

Forskningsprojekter der har modtaget økonomisk støtte fra Cystisk Fibrose Foreningen i 2016

Forekomst af hypermuterende *Achromobacter* bakterier hos cystisk fibrose patienter



Winnie Ridderberg et al.

Molekylær Biolog

Klinisk Mikrobiologisk Afdeling Aarhus Universitetshospital Skejby

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Hypermuation er kendetegnet ved at en bakterie ophober et stort antal mutationer. Hypermuation ses ofte hos bakterier, der udsættes for stress, fx. fra antibiotika kure, immunsystemet eller andre mikroorganismer. Forskning tyder på at hypermutation kan spille en væsentlig rolle for bakteriers evne til at tilpasse sig nye eller omskiftelige omgivelser, fx. en cystisk fibrose lunge, samt for udvikling af antibiotika resistens. Formålet med dette studie har været, at undersøