirne la produzione e lo sviluppo.**
- **Chiarire il meccanismo di eradicazione del biofilm attraverso una dettagliata caratterizzazione fisico-chimica e morfologica. A tale scopo si prenderanno in esame sistemi prodotti da microrganismi patogeni selezionati, prima e dopo il trattamento con le nanostrutture proposte, al fine di determinare le specifiche interazioni che si instaurano tra le componenti.**

FINI

Future challenges in management of recurrent/resistant Infection: development of antimicrobial nanoparticulate systems and physical-chemical investigation of their Interactions with biofilm-associated infection

(PNRR - Missione 4, Componente 2, Investimento 1.1 - Bando Prin 2022 - Decreto Direttoriale n. 104 del 02-02-2022)

CUP: J53D23008880006
Codice Identificativo: 2022325YFW

[HTTPS://PRIN2022FINI.UNIME.IT](https://PRIN2022FINI.UNIME.IT)

UNITA' DI RICERCA COINVOLTE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA



6 WORK PACKAGES (WPS)

WP5) Tests In vitro/ex vivo

Scopo di questo WP è quello di valutare l'attività antibatterica e anti-biofilm delle NP caricate con antimicrobici contro ceppi batterici resistenti ai farmaci, utilizzando test in vitro e modelli di coltura. Un'ulteriore obiettivo riguarda la valutazione della citotossicità esercitata dalle NPs e della comparsa di apoptosi e/o stress ossidativo. Il modello proposto consiste in cellule epiteliali corneali infettate con ceppi produttori di biofilm isolati da infezioni oculari. Il modello sarà trattato con le diverse tipologie di NP al fine di valutare l'attività antibatterica delle NP in termini di inibizione o eradicazione dei biofilm. Infine, si prevede di valutare il potenziale antinfiammatorio delle NP su linee cellulari infette e su tessuti corneali infetti. Nel suddetto modello, verranno studiate le proprietà antinfiammatorie delle NPs, quantificando la produzione di citochine mediante ELISA.

WP6) Disseminazione

Il WP6 ha lo scopo di garantire l'attività di divulgazione e di outreach relativa al progetto. La divulgazione prenderà in considerazione i risultati dei WP pertinenti per produrre linee guida su standard e *best practices*, tramite l'organizzazione di workshop e iniziative di *capacity building*, al fine di diffondere le nuove conoscenze acquisite nella sfera degli stakeholder. La diffusione dei risultati sarà raggiunta attraverso attività incentrate sulla disseminazione dei principali output progettuali rivolta alla comunità industriale, alla società civile e alla comunità scientifica.

6 WORK PACKAGES (WPS)

WP3) Sviluppo, caratterizzazione fisico-chimica e morfologica di nanoparticelle antimicrobiche (NPs)

Le NPs, costituite da molecole commercializzate e/o da nuove molecole sintetizzate, caricate con agenti attivi antimicrobici, saranno progettate per permettere la penetrazione della dose terapeutica nelle cellule batteriche, eradicando le infezioni senza citotossicità ed effetti avversi. Inoltre, si intende sviluppare vettori nanoparticellari contenenti agenti antimicrobici e antinfiammatori naturali per la terapia multifarmaco. Una completa caratterizzazione fisico-chimica e morfologica dei sistemi prodotti si rende necessaria per comprendere il tipo di interazione tra i farmaci e/o le ciclodestrine e la matrice polimerica, e il ruolo che tali interazioni svolgono sulla capacità di carico e sull'efficacia terapeutica dei sistemi di rilascio nanoparticolati. In base ai dati ottenuti, i sistemi più efficienti saranno selezionati per un'analisi di correlazione 2D (2D-COS) dei dati IR, raccolti in funzione della T, ottenendo informazioni sull'evoluzione dinamica dipendente dalla temperatura. Inoltre, l'effetto della temperatura sulla dinamica dei complessi sarà integrato da misure di scattering neutronico elastico e anelastico condotte presso le *European Large Facilities*.

WP4) Caratterizzazione del biofilm trattato con le NPs

Valutazione fisico-chimica e osservazione microscopica della risposta del biofilm al trattamento con le NPs. Il SEM e le tecniche IR e Raman saranno utilizzate per studiare i modelli spaziali modificati dall'interazione delle NP antimicrobiche con il biofilm, per identificare le regioni del biofilm raggiunte dall'antibiotico.

6 WORK PACKAGES (WPS)

WP1) Amministrazione

Questo WP ha lo scopo di i) assicurare un coordinamento efficace del progetto oltre che l'implementazione di un'amministrazione efficiente; ii) facilitare la comunicazione tra i partner coinvolti; iii) garantire il raggiungimento dei risultati del progetto; iv) monitorare i potenziali rischi e garantire l'esecuzione del piano di emergenza; v) organizzare la documentazione necessaria e la tempestività del progetto. rischi e garantire la necessaria esecuzione del piano di emergenza; v) organizzazione della documentazione necessaria e comunicazione tempestiva, risoluzione di problemi finanziari e controllo. comunicazione, risoluzione dei problemi finanziari e controllo dell'uso appropriato delle risorse; vi) supervisione della conformità legale per tutte le attività del progetto.

WP2) Produzione e caratterizzazione del biofilm

caratterizzazione fisico-chimica e osservazione al microscopio di infezioni associate a biofilm prodotte da ceppi batterici resistenti ai farmaci durante le fasi di sviluppo e maturazione. In particolare, i biofilm, prodotti da ceppi selezionati su superfici abiotiche e biotiche, saranno caratterizzati da un punto di vista dinamico attraverso la spettroscopia IR e Raman e la microspettroscopia, in modo non invasivo e complementare, al fine di monitorare in situ, da un'analisi degli spettri di *fingerprint* delle biomolecole, non solo le fasi iniziali della formazione del biofilm ma anche la successiva crescita dei layers. La microscopia elettronica a trasmissione (TEM) e a scansione (SEM), associata anche a tecniche spettroscopiche quali la spettroscopia a raggi X a dispersione di energia (EDX), sarà impiegata per indagare le proprietà strutturali e chimiche dei biofilm. Sono previsti, inoltre, esperimenti di tomografia neutronica (NT) per la visualizzazione tridimensionale dell'architettura, conformazione e organizzazione dei biofilm.