

47th EUROPEAN CYSTIC FIBROSIS CONFERENCE

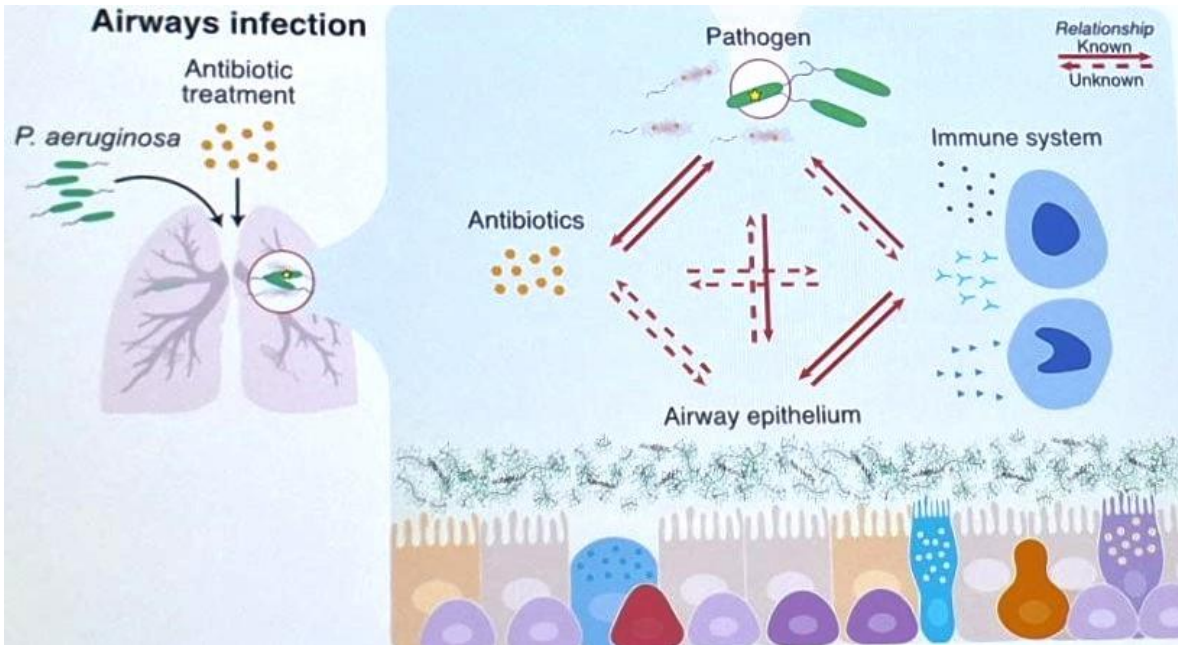
5 – 8 JUNE 2024 | GLASGOW, UNITED KINGDOM

# S18 - Exploration du terrain résilient : aperçu de la persistance bactérienne dans la mucoviscidose

# Métabolisme et persistance : démêler le lien entre les voies métaboliques et la survie microbienne

Ruggero La Rosa (Lyngby, Danemark)

# Mécanismes de persistance



Les pathogènes utilisent plusieurs mécanismes de défense comme :

- La production de biofilm
- La réduction du taux de croissance
- Les mutations adaptatives
- La spécialisation du métabolisme
- La résistance aux antibiotiques
- Le phénotype de persistance

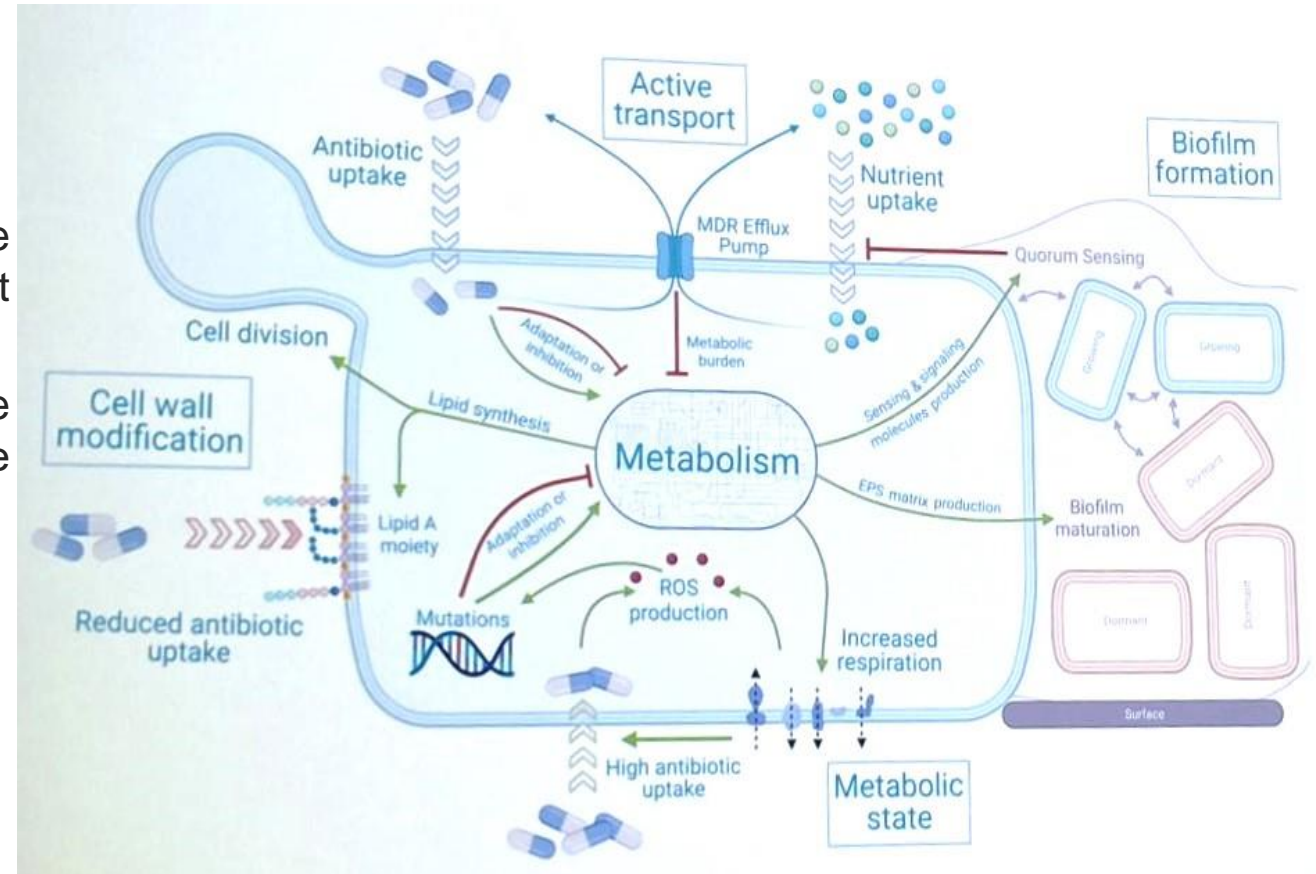
Il existe de nombreuses interactions dans les infections des voies aériennes, entre le pathogène, les antibiotiques, l'épithélium respiratoire et le système immunitaire

# Métabolisme des bactéries



## Principales questions :

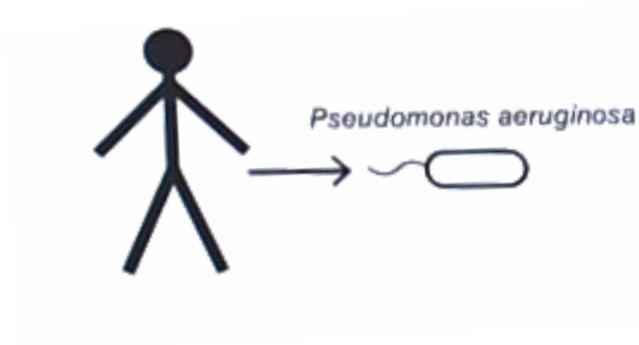
- 1) Est-ce que les configurations spécifiques de métabolisme (métabotype) sont conservées durant l'évolution du patient ?
- 2) La spécialisation du métabolisme est-elle spécialement sélectionnée ou s'agit-il plutôt d'une adaptation au phénotype de persistance ?



# Collection de souches de *Pseudomonas aeruginosa*

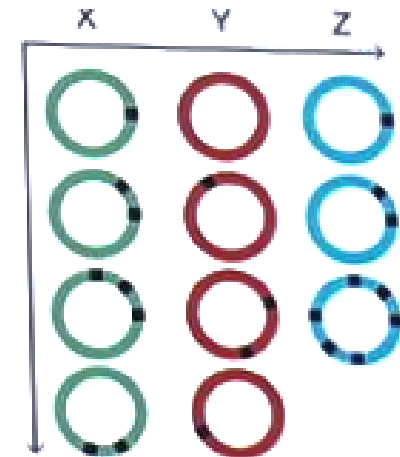
## 1) Echantillonnage clinique

Personne vivant avec la mucoviscidose



## 2) Séquençage du génome

Différents types de clones

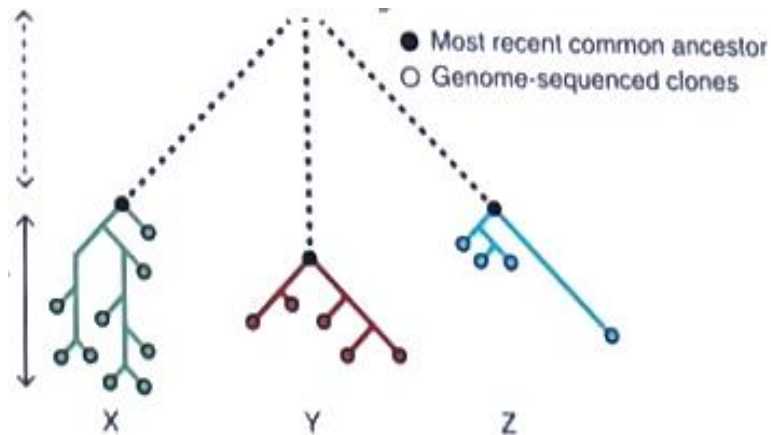


Variants avec le même type de clones

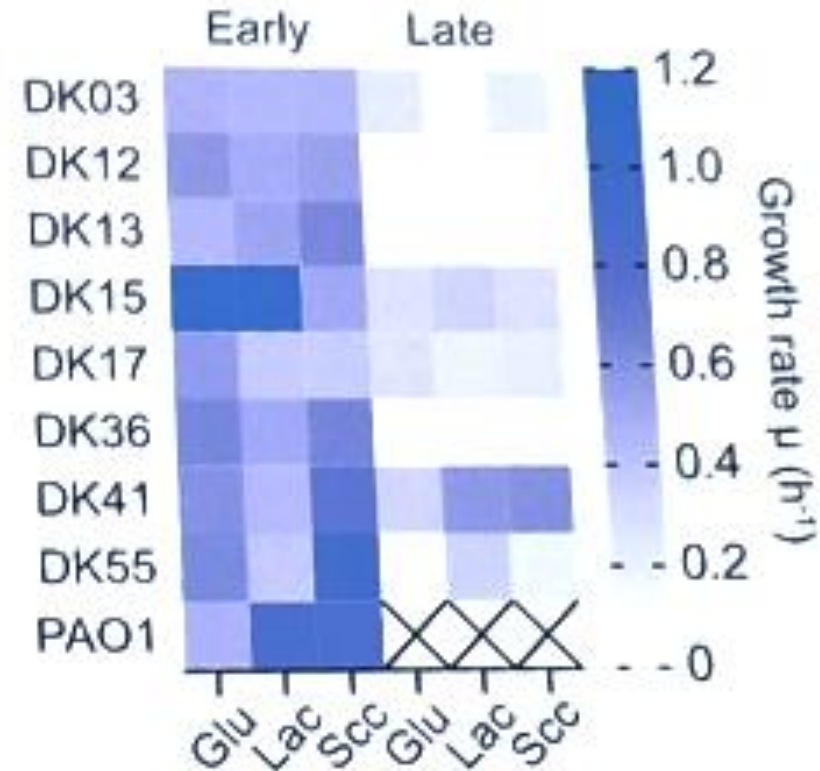
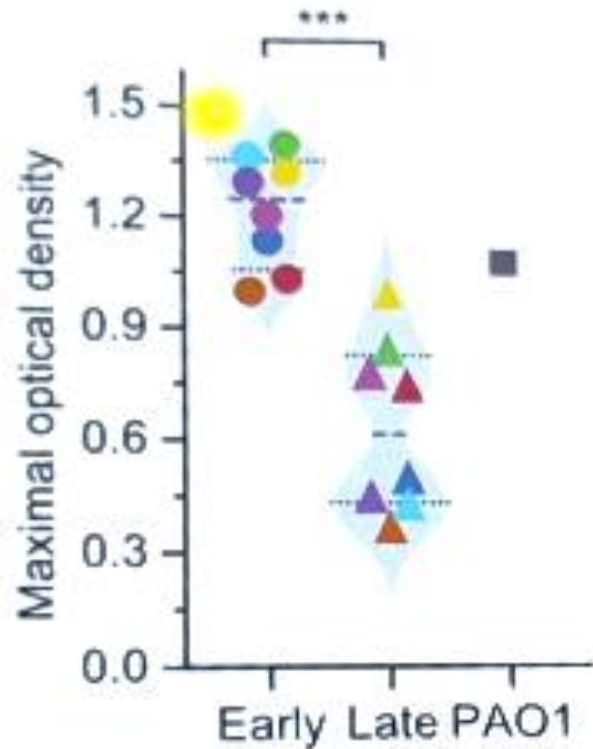
## 3) Comparaison des génomes

Ancienne évolution  
10 000 SNP)

Evolution récente  
SNP)

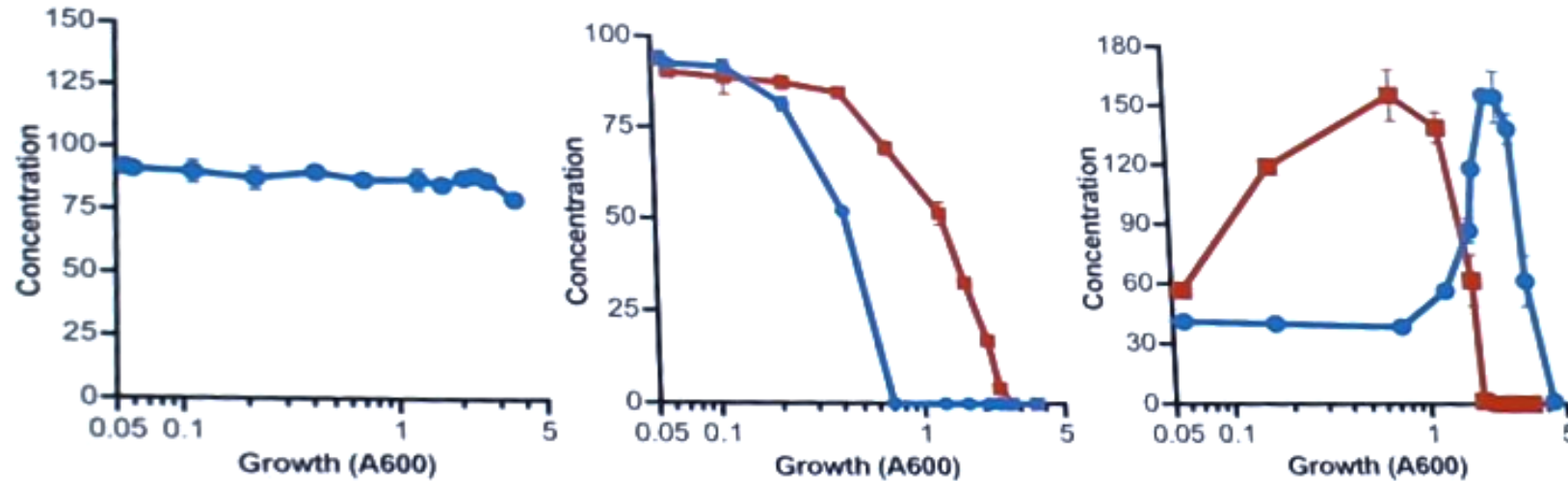


# Sélection de souches

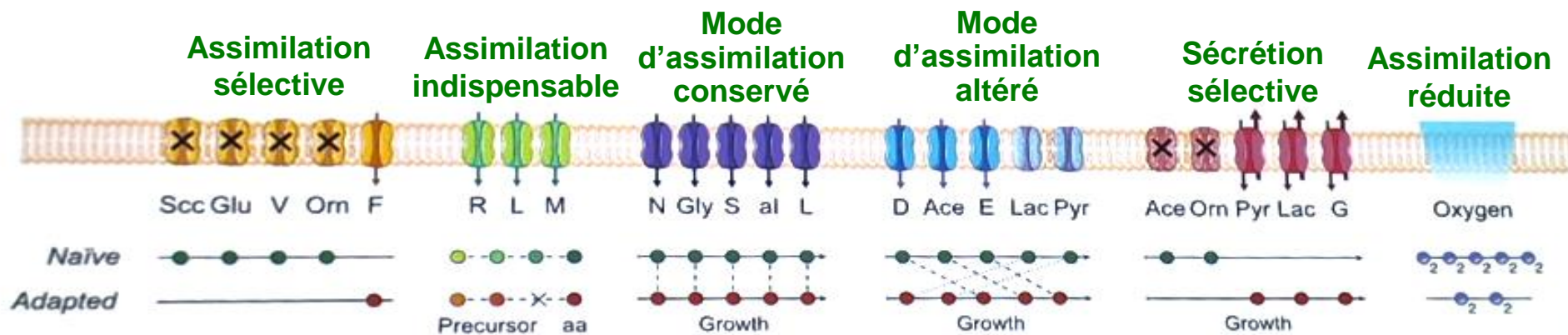


- Les souches précoces ont un métabolisme plus élevé pour permettre une croissance plus rapide, contrairement aux souches tardives

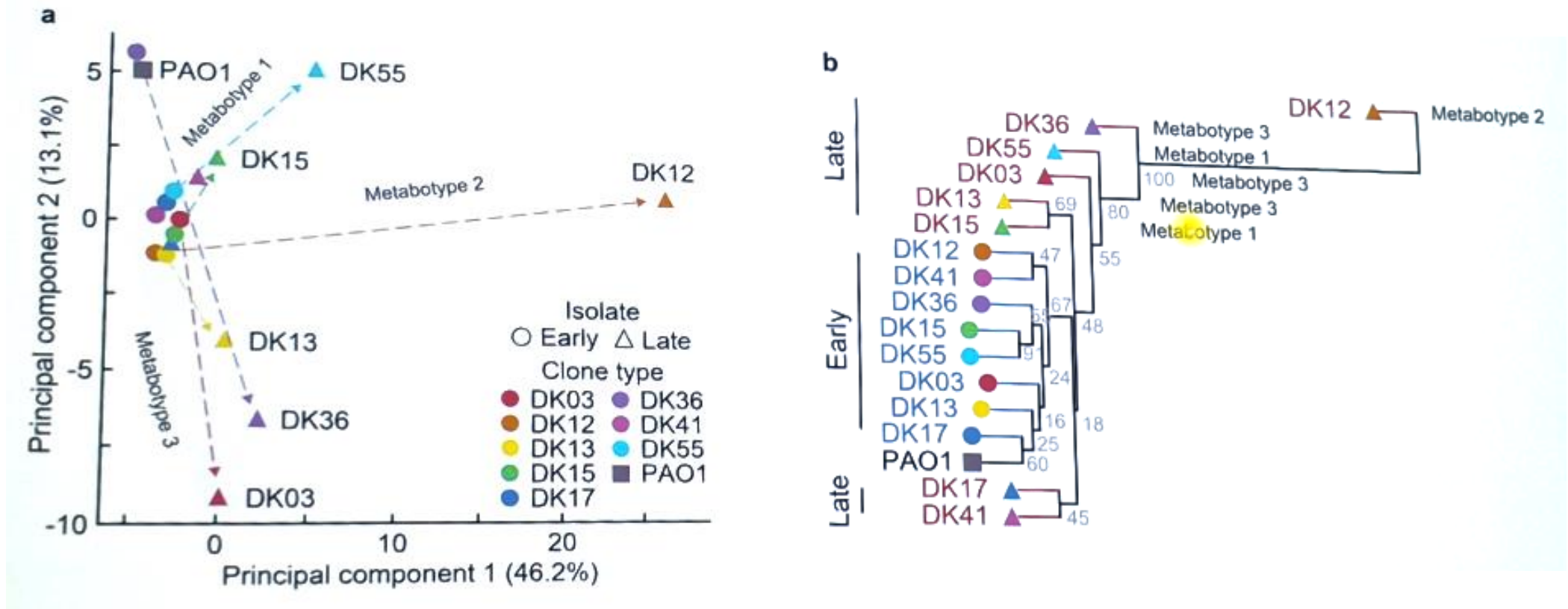
# Dynamique des exométabolismes



=> Il existe plusieurs profils de métabolismes



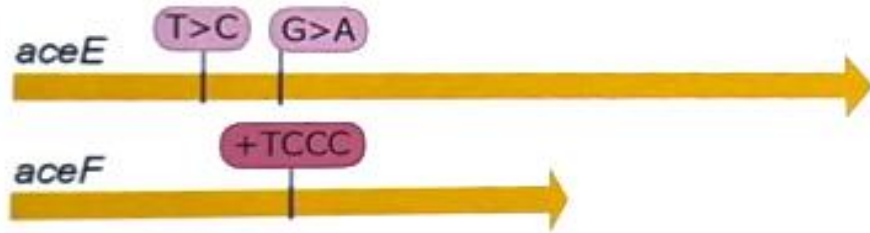
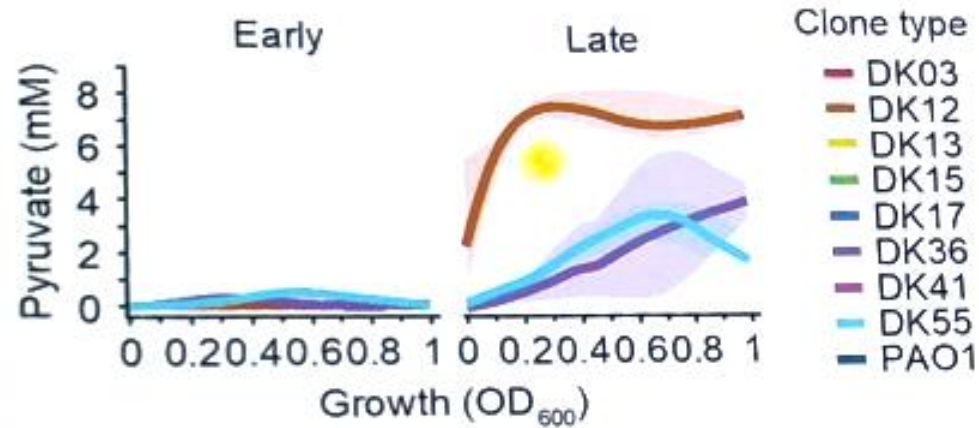
# Adaptation des métabotypes



