

# Fibrosi cistica e infezioni da micobatteri non tubercolari

Docente: **Prof.ssa Maria Rosalia Pasca**

Laboratorio di Micobatteriologia

Dipartimento di Biologia e Biotecnologie «Lazzaro Spallanzani»

Università di Pavia

Tel. 0382-985576 (studio)

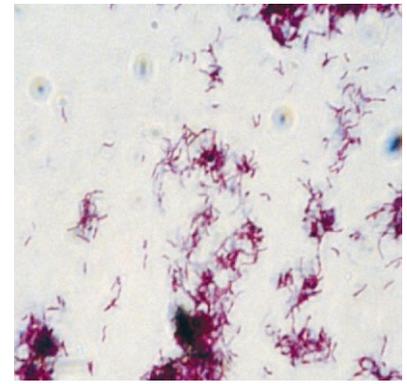
Tel. 0383-985579 (Laboratorio)

E-mail: [mariarosalia.pasca@unipv.it](mailto:mariarosalia.pasca@unipv.it)



# Micobatteri

- **Bacilli Gram-positivi** lunghi dai 2 ai 4  $\mu\text{m}$  e con un diametro tra i 0,3–0,5  $\mu\text{m}$ .
- **Aerobi.**
- **Immobili.**
- **Asporigeni.**
- Sprovvisi di capsula.
- Appartengono alla famiglia delle **Mycobacteriaceae** e sono inclusi, con corinebatteri, nocardie, etc., nell'ordine degli **Actinomycetales**.
  - Del genere **Mycobacterium** fanno parte importanti patogeni per l'uomo e gli animali e numerosi batteri ambientali, alcuni dei quali possono causare patologie più frequentemente nell'ospite immunocompromesso.
  - Il genere comprende **oltre 100 specie**.



Ordine:

***Actinomycetales***



Famiglia:

***Mycobacteriaceae***



Genere:

***Mycobacterium***



**>190 species**



# Micobatteri a crescita lenta e a crescita rapida

- **Micobatteri a crescita lenta:** crescita delle colonie su terreno di coltura dopo minimo 7 giorni;
  - Comprendono numerose specie di interesse nella patologia umana e animale come *M. tuberculosis*, *M. leprae* e *M. ulcerans*.
  - Molti micobatteri come i membri del *Mycobacterium avium complex* (MAC) possono causare infezioni nei pazienti immunocompromessi.
- **Micobatteri a crescita rapida:** crescita delle colonie su terreno di coltura entro 7 giorni.
  - Comprendono specie comunemente ambientali che, possono causare patologia negli individui immunocompromessi.
  - È il caso di *M. chelonae*, che può causare infezioni polmonari croniche, o di *M. fortuitum*, che può causare infezione dei tessuti molli o infezioni disseminate nell'ospite immunocompromesso.
  - Caso particolare *M. abscessus*!



# Classificazione dei micobatteri patogeni

## *Mycobacterium tuberculosis* complex

crescita lenta; tubercolosi nell'uomo e/o negli animali.

*Mycobacterium tuberculosis*

TB nell'uomo

*Mycobacterium africanum*

TB umana

*Mycobacterium canettii*

TB umana

*Mycobacterium bovis*

TB nei bovini e nell'uomo

*Mycobacterium caprae*

TB nelle capre, cammelli, suini e raramente l'uomo

*Mycobacterium pinnipedii*

TB nelle foche

*Mycobacterium microti*

TB nei roditori

*Mycobacterium leprae*

Crescita lenta, lebbra.



UNIVERSITÀ DI PAVIA

# Micobatteri non tubercolari

**Tabella 25.3** Principali micobatteri non tubercolari che causano infezioni e malattie nell'uomo.

Specie	Caratteri generali e patogenicità
<i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC)	Il MAC comprende varie specie di micobatteri non cromogeni a lenta crescita. Le specie più frequenti in patologia umana sono <i>M. avium</i> e <i>M. intracellulare</i> , che causano tipicamente infezioni polmonari nell'anziano e infezioni respiratorie in pazienti con fibrosi cistica. <i>M. avium</i> è inoltre responsabile di infezioni disseminate in pazienti con gravi deficit immunologici, e di linfadeniti, infezioni osteo-articolari e tenosinoviti. <i>M. avium</i> sottospecie <i>paratuberculosis</i> è stato associato al morbo di Crohn, una malattia infiammatoria cronica intestinale
<i>Mycobacterium xenopi</i>	Specie scotocromogena a lentissima crescita, frequentemente isolata in molti Paesi europei fra i quali l'Italia. Determina malattie polmonari in pazienti anziani con mortalità superiore a quella da MAC e infezioni osteo-articolari
<i>Mycobacterium kansasii</i>	Specie fotocromogena a lenta crescita presente nelle acque. Causa infezioni polmonari in pazienti con patologie polmonari predisponenti, tumori, alcolismo e infezioni osteo-articolari
<i>Mycobacterium malmoense</i>	Specie non cromogena a lenta crescita, dotata di maggior virulenza rispetto agli altri micobatteri non tubercolari. Causa infezioni polmonari in pazienti anziani con malattie respiratorie, fumatori e alcolisti. È frequente causa di linfadeniti
<i>Mycobacterium szulgai</i>	Specie scotocromogena a lenta crescita, isolata raramente ma quasi sempre clinicamente significativa; causa infezioni polmonari in pazienti anziani con infiltrati apicali e cavitazioni e infezioni osteo-articolari
<i>Mycobacterium simiae</i>	Specie fotocromogena a lenta crescita; causa infezioni polmonari in pazienti anziani con altre malattie respiratorie o con esiti di tubercolosi. È intrinsecamente resistente a numerosi farmaci
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Specie scotocromogena a lenta crescita; causa linfadeniti ed è classicamente considerato il principale responsabile della scrofula
<i>Mycobacterium marinum</i>	Specie fotocromogena a lenta crescita. Comune nelle acque dolci e salate e responsabile di infezioni nei pesci. Causa infezioni granulomatose (talvolta sporotricoidi) localizzate tipicamente su avambraccio e mano negli acquariofili. È responsabile del granuloma da piscina
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	Specie non cromogena a lenta crescita, responsabile dell'ulcera del Buruli, un'infezione cutanea necrosante che colpisce soprattutto i bambini e costituisce la terza più frequente malattia micobatterica dopo tubercolosi e lebbra. È l'unico micobatterio produttore di una tossina
<i>Mycobacterium abscessus</i> e <i>Mycobacterium fortuitum</i>	Specie a rapida crescita. Causano infezioni polmonari in pazienti con malattie predisponenti, quali neoplasie, precedenti micobatteriosi, fibrosi cistica. Analogamente a <i>M. chelonae</i> e <i>M. smegmatis</i> , determinano anche infezioni cutanee, dei tessuti molli e osteo-articolari
Altri micobatteri	Tra gli altri micobatteri frequentemente associati a malattie nell'uomo da segnalare: <i>Mycobacterium genavense</i> e <i>Mycobacterium celatum</i> , responsabili di infezioni disseminate; <i>Mycobacterium immunogenum</i> , ritrovato in casi di sepsi da catetere in pazienti con trapianto di midollo osseo, leucemici, portatori di pacemaker; <i>M. haemophilum</i> , responsabile di infezioni cutanee e dei tessuti molli



# Micobatteri non tubercolari (NTM)

Provocano infezioni non riconducibili alla TB.

## *Mycobacterium avium* complex (MAC)

Crescita lenta; soprattutto patogeni opportunisti.

### *Mycobacterium avium*

#### *M. avium* subsp. *silvaticum*

Patogeno per uccelli e bovini.

#### *M. avium* subsp. *paratuberculosis*

Paratubercolosi nei ruminanti; implicato nel morbo di Crohn.

#### *M. avium* subsp. *hominissuis*

Patogeno opportunisto per l'uomo e i suini.

#### *M. avium* subsp. *avium*

Patogeno opportunisto per uccelli e soprattutto HIV-positivi.

## *Mycobacterium abscessus* complex (MABSC)

Crescita rapida; soprattutto patogeni opportunisti.

### *Mycobacterium intracellulare*

Patogeno opportunisto per animali e uomini.

