

MESA I: TESIS DOCTORALES

Moderadores: **Griselda Tudó.** *Professora Lectora. Unitat de Microbiologia. Depart. Fonaments Clínics. Facultat de Medicina i Ciències Biomèdiques. Universitat de Barcelona. Hospital Clínic-ISGlobal.*
Pere Joan Cardona. *Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol. Badalona.*

New approaches for the future of tuberculosis diagnosis. Interpreting conversations between the host and *Mycobacterium tuberculosis*

Patricia Comella

Universitat Autònoma de Barcelona. Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol. Badalona.

Correspondencia:

Patricia Comella

E-mail: patricia.comella@gmail.com

Tuberculosis (TB) is an airborne disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Last year an estimated 9.9 million new cases of TB were reported and diagnosed, and 1.5 million people died of TB. On top of this, the emergence of COVID-19 has reversed years of global progress in reducing the number of people who die from TB (annex 1). More accurate and accessible non-sputum-based diagnostic methods are needed, especially in low- and middle-income countries, where the greatest burden of disease resides.

There is currently no reference method with sufficient sensitivity to diagnose paediatric TB (annex 2). The first article of this thesis describes a set of cytokines and a series of individual factors identified from serum and plasma samples by immunoassays to assess different discriminant patterns between *M. tuberculosis* infection and disease in children (article 1 and annex 5). As a result, the combination of IP-10, IFN- γ , ferritin and 25(OH)D showed the best diagnostic performance for the development of a promising early TB diagnostic test in children.

Urine is an abundant and non-invasive sample, which would be especially useful in patients unable to expectorate and in individuals with disseminated, extrapulmonary, or non-cavitary disease. Article 2 evaluates the performance of the Fujifilm SILVAMP TB LAM assay (FujiLAM) in patients with presumptive TB, showing good diagnostic accuracy to diagnose HIV-positive

and -negative TB patients. Article 3 evaluates the performance of FujiLAM in children with presumptive TB and suggests its potential as a triage test.

Currently, the development of omics technologies, has allowed the generation of knowledge on the underlying mechanisms of the disease. Article 4 identifies a metabolic profile of TB in urine using high-field nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometry by developing models capable of discriminating all forms of TB. This article also detects the metabolic profile of TB using a low-field portable NMR technology (annex 4). This technology was also applied to identify differences in the metabolic response of children with different TB diagnostic certainty, showing differences in the metabolic fingerprint of children with bacteriologically confirmed and unconfirmed TB compared to children with unlikely TB (article 5 and annex 4).

The last study in this thesis describes the characterization of a urinary metabolic fingerprint of patients successfully responding to TB treatment to provide a baseline for further studies evaluating treatment outcome (article 6). With the emergence of drug-resistant TB and treatment failures, this proof of concept could be used to evaluate the treatment response in patients with poor treatment outcome. Advances in systems biology in relation to TB would address more precisely clinically relevant questions for the future, such as the early diagnosis of TB, the

individualisation of preventive therapies, and the prediction of the outcome of a treatment regimen (annex 3).

Overall, this thesis focuses on describing and evaluating new approaches in the search for potential non-sputum-based

biomarkers contributing to improve future TB diagnosis and the assessment of response to anti-TB treatment.

Models matemàtics per l'estudi de malalties infeccioses: des de la comprensió a la predicció

Martí Català

Centre de Medicina Comparativa i Bioimatge de Catalunya (CMCiB) de l'Institut de Recerca Germans Trias i Pujol (IGTP). Grup en Biologia Computacional i Sistemes Complexos (BIOCOM-SC) de la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). Universitat d'Oxford. Regne Unit.

Correspondència:

Martí Català

E-mail: marticatalasabate@gmail.com

Les malalties transmissibles són una de les principals causes de mortalitat a nivell mundial, es calcula que cada any uns 10 milions de persones moren a causa d'elles. Actualment, la tuberculosi (TB) i la COVID-19 són les dues malalties infeccioses amb un major impacte global. La TB ha tingut un fort impacte, ja que es calcula que ha causat la mort d'uns 40 milions d'individus en els últims 20 anys i 1000 milions al llarg de tota la història. La pandèmia de la COVID-19 també ha tingut un impacte enorme a nivell mundial. Des del seu inici, gener del 2020, ha causat milions de morts i condicionat les vides i el comportament de les persones.

En ciència els models matemàtics i computacionals són una eina fonamental usada per entendre, predir i condicionar la dinàmica d'un sistema en concret. En aquesta tesi es presenta un compendi de cinc articles on s'usen aquests models per entendre i predir les dinàmiques de la tuberculosi i la COVID-19 en diferents escales espai-temps, des de l'evolució de la tuberculosi dins d'un lòbul secundari a la propagació de la COVID-19 en la població mundial.

La TB és una malaltia identificada i caracteritzada des de fa molts anys, tot i així encara hi ha algunes incògnites per resoldre en l'evolució de la seva història natural. Un dels objectius d'aquesta tesi és entendre els mecanismes i processos que faciliten el pas de la infecció latent cap a malaltia activa. També s'han

identificat les particularitats dels 70000 anys de coexistència entre els humans i la TB.

