

IZS

T E R A M O

/

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPOREALE"

Fago-terapia contro batteri ESKAPE: risultati preliminari e prospettive future (FaTe)

IZS AM 01/24 RC

CIFIV, 11 giugno 2026

U. O. coinvolte

1 IMS	IZS AM- Igiene e tecnologie degli alimenti	Giuseppe Aprea
2 IMS	IZS AM - Biologia Molecolare e Tecnologie Omiche (GENPAT-CRN Sequenze genomiche)	Valentina Curini
3 IMS	IZS AM- Batteriologia e Igiene delle Produzioni Lattiero-Casearie	Lisa Di Marcantonio
4 IMS	IZS AM - Reparto di Allevamento e sperimentazione animale	Ludovica Di Renzo
5 IMS	IZS AM - Produzione Vaccini Virali e Presidi Diagnostici	Anna Serroni
6 IMS	IZS AM - Sezione Avezzano	Stefania Salucci
7 IMS	IZS AM - Sezione Pescara	Michela Toro

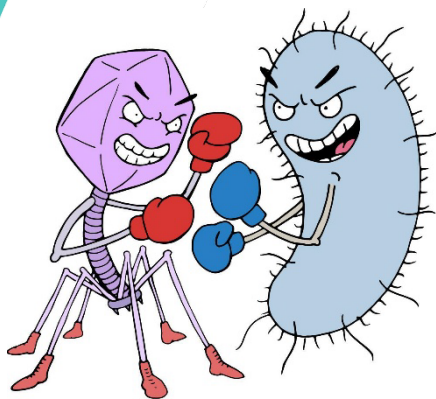
Obiettivi:

- Isolare, caratterizzare e testare **batteriofagi litici**, attivi contro ceppi ESKAPE MDR, in particolare *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *P. aeruginosa*, allo scopo di costituire una collezione di fagi da impiegare in fago-terapia;
- Individuare e produrre endolisine da utilizzare in alternativa e/o in associazione con i fagi;
- Valutare la capacità della terapia fagica *in vivo* su modello animale.

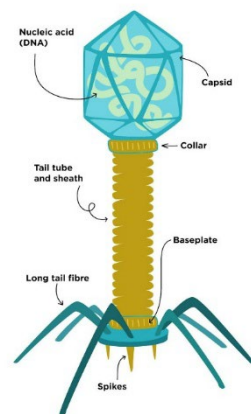
IZS

T E R A M O

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPOREALE"



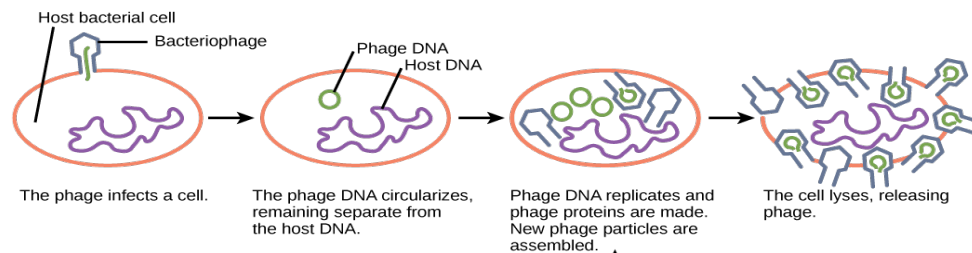
BACTERIOPHAGE



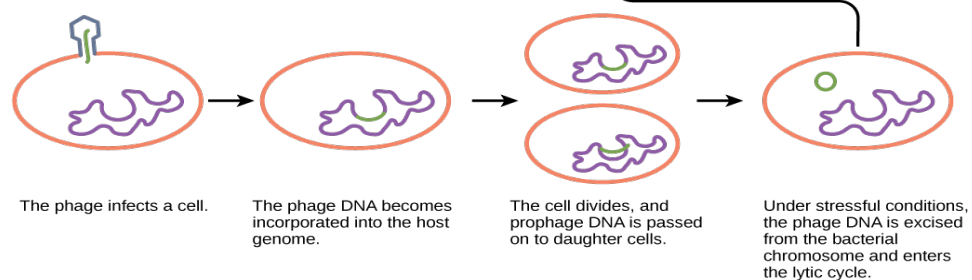
VS

- E** *Enterococcus faecium*
- S** *Staphylococcus aureus*
- K** *Klebsiella pneumoniae*
- A** *Acinetobacter baumannii*
- P** *Pseudomonas aeruginosa*
- E** *Enterobacter* spp.

Lytic cycle



Lysogenic cycle



Klebsiella pneumoniae → 6 ceppi MDR

ID	NRG	ST	Reparto	Ospedale	Resistenze
KP1	2024.TE.13869.1.2	512	Pneumologia Degenza	Teramo	Aminoglicosidi, Penicilline, Cefalosporine, Chinoloni, Carbapenemi, Sulfamidici, Nitrofurani
KP2	2024.TE.13887.1.2	101	Ortopedia e Traumatologia	Teramo	Aminoglicosidi, Penicilline, Cefalosporine, Chinoloni, Carbapenemi
KP3	2024.TE.13863.1.2	307	Lungodegenza	Atri (TE)	Cefalosporine, Chinoloni, Carbapenemi, Fosfomicina
KP4	2024.TE.31731.1.2	437	ADI Atri	Atri (TE)	Aminoglicosidi, Penicilline, Cefalosporine, Chinoloni, Carbapenemi, Sulfamidici, Nitrofurani
KP5	2025.TE.548.1.2	502	Chirurgia Generale Degenza	Teramo	Penicilline, Cefalosporine, Carbapenemi
KP6	2024.TE.11538.1.2	2502	CP	Atri (TE)	Cefalosporine, Chinoloni, Carbapenemi, Sulfamidici, Fosfomicina