#### *M. abscessus* subsp. *abscessus*

#### *M. abscessus* subsp. *bolletii*

#### *M. abscessus* subsp. *massiliense*



- In passato venivano chiamati **micobatteri atipici**, opportunisti, mentre oggi si preferisce riferirsi ad essi come **Non-Tuberculous Mycobacteria (NTM)**.
- La maggior parte dei micobatteri non tubercolari sono **ambientali**, che possono essere isolati normalmente dal suolo o dall'acqua. Alcuni di questi micobatteri possono causare importanti patologie nell'ospite umano, in particolare nel **soggetto immunocompromesso**.
- Possono causare **infezioni croniche a livello polmonare** simili a quelle causate da *M. tuberculosis* nel soggetto adulto; **infoadeniti localizzate nei bambini**; infezioni della **cute** e dei **tessuti molli**; infezioni **disseminate**.
- Negli anni '80 e '90 del secolo scorso abbiamo assistito all'emergere di infezioni disseminate in **soggetti con AIDS**. La riduzione del numero di linfociti T CD4 circolanti determinava la mancata attivazione dei macrofagi e conseguente inefficace azione antimicobatterica, che aveva come risultato la comparsa di infezioni disseminate.
  - Tra le specie più frequentemente associate a tali infezioni ritroviamo ***Mycobacterium avium intracellulare complex***, sebbene molte altre specie siano state isolate.
- I NTM presentano un **genoma più grande** rispetto ai micobatteri patogeni come *M. tuberculosis*, ma conservano, seppure in forme diverse, la loro capacità di resistere e **moltiplicarsi all'interno dei macrofagi e/o delle cellule dell'ospite** come principale meccanismo di patogenesi.



# NTM and CF

- NTM are recently emerging as important pathogens in CF lung disease worldwide. The estimated NTM prevalence in CF is approximately **9-28%**; unfortunately, this number is growing.
- The slow growing *Mycobacterium avium complex* (MAC) and the rapid growing *Mycobacterium abscessus complex* (MABSC) are the most commonly identified NTM species in CF individuals (95% of CF cases).
  - MABSC is more common in European CF population.
- NTM are **ubiquitous in the environment**, such as in soil and drinking water and remain viable even after water treatment.
  - This makes exposure common and disinfection difficult, which is particularly problematic in healthcare settings.

**Treatment duration is of 1 year following culture conversion** (when respiratory specimen culture first becomes negative to NTM presence). → **minimum 18 months!!!!**



# *Mycobacterium avium* complex (MAC)

## Low growing Mycobacteria

- Il ***Mycobacterium avium* complex** è al momento la più comune micobatteriosi nei pazienti affetti da **AIDS**.
  - L'infezione è la conseguenza dell'**ingestione di bacilli** (**cibi** e **acque** contaminate).
  - I micobatteri colonizzano in via asintomatica l'intestino e si riproducono nei **linfonodi loco-regionali** dove diffondono per via sistemica.
  - Nessun organo è risparmiato.

- The MAC predominantly consists of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*.
- **Standard MAC treatment** should include: a macrolide, rifampin, and ethambutol.
  - MAC treatment failure has been associated with lung cavity formation.

Antitubercular drugs



# *M. abscessus* complex (MABSC)

## Rapid growing Mycobacteria

- MABSC includes the following *M. abscessus* subspecies: *M. abscessus*, *Mycobacterium bolletii*, and *Mycobacterium massiliense*.
- In CF patients, *M. abscessus* causes **invasive lung disease** (80% of colonised patients). It also accelerates **lung function decline** with a greater rate of predicted decline than other bacteria, including *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*.
  - CF patients with *M. abscessus* are more likely to require transplant or to die despite adequate treatment.
- FC patients with pre-transplant MABSC could develop post-transplant invasive *M. abscessus* disease, linked to significant morbidity. Consequently, progressive *M. abscessus* disease despite appropriate therapy is considered a **transplant contraindication**.
- Among the NTM species, CF patients infected with *M. abscessus* are often **younger** (also children), with more severe lung disease.



I **siti di colonizzazione e infezione** più comuni di *Mab* sono il **tratto respiratorio**, la **pelle** e i **tessuti molli**.

# Why *M. abscessus* is so worrisome?

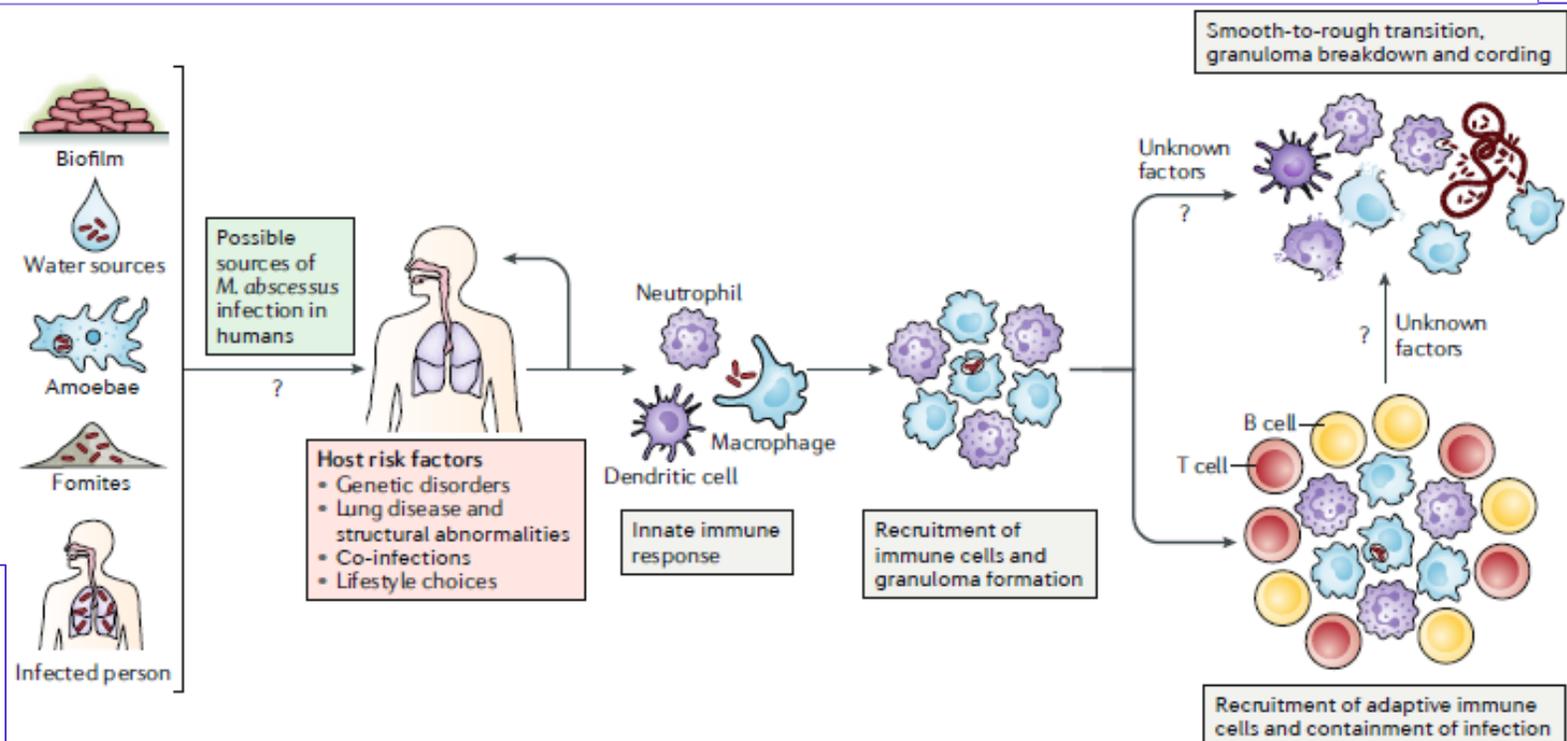
- Il processo di infezione di *Mab* condivide alcune similitudini con quello di *M. tuberculosis*. → **Formazione del granuloma.**
- Nello specifico, dopo l'esposizione al patogeno, le cellule immunitarie come macrofagi e neutrofili fagocitano i micobatteri invasori.
- Tuttavia, *Mab* può resistere alla distruzione intracellulare reclutando nel sito d'infezione, mediante la secrezione di citochine e TNF, ulteriori cellule immunitarie che portano alla formazione del **granuloma**.
  - Con la maturazione del granuloma viene attivata la risposta immunitaria adattiva e i linfociti B e T vengono richiamati in loco per contenere il granuloma stesso.