S'ha modelitzat la infecció tuberculosa pulmonar en diferents escales espacials. A nivell alveolar, hem corroborat que el correcte balanç entre la resposta immune i la resposta inflamatòria pot determinar l'evolució de la infecció. A l'escala del lòbul secundari, hem vist que la distància entre la lesió i la membrana pulmonar és un factor important que afecta la mida final de la lesió tuberculosa. A escala del pulmó, s'ha reproduït la hipòtesi dinàmica que ens permet explicar la generació de noves lesions a partir de disseminació bronquial de les lesions inicials. El procés de fusió entre diferents lesions s'ha identificat com a crucial per fer aparèixer lesions més grans i acabar originant la malaltia activa. A més, hem estudiat la coexistència entre els humans i la TB en el Paleolític i el Neolític. La protecció femenina envers la TB s'ha vist que va ser crucial per la supervivència de l'espècie humana, sense aquesta protecció la coexistència no era possible. En el neolític, van aparèixer soques "modernes" que van desplaçar les "antigues". Amb models matemàtics s'ha pogut observar per què aquesta aparició no era possible en el paleolític, ja que aquestes noves soques eren massa agressives.

A l'inici de la pandèmia de COVID-19 no teníem a punt els sistemes de vigilància que havien de servir per controlar i monito-

ritzar la seva evolució. En aquesta tesi hem treballat principalment en dos aspectes per ajudar a la monitorització de la pandèmia: determinar la incidència real de la primera onada i crear un model de prediccions a curt termini.

Aquesta tesi demostra com els models computacionals i matemàtics poden ajudar a predir i entendre millor les característiques de les malalties infeccioses usant com a exemple la tuberculosi i la COVID-19.

Activitat de diferents fàrmacs enfront del complex *Mycobacterium avium-intracellulare* i *Mycobacteroides abscessus* causants d'infecció pulmonar

Elena Portell

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, Universitat de Barcelona. Hospital Clínic de Barcelona-ISGlobal. Agència de Salut Pública de Catalunya. Barcelona.

Correspondència:

Elena Portell

E-mail: elenapb_92@hotmail.com

Introducció: Les infeccions per micobacteris no tuberculosos (MNT) han augmentat globalment. La presentació clínica més habitual és la infecció pulmonar. Els principals MNT involucrats són complex *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAC) i complex *Mycobacteroides abscessus* (MABSC). Els tractaments actualment disponibles són llargs i tenen molts efectes adversos. Es recomana l'administració de combinacions d'antibiòtics per evitar l'aparició de resistències. Molts MNT formen biofilm, presentant així una major resistència i requerint concentracions d'antibiòtic superiors. Un major coneixement de la resposta als antibiòtics i fàrmacs de MAC i MABSC és clau per millorar els resultats dels tractaments.

Objectius: Determinar les concentracions mínimes inhibidores (CMI) i les concentracions mínimes bactericides de diferents antibiòtics enfront MAC i MABSC. Determinar les CMI de diferents pèptids enfront *M. tuberculosis* i *M. avium*. Avaluar l'activitat de l'amikacina/etambutol/claritromicina enfront MAC utilitzant corbes de letalitat. Avaluar l'activitat de l'amikacina/tigeciclina/imipenem i amikacina/tigeciclina/claritromicina enfront MABSC utilitzant corbes de letalitat. Estandarditzar un mètode per avaluar la formació de biofilm en MAC. Avaluar l'activitat de diferents combinacions, incloent antibiòtics i agents antibiofilm, enfront biofilm de MAC.

Resultats: Enfront *M. tuberculosis*, mastoparan i melittin van presentar les millors activitats amb CMI d'entre 32 i 64 µg/ml. Els altres pèptids van presentar CMI superiors (>128 µg/ml). En *M. avium*, l'indolicidin va mostrar la major activitat amb CMI de 128 µg/ml. La resta va presentar CMI >128 µg/ml. Amikacina, etambutol, claritromicina, i particularment amikacina/etambutol/claritromicina van mostrar bona activitat enfront MAC i no es va observar antagonisme. En MABSC, l'antibiòtic individual més actiu va ser l'amikacina seguit d'imipenem i claritromicina. Les combinacions van mostrar una activitat similar així com l'absència d'activitat antagònica. Pel que fa al biofilm, es van observar diferències entre *M. avium* i *M. intracellulare*, produint *M. avium* un biofilm més fort. El 82% dels *M. avium* i 62% dels *M. intracellulare* van formar un biofilm moderat o fort. Contràriament, el 18% dels *M. avium* i el 38% dels *M. intracellulare* no van produir biofilm o aquest era feble. Les concentracions mínimes inhibidores de biofilm van disminuir en afegir agents antibiofilm als antibiòtics. Claritromicina/amikacina i claritromicina/etambutol van resultar sinèrgiques, disminuint les concentracions mínimes d'eradicació de biofilm.

Conclusions: Els pèptids són alternatives prometedores per al tractament de les infeccions micobacterianes. Tanmateix,

podrien exhibir una major activitat i combinar-los amb antibiòtics és de gran interès. La combinació amikacina/etambutol/claritromicina va presentar activitat superior enfront *M. intracellulare* que *M. avium*, remarcant la importància d'identificar cada espècie de MAC. La combinació amb l'imipenem no és una alternativa enfront *M. abscessus subsp. abscessus* sensible a claritromicina

però hauria de ser més estudiada enfront soques resistents a la claritromicina. Un nombre significatiu de MAC produeix biofilm i el mètode estandarditzat va mostrar una bona reproductibilitat. L'addició d'agents antibiofilm als antibiòtics va presentar sinèrgia enfront MAC. Aquests compostos podrien actuar enfront al biofilm i facilitar l'activitat dels antibiòtics.