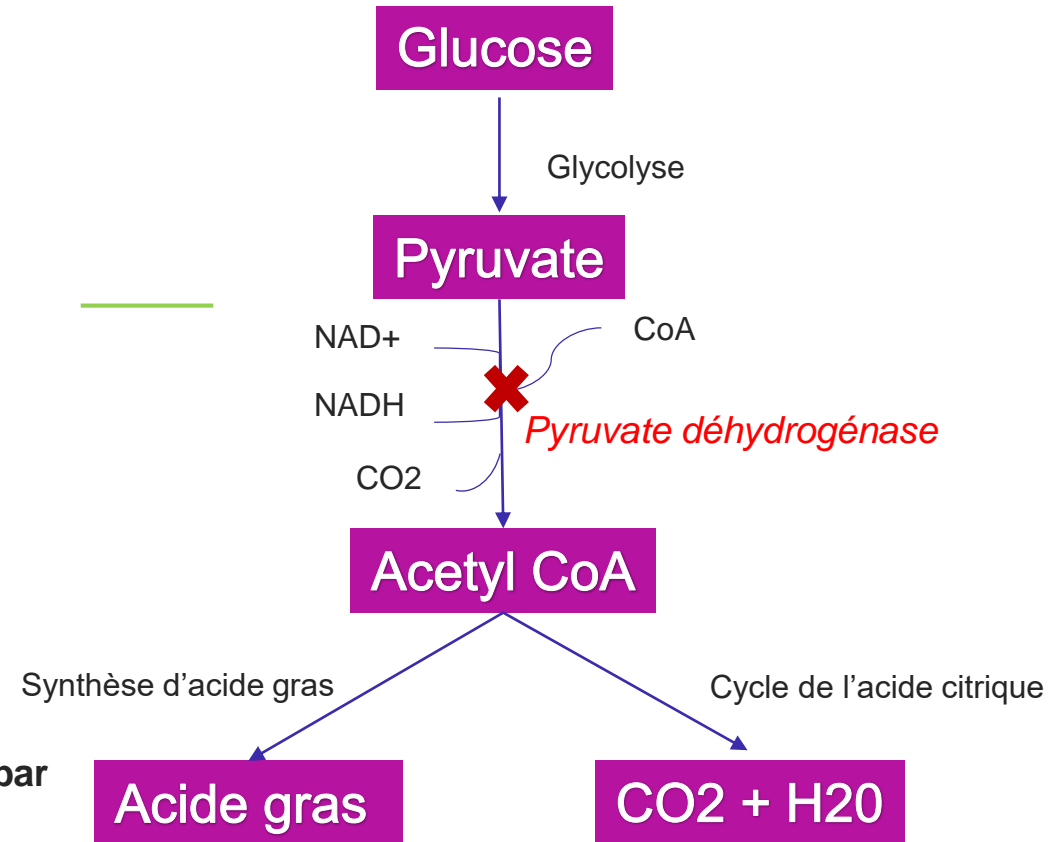
➤ Les souches précoces changent leur métabolisme afin de persister et donc devenir des souches tardives.



# Métabolisme du Pyruvate

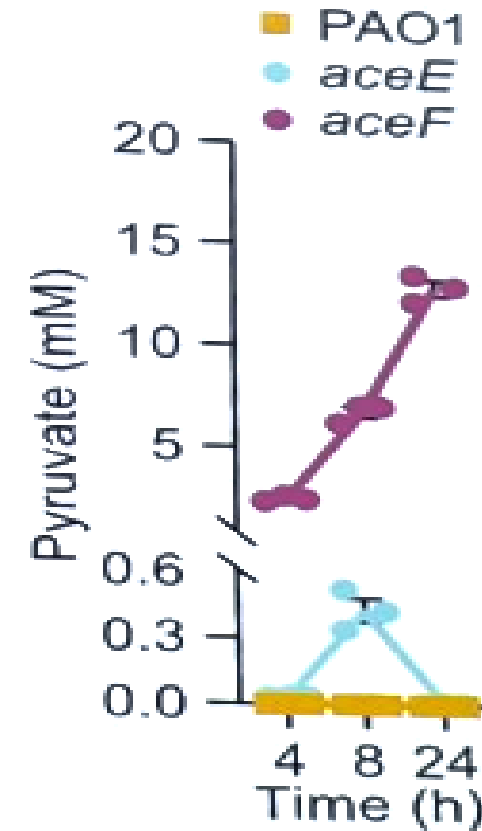
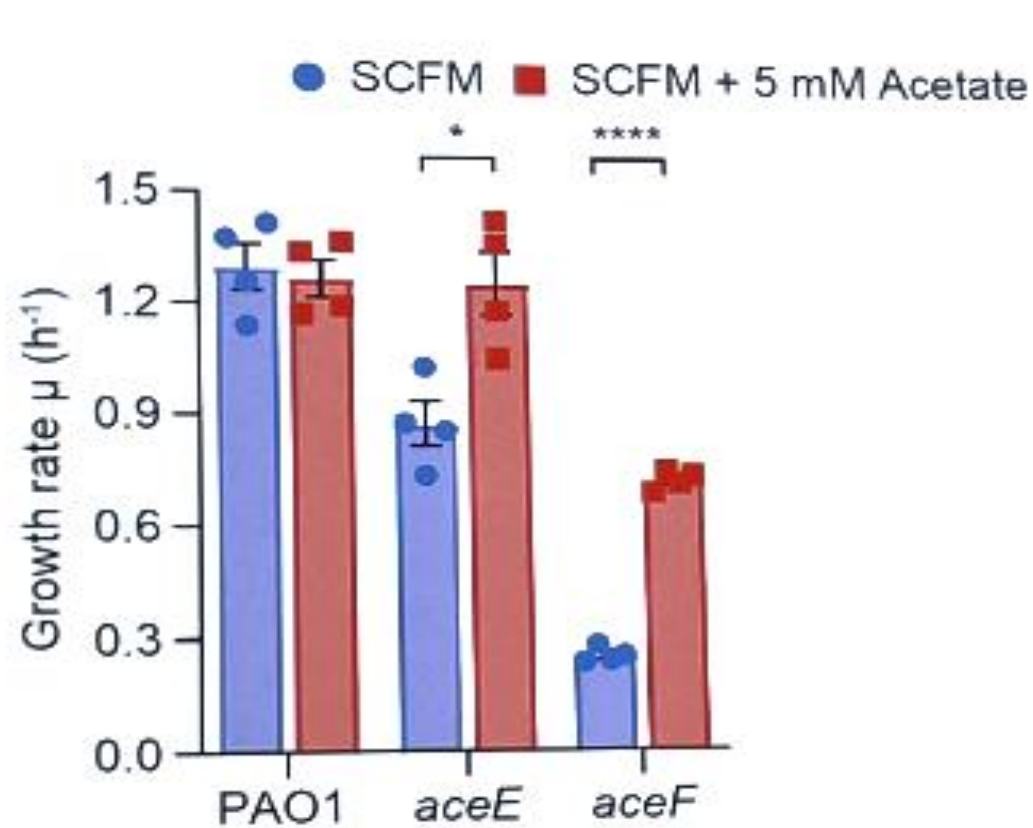


On remarque une augmentation de la production de Pyruvate par les souches tardives (mutants *aceF* et *aceE*).



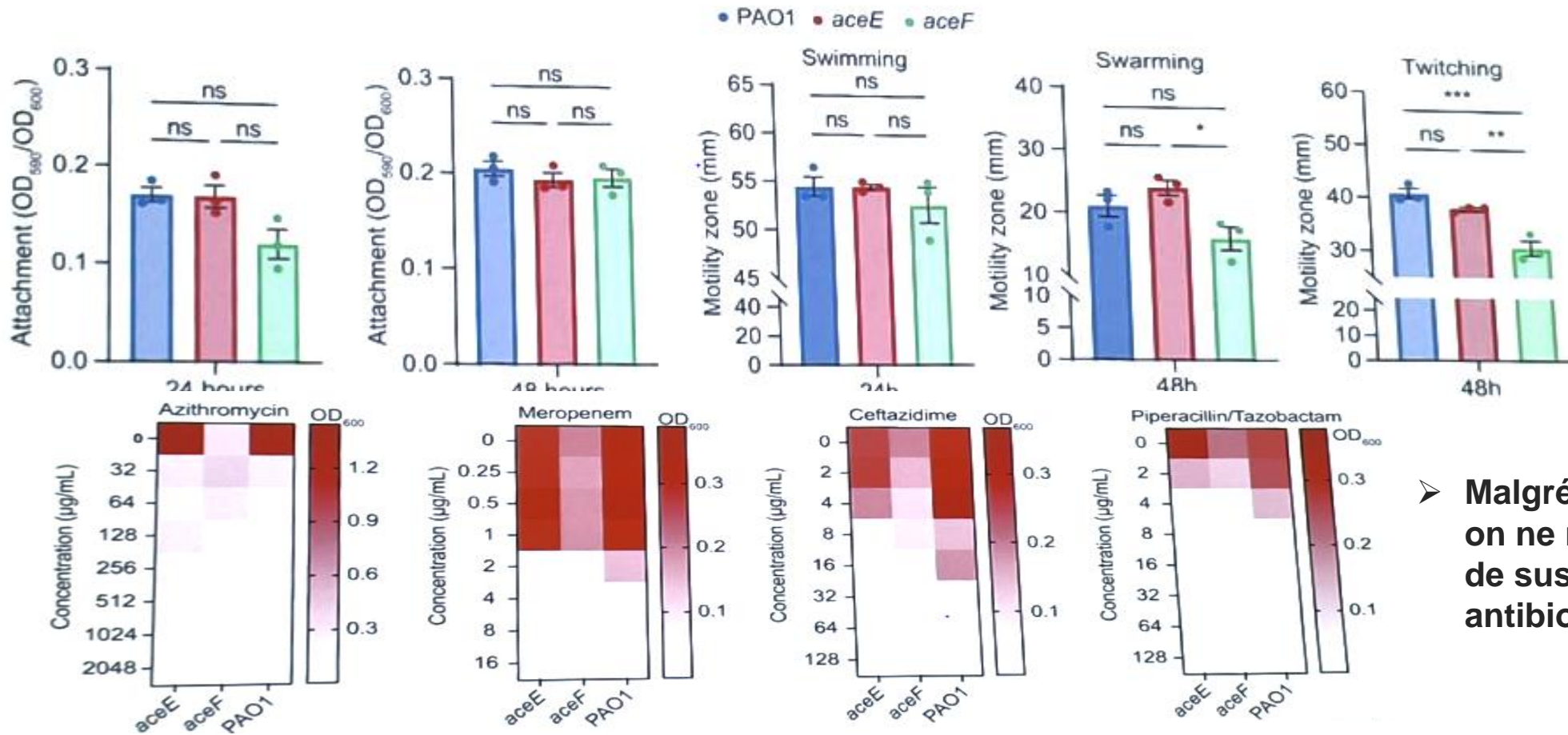


# Réduction de la croissance et sécrétion importante de Pyruvate



Peterson et al. Under review

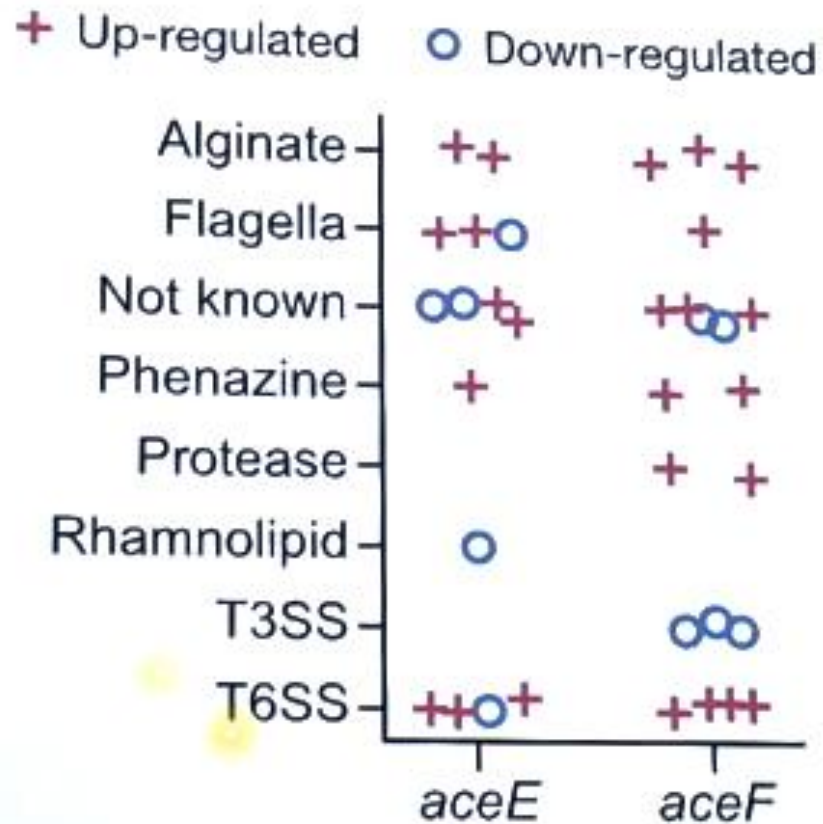
# Phénotype des souches mutantes aceE/aceF



➤ Malgré les différentes mutations, on ne retrouve pas de différence de susceptibilité aux antibiotiques.

Peterson et al. Under review

# De la transition aigue à chronique

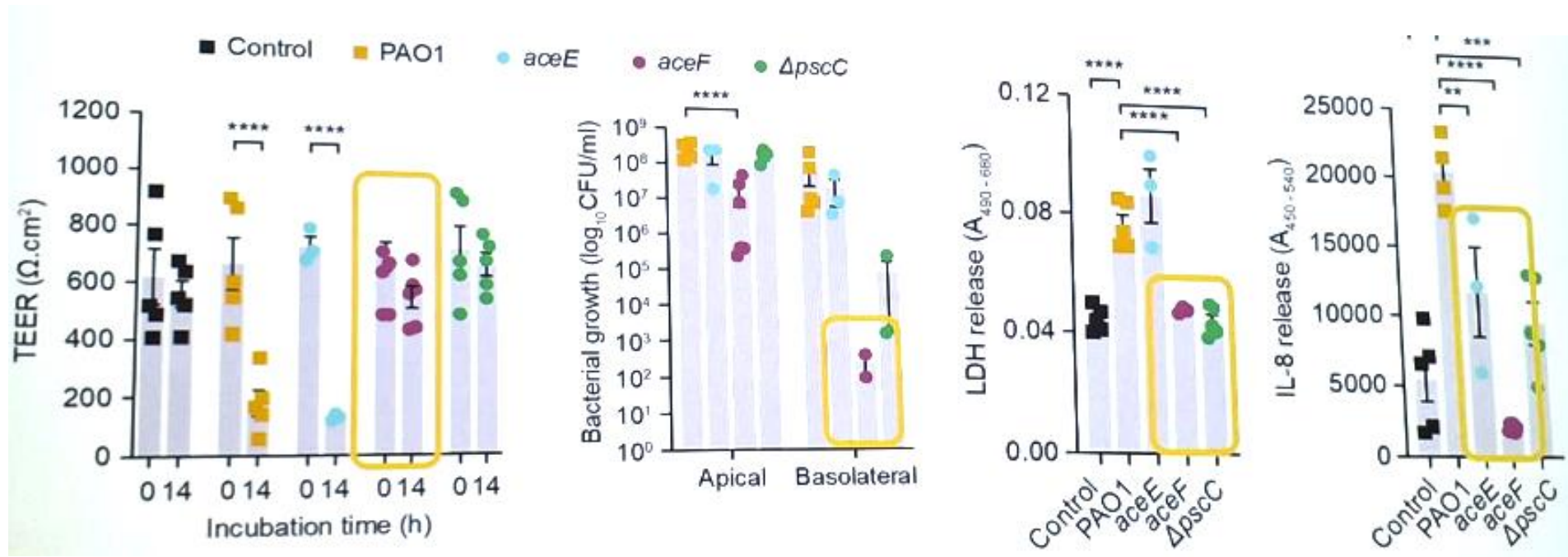


Mise en évidence de différence de régulation de synthèse de protéine pour permettre la persistance du *Pseudomonas aeruginosa* avec :

- Une augmentation de synthèse de protéines du biofilm
- Une diminution de facteurs de virulence

Peterson et al. Under review

# Les mutants aceEF présentent une virulence réduite

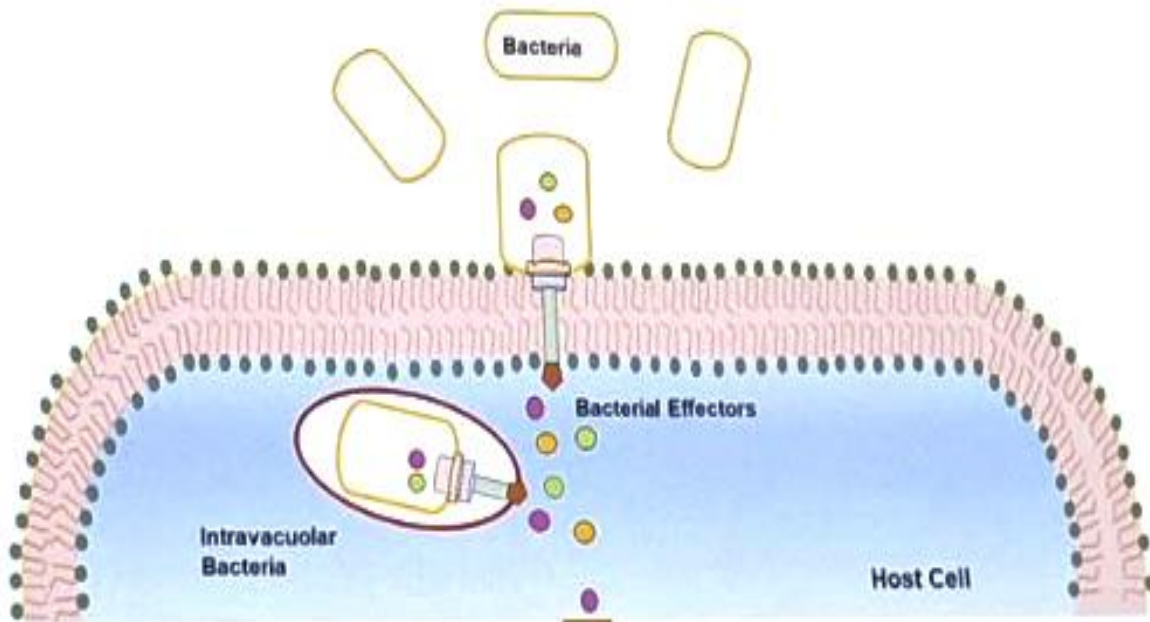


Peterson et al. Under review

On retrouve chez les mutants aceE/aceF

- Un TEER conservé et donc l'absence de pénétration dans l'épithélium respiratoire et sa préservation
- La diminution de la croissance bactérienne
- La diminution de sécrétion d'IL8 => Donc la diminution du recrutement du système immunitaire

# Systeme de sécrétion de type III de *Pseudomonas aeruginosa* (TSS3)



TSS3 est un des principaux **facteurs de virulence** de *Pseudomonas aeruginosa*, permettant :

- Dommage cellulaire de l'épithélium respiratoire
- Invasion et colonisation des voies aériennes
- Dissémination systémique
- Evasion du système immunitaire

*Hajra et al. 2021. Physics of Life Reviews*

# Le Pyruvate interagit avec les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS)

**Pyruvate**

ROS :

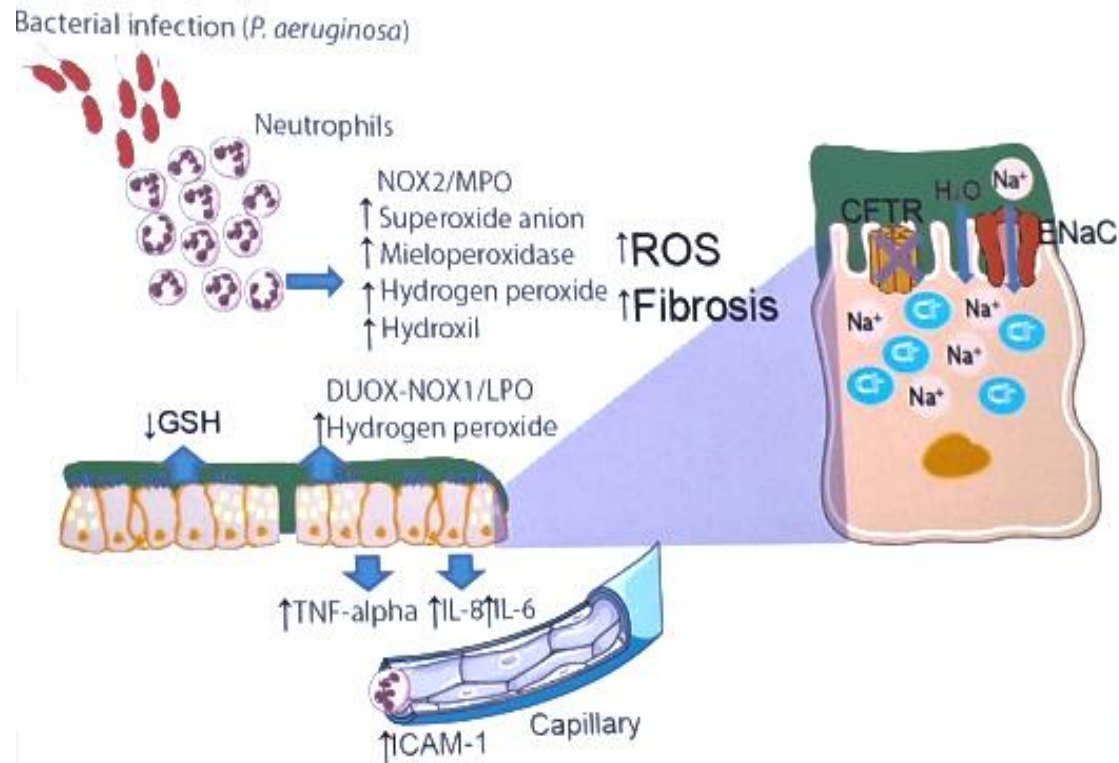


$\Rightarrow$  Le Pyruvate interagit avec les réactifs dérivés de l'oxygène et permet sa destruction

O'Donnell-Tormey et al. 1987



# Le stress oxydatif dans les voies aériennes des personnes vivants avec la mucoviscidose



Lors d'exacerbation pulmonaire (dont à *Pseudomonas aeruginosa*), il existe une cascade inflammatoire avec majoration des dérivés réactifs de l'oxygène, entraînant une fibrose.