Acinetobacter baumannii → 7 ceppi MDR

ID	NRG	cgMLST	Reparto	Ospedale	Resistenze
AB1	2025.TE.15655.1.2	nd	Malattie infettive	Avezzano (AQ)	Aminoglicosidi, Carbapenemi, Cefalosporine
AB2	2024.TE.20328.1.2	SC6	Medicina	Sant’Omero (TE)	Aminoglicosidi, Carbapenemi, Cefalosporine, Fosfomicina, Chinoloni, Sulfamidici, Tetraciline
AB3	2025.TE.13142.1.2	SC6	Rianimazione	Sant’Omero (TE)	Aminoglicosidi, Carbapenemi, Cefalosporine, Fosfomicina, Macrolidi, Macrolidi/Streptogramine, Chinoloni, Sulfamidici, Tetraciline
AB4	2024.TE.20300.1.2	SC4	Rianimazione Generale	Teramo	Aminoglicosidi, Carbapenemi, Cefalosporine, Fosfomicina, Macrolidi, Macrolidi/Streptogramine, Chinoloni, Sulfamidici, Tetraciline
AB5	2025.TE.3278.1.2	SC1	Medicina	Teramo	Aminoglicosidi, Carbapenemi, Cefalosporine, Macrolidi, Macrolidi/Streptogramine, Chinoloni, Sulfamidici
AB6	2025.TE.1057.1.2	SC8	Rianimazione	Giulianova (TE)	Aminoglicosidi, Beta-lattamici, Carbapenemi, Cefalosporine, Fosfomicina, Macrolidi, Macrolidi/Streptogramine, Chinoloni, Sulfamidici, Tetraciline, Sulbactam/durlobactam
AB7	2025.TE.5031.1.2	SC3	Pneumologia	L’Aquila	Aminoglicosidi, Carbapenemi, Cefalosporine, Fosfomicina, Macrolidi, Macrolidi/Streptogramine, Chinoloni, Sulfamidici

Pseudomonas aeruginosa → 7 ceppi MDR

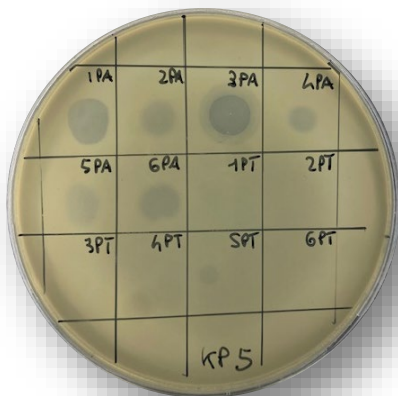
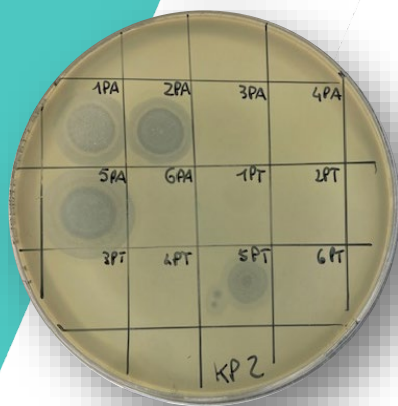
ID	NRG	ST	Reparto	Ospedale	Resistenze
PA1	2024.TE.2540	308	Medicina Interna	L’Aquila	Carbapenemi, Cefalosporine, Penicilline
PA2	2024.TE.2538	308	/	L’Aquila	Carbapenemi, Cefalosporine
PA3	2024.TE.29530	1480	Rianimazione	L’Aquila	Carbapenemi, Cefalosporine, Penicilline
PA4	2025.TE.22584	235	Rianimazione	Giulianova (TE)	Carbapenemi, Inibitori β-lattamasi
PA5	2024.TE.20451	/	RSA	Castilenti (TE)	Carbapenemi
PA6	2025.TE.18091	611	Pronto Soccorso	Giulianova (TE)	Inibitori β-lattamasi
PA7	2024.TE.15433		Medicina	Teramo	Polimixine

Matrice di isolamento: acque reflue urbane

Isolamento diretto

Filtrazione acqua reflua
con filtri 0,45 µm

SPOT ASSAY



Isolamento dopo pre-arricchimento

Filtrazione acqua reflua con filtri 0,45 µm

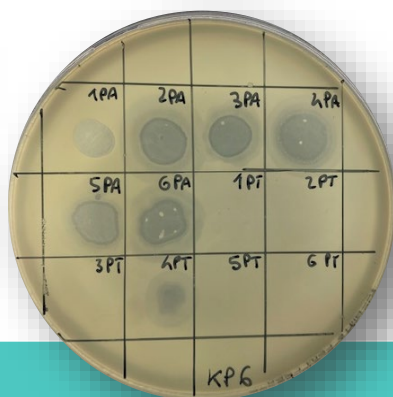
acqua reflua filtrata + terreno di coltura

mix di ospiti batterici (1:10 rispetto al volume totale)

Incubazione a 37° C overnight

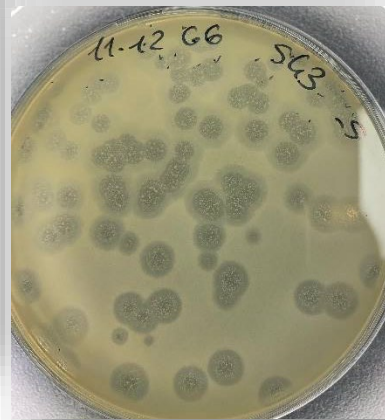
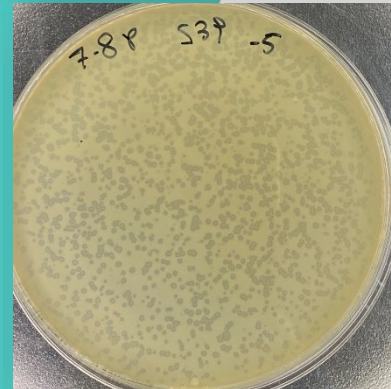
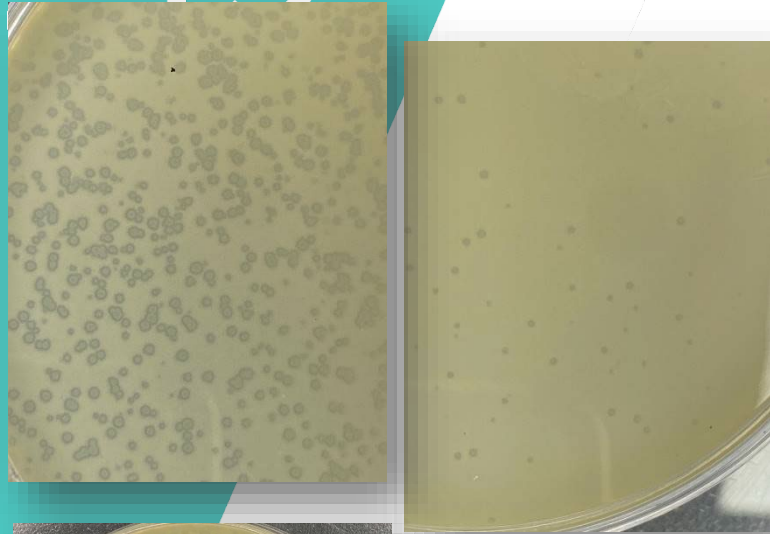
Filtrazione con filtri 0,45 µm

SPOT ASSAY



Propagazione e Purificazione

In caso di positività, l'area di lisi (spot) viene prelevata con un'ansa, eluita e filtrata con filtri da 0,45 μm .



Propagazione con ceppo ospite

Diluizioni seriali 1:10

saggio delle placche

Individuare e prelevare singole placche (con diversa morfologia, se presente) ed eluire singolarmente.

Ripetere almeno tre volte o fin quando non si otterranno placche della stessa morfologia.

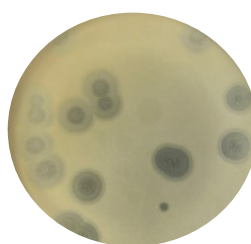
- **Spettro d'ospite** → capacità di ciascun fago di infettare ceppi batterici diversi dal suo ospite di propagazione
- **Sequenziamento completo del genoma (WGS)** → classificazione dei fagi dal punto di vista tassonomico ed evolutivo; verificare l'assenza di geni associati a virulenza, antibiotico-resistenza o lisogenia
- **Burst Size** → numero di nuovi virioni prodotti da ciascuna cellula batterica infettata
- **Multiplicity Of Infection (MOI)** → rapporto ottimale tra fagi e cellule batteriche
- **Stabilità pH e Temperatura** → valutazione della stabilità dei fagi in differenti condizioni ambientali e di conservazione
- **Attività batteriolitica** → valutazione della capacità dei fagi di ridurre o rallentare la crescita batterica nel tempo

Batteriofagi contro *Klebsiella pneumoniae*

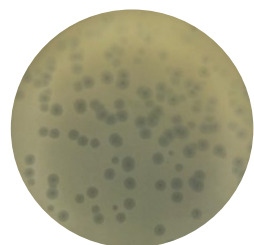
		BATTERIOFAGI											
	NRG	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>K. pneumoniae</i>	2024.TE.13869.1.2 (KP1)												
	2024.TE.13887.1.2 (KP2)												
	2024.TE.13863.1.2 (KP3)												
	2024.TE.31731.1.2 (KP4)												
	2025.TE.548.1.2 (KP5)												
	2024.TE.11538.1.2 (KP6)												



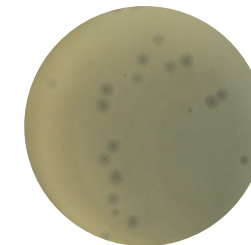
2024.TE.12369



2024.TE.12370



2024.TE.12371



2024.TE.12372

1. 2024.TE.12369.1.1
2. 2024.TE.12364.1.1
3. 2024.TE.12365.1.1
4. 2024.TE.12363.1.1
5. 2024.TE.12362.1.1
6. 2024.TE.12370.1.1
7. 2024.TE.12371.1.1
8. 2024.TE.12372.1.1

Batteriofagi contro *Acinetobacter baumannii*

	NRG	BATTERIOFAGI			
		1	2	3	4
<i>A. baumannii</i>	2025.TE.15655.1.2 (AB 1)				
	2024.TE.20328.1.2 (AB 2)				
	2025.TE.13142.1.2 (AB 3)				
	2024.TE.20300.1.2 (AB 4)				
	2025.TE.3278.1.2 (AB 5)				
	2025.TE.1057.1.2 (AB 6)				
	2025.TE.5031.1.2 (AB 7)				

- 2026.TE.10757
- 2026.TE.10767
- 2026.TE.10762
- 2026.TE.10819

Batteriofagi contro *Pseudomonas aeruginosa*

	NRG	BATTERIOFAGI								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>P. aeruginosa</i>	2024.TE.2540 (PA1)									
	2024.TE.2538 (PA2)									
	2024.TE.29530 (PA3)									
	2025.TE.22584 (PA4)									
	2024.TE.20451 (PA5)									
	2025.TE.18091 (PA6)									
	2024.TE.15433 (PA7)									

- 2026.TE.10756
- 2026.TE.10760
- 2026.TE.10761
- 2026.TE.10763
- 2026.TE.10764
- 2026.TE.10765
- 2026.TE.10766
- 2026.TE.10768
- 2026.TE.10820

WGS – Analisi Filogenetica – Fagi *K. pneumoniae*



2024.TE.12362

2024.TE.12363

2024.TE.12364

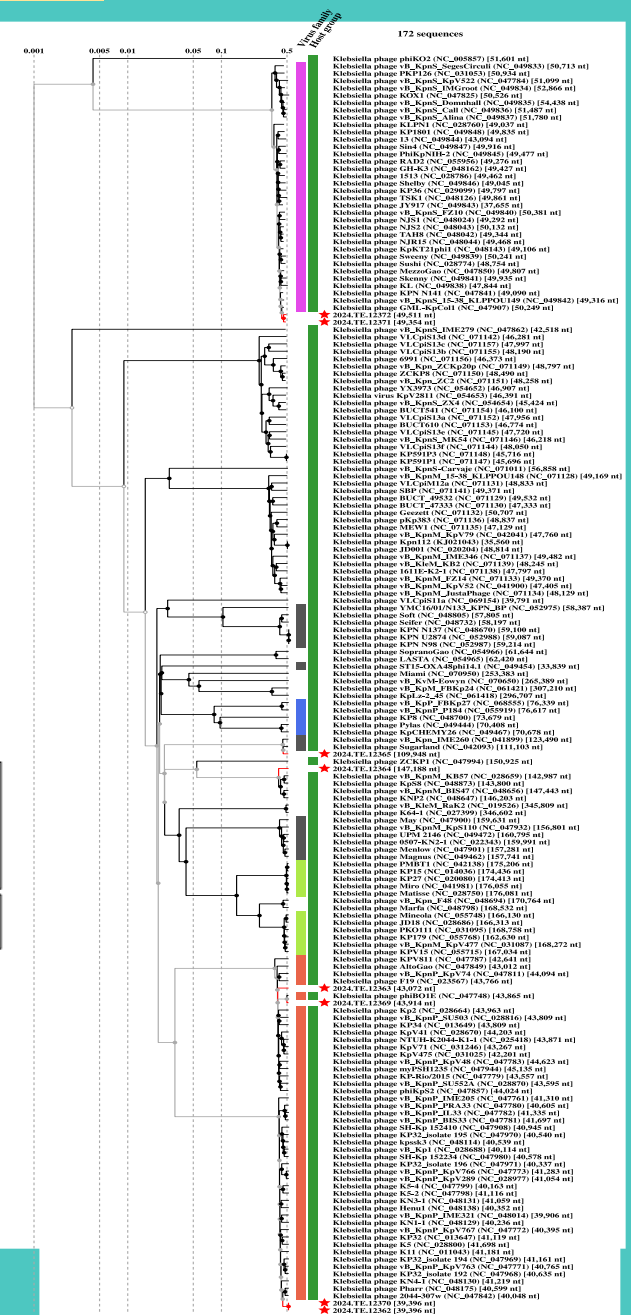
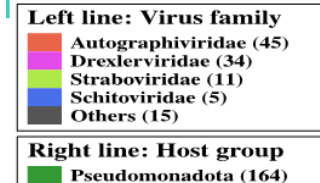
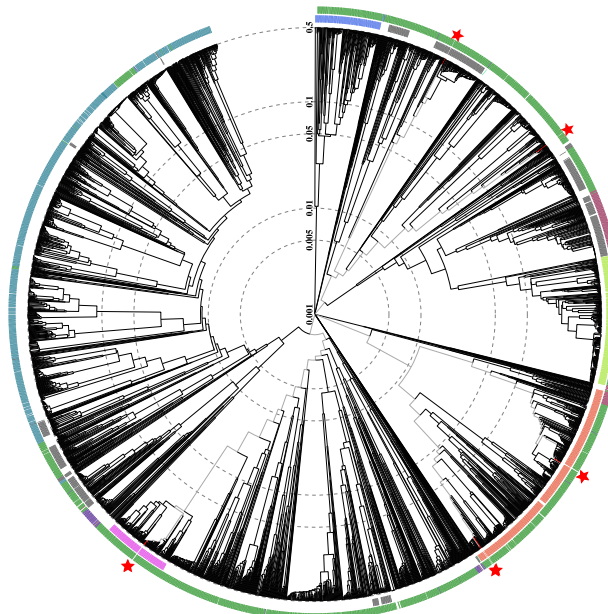
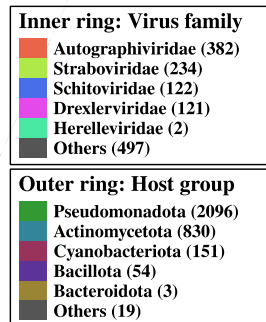
2024.TE.12365

2024.TE.12369

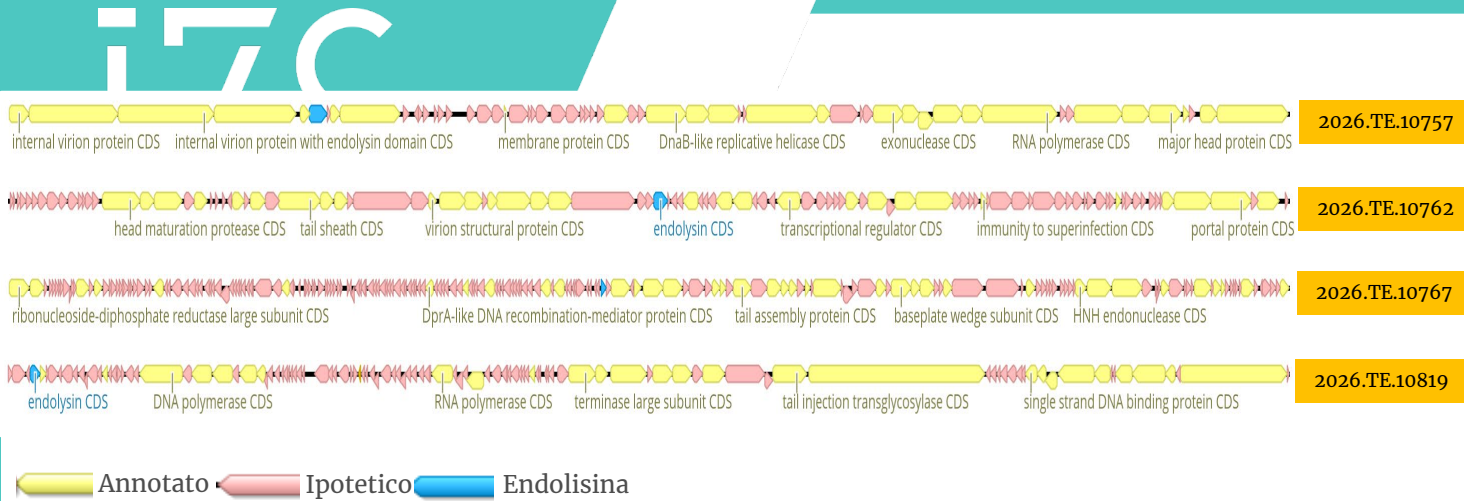
2024.TE.12370

2024.TE.12371

2024.TE.12372



WGS – Analisi Filogenetica – Fagi *A. baumannii*

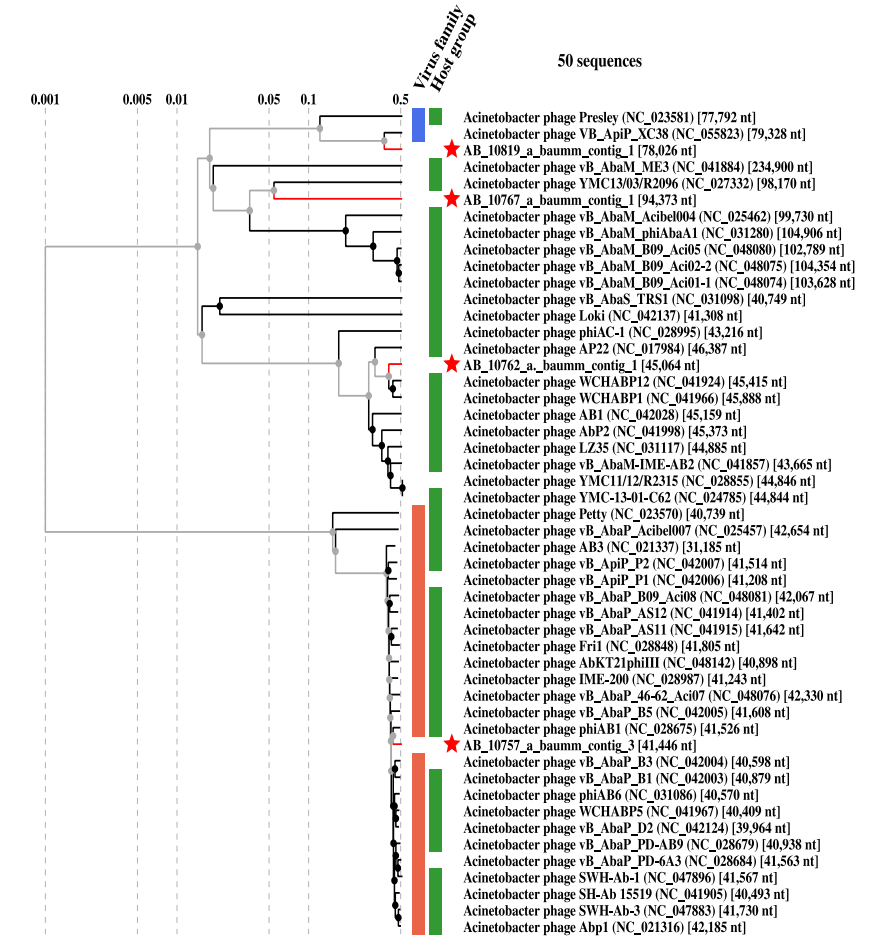
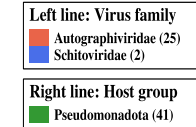
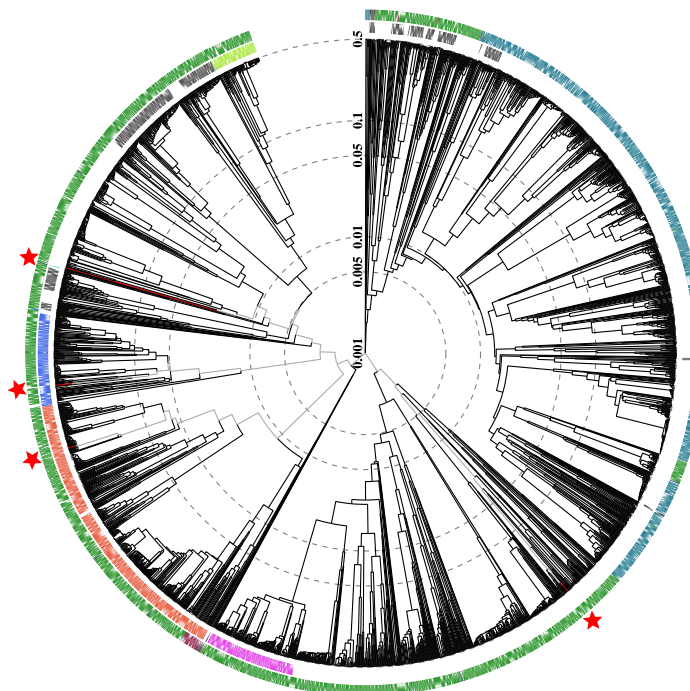
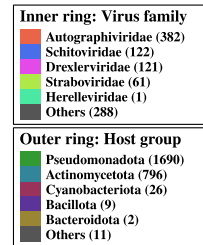


2026.TE.10757

2026.TE.10762

2026.TE.10767

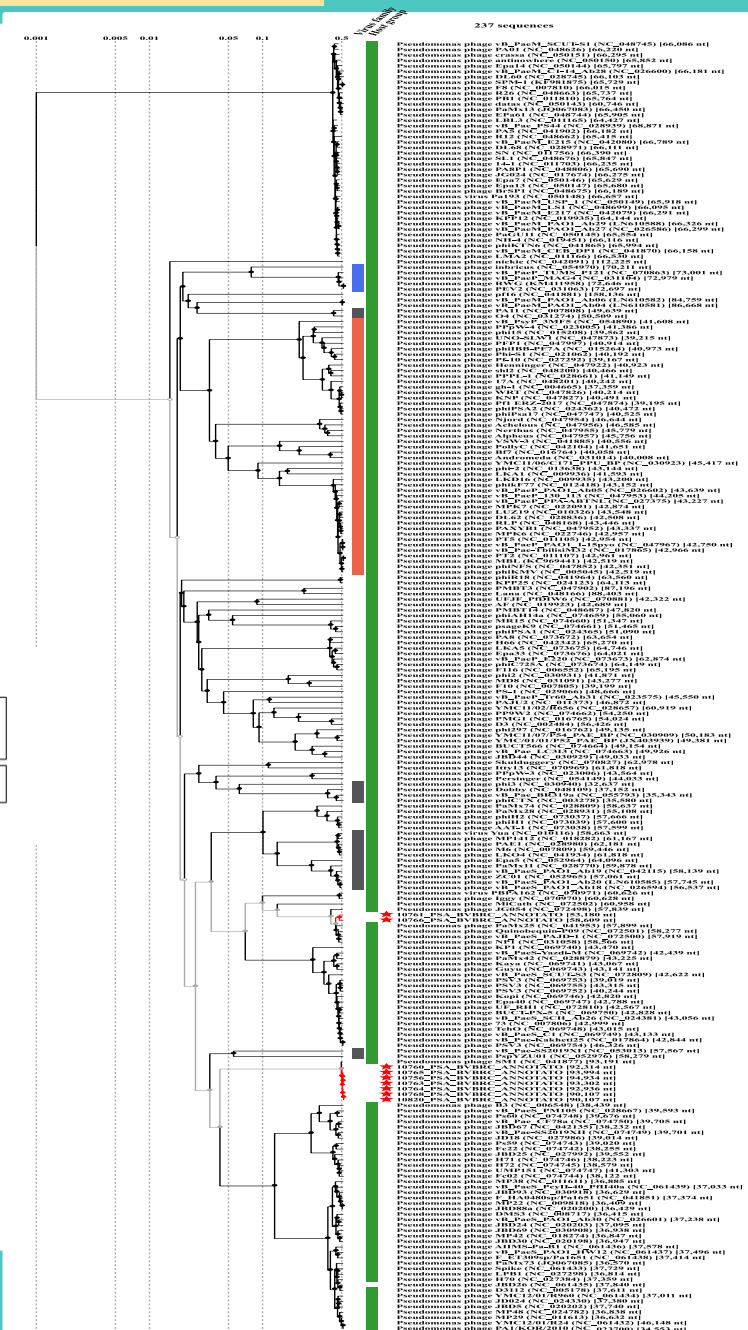
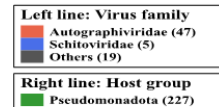
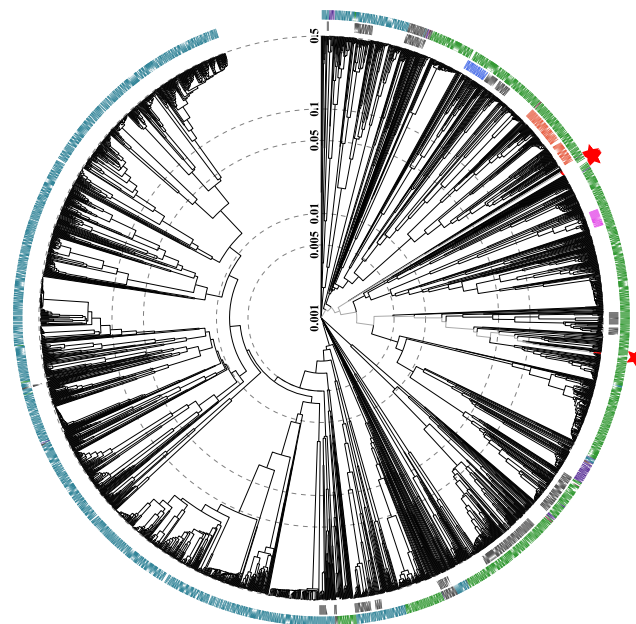
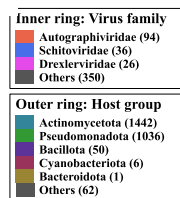
2026.TE.10819



WGS – Analisi Filogenetica – Fagi *P. aeruginosa*



Annotato Ipotetico Endolisina



Caratterizzazione *in vitro*: fagi vs *K. pneumoniae*

Multiplicity Of Infection (MOI)

Rapporto tra la concentrazione di batteriofagi
e la concentrazione di cellule batteriche

Replicazione migliore a basse MOI (0.1, 0.01)

Burst size:

numero di virioni liberati da ciascuna cellula
infettata. Efficienza replicativa del fago

2024.TE.12362: ~ 111 fagi/cellula infettata

2024.TE.12363: ~ 45 fagi/cellula infettata

2024.TE.12364: ~ 25 fagi/cellula infettata

2024.TE.12365: ~ 100 fagi/cellula infettata

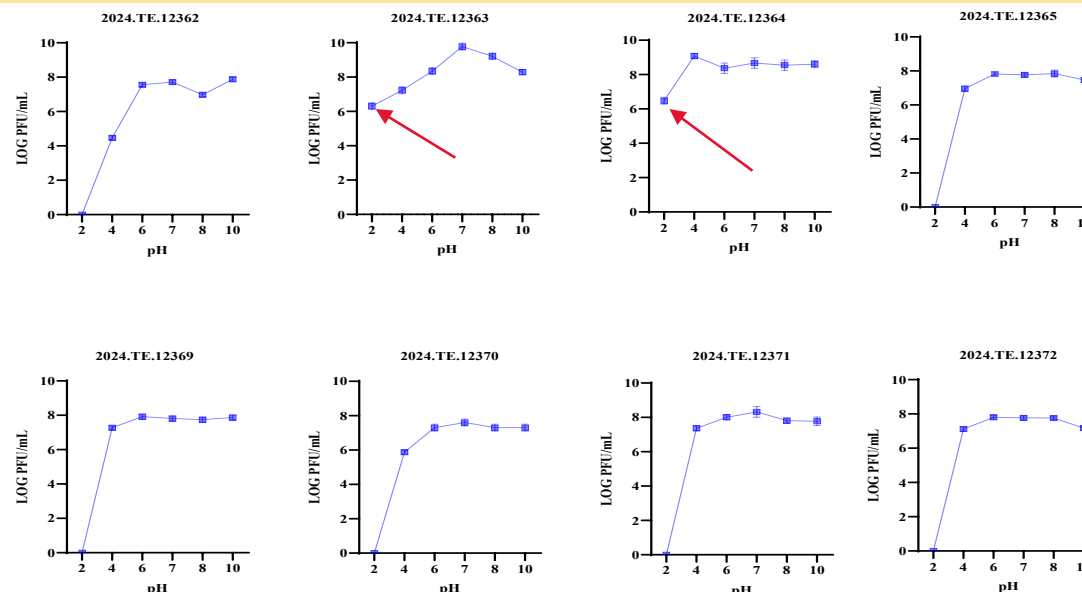
2024.TE.12369: ~ 129 fagi/cellula infettata