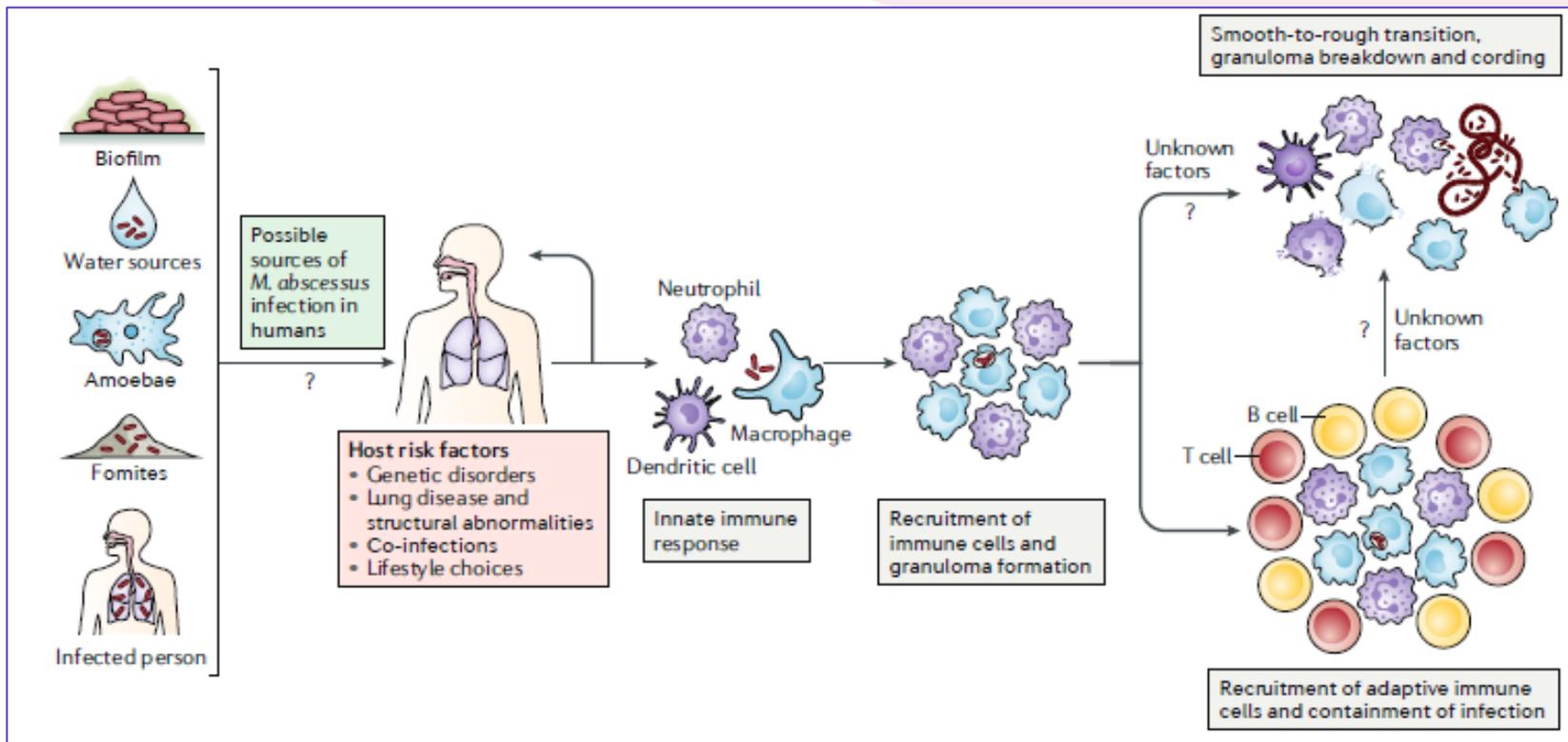
NATURE REVIEWS | MICROBIOLOGY

## Non-tuberculous mycobacteria and the rise of *Mycobacterium abscessus*

Matt D. Johansen<sup>1</sup>, Jean-Louis Herrmann<sup>2,3</sup> and Laurent Kremer<sup>1,4</sup>

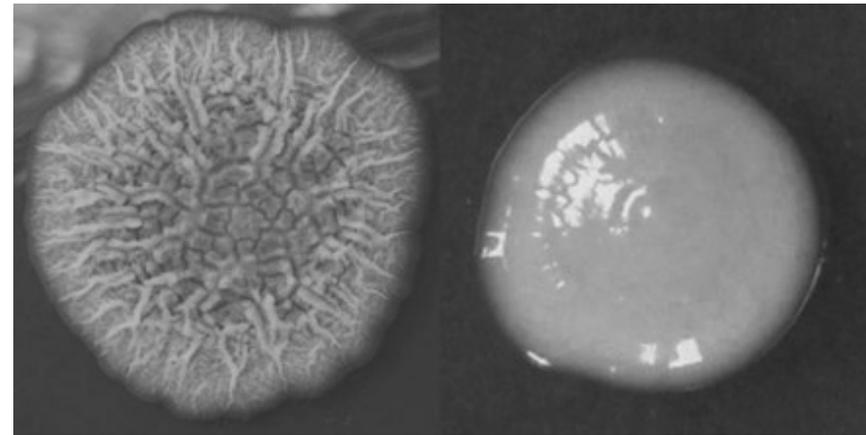
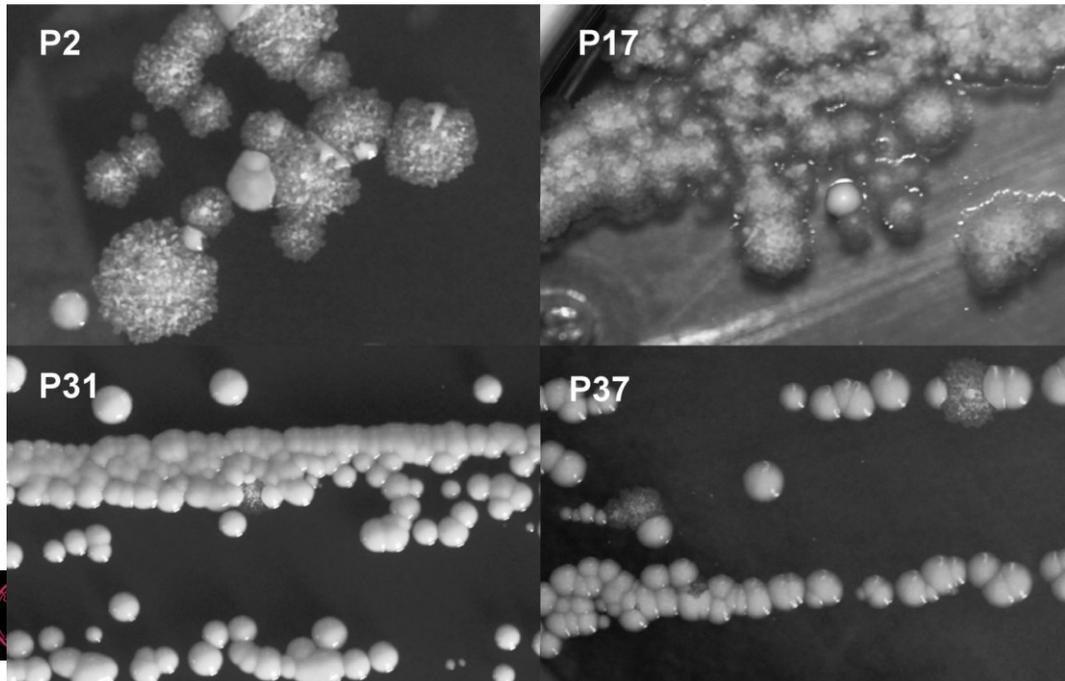
Nature Limited 2020





- *Mab*, inoltre, può passare irreversibilmente da un **morfortipo liscio** a uno **rugoso**, causando la rottura del granuloma e, in seguito, la formazione del fattore cordale; in questo modo si instaura l'infezione cronica.
- Inoltre, è noto che le **bronchiectasie croniche e la FC** sono fattori di predisposizione per le infezioni polmonari da *Mab*, poichè in queste condizioni l'agente patogeno può in un primo momento sviluppare **biofilm**, che in seguito progredisce in una malattia invasiva.
  - Anche se la fisiopatologia dell'infezione da *Mab* nel polmone FC non è ancora del tutto chiarita, uno studio patologico su polmoni espantati da pazienti FC ha mostrato che aggregati di *Mab* formano un biofilm attorno agli alveoli polmonari. Lo sviluppo del biofilm, inoltre, è un fattore importante nella farmaco-resistenza perché i micobatteri che crescono in aggregati cellulari sono più tolleranti agli antibiotici.