Chez les souches tardives de *Pseudomonas aeruginosa*, et donc aceE et aceF, le pyruvate permet de diminuer la présence de ROS et donc de créer un environnement moins inflammatoire pour favoriser la persistance et la croissance bactérienne.

Checa et al, 2020



# CONCLUSION

## La spécialisation du métabolisme réduit la pathogénicité

Pour sa persistance et sa survie au long terme, *Pseudomonas aeruginosa* modifie son génotype à l'aide de mutations permettant :

- L'atténuation de sa virulence
- L'établissement d'un environnement favorable à sa croissance et à sa survie

# Révéler la persistance de *Staphylococcus aureus* : aperçu des mécanismes de tolérance aux antibiotiques

Dr Françoise Van Bambeke (Bruxelles, Belgique)



# Introduction

## 2 stratégies de bactéries pour se protéger

1. Stratégie offensive

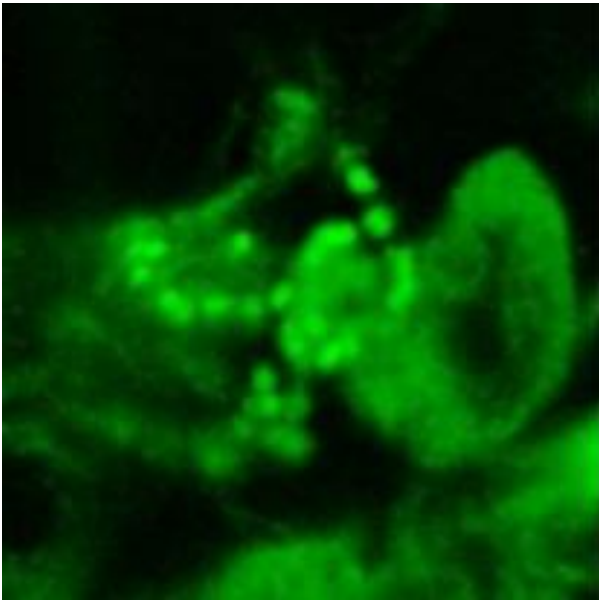
⇒ Développement de **mécanisme de résistance**

2. Stratégie défensive

⇒ Adopter un **mode de vie « caché »**

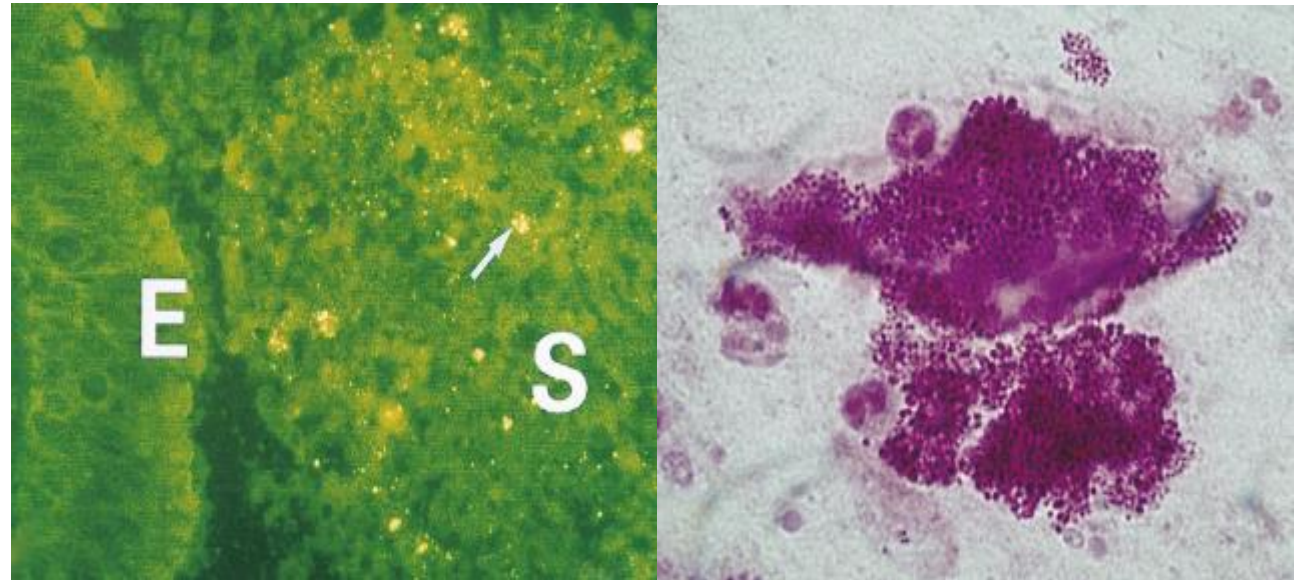
# Où réside *S.aureus* dans les poumons dans la mucoviscidose ?

## Macrophages pulmonaires



Li et al, Infect Immun, 2017 ; 85(5). Pii : e00883-16

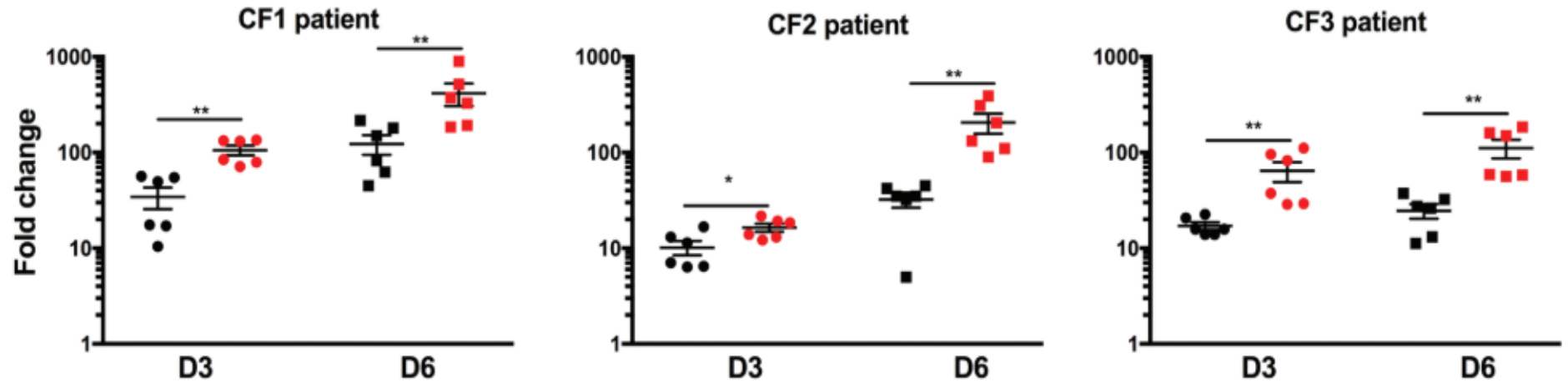
## Agrégats dans les expectorations



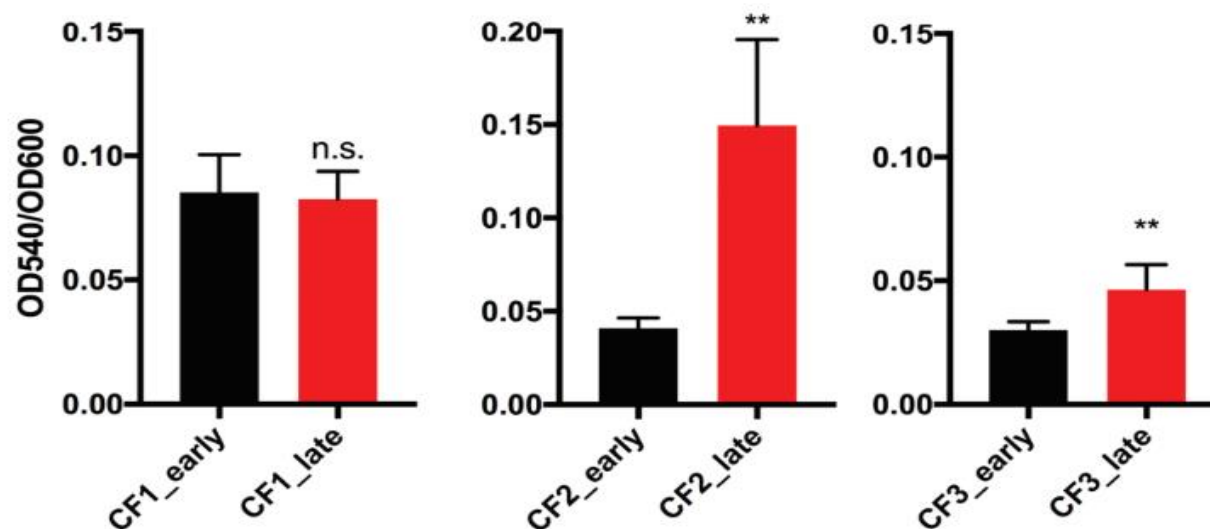
Ulrich et al, Am J Respir Cell Mol Biol. 1998;19:83-91

# Les infections persistantes sont liées à ces modes de vie

Survie intracellulaire



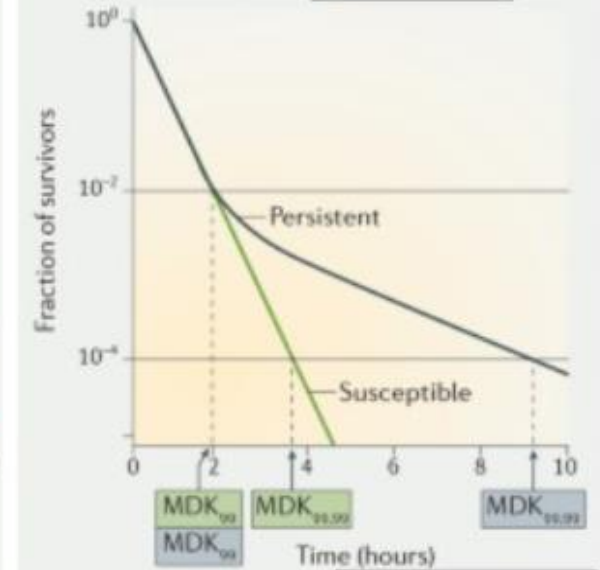
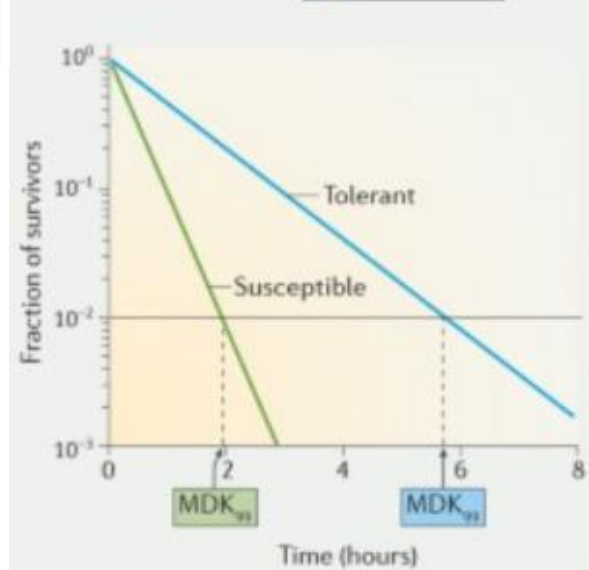
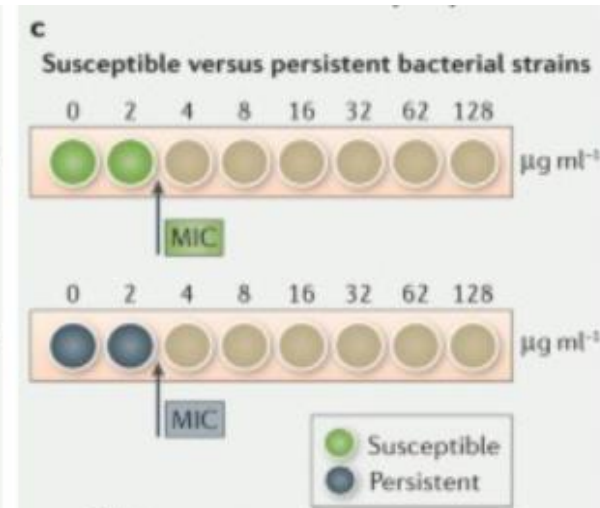
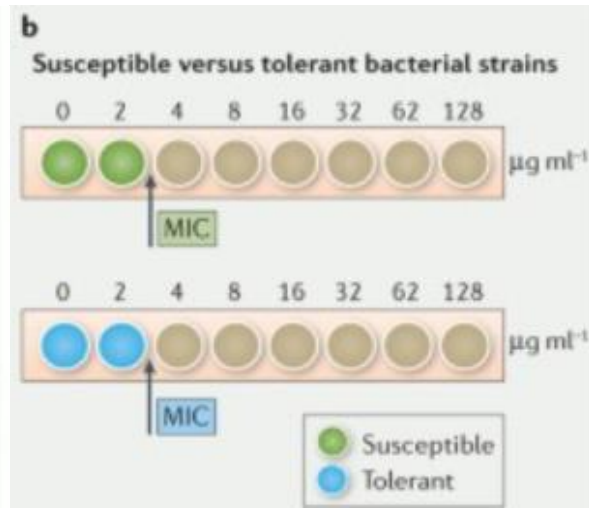
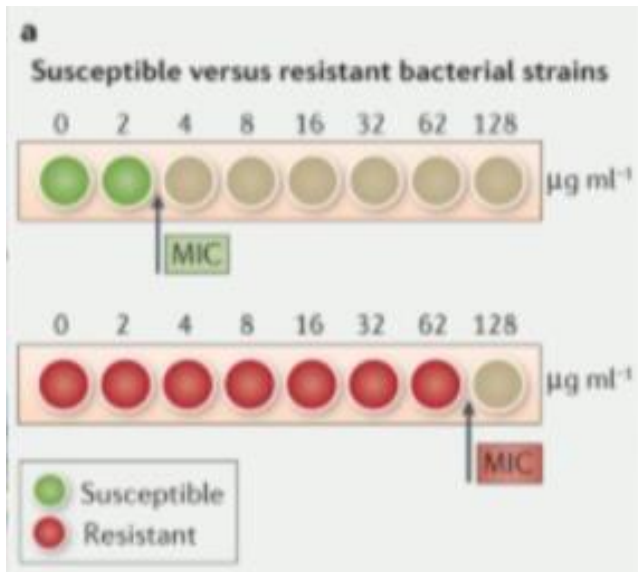
Formation de biofilm



⇒ On remarque que les isolats tardifs ont une meilleure survie intracellulaire et une augmentation de leur production de biofilm

Tan et al, Clin Infect Dis 2019;69:937-45.

# Mauvaise réponse aux antibiotiques : résistance, tolérance ou persistance ??



En comparaison à des souches avec susceptibilité aux antibiotiques :

## Résistance

- Augmentation de la CMI

## Tolérance

- CMI identique
- Augmentation de durée minimale d'élimination « Minimal duration of killing MDK »

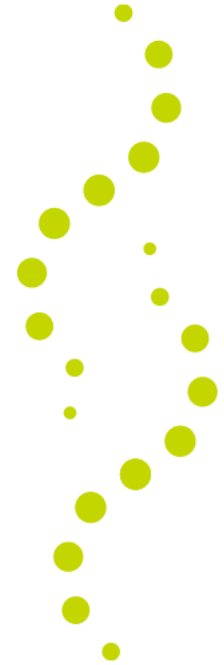
## Persistance

- CMI identique
- Augmentation plus importante de La MDK

Brauner et al, Nat Rev Microbiol.  
2016; 14:320-30

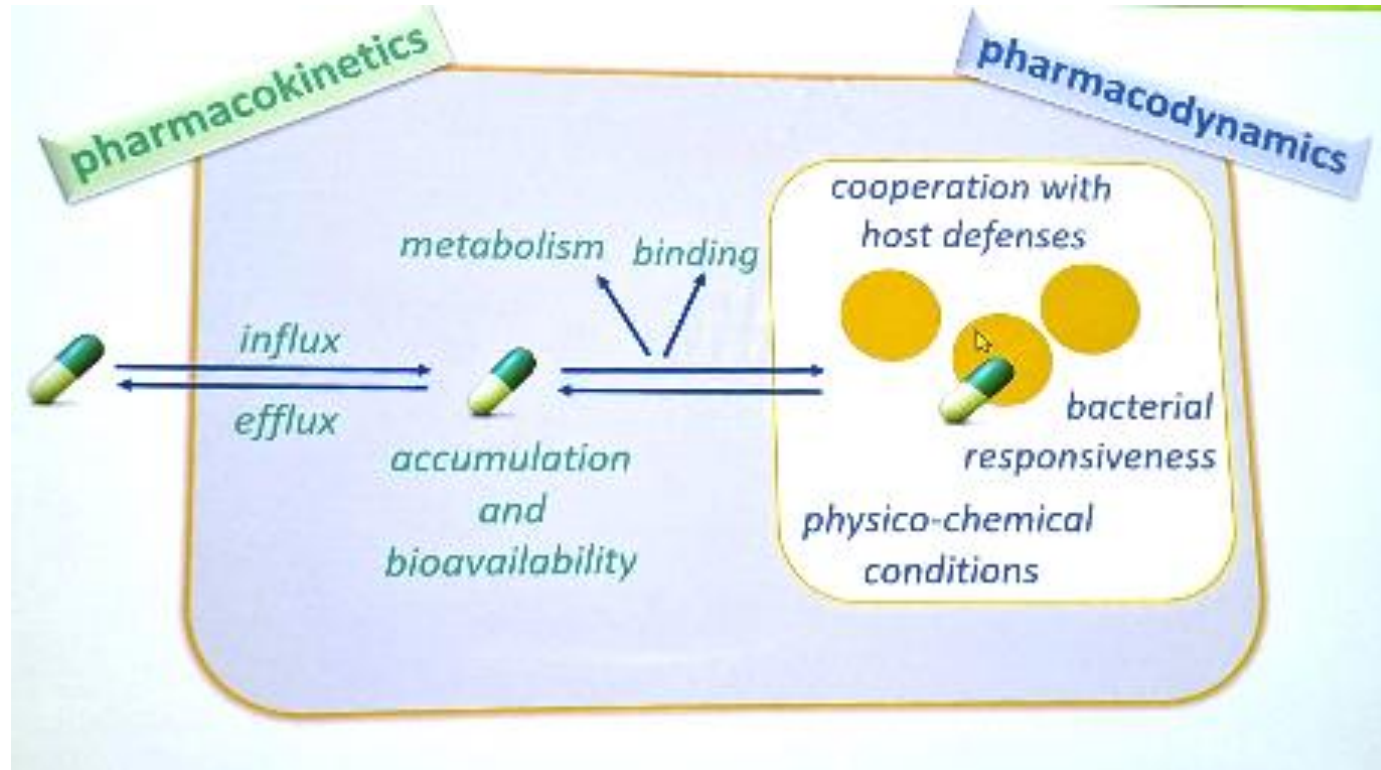
# Les bénéfices de la vie intracellulaire

1. Protection
2. Persistance
3. Possibilité de se réactiver et d'attaquer l'hôte





# Paramètres PK/PD et l'activité intracellulaire



Les facteurs déterminants la concentration intracellulaire de médicament actif sont :

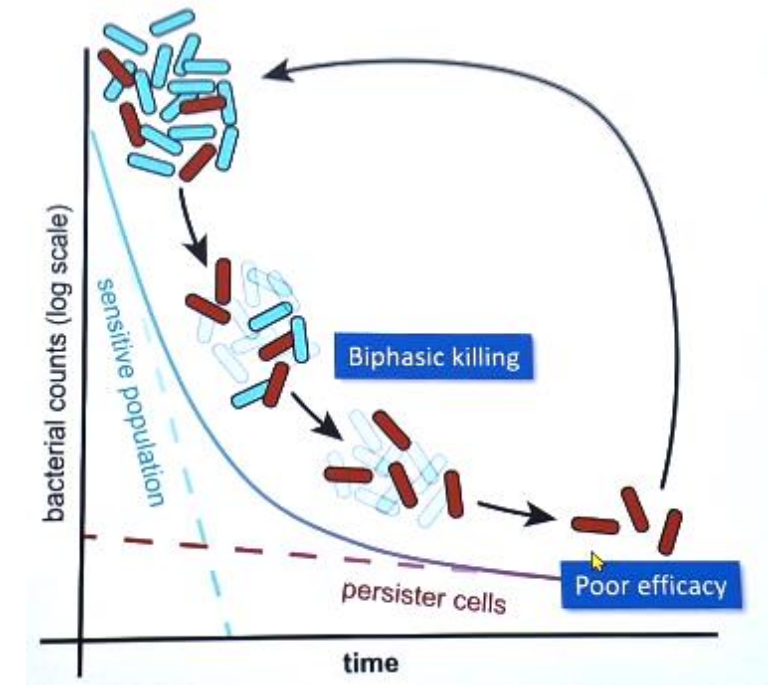
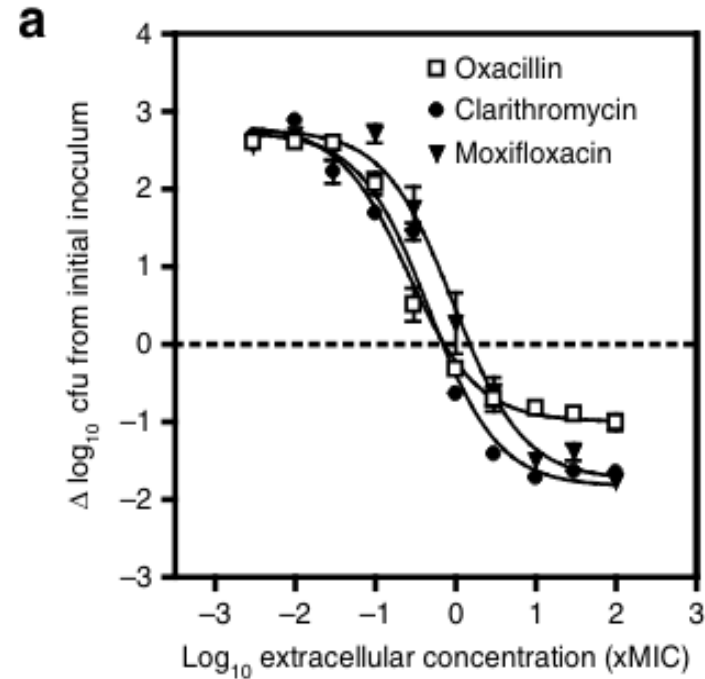
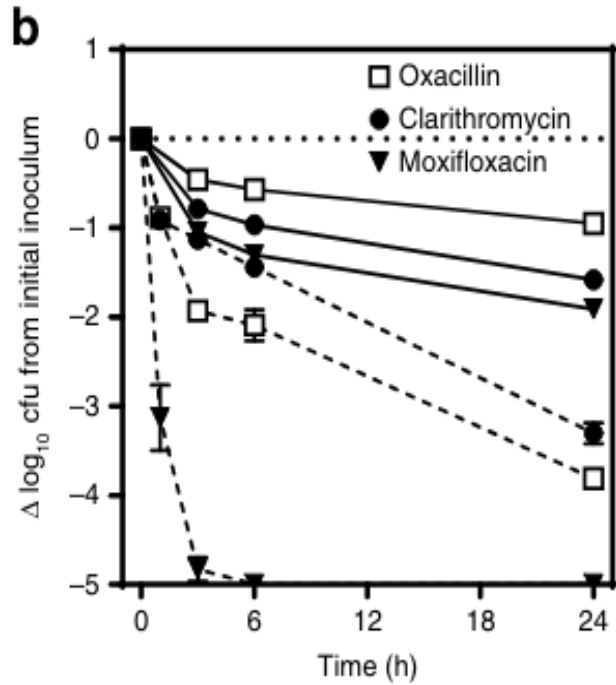
- L'équilibre entre l'influx et l'efflux,
- Le métabolisme
- La fixation

L'activité est alors influencée par

- La réponse bactérienne,
- Les conditions physico-chimiques sur le site de l'infection
- Le degré de coopération avec les défenses de l'hôte.

Carryn et al, Infect Dis Clin North Am 2003 17:615-34

# Activité intracellulaire des antibiotiques



Harms et al, Science 2016; 354;aaf4268

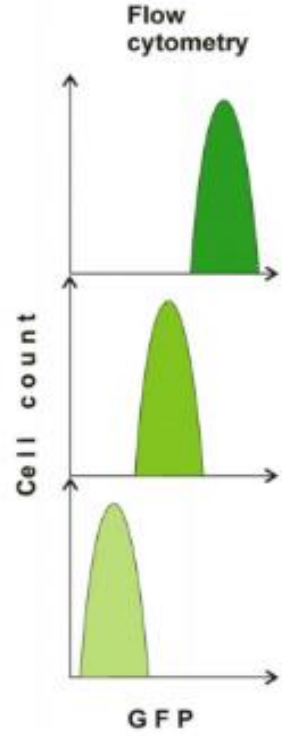
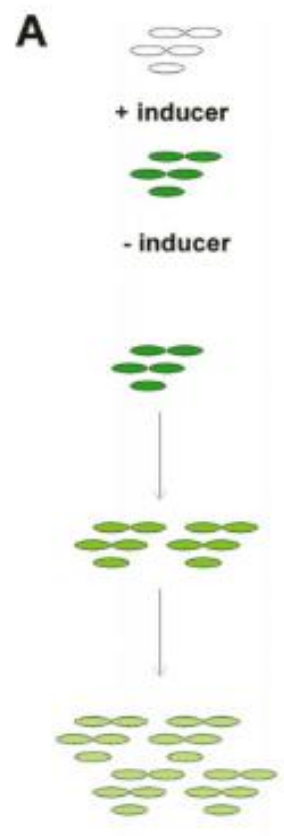
⇒ Les courbes d'élimination bactérienne réalisées avec une haute concentration d'antibiotiques révèlent une **élimination biphasique** :

- Une grande partie de la population bactérienne était sensible et rapidement tuée,
- Une sous-population persistait pendant une période beaucoup plus longue.

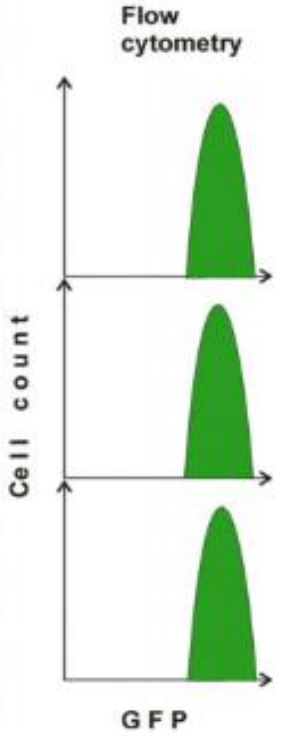
Peyrusson et al, Methods Mol Biol. 2021 ; 2357:239-251

# Suivre la multiplication bactérienne au niveau d'une seule cellule et en temps réel

Bactérie avec réplcation



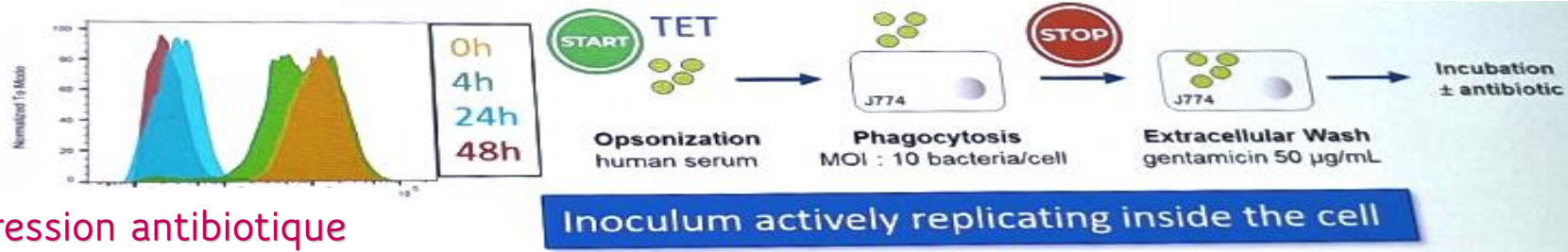
Bactérie sans réplcation



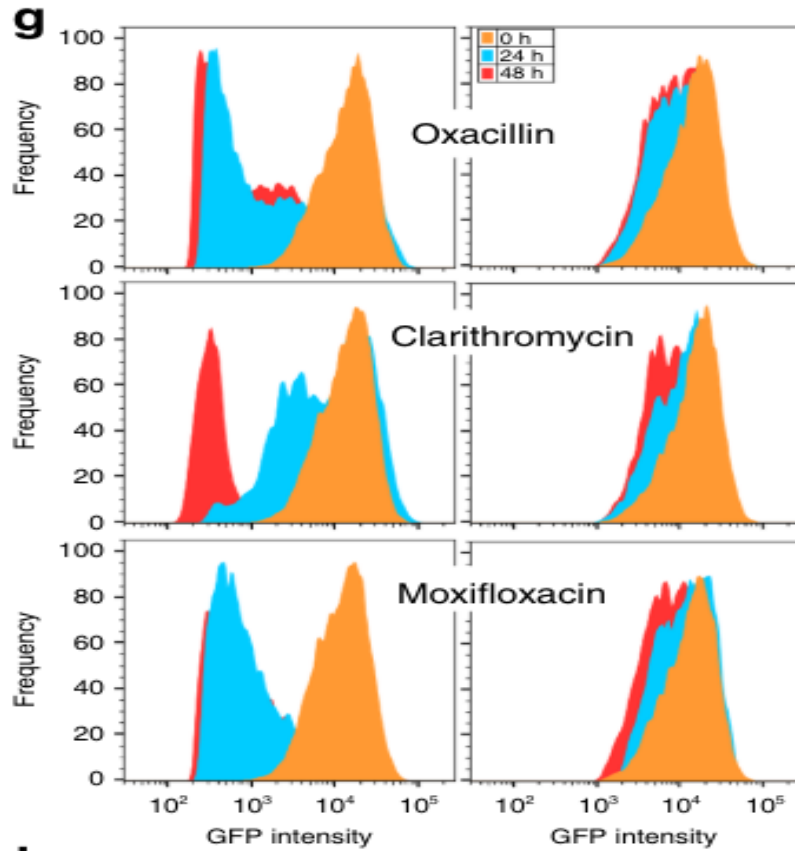
Roostalu et al, BMC Microbiol. 2008; 8:68

Expression d'une protéine avec fluorescence verte (GFP)  
 Dans les cellules avec réplcation : la quantité de GFP diminue (A) alors qu'elle reste constante chez les bactéries sans réplcation (B).

# Application au *Staphylococcus aureus* intracellulaire

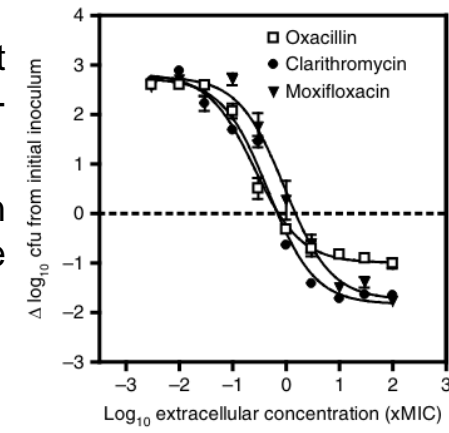


Pression antibiotique  
CMI x 2 → CMI x 50



Examen de la fluorescence pour analyser les profils de réplifications des bactéries intra-phagocytes sous des concentrations d'antibiotiques (2 X CMI ou 50 x CMI)

- Faible dose antibiotique : équilibre entre élimination et persistance (avec une partie entrant dans une phase de non-réplication)
- Dose importante d'antibiotique : destruction des bactéries en cours de répllication et augmentation des quantités de bactéries ne se développant pas => bactéries persistantes

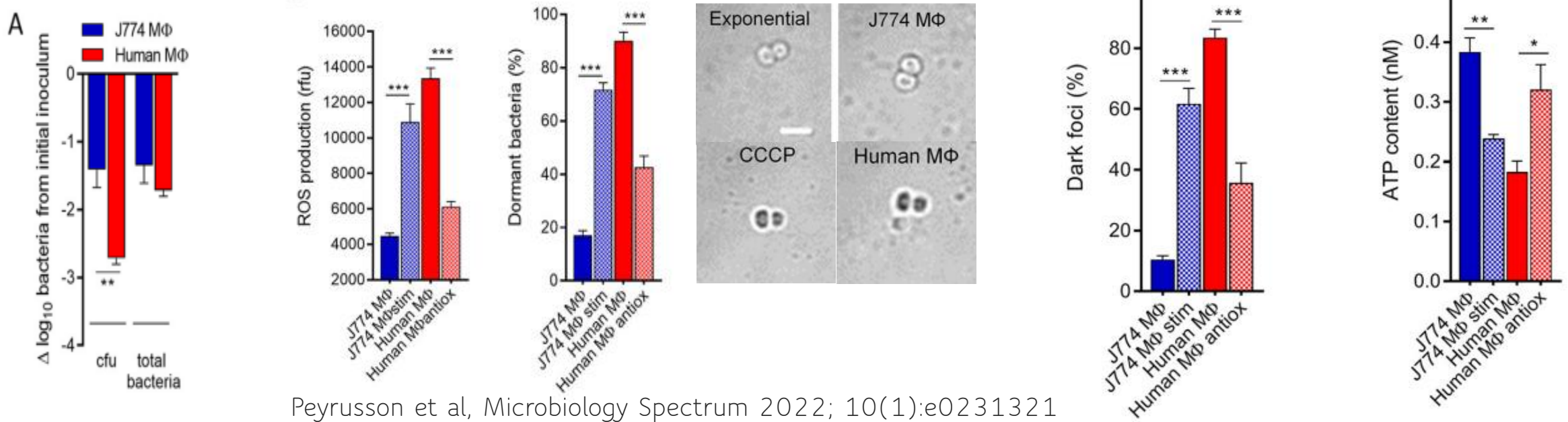


Peyrusson et al, Methods Mol Biol. 2021 ; 2357:239-251

# Profondeur de la dormance

Le niveau de dormance dépend du type de cellule (niveau de stress oxydatif)

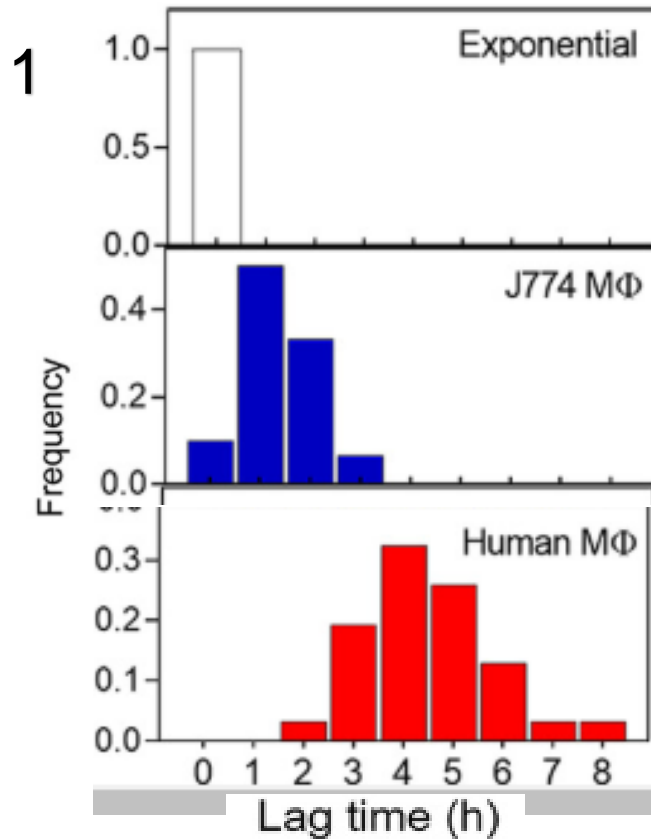
OXA CMI x 50



- Effet bactéricide plus important dans les macrophages humains (CFU plus faible), mais aucune différence si l'on considère le nombre total de bactéries exprimant la GFP par cytométrie de flux, ce qui suggère qu'une partie de l'inoculum provenant des macrophages humains a un métabolisme plus faible.
- **Le stress oxydatif de l'hôte (production de ROS) conduit à la transition vers l'état de dormance de *S. aureus*.**
- Production de ROS => diminution ATP => agrégation des protéines, visible sous forme de "dark foci"

# La réactivation des bactéries en état de dormance

## Réactivation des bactéries intracellulaires après l'arrêt des antibiotiques

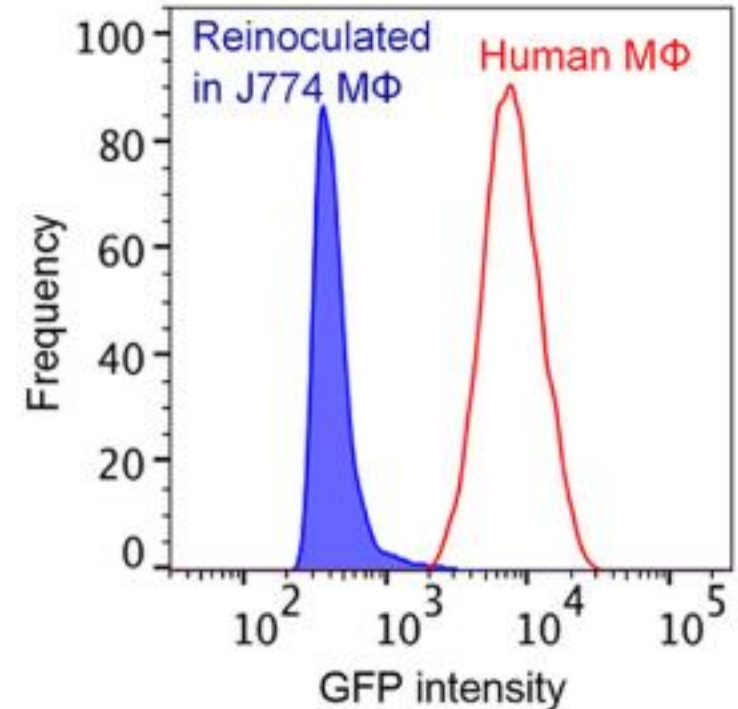


2

OXA CMI x 50  
+ bactéries dans  
macrophages humains

↓

Ré-injection des  
persistants dans les  
macrophages J774, sans  
ATB



(1) La réactivation des bactéries en état de dormance est plus longue pour les bactéries persistantes venant des cellules avec un stress oxydatif important.

(2) Les bactéries en dormance de macrophages humains sont restées viables mais ont également repris leur croissance lorsqu'ils ont été réinoculés dans des macrophages J774 sans traitement antibiotique.



# Les persistants intracellulaires : implications cliniques

- Les bactéries intracellulaires peuvent rester en état de « dormance » dans les cellules eucaryotes
- La dormance est favorisée par des conditions de stress (pression antibiotique, etc.)
  
- La dormance est associée à l'activation d'une réponse globale au stress
  - ⇒ La bactérie en dormance est « tolérante à plusieurs antibiotiques »
  - ⇒ L'exposition à un antibiotique rend la bactérie résistante aux autres classes d'antibiotiques
  
- La dormance est réversible quand le stress est atténué
  - ⇒ Possible raison de la récurrence de l'infection ?
  
- Quand la dormance est profonde, les bactéries persistantes n'ont pas de croissance sur les plaques de gélose
  - ⇒ Comment les détecter dans les échantillons biologiques ?
  
- Les isolats cliniques diffèrent par la proportion de persistants dans leurs populations.
  - ⇒ Existe-t-il un lien avec le risque d'échec clinique ?
  
- L'activation du stress chez les persistants favorise la sélection de résistance
  - ⇒ Est-ce une raison de l'augmentation de résistance dans les infections chroniques ?





# Les paramètres PK/PD et le biofilm



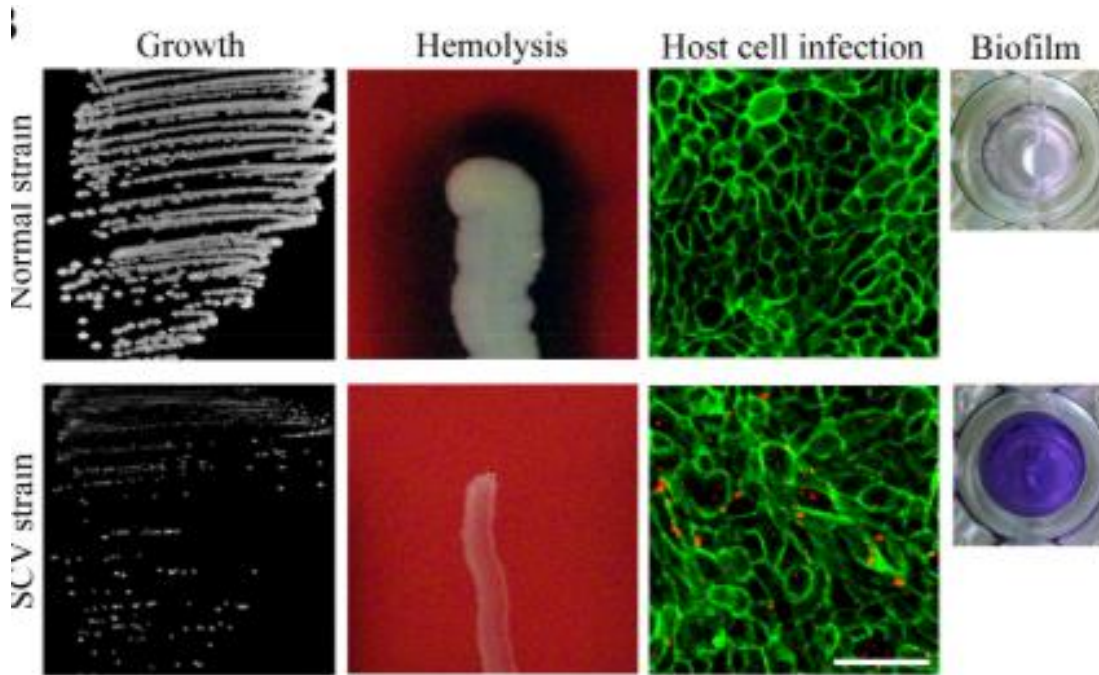
## Pharmacocinétique

- Diffusion à travers la matrice
- Biodisponibilité dans le biofilm
  - Accès à la bactérie
- Efflux/Sortie de la bactérie

## Pharmadynamique

- Réactivité bactérienne (activité métabolique de la bactérie)
  - Activité de l'antibiotique (environnement local : O<sub>2</sub>, pH,...)

# Formation du biofilm et croissance lente



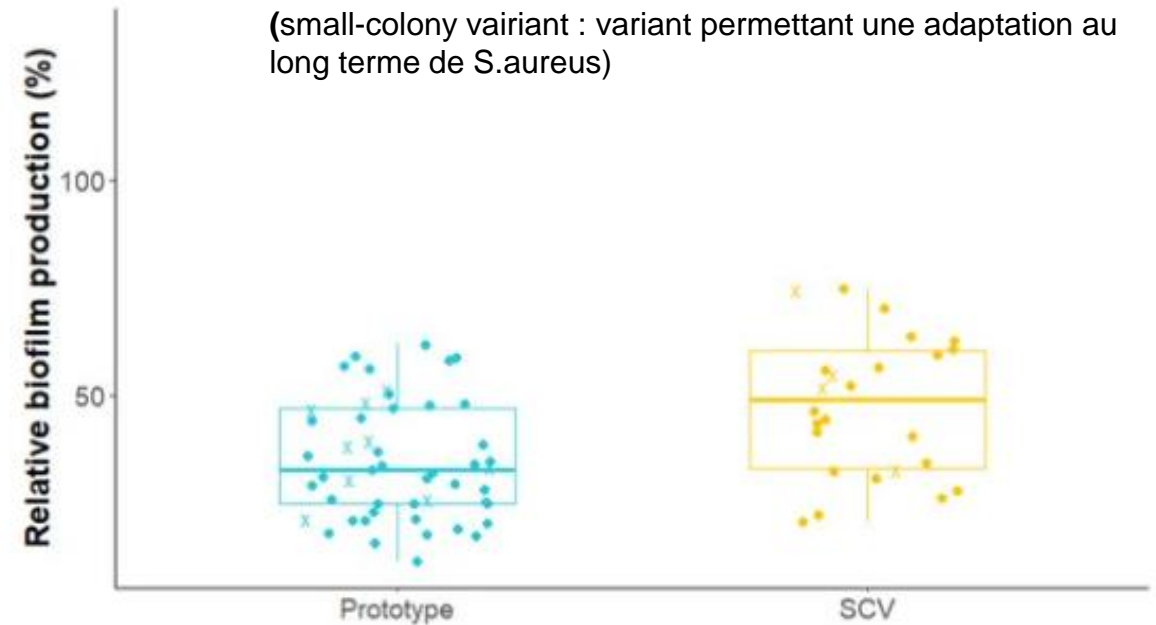
Michell et Malouin, 202 ; DOI: 10.5772/31527

Les SCVs permettent :

- **Une croissance diminuée**
- Une diminution de l'hémolyse sur les géloses
- **Une augmentation de la formation de biofilm**

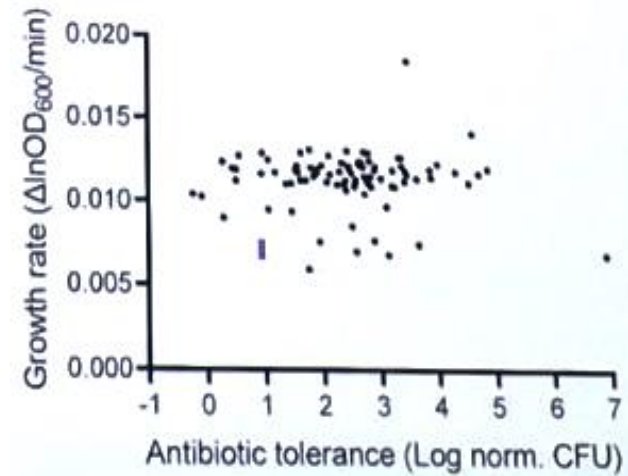
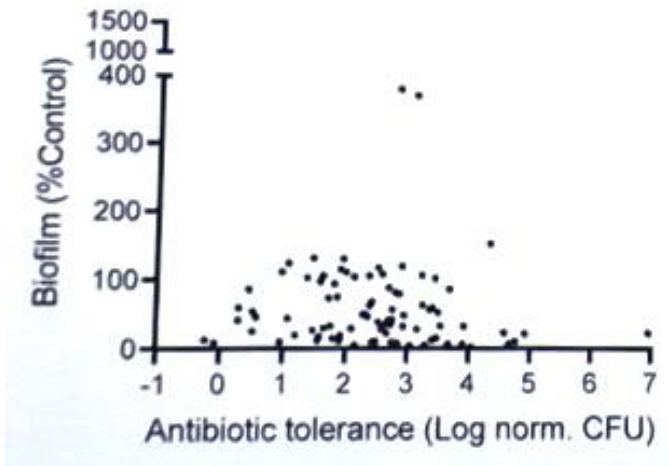
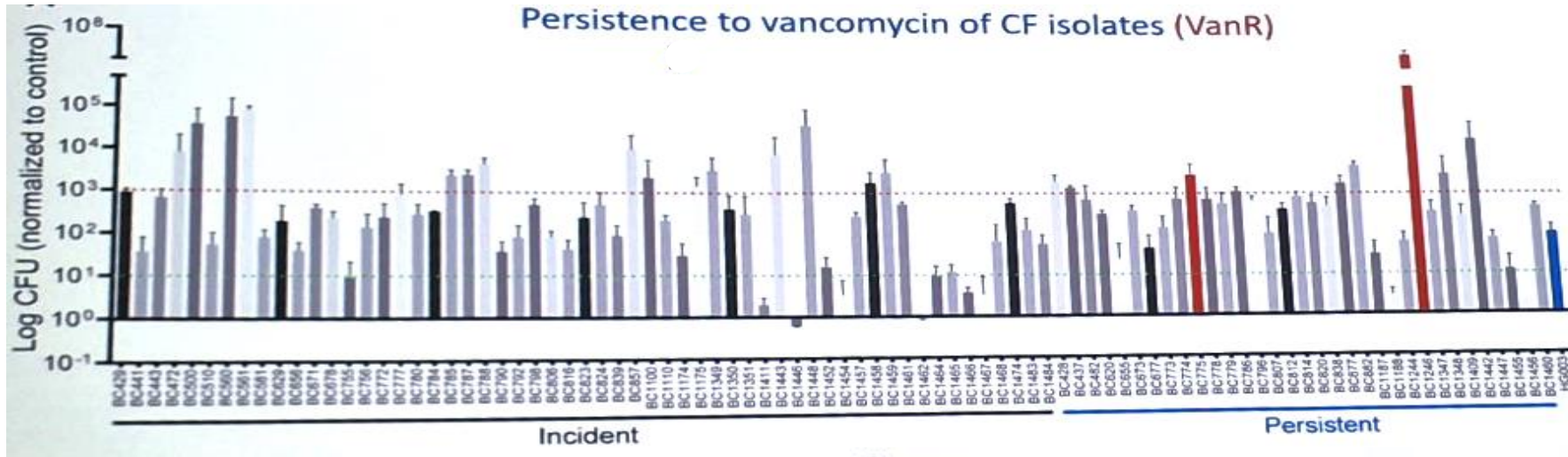
## Production de biofilm par le phénotype normal et par les SCVs

(small-colony variant : variant permettant une adaptation au long terme de S.aureus)



Millette et al, Antibiotics 2023;2:1069

# Formation du biofilm et persistance



Li et al, Microbiol Spectr  
2023;11:e0406122

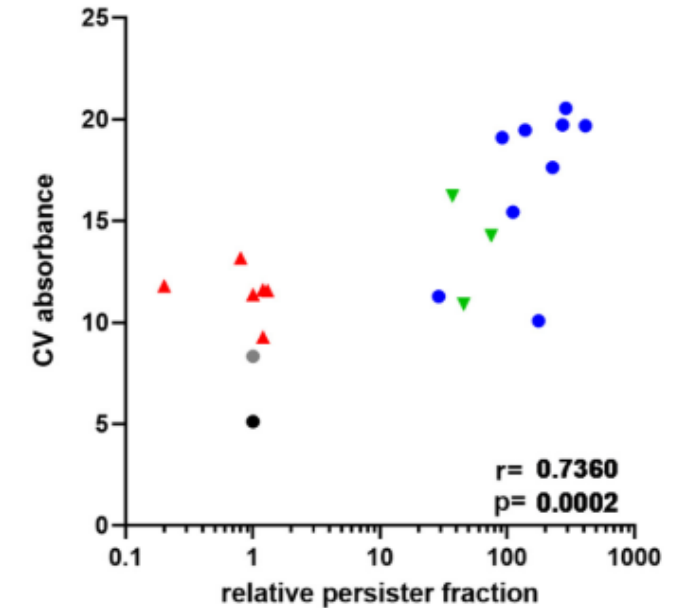
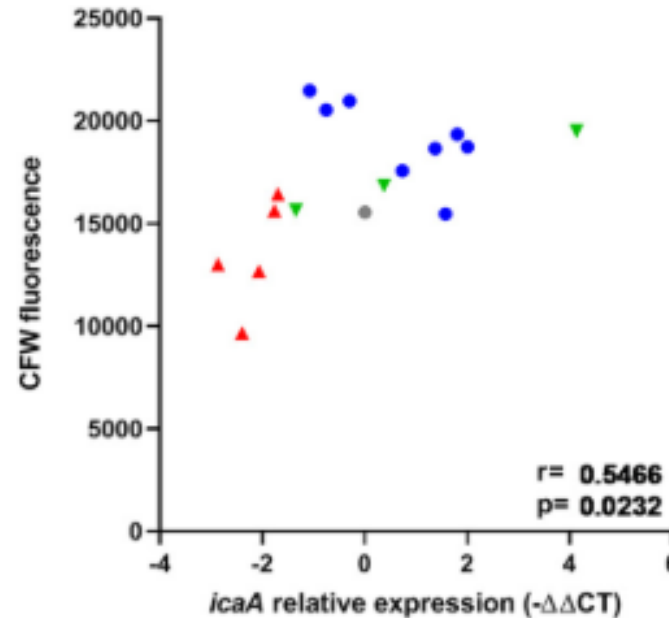
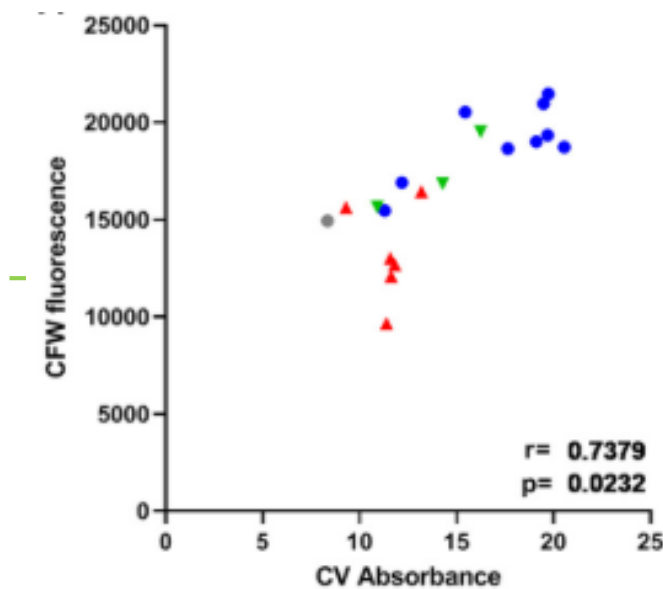
⇒ Absence de relation entre la persistance de bactéries sous VANCOMYCINE et l'importance de formation de biofilm et de la croissance bactérienne

# Formation du biofilm et persistance

## Persistance sous MOXIFLOXACINE d'isolats d'origines variées

- ATCC Référence
- ▲ S-LP Susceptible, avec une fraction faible de persistants
- ▼ S-HP Susceptible avec une fraction importante de persistants
- R-HP Résistant, avec une fraction importante de persistants

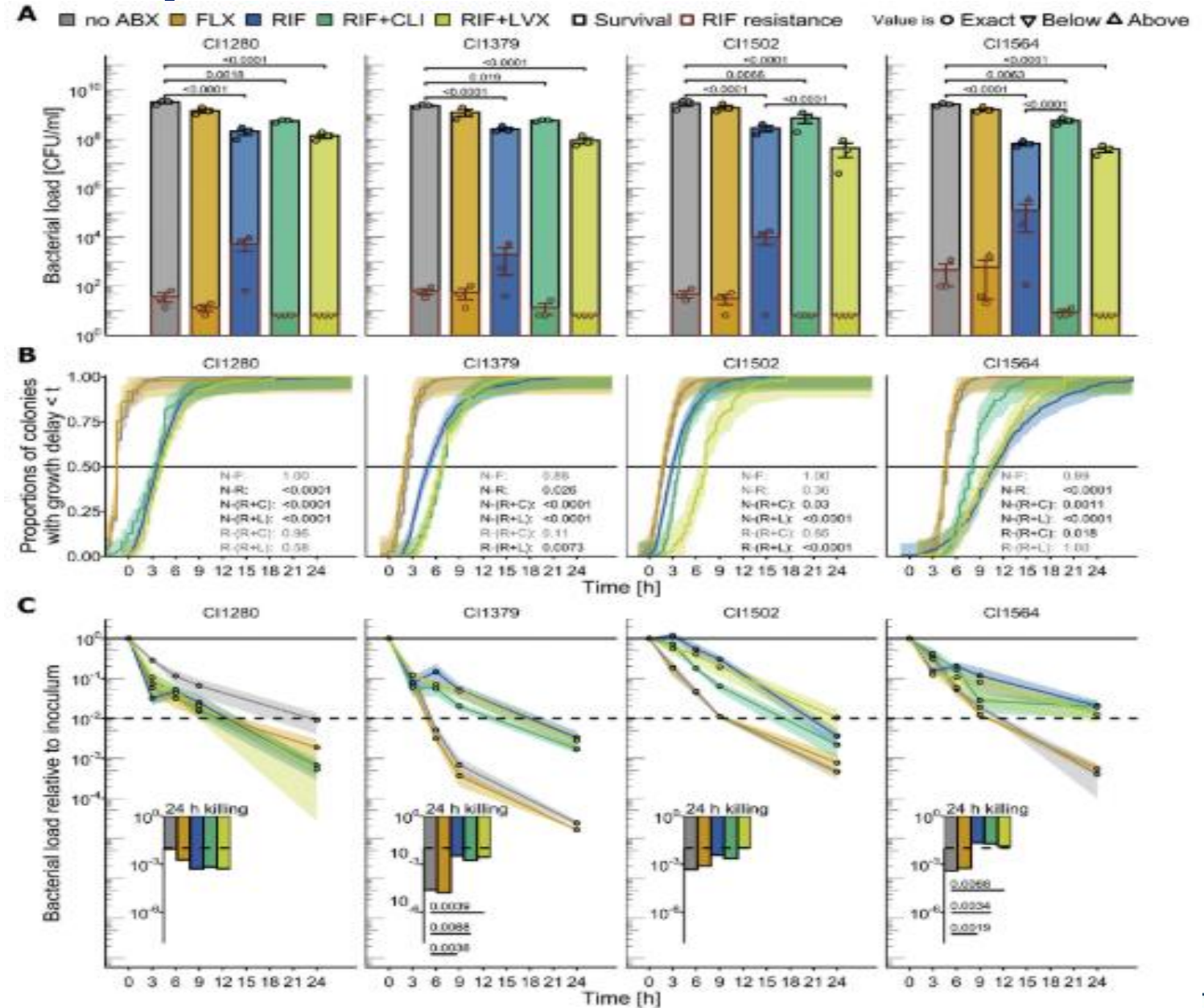
Nguyen et al, Frontiers Microbiol 2021;12:785573



⇒ Relation entre persistance sous MOXIFLOXACINE (CV : biofilm) et formation de biofilm et expression d'*icaA* (gène permettant la formation d'un biofilm)

# Formation du biofilm et persistance

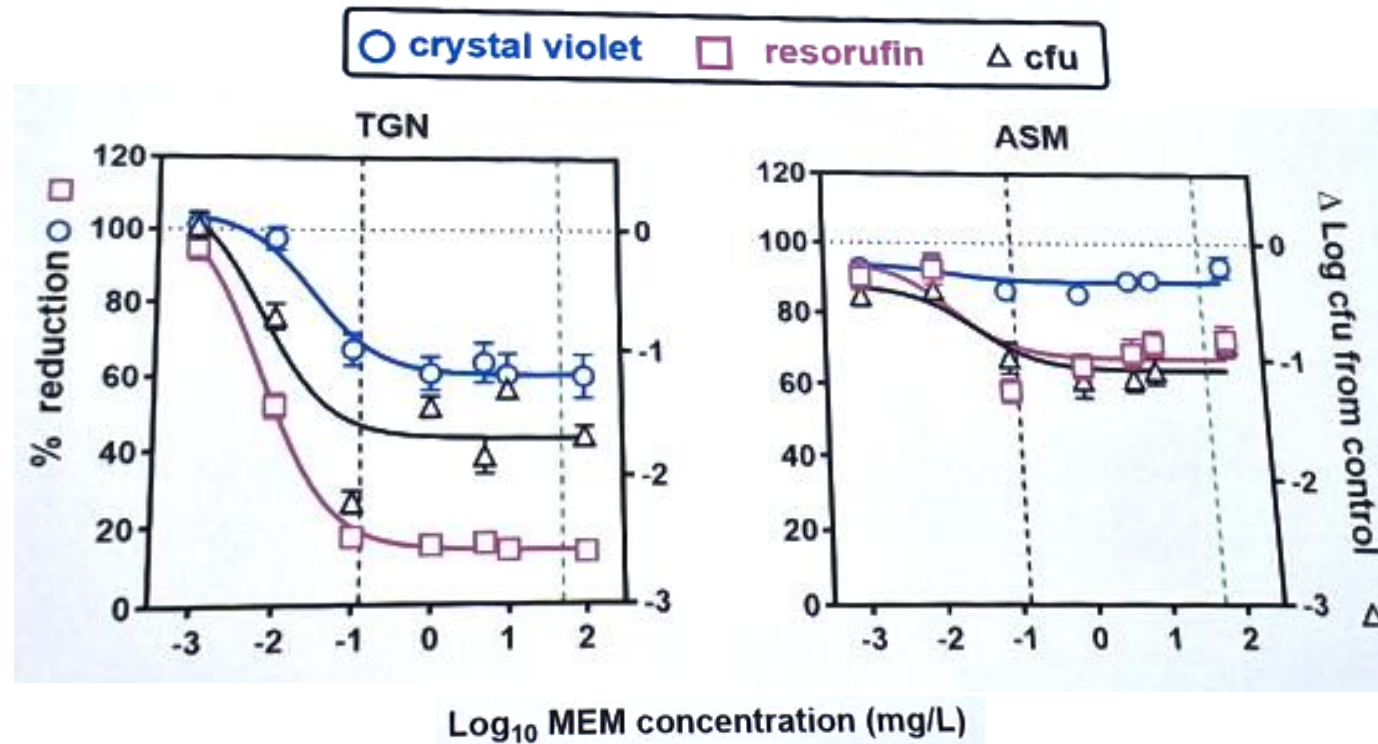
Les *S.aureus* cultivés dans des biofilms et exposés à des concentrations élevées de RIFAMPICINE, présentent un retard de croissance et une élimination biphasique.



Bar et al, Clin Microbiol Infect  
2022; 28 : 1022.e1e1022.e7



# Activité antibiotique contre les biofilms cultivés dans l'ASM (artificial sputum medium)



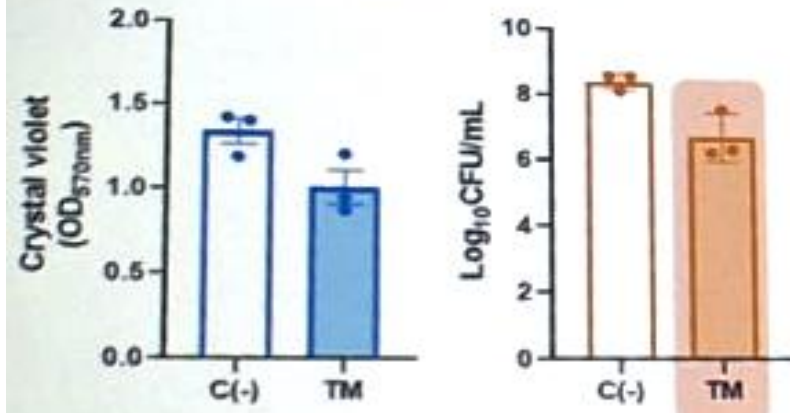
L'activité du MEROPENEME est diminuée lors de l'utilisation d'ASM (expectorations artificielles) par rapport aux cultures habituelles.

Diaz-Iglesias et al, Antimicrob Ag Chemother 2019; 63:e00602-19

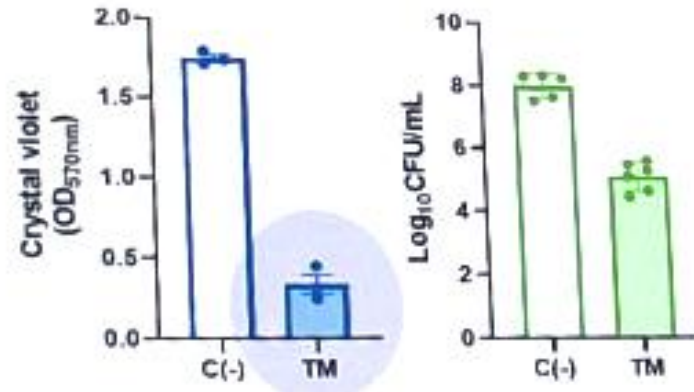
# Biofilm à 1 espèce versus 2 espèces

Adapté de Wang et al, J Cystic Fibrosis  
2024;Feb 23:S1569-1993(24)00027-4

1 espèce :  
*S.aureus*

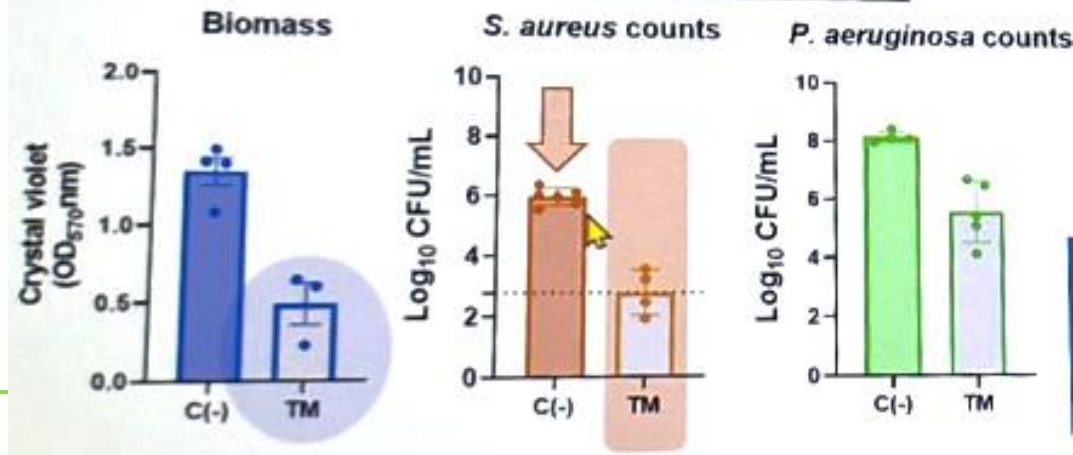


1 espèce :  
*Pseudomonas aeruginosa*



TM : Tobramycine + MEROPENEM (20 x CMI)

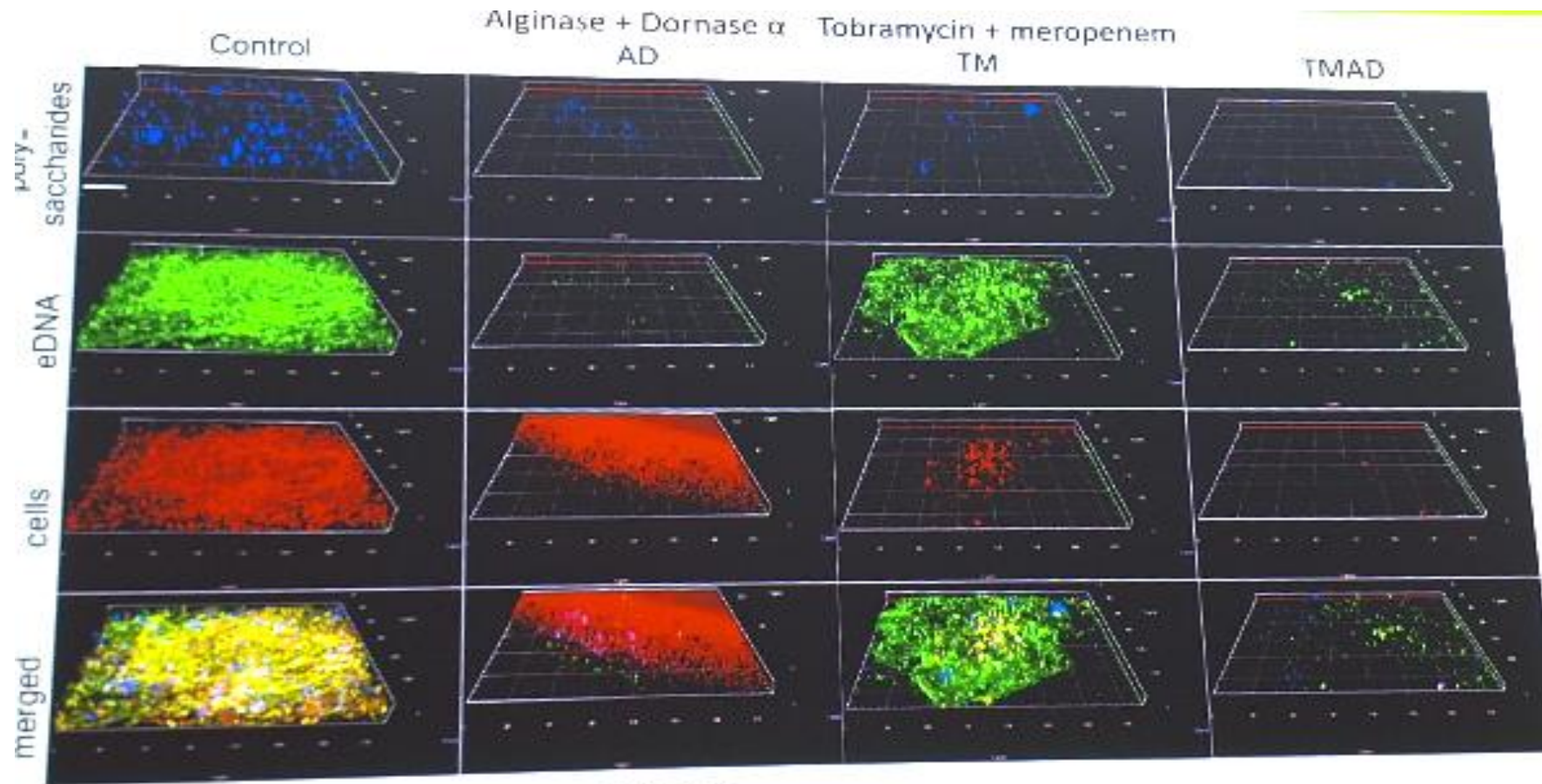
2 espèces :  
*Pseudomonas aeruginosa* + *S.aureus*



Tolérance inférieure du *S.aureus* dans un biofilm à 2 espèces

⇒ Interaction compétitive avec *Pseudomonas aeruginosa* ?

# Effet barrière de la matrice du biofilm et tolérance aux antibiotiques

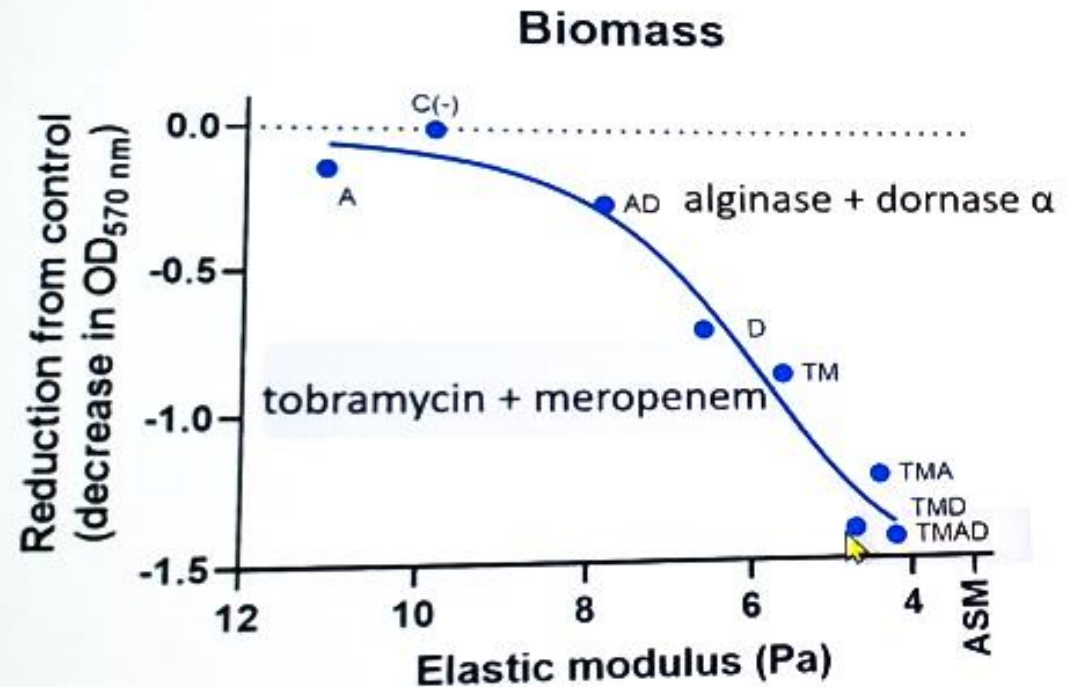
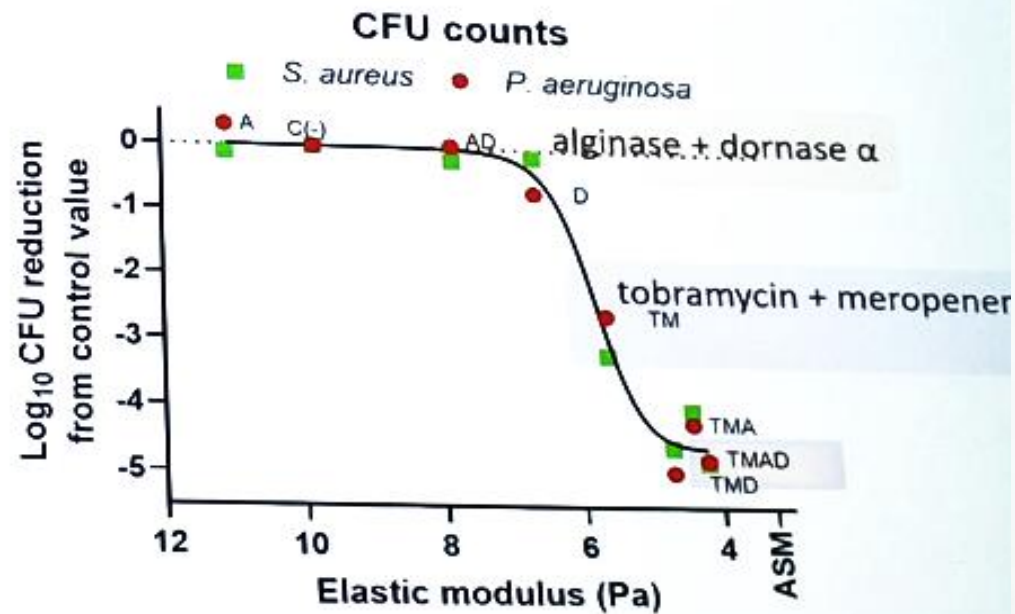


Adapté de Wang et al, J Cystic Fibrosis  
2024;Feb 23:S1569-1993(24)00027-4

Destruction eDNA (composant de biofilm) par l'AD, destruction des cellules par la bi-antibiothérapie  
⇒ **Destruction quasi complète des biofilms et cellules obtenue en combinant l'Alginase et Dornase alpha avec les deux antibiotiques (Tobramycine et Meropeneme)**



# Effet barrière de la matrice du biofilm et tolérance aux antibiotiques



Wang et al, J Cystic Fibrosis 2024;Feb 23:S1569-1993(24)00027-4

# Biofilms : implications cliniques

- **Biofilms et phénotypes de croissance lente semblent être associés**  
⇒ **Importance d'un dépistage adéquat au laboratoire de microbiologie**
- **La tolérance et persistance réduisent l'efficacité des antibiotiques**  
⇒ **Nécessité de doses importantes et d'associations de médicaments**
- **Les propriétés viscoélastiques des expectorations contribuent à la tolérance**  
⇒ **Intérêt de l'adjuvant qui perturbe la matrice du biofilm**  
⇒ **Que peut-on attendre des modulateurs de CFTR ?**

# Démasquer la persistance de *Mycobacterium* abscessus dans les poumons atteints de mucoviscidose

Dr Nicola Ivan Loré (Milan, Italie)

# Introduction

## Le développement de *Mycobacterium abscessus* dans la mucoviscidose

Mycobactéries non tuberculeuse (MNT)  
les plus fréquentes dans la mucoviscidose

Mycobactérie  
à croissance lente

Mycobactérie  
à croissance rapide

### **M. Avium complex (MAC)**

- *M. avium*
- *M. intracellulare*
- *M. chimaera*

### **M. abscessus complex (MABSC)**

- *M. abscessus* subsp. *Abscessus*
- *M. abscessus* subsp. *bolletii*
- *M. abscessus* subsp. *massiliense*

Sur 10 053 personnes qui ont bénéficié d'une recherche de mycobactéries en 2022, 1038 (10,3%) avaient au moins une culture positive pour une espèce de mycobactérie.

*Annual Data Report, 2022, Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry*

**M. abscessus, est une mycobactérie de plus en plus fréquente chez les personnes vivants avec la mucoviscidose**

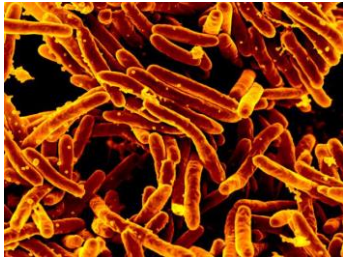
*ECFS registry 2022*

*CF Trust 2019 registry annual reports*

*Martiniano SL and al, Clin Chest Med 2022*

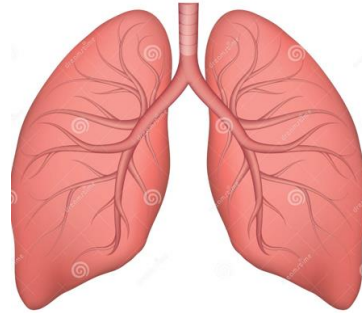
# Objectifs

Démasquer la persistance de *Mycobacterium abscessus* dans les poumons des personnes vivants avec la mucoviscidose



*Mycobacterium abscessus*

Acquisition et  
persistance du germe



**Colonisation asymptomatique**

Progression de la maladie  
et traitements

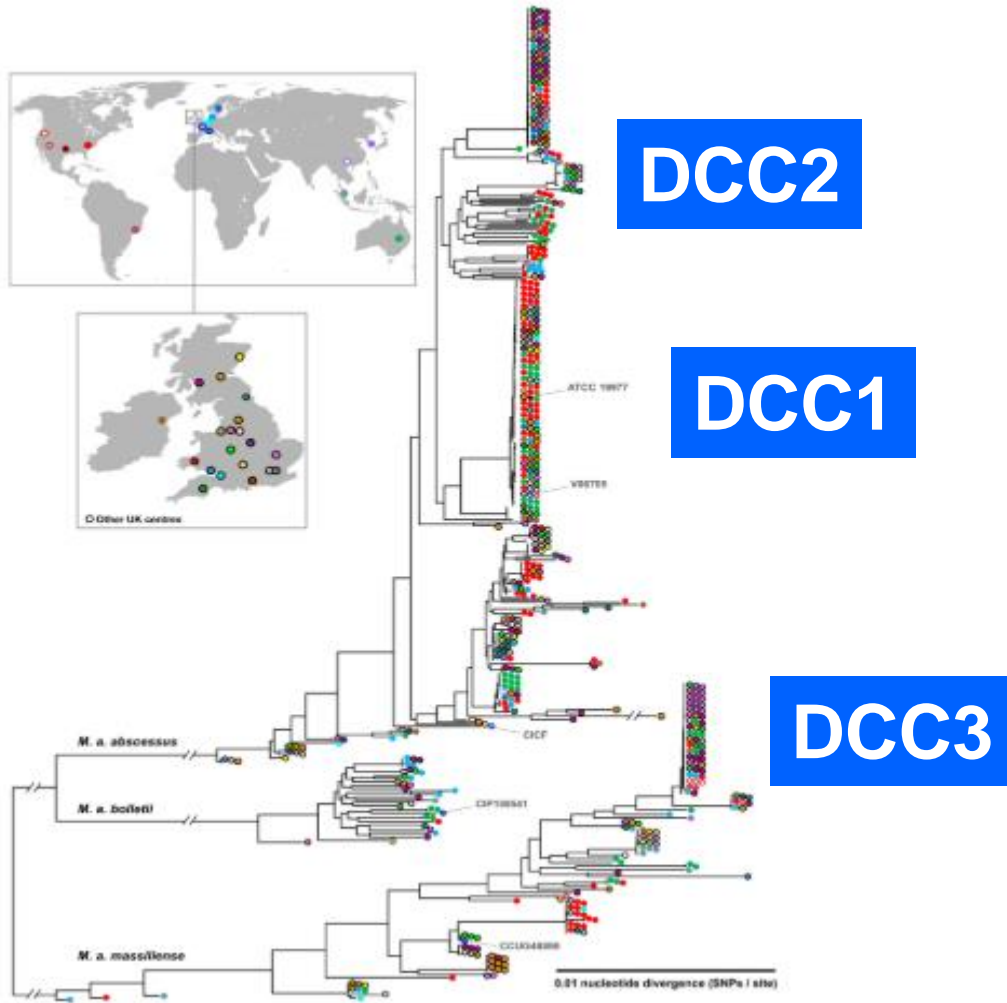


**Maladie pulmonaire à mycobactérie  
non tuberculeuse**

1. Les caractéristiques de *M. abscessus* qui mènent à l'infection et à la persistance dans la mucoviscidose
2. Potentiels traitements et perspectives

# Objectif 1

## Mycobacterium abscessus et Clones Circulants Dominants



- Plus de 70% des infections à *M. abscessus* chez les personnes vivant avec la mucoviscidose, sont causées par des **Clones Circulants Dominants (DCCs)**
- Parmi eux, le Clone Circulant Dominant 1 (**DCC1**) est le plus répandu dans les sous-espèces de *M. abscessus*

Nick et al. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2021

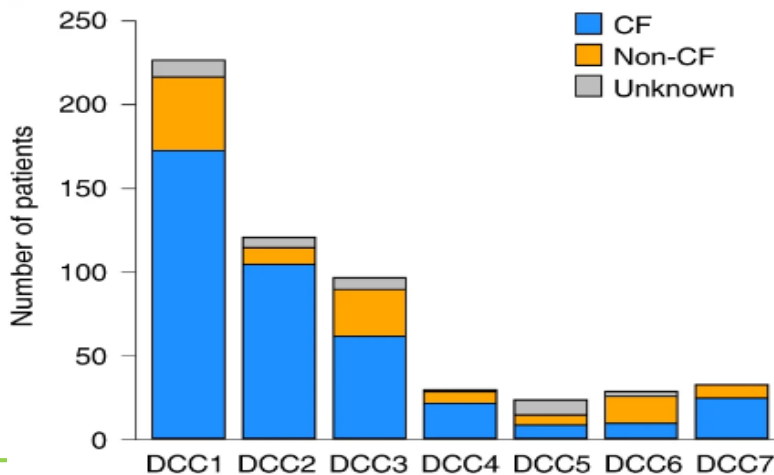
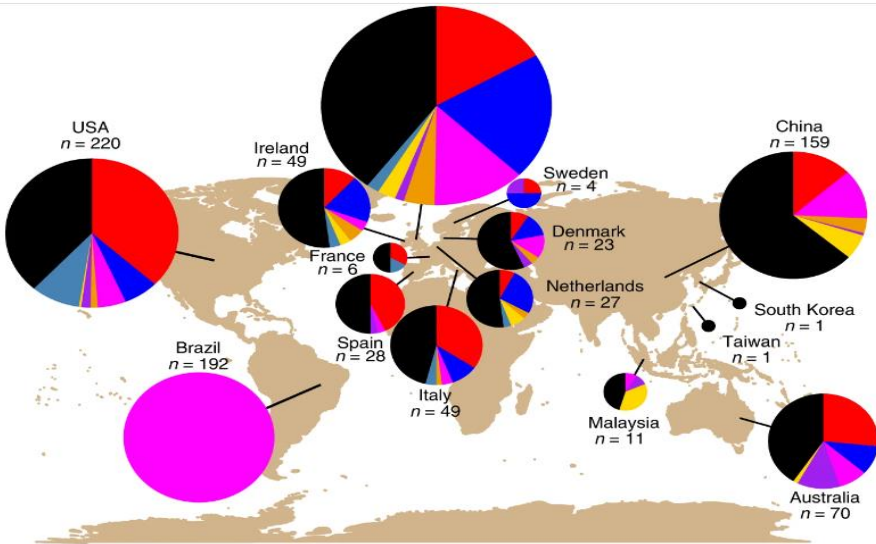
Tortoli et al, *Eur Respir J*, 2017

Ruis et al, *Nature Micro* 2021

Modified from Bryan et al, *Science*. 2016

# Objectif 1

## Mycobacterium abscessus et Clones Circulants Dominants



- Les auteurs proposent que les DCCs ont initialement émergé chez les patients sans mucoviscidose et se sont ensuite amplifiés et diffusés dans la communauté de la mucoviscidose.

*Ruis et al, Nature Micro 2021*

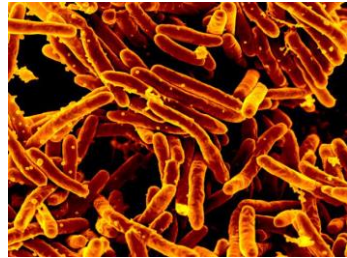
- Les auteurs émettent l'hypothèse que les mycobactéries génétiquement très semblables parmi les personnes soignées dans le même centre peuvent provenir de sources liées aux soins de santé (y compris la transmission de patient à patient et/ou l'acquisition par les soins de santé, la poussière ou l'eau).

*Gross JE et al. PLoS One. 2023*

*ClinicalTrials.gov NCT05686837*

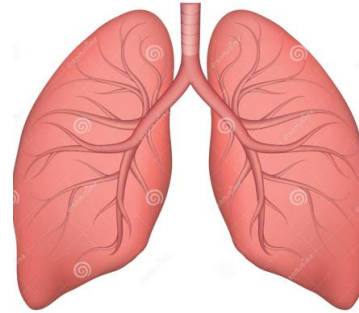
# Objectif et Conclusion 1

Démasquer la persistance de *Mycobacterium abscessus* dans les poumons des personnes vivants avec la mucoviscidose



*Mycobacterium abscessus*

Acquisition et  
persistance du germe



**Colonisation asymptomatique**

Progression de la maladie  
et traitements



**Maladie pulmonaire à mycobactérie  
non tuberculeuse**

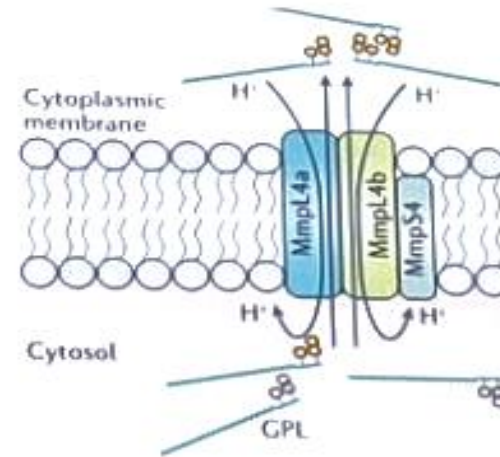
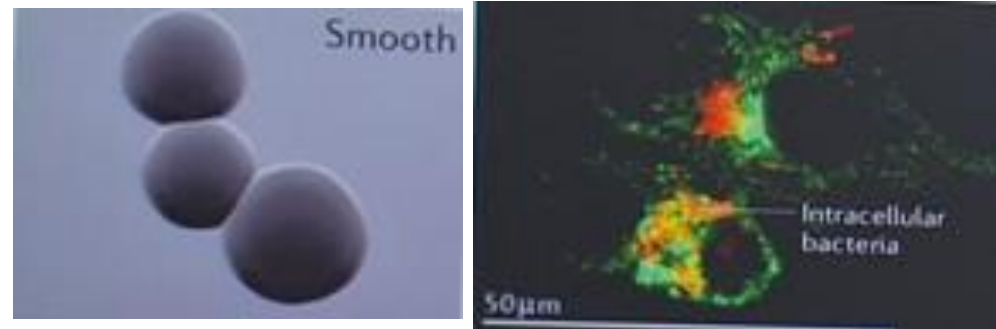
1. Les caractéristiques de *M. abscessus* qui mènent à l'infection et à la persistance dans la mucoviscidose
  - Les clones circulants dominants (DCC) sont fréquents dans la mucoviscidose and sont partagés avec d'autres pathologies pulmonaires
2. Potentiels traitements et perspectives



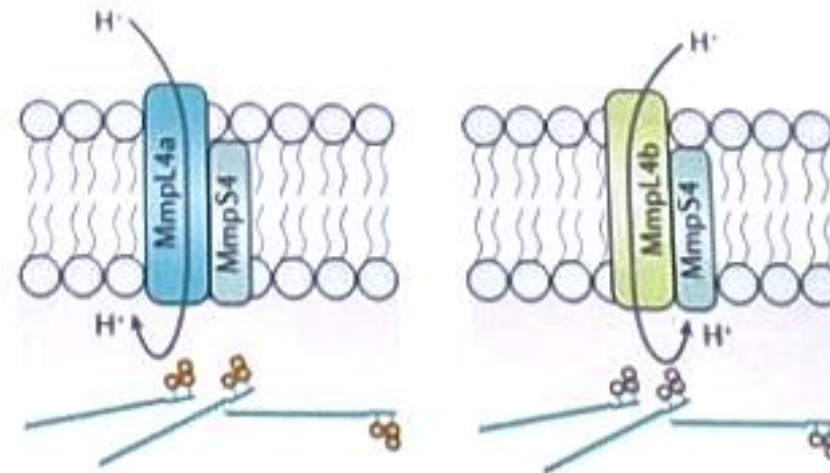
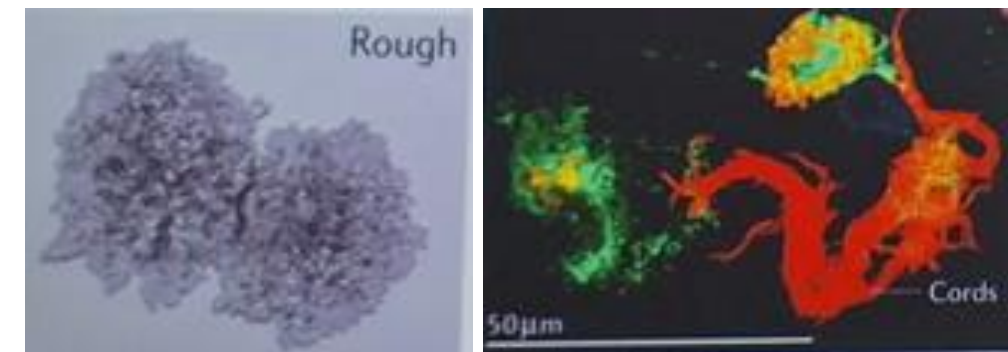
# Objectif 1

## Mycobacterium abscessus : Morphotypes S (Smooth) et R (Rough)

### Production importante de GPL



### Production faible de GPL



=> Le morphotype S produit une quantité importante de GPL, alors que le morphotype R n'en produit qu'une quantité faible

GPL = Glycopeptidolipide

Adapté de Johansen MD et al, Nat. Rev, 2020



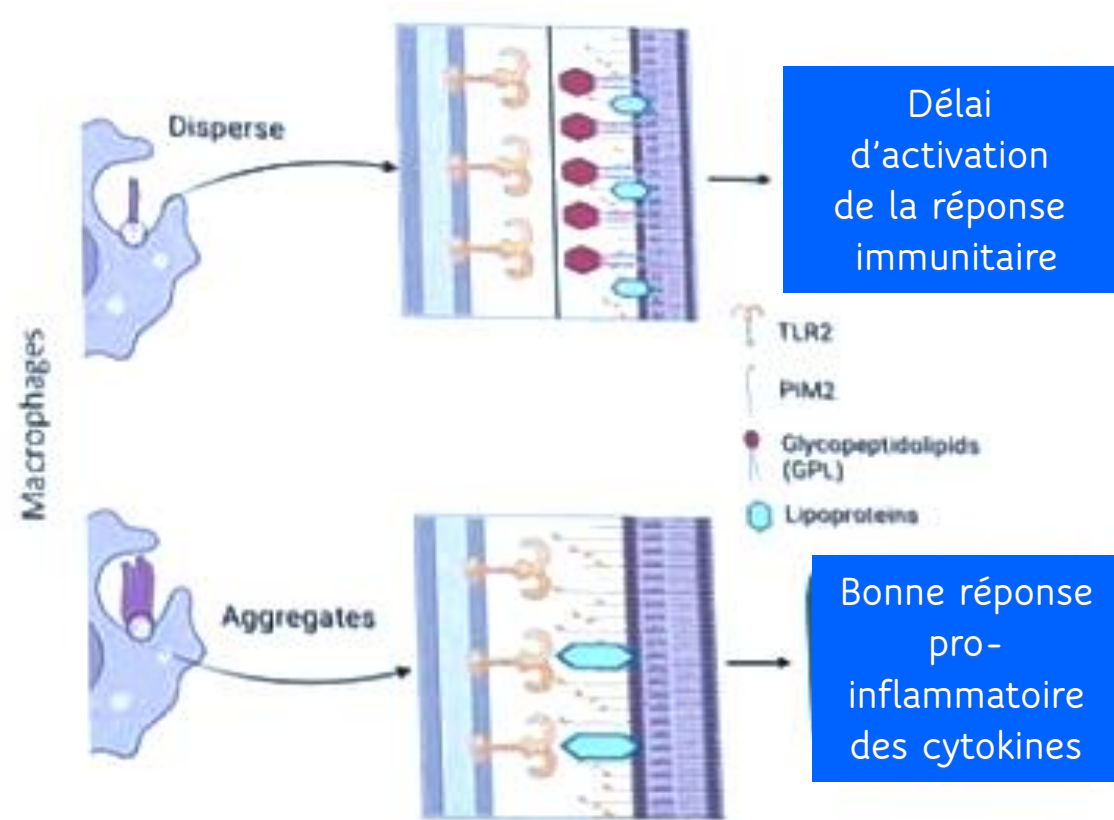
# Objectif 1

## Mycobacterium abscessus : Morphotypes S (Smooth) et R (Rough)

- Les patients infectés avec des souches avec morphotype R sont associés à des caractéristiques cliniques plus défavorables.

*Li B et al, J Infect Dis. 2020*

*Hedin W et al, J Infect Dis. 2023*



*Johansen MD et al, Nar. Rev 2020*

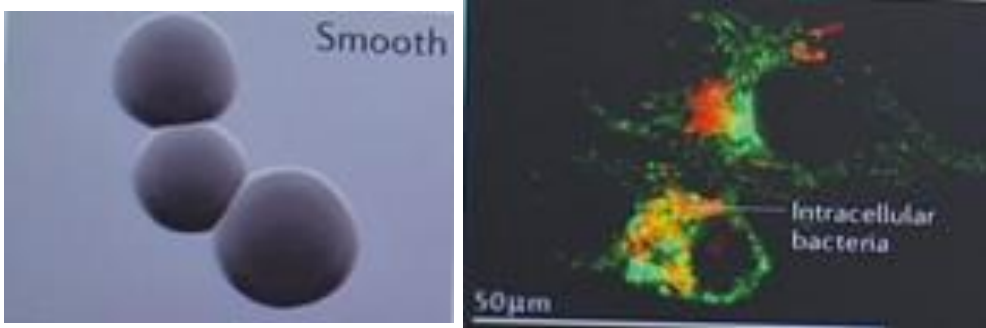
*Gutierrez et al, Front. Microbial, 2018*

*Halloum I, et al, PNAS 2016*

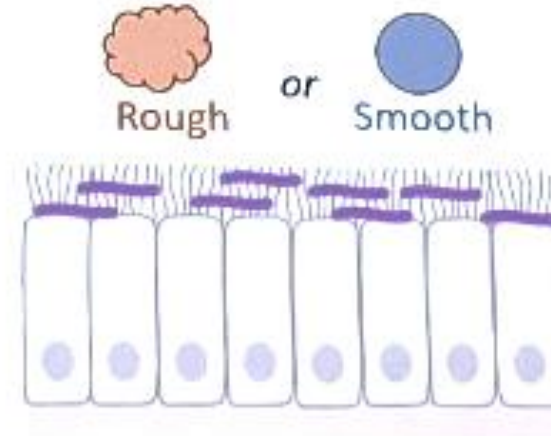
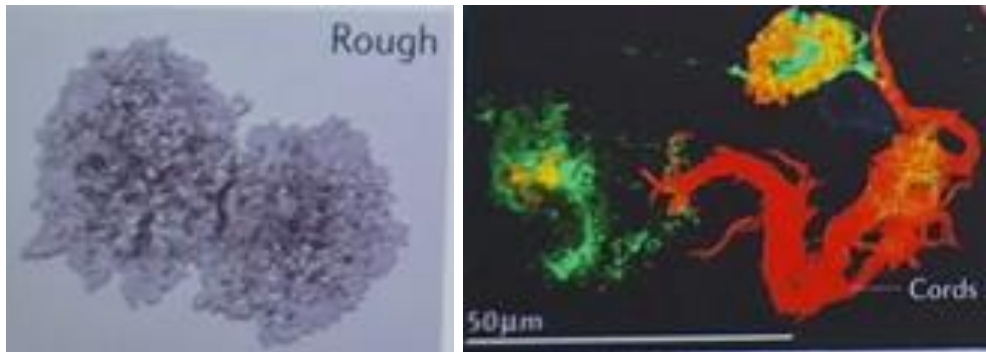
# Objectif 1

*Mycobacterium abscessus* : Morphotypes S (Smooth) et R (Rough)

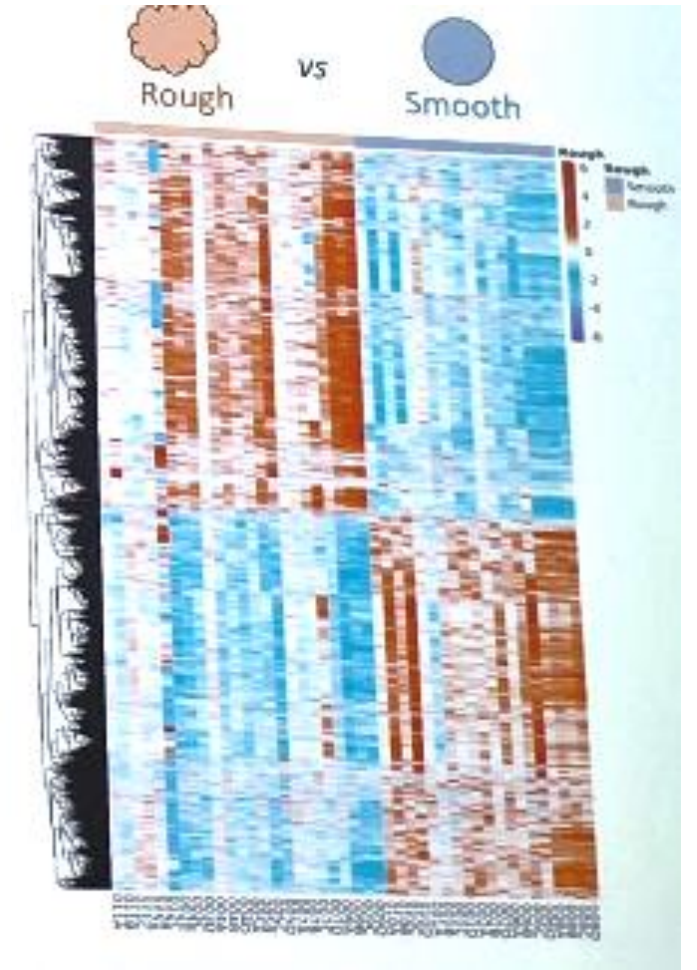
## Production importante de GPL



## Production faible de GPL



- Le profil de transcription de l'hôte



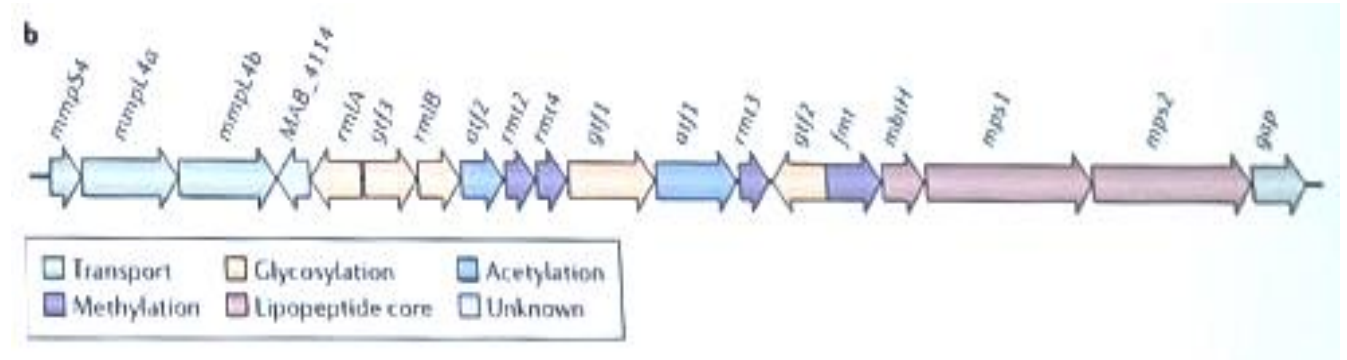
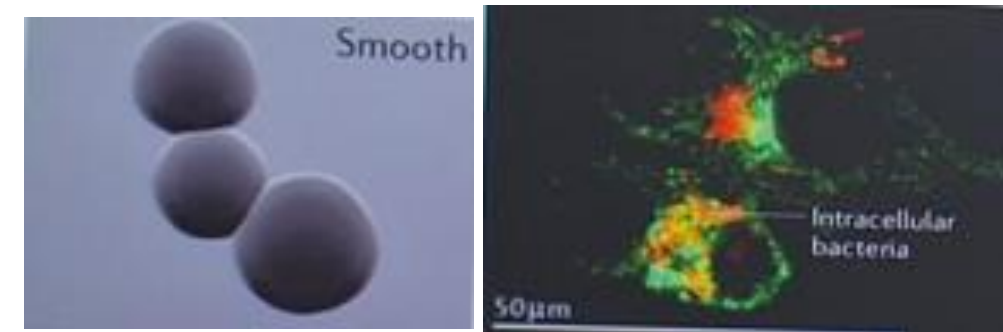
Broggini G, Saliu F, Nicola F. unpublished

# Objectif 1

## Mycobacterium abscessus : Morphotypes S (Smooth) et R (Rough)

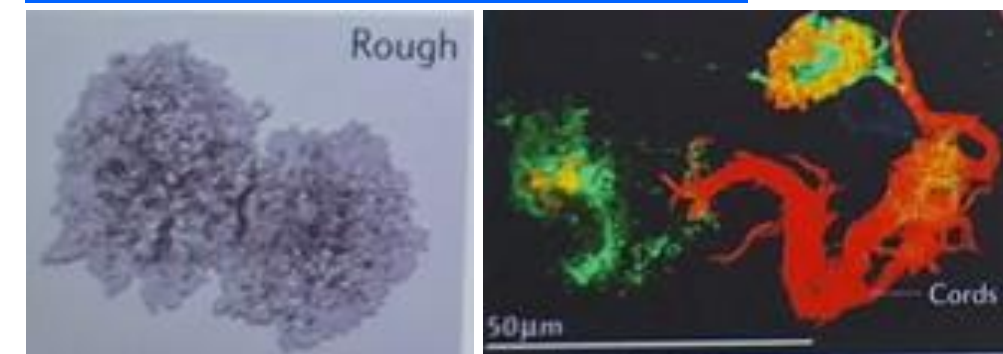


### Production importante de GPL



Adapté de Johansen MD et al, Nat. Rev, 2020

### Production faible de GPL



=> 89 insertions uniques de transposons (79 régions codantes) sont responsables de la transition de morphotype S au morphotype R

Foreman M et al, mSystems, 2020

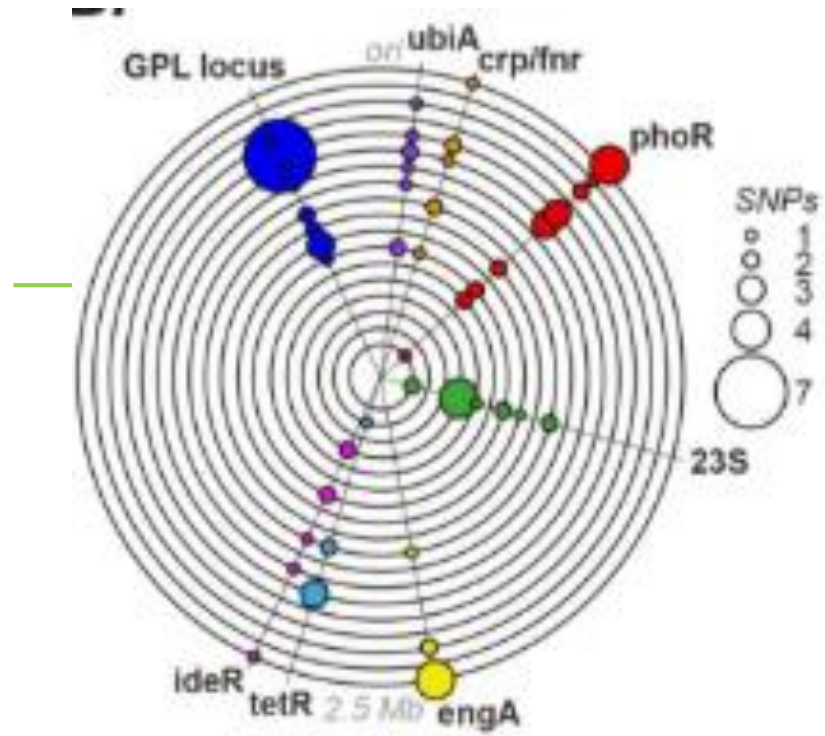
GPL = Glycopeptidolipide

Adapté de Johansen MD et al, Nat. Rev, 2020



# Introduction

## Les facteurs de virulence de *Mycobacterium abscessus* dans la mucoviscidose



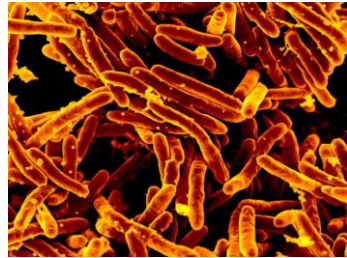
Bryant et al. Science, 2021

- Les auteurs trouvent que ces souches (*M. abscessus* exprimant des variantes de PhoR) sont plus difficilement internalisées par les macrophages et présentent une survie intracellulaire plus importante

Belardinelli JM et al, Microbiol Spectr. 2023

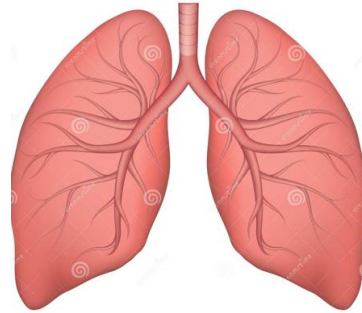
# Objectif et Conclusion 1

Démasquer la persistance de *Mycobacterium abscessus* dans les poumons des personnes vivants avec la mucoviscidose



*Mycobacterium abscessus*

Acquisition et  
persistance du germe



**Colonisation asymptomatique**

Progression de la maladie  
et traitements



**Maladie pulmonaire à mycobactérie  
non tuberculeuse**

1. Les caractéristiques de *M. abscessus* qui mènent à l'infection et à la persistance dans la mucoviscidose
  - Les clones circulants dominants (DCC) sont fréquents dans la mucoviscidose et sont partagés avec d'autres pathologies pulmonaires
  - Les morphotypes et facteurs de virulence associés à la mucoviscidose permettent une persistance chronique
2. Potentiels traitements et perspectives

# Objectif 2

## Infection pulmonaire à *Mycobacterium abscessus* et traitements actuels



### *M. abscessus*

Macrolide susceptible	<p>Initial phase At least 3 of:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>1–2 parenteral: amikacin, imipenem (or cefoxitin), tigecycline</li> <li>2 oral: macrolide (azithromycin or clarithromycin), clofazimine, linezolid</li> </ul> <p>Continuation phase At least 2 of:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2–3 oral or inhaled: macrolide (azithromycin or clarithromycin), clofazimine, linezolid, inhaled amikacin</li> </ul>	Daily (or 3 times per week for parenteral aminoglycosides)
Inducible macrolide resistance	<p>Initial phase At least 4 of</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2–3 parenteral: amikacin, imipenem (or cefoxitin), tigecycline</li> <li>2–3 oral: macrolide (azithromycin or clarithromycin), clofazimine, linezolid</li> </ul> <p>Continuation phase At least 2 of:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2–3 oral or inhaled: macrolide (azithromycin or clarithromycin), clofazimine, linezolid, inhaled amikacin</li> </ul>	Daily (or 3 times per week for parenteral aminoglycosides)
Constitutive macrolide resistance (with or without inducible macrolide resistance)	<p>Initial phase At least 4 of:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2–3 parenteral: amikacin, imipenem (or cefoxitin), tigecycline</li> <li>2–3 oral: macrolide (azithromycin or clarithromycin), clofazimine, linezolid</li> </ul> <p>Continuation phase At least 2 of:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2–3 oral or inhaled: macrolide (azithromycin or clarithromycin), clofazimine, linezolid, inhaled amikacin</li> </ul>	Daily (or 3 times per week for parenteral aminoglycosides)

Kumar K et al, 2022 ERJ

# Objectif 2

## *Mycobacterium abscessus* et résistance aux antibiotiques



- *M. abscessus* est naturellement résistant aux 1ere lignes de traitement antituberculeux et aux principaux antibiotiques utilisés dans les infections respiratoires

*Tunesi S. et al, 2023 Clinical Micro Inf*

- Résistance innée : (enzyme modifiant les antibiotiques, Eis2)

*Sakshi Luthra et al Front. Micro 2018*

- Résistance acquise : mutations spontanées affectant les cibles des antibiotiques

*Tunesi S. et al, 2023 Clinical Micro Inf*

Antimicrobial agents	Innate resistance	Acquired resistance
Aminoglycosides	<i>oac</i> 2 (MAB_4395) <i>eis</i> 2 (MAB_4532c) <i>APH</i> 3 (MAB_2385) <i>whi</i> B7 (MAB_3508c)	<i>rrs</i> (MAB_r5051)
Macrolides	<i>erm</i> 41 (MAB_2297) <i>whi</i> B7 (MAB_3508c) <i>ABC-F</i> (MAB_2355c)	<i>rif</i> (MAB_r5052) <i>whi</i> B7 (MAB_3508c)
Tetracyclines	<i>TetX</i> (MAB_1496c)	MAB_1497c ( <i>MabTetR<sub>s</sub></i> : <i>aTfTR</i> repressor)
Quinolones	<i>gyrA</i> (MAB_0019)	
β-Lactams	<i>Blu_MAB</i> (MAB_2875)	
Rifamycins	<i>Arr_MAB</i> (MAB_0591)	<i>rpoB</i> (MAB_3869c)
Oxazolidinones	MAB_3280 MAB_3817c	
Clofazimine		MAB_2299c MAB_1483 MAB_0540
Bedaquiline		MAB_2299c

*Modifié à partir de Tunesi S. et al, 2023 Clinical Micro Inf*

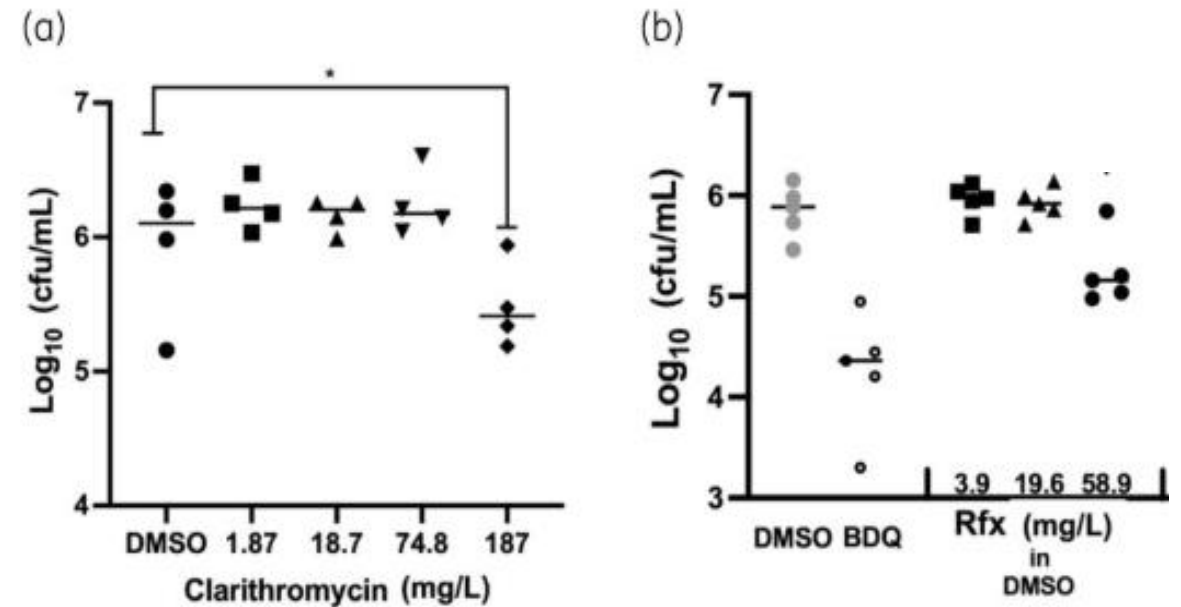


# Objectif 2

## Thérapies combinées expérimentales dans les modèles pré-cliniques contre les infections à *Mycobacterium abscessus*

- Optimiser les combinaisons d'antibiothérapies par la mise en œuvre de stratégies actuelles :  
La Rifaximine potentialise la Clarithromycine contre *M. abscessus* in vitro et chez le poisson-zèbre

Goh BC et al, JAC Antimicrob Resist, 2023



Goh BC et al, JAC Antimicrob Resist, 2023

# Objectif 2

## Thérapies combinées expérimentales dans les modèles pré-cliniques contre les infections à *Mycobacterium abscessus*

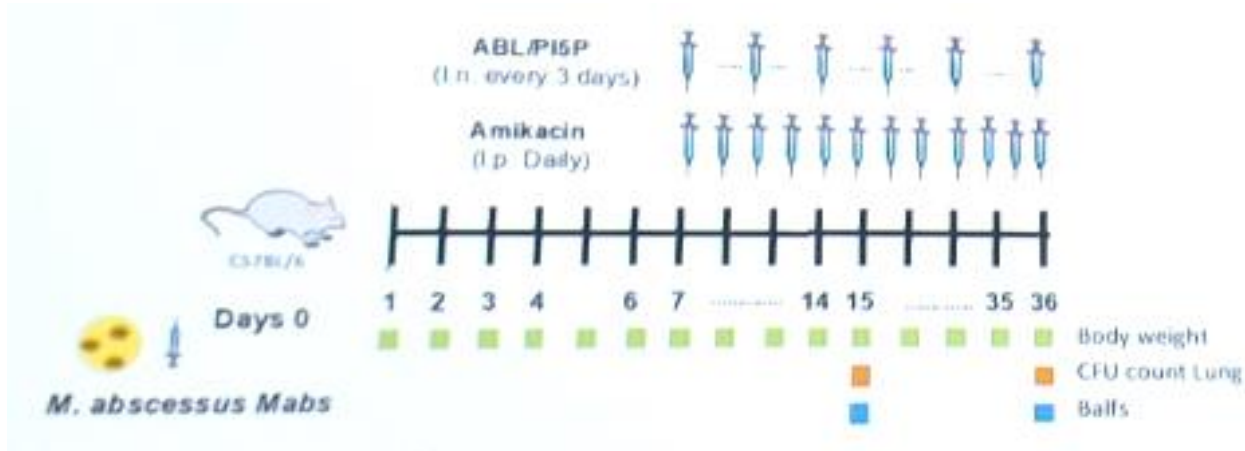


- Optimiser les combinaisons d'antibiothérapies par la mise en œuvre de stratégies actuelles :  
La Rifaximine potentialise la Clarithromycine contre *M. abscessus* in vitro et chez le poisson-zèbre

Goh BC et al, JAC Antimicrob Resist, 2023

Association d'antibiothérapie et de traitements non antibiotiques: Thérapie dirigée contre l'hôte et l'agent pathogène pour la lutte contre les infections à *M. abscessus*

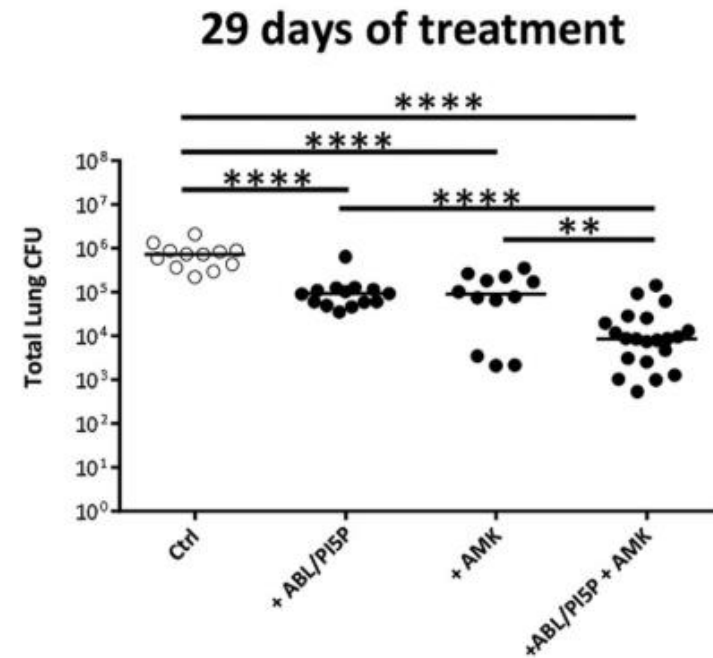
Poerio et al Micro. Spect. 2022



Riva C et al, Int j Mol Sci. 2020

Lorè NI et al, Eur Respir J. 2022

Nicola F. et al, Tuberc. 2023



Poerio et al Micro. Spect. 2022

# Objectif 2



## Thérapies combinées expérimentales dans les modèles pré-cliniques contre les infections à *Mycobacterium abscessus*

- Optimiser les combinaisons d'antibiothérapies par la mise en œuvre de stratégies actuelles : La Rifaximine potentialise la Clarithromycine contre *M. abscessus* in vitro et chez le poisson-zèbre

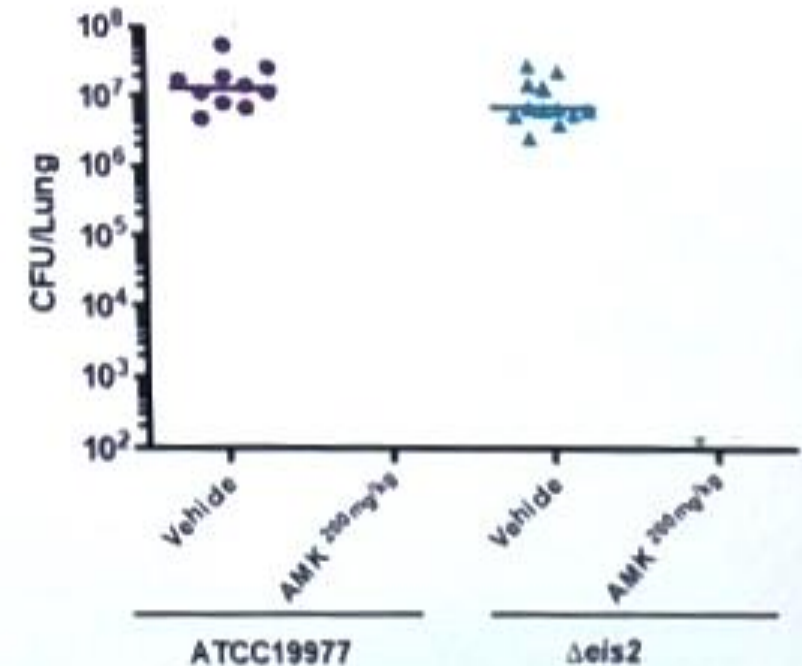
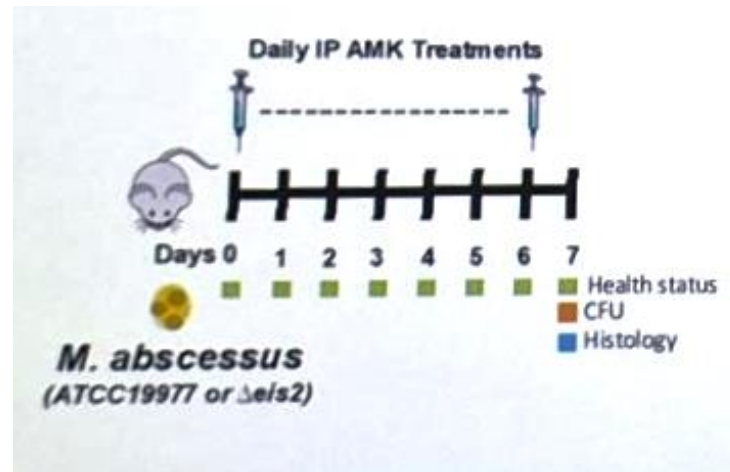
Goh BC et al, JAC Antimicrob Resist, 2023

- Association d'antibiothérapie et de traitements non antibiotiques : Thérapie dirigée contre l'hôte et l'agent pathogène pour la lutte contre les infections à *M. abscessus*

Poerio et al Micro. Spect. 2022

- Nouveaux antibiotiques : l'enzyme Eis2 modifiant les aminoglycosides représentent une potentielle cible in vivo afin de réduire la résistance aux antibiotiques dans les infections complexes à *M. abscessus*

Lorè NI et al, Eur Respir J. 2022

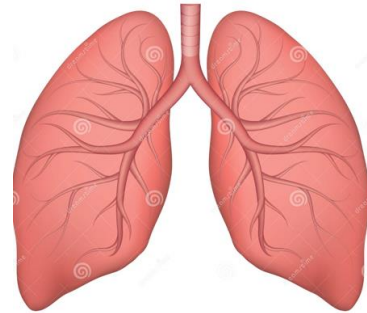


# Objectif et Conclusion 2

## Démasquer la persistance de *Mycobacterium abscessus* dans les poumons des personnes vivants avec la mucoviscidose



Acquisition et  
persistance du germe



**Colonisation asymptomatique**

Progression de la maladie  
et traitements



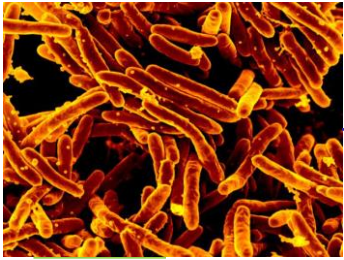
**Maladie pulmonaire à mycobactérie  
non tuberculeuse**

*Mycobacterium abscessus*

1. Les caractéristiques de *M. abscessus* qui mènent à l'infection et à la persistance dans la mucoviscidose
  - Les clones circulants dominants (DCC) sont fréquents dans la mucoviscidose et sont partagés avec d'autres pathologies pulmonaires
  - Les morphotypes et facteurs de virulence associés à la mucoviscidose permettent une persistance chronique
2. Potentiels traitements et perspectives
  - Optimiser les combinaisons d'antibiotiques
  - Thérapies combinées expérimentales
  - Nouveaux antibiotiques

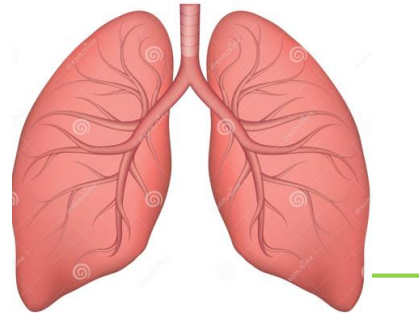
# Perspectives

## Démasquer la persistance de *Mycobacterium abscessus* dans les poumons des personnes vivants avec la mucoviscidose



*Mycobacterium abscessus*

Acquisition et  
persistance du germe



**Colonisation asymptomatique**

Progression de la maladie  
et traitements



**Maladie pulmonaire à mycobactérie  
non tuberculeuse**

1. Les caractéristiques de *M. abscessus* qui mènent à l'infection et à la persistance dans la mucoviscidose
  - L'importance de l'évolution intra-patient dans l'infection et la persistance de *M. abscessus*
  - Le rôle de l'inflammation et des co-infections dans la médiation de la maladie pulmonaire due à *M. abscessus*
  - Les biomarqueurs pour la stratification de la maladie
2. Potentiels traitements et perspectives
  - L'importance de la combinaison de traitements (ETI, antibiotiques et traitements non-antibiotiques)
  - L'utilisation de nouveaux traitements contre *M. abscessus* (phage thérapie ; ciblage des enzymes modifiant les antibiotiques)