2024.TE.12370: ~ 400 fagi/cellula infettata

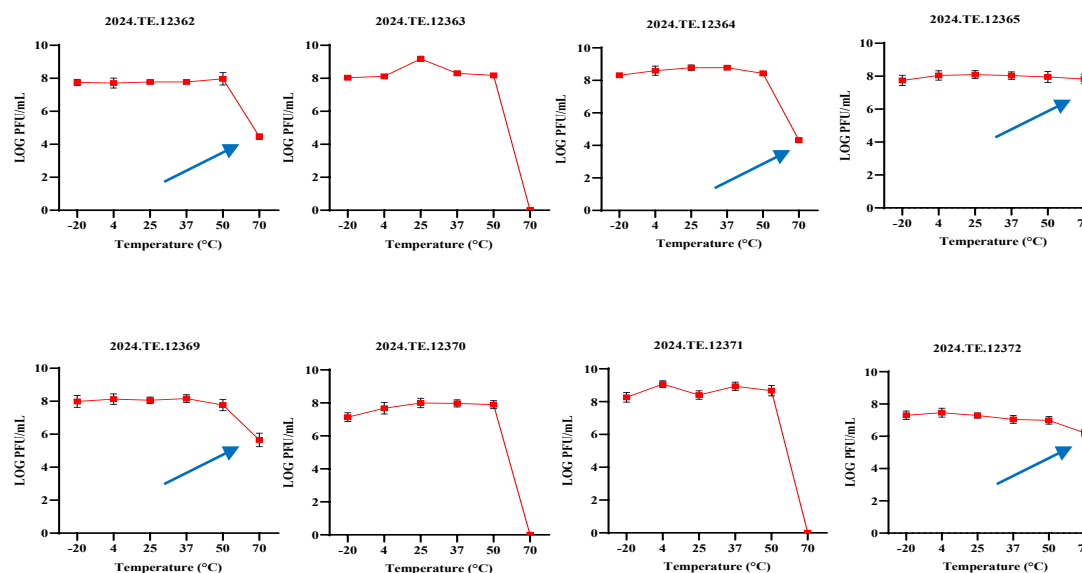
2024.TE.12371: ~ 1570 fagi/cellula infettata

2024.TE.12372: ~ 83 fagi/cellula infettata

Stabilità pH (2,4,6,7,8,10)

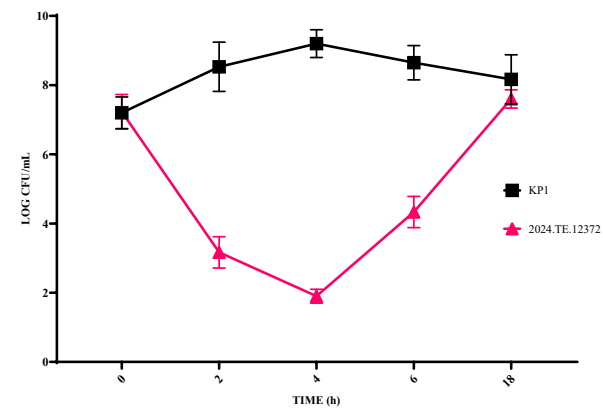
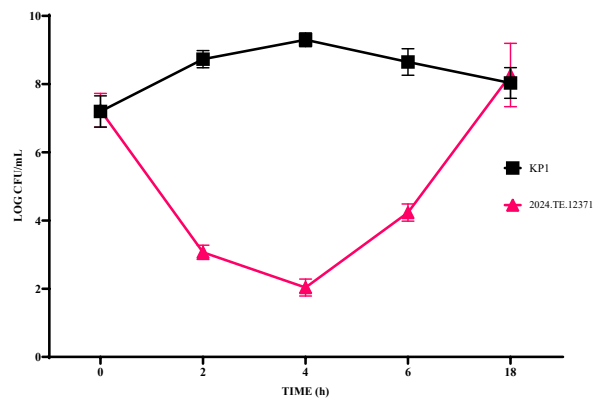
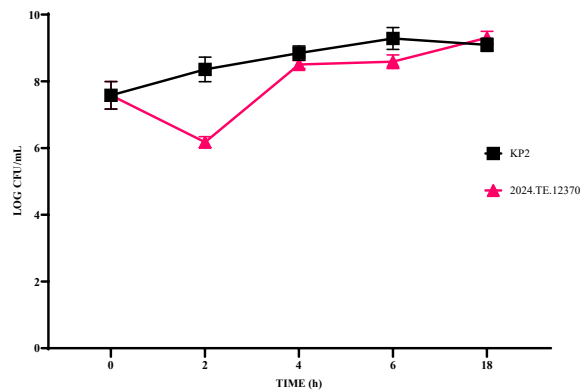
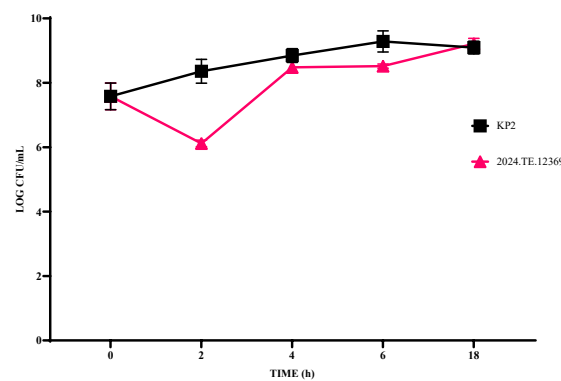
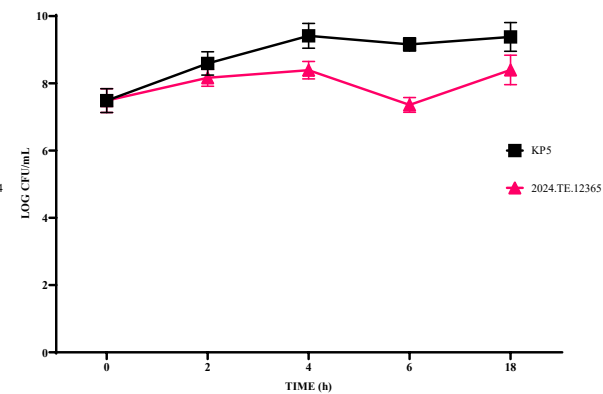
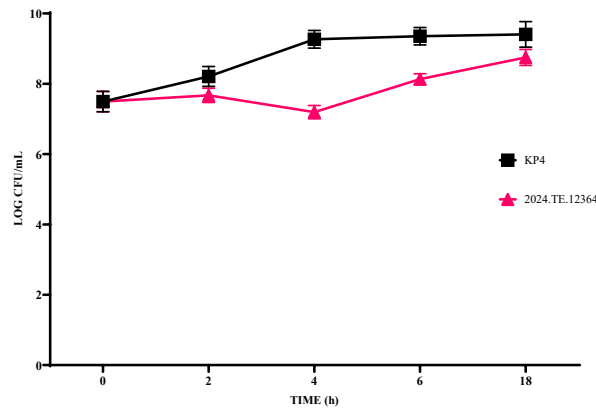
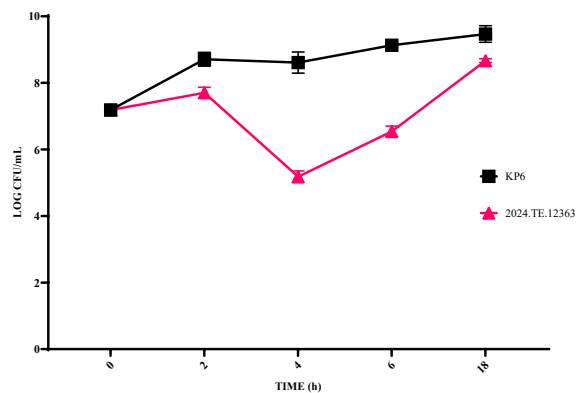
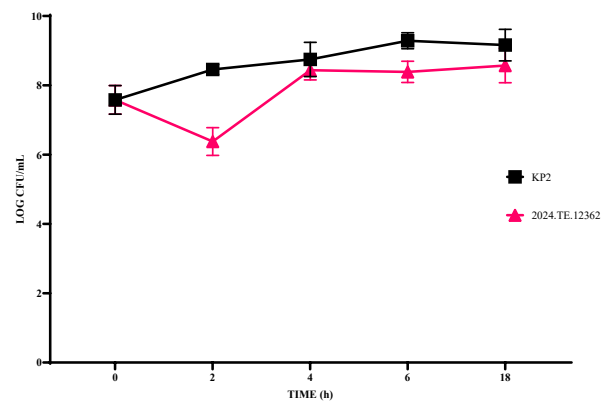


Stabilità Temperatura (-20, 4, 25, 37, 50, 70 °C)



Caratterizzazione *in vitro*: fagi vs *K. pneumoniae*

Attività Batteriolitica

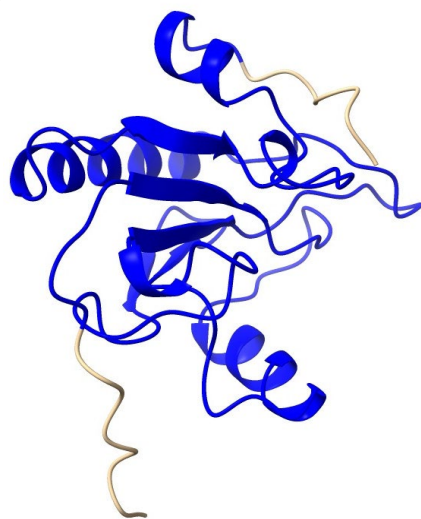
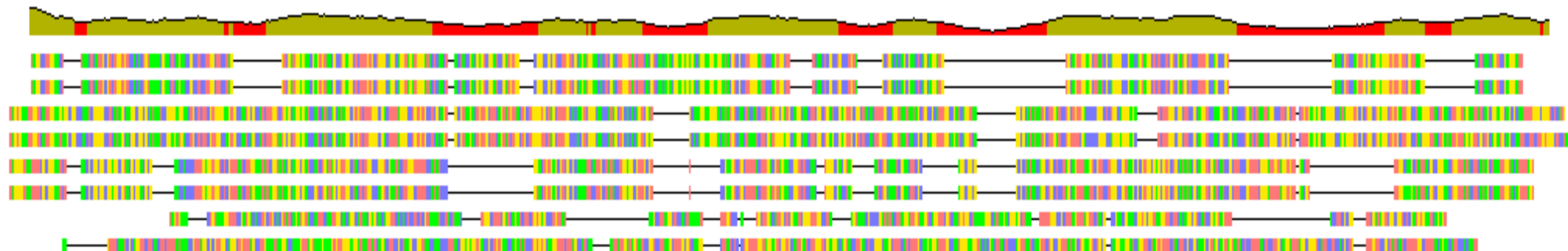


Caratterizzazione *in vitro*: fagi vs *K. pneumoniae*

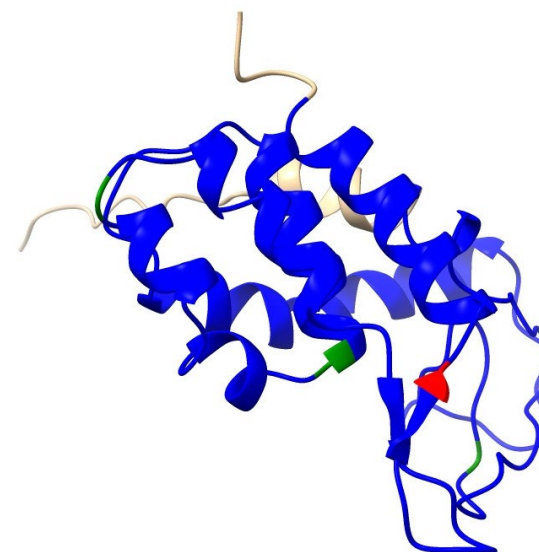
Endolisine

Identity

2024.TE.12370_Phage endolysin CDS 1
2024.TE.12362_Phage endolysin CDS
2024.TE.12363_Phage endolysin CDS 1
2024.TE.12369_Phage endolysin CDS 1
2024.TE.12372_Phage endolysin CDS 1
2024.TE.12371_Phage endolysin CDS 1
2024.TE.12365_Phage endolysin CDS 1
2024.TE.12364_Phage endolysin CDS 1



2024.TE.12362



2024.TE.12372

Attività in corso

Caratterizzazione completa fagi *A. baumannii* e *P. aeruginosa*

Efficacia batteriofagi su modelli *in vivo*:
larve di *Galleria mellonella*
Topo



Caratterizzazione ed efficacia endolisine prodotte

IZS

T E R A M O

/

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

**Grazie per
l'attenzione**