# Colonie lisce e rugose di *M. abscessus*



frontiers  
in Microbiology

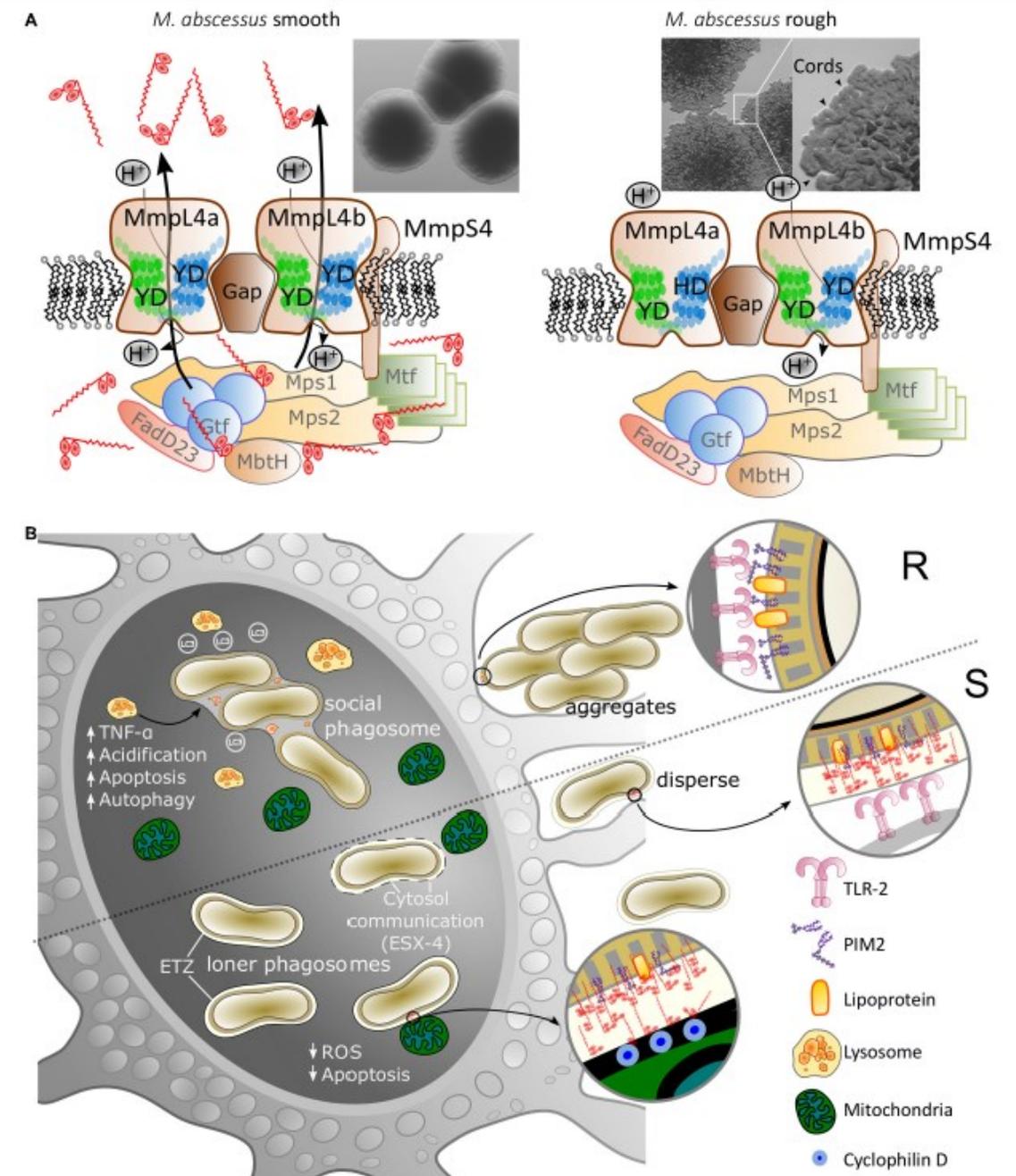
MINI REVIEW  
published: 05 June 2018  
doi: 10.3389/fmicb.2018.01145

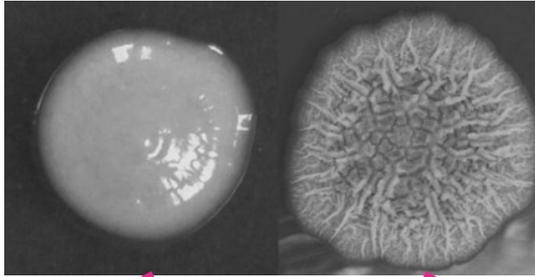


## Glycopeptidolipids, a Double-Edged Sword of the *Mycobacterium abscessus* Complex

Ana Victoria Gutiérrez<sup>1,2</sup>, Albertus Viljoen<sup>1</sup>, Eric Ghigo<sup>3</sup>, Jean-Louis Herrmann<sup>4</sup> and Laurent Kremer<sup>1,3\*</sup>

- Anche la parete cellulare di *Mab* contribuisce in gran parte alla sua resistenza ai farmaci e alla sua patogenicità, grazie all'abbondante presenza di lipidi complessi e di acidi micolici, tra cui i **glicopeptidolipidi** (GPL).
- *Mab* presenta **colonie lisce (S) o rugose (R)**, associate a un diverso grado di patogenicità.
- In particolare, i ceppi *Mab* wild-type (**S**) producono **abbondante GPL e poco trealosio dimicolato (TDM)**, responsabile per la formazione del fattore cordale, importante fattore di virulenza.
- Al contrario, i mutanti *Mab* (**R**) a causa della presenza di mutazioni genetiche nel locus *gpl*, i cui geni codificano per i GPL, producono **poco o nessun GPL e livelli alti di TDM**.
- I ceppi di *Mab* (S) sono responsabili della formazione del biofilm durante la **prima fase dell'infezione**.
- Dopo la transizione a (R) *Mab* produce fattore cordale responsabile della **fase cronica dell'infezione**.





- **Produzione di Glicopeptidi**
- **Biofilm**

- **Fattore cordale**
- **Sopravvivenza intracellulare**
- **Virulenza**

# Possibile contagio diretto di *M. abscessus*

EMERGING INFECTIONS

SCIENCE sciencemag.org

11 NOVEMBER 2016 • VOL 354 ISSUE 6313

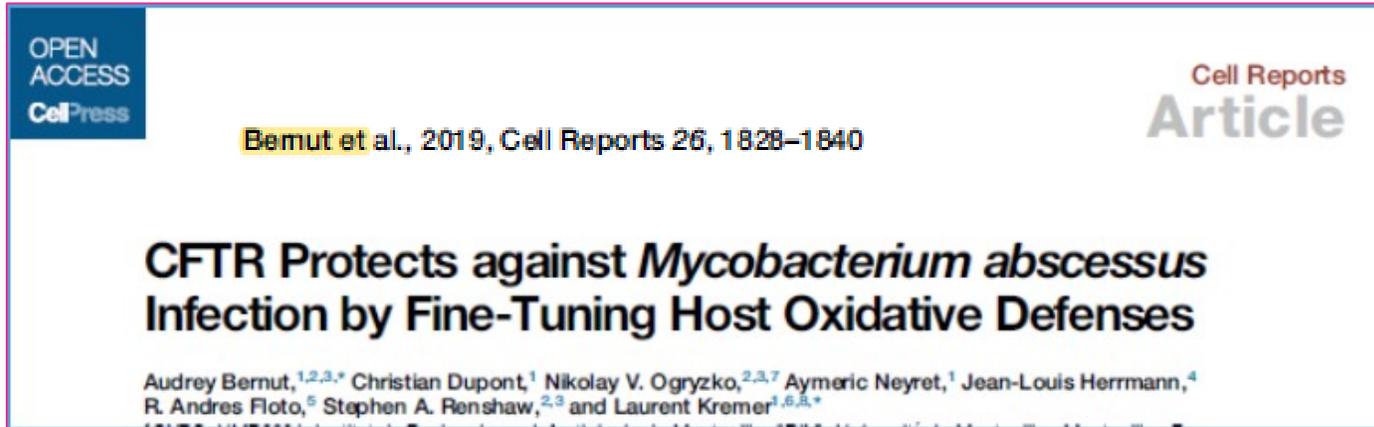
## Emergence and spread of a human-transmissible multidrug-resistant nontuberculous mycobacterium

Lung infections with *Mycobacterium abscessus*, a species of multidrug-resistant nontuberculous mycobacteria, are emerging as an important global threat to individuals with cystic fibrosis (CF), in whom *M. abscessus* accelerates inflammatory lung damage, leading to increased morbidity and mortality. Previously, *M. abscessus* was thought to be independently acquired by susceptible individuals from the environment. However, using whole-genome analysis of a global collection of clinical isolates, we show that the majority of *M. abscessus* infections are acquired through transmission, potentially via fomites and aerosols, of recently emerged dominant circulating clones that have spread globally. We demonstrate that these clones are associated with worse clinical outcomes, show increased virulence in cell-based and mouse infection models, and thus represent an urgent international infection challenge.

- La maggior parte delle infezioni di individui con FC sono causate da isolati di *Mab* di recente trasmissione, NON da acquisizione tramite polveri ambientali.
- E' dunque probabile la **trasmissione aerea tramite aerosol specialmente tra individui con FC.**

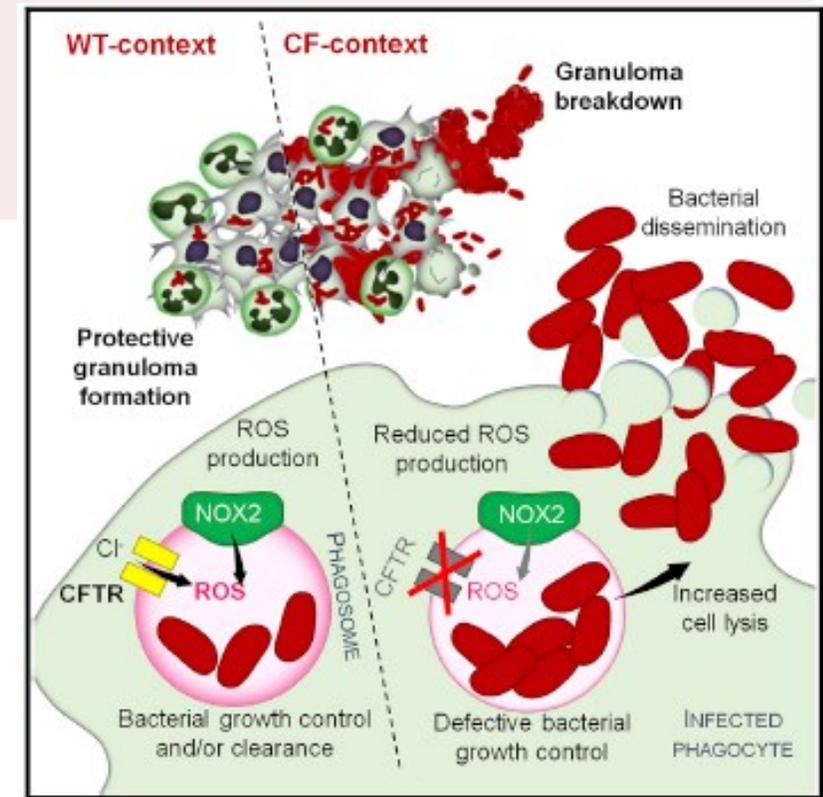
- Questi cloni sono in grado di sopravvivere meglio nei macrofagi e sono associati a fenotipi più virulenti e a outcomes clinici peggiori → adattamento all'ospite.
- Evoluzione di *M. abscessus* da batterio ambientale a vero patogeno polmonare.

# Possibile ruolo di CFTR nella formazione del granuloma di *M. abscessus*



Recently, the potential link between a **dysfunctional CFTR** (typical of CF) and vulnerability to *Mab* infection was observed; interestingly, **CFTR seems to have a specific role in the immune control of only *Mab* infections.**

Bernut *et al.* demonstrated in a zebrafish model, that during *Mab* infection the activation of macrophages resulted in granuloma formation and ROS production by NOX2, leading to intracellular *Mab* death. However, CFTR-depleted zebrafishes were rapidly infected because the CFTR dysfunction reduced the possibility to form the protective granulomas.

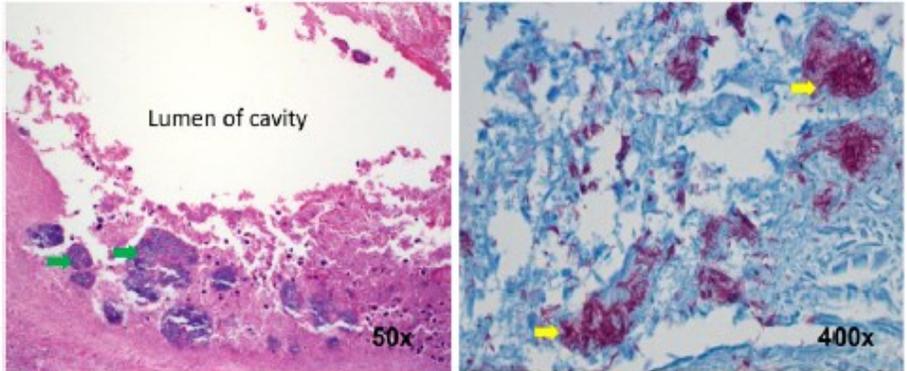


Individui con FC hanno maggiori probabilità di essere infettati da *Mab* poiché hanno un CFTR non funzionale.

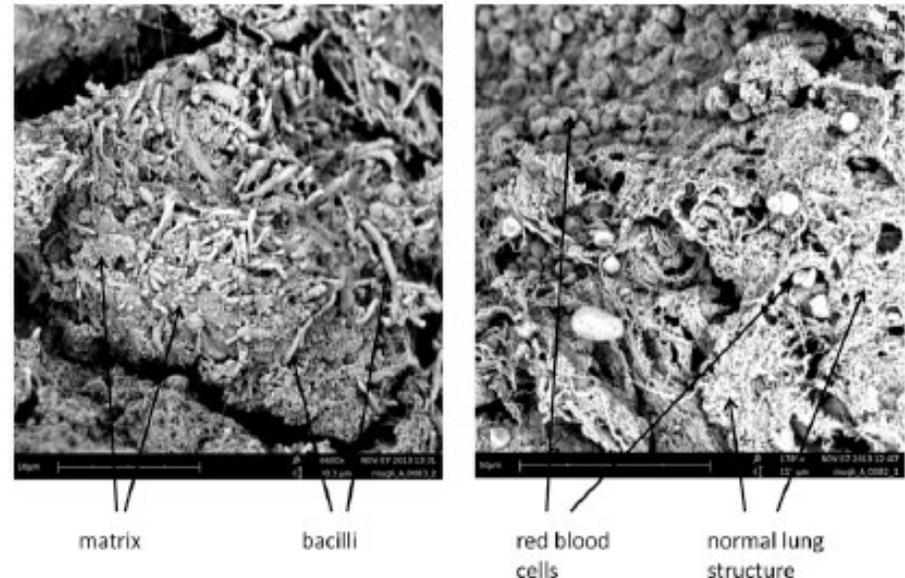
# IMAGES IN PULMONARY, CRITICAL CARE, SLEEP MEDICINE AND THE SCIENCES

## Biofilm Formation by *Mycobacterium abscessus* in a Lung Cavity

Kevin P. Fennelly<sup>1,2</sup>, Carolyn Ojano-Dirain<sup>3</sup>, Qingping Yang<sup>4</sup>, Lin Liu<sup>1</sup>, Li Lu<sup>5</sup>, Ann Progulsk-Fox<sup>6</sup>, Gary P. Wang<sup>1,7</sup>, Patrick Antonelli<sup>3</sup>, and Gregory Schultz<sup>4</sup>



**Figure 2.** Histopathology of the surgical specimen (using hematoxylin and eosin stains) demonstrating aggregates of bacteria (green arrows) along the inner wall of the lung cavity in the left panel, with many acid-fast bacilli seen at higher power in the right panel (using Ziehl Nissen stain; yellow arrows). On gross pathology, the resected lung cavity was 4 × 3 × 3 cm.

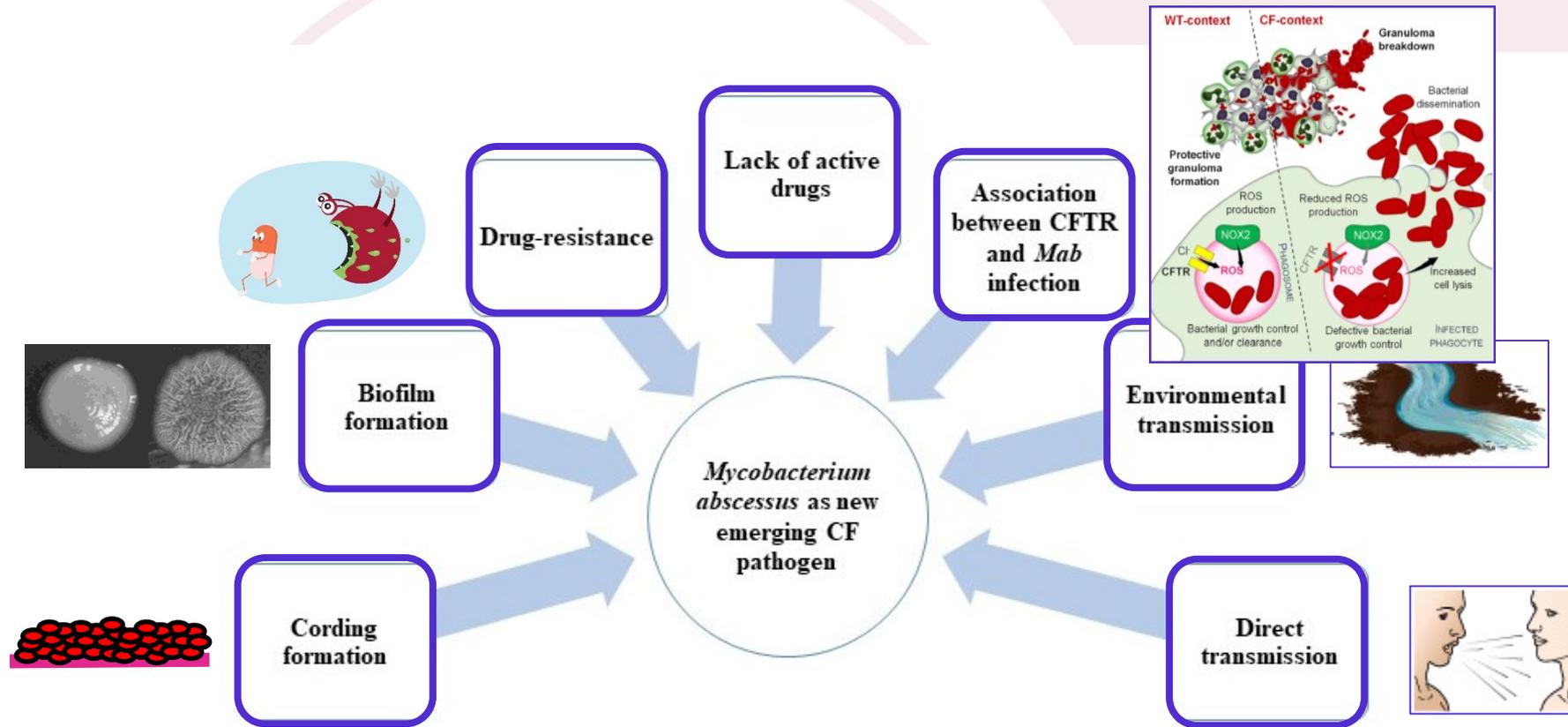


**Figure 3.** Scanning electron micrograph (×6,600) of the inner wall of the resected lung cavity demonstrating bacilli embedded within a matrix (left panel) and scanning electron micrograph (×1,780) of lung tissue remote from the cavity demonstrating normal lung architecture with red blood cells and no bacilli (right panel).

A 55-year-old man with chronic obstructive pulmonary disease and *Mycobacterium abscessus* lung infection was treated with intravenous and oral antimycobacterial drugs for 4 months. He was then referred for adjunctive surgical resection of a right upper lobe cavity (Figure 1). The surgical pathology revealed numerous acid-fast bacilli lining the central surface of the cavity (Figure 2); *M. abscessus* grew in culture within 3 days. His symptoms and radiographs improved postoperatively, and all sputa specimens over the subsequent 10 months were culture negative.

• Danni polmonari simili a quelli causati da Sars-Cov-2.

# *Mycobacterium abscessus*, an emerging and worrisome pathogen among cystic fibrosis patients

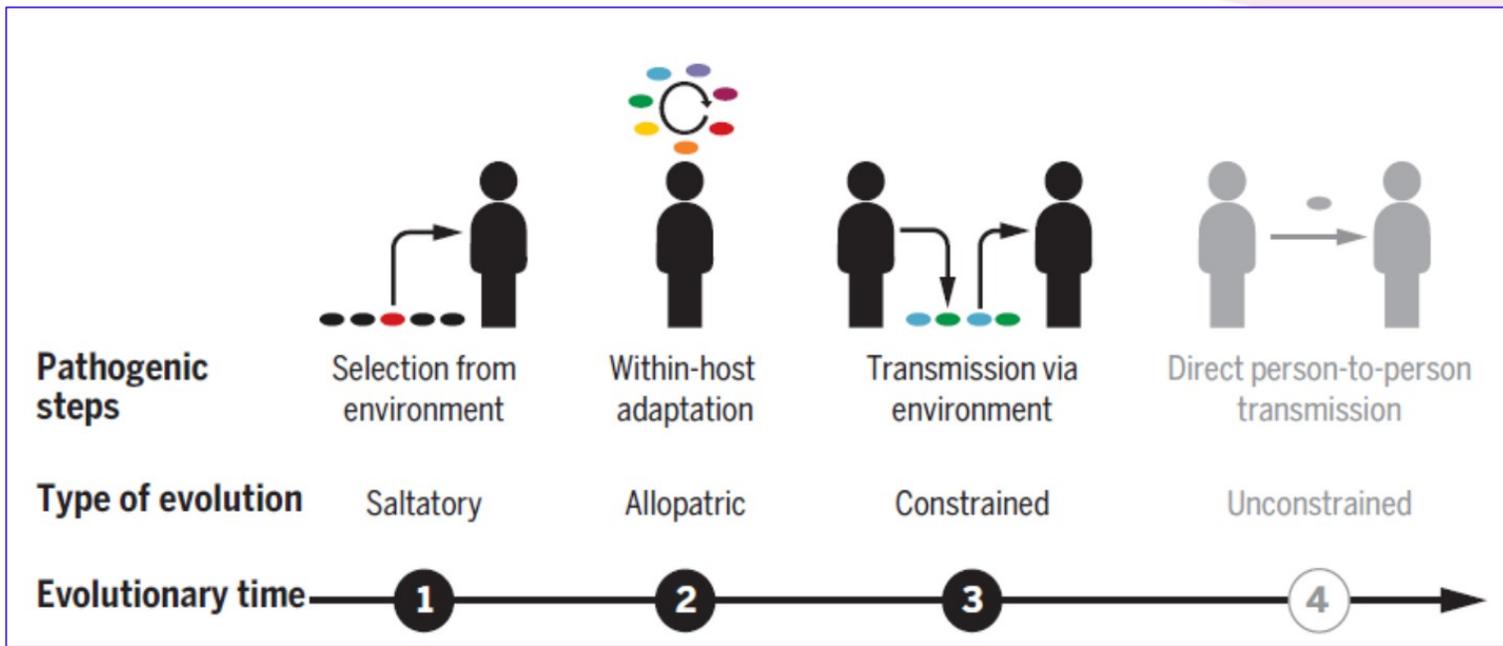


International Journal of  
Molecular Sciences

Review  
***Mycobacterium abscessus*, an Emerging and  
Worrisome Pathogen among Cystic Fibrosis Patients**

Giulia Degiacomi <sup>1,\*</sup>, José Camilla Sammartino <sup>1,2,\*</sup>, Laurent Roberto Chiarelli <sup>1</sup>,  
Olga Riabova <sup>3</sup>, Vadim Makarov <sup>3</sup> and Maria Rosalia Pasca <sup>1,\*</sup>

MDPI



## RESEARCH ARTICLE SUMMARY

PATHOGEN EVOLUTION

Bryant *et al.*, *Science* **372**, 483 (2021)

### Stepwise pathogenic evolution of *Mycobacterium abscessus*

Josephine M. Bryant, Karen P. Brown, Sophie Burbaud, Isobel Everall, Juan M. Belardinelli, Daniela Rodriguez-Rincon, Dorothy M. Grogono, Chelsea M. Peterson, Deepshikha Verma, Ieuan E. Evans, Christopher Ruis, Aaron Weimann, Divya Arora, Sony Malhotra, Bridget Bannerman, Charlotte Passemar, Kerra Templeton, Gordon MacGregor, Kasim Jiwa, Andrew J. Fisher, Tom L. Blundell, Diane J. Ordway, Mary Jackson, Julian Parkhill\*, R. Andres Floto\*

- By analyzing the **recent emergence and spread of the environmental organism *M. abscessus* through the global cystic fibrosis population**, we have defined key, generalizable steps involved in the **pathogenic evolution of mycobacteria**.
- We show that epigenetic modifiers, acquired through **horizontal gene transfer**, cause saltational increases in the pathogenic potential of specific environmental clones.
- Allopatric parallel evolution during **chronic lung infection** then promotes rapid increases in virulence through **mutations** in a discrete gene network; these mutations enhance growth within macrophages but impair fomite survival.
- As a consequence, we observe constrained pathogenic evolution while **person-to-person transmission** remains indirect, but postulate accelerated pathogenic adaptation once direct transmission is possible, as observed for *M. tuberculosis*.

# Terapia contro *M. abscessus*

- Il trattamento farmacologico nei pazienti FC con infezione da *Mab* è ancora più difficile a causa delle **secrezioni di muco denso** che causano un aumento della clearance renale del farmaco e un possibile **ridotto assorbimento gastrointestinale**.
- Nel **2016** sono state pubblicate le **linee guida per la gestione delle infezioni da NTM nei pazienti FC**.
- La terapia antibiotica consigliata contro i NTM è molto lunga in quanto si protrae fino a **12 mesi dopo la conversione delle colture**, definita come tre consecutive colture negative alla presenza dei patogeni. Il tempo di conversione inizia dalla data della prima delle tre colture negative consecutive.
- Il trattamento con *Mab* consiste in una fase intensiva di terapia seguita da una fase di continuazione.
  - La **fase intensiva**, che viene generalmente utilizzata per ridurre la carica batterica, dura **3-12 settimane** e include l'assunzione orale giornaliera di **macrolidi** (preferibilmente azitromicina), in combinazione con **amikacina per via endovenosa** (IV) e uno o più dei seguenti antibiotici: **tigeciclina IV**, **imipenem** o **cefoxitina**.
  - La **fase di continuazione** comprende i seguenti farmaci: **amikacina per inalazione** e 2-3 antibiotici orali (a scelta tra **minociclina**, **clofazimina**, **moxifloxacina** e **linezolid**) (Floto et al., 2016).
- Inoltre, in accordo con le attuali linee guida dell'American Thoracic Society, al fine di prevenire la comparsa di resistenza ai macrolidi, claritromicina e azitromicina devono sempre essere prescritte in combinazione con altri farmaci.
- Infine, la tolleranza e l'efficacia del trattamento possono essere influenzate dalle interazioni con altri **medicamenti cronici**.

# Meccanismi di resistenza agli antibiotici in *M. abscessus*

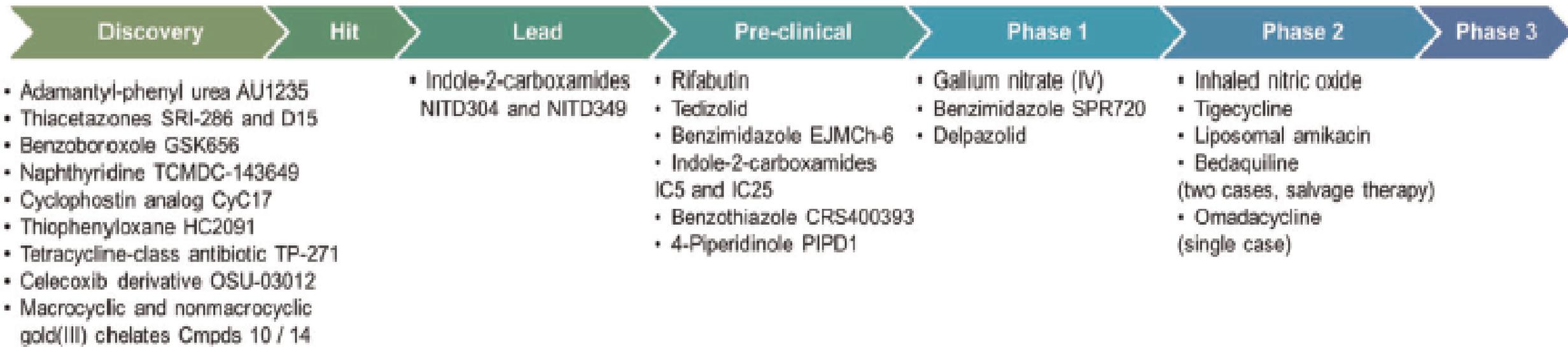
**Table 1.** Mechanisms of resistance to current drugs used against *Mab* infections.

Drugs	Targets	Mechanism of Resistance	Enzymes/Proteins Related to Mechanism of Resistance
Macrolides	23S rRNA	Mutations in target gene	Rrl ( <i>MAB_r5052</i> )
		Modification of target	Erm(41) ( <i>MAB_2297</i> )
		Induction of WhiB7 activator	Activation of <i>erm(41)</i> ( <i>MAB_2297</i> )
Aminoglycosides	30S subunit of ribosome	Mutations in target genes	16S rRNA ( <i>rrs</i> , <i>MAB_r5051</i> ) RpsL ( <i>MAB_3851c</i> )
		Enzymatic drug modification	AAC(2') ( <i>MAB_4395</i> ) Eis2 ( <i>MAB_4532c</i> )
		Induction of WhiB7 activator	Activation of <i>eis2</i> ( <i>MAB_4532c</i> )
$\beta$ -lactams	Penicillin-binding protein	Enzymatic drug modification	Bla_Mab ( <i>MAB_2875</i> )
Tetracyclines	30S subunit of ribosome	Enzymatic drug modification	MabTetX ( <i>MAB_1496c</i> )
Clofazimine		Mutations in the repressor → Over-expression of an efflux pump	MAB_2299c
Fluoroquinolones	A subunit of DNA gyrase	Mutations in target gene	GyrA ( <i>MAB_0019</i> )
		Other mechanisms?	not detected
Linezolid	23S rRNA	Mutations in target gene	Rrl ( <i>MAB_r5052</i> )
		Efflux pumps?	LmrS and MmpL9?



**C'è un urgente bisogno di nuovi antibiotici specifici contro *M. abscessus*!**

# New Drug discovery



- Nessun antibiotico ha attività battericida
- Uso di repurposing drugs!!

# Nuove strategie contro *M. abscessus*

# Three different strategies to fight *Mycobacterium abscessus*, a worrisome pathogen

- Drug repurposing strategy
- Search for new active compounds
- Phage therapy

VOMG is a new and original promising drug candidate against *M. abscessus* and other high pathogenic microorganisms targeting cell division

# Alternative strategy: Phage therapy



○ I **vantaggi** nell'utilizzo dei fagi sono i seguenti:

- I fagi sono estremamente **selettivi** nella scelta del batterio da infettare: infettano solo una determinata specie, per es. *Escherichia coli* o *Pseudomonas aeruginosa*.
- Un altro punto a vantaggio dei fagi è la loro capacità di **autoregolare il loro numero**: in presenza di batteri da infettare i fagi si moltiplicano, aumentando di numero, per esempio dove c'è un focolaio di infezione.
  - Se invece i batteri non sono presenti anche i fagi non si replicano.
- Altre caratteristiche positive dei fagi sono l'**assenza di effetti collaterali** sull'organismo e l'assenza di danni all'ambiente, dato che i fagi sono naturalmente presenti in natura.

○ Vale la pena di chiarire che l'utilizzo della terapia fagica non va inteso come alternativo a quello degli antibiotici, anzi è stato dimostrato in alcuni casi che l'uso **combinato** delle due terapie offre maggiori possibilità di guarigione.

# Viruses genetically engineered to kill bacteria rescue girl with antibiotic-resistant infection

By Alex Fox | May. 8, 2019, 1:00 PM

Science

that a [lung transplant] patient has got a wound infection, because I know what the trajectory is going to be," says Spencer, Isabelle's respiratory pediatrician at Great Ormond Street Hospital in London. "It's a torturous course that has ended in death for all those children."

With the standard treatments failing, Isabelle's mother asked Spencer about alternatives—adding that she had read something about using viruses to kill bacteria. Spencer decided to take a gamble

"This is a convincing proof of concept, even though it's just a single case study," says infectious disease researcher Eric Rubin of the Harvard T.H. Chan School of Public Health in Boston. But, he adds, "This needs to be tested rigorously with a real clinical trial."



Isabelle Carnell (second from right) with her doctor, Helen Spencer (left); phage researcher Graham Hatfull (second from left); and her mother (right). HELEN SPENCER

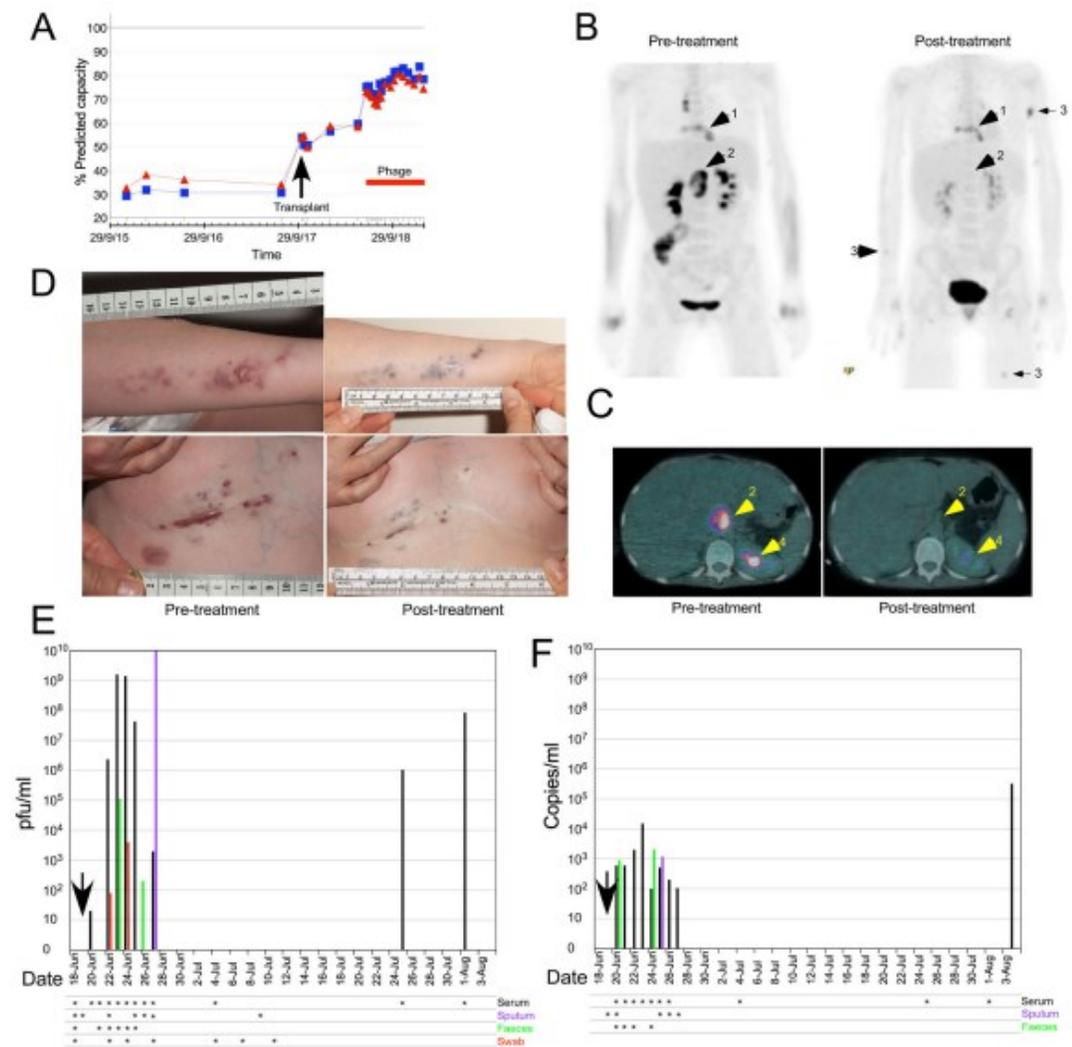
Hatfull's group wanted to combine the phages into a cocktail to reduce the chances of *M. abscessus* developing resistance, but there was a catch. Two of the three are so-called temperate phages, which have repressor genes that limit their lethality. To turn those two into reliable bacteria killers, Hatfull removed the repressor genes with a gene-editing technique his lab developed to study phage genetics.

Published in final edited form as:

*Nat Med.* 2019 May ; 25(5): 730–733. doi:10.1038/s41591-019-0437-z.

## Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug resistant *Mycobacterium abscessus*

Rebekah M. Dedrick<sup>#,1</sup>, Carlos A. Guerrero-Bustamante<sup>#,1</sup>, Rebecca A. Garland<sup>1</sup>, Daniel A. Russell<sup>1</sup>, Katrina Ford<sup>2</sup>, Kathryn Harris<sup>2</sup>, Kimberly C. Gilmour<sup>2</sup>, James Soothill<sup>2</sup>, Deborah Jacobs-Sera<sup>1</sup>, Robert T. Schooley<sup>3</sup>, Graham F. Hatfull<sup>\*,1</sup>, and Helen Spencer<sup>\*,2</sup>



**Figure 1. Patient status before and after phage treatment.**

**A.** Lung function as percent Predicted Forced Expiratory Volume in One Second (FEV1; blue) and Forced Vital Capacity (FVC; red). **B** and **C** Whole body and cross-section PET-CT scans twelve weeks before and six weeks post-phage treatment. Arrows show (1) the sternal area and surrounding soft tissue, (2) abdominal lymph nodes at the porta-hepatis, and (3) skin nodules, respectively. Arrow 4 indicates normal kidney excretion. **D.** Upper and lower panels show the patient's left arm and sternal wound, respectively, immediately prior to and six months after phage treatment. **E** and **F.** Phage titers by plaque assay (**E**) or dPCR (**F**) following phage administration (vertical arrow). Serum (black bars), sputum (purple bars), feces (green bars), and wound swab (red bars) were tested on the dates indicated (asterisks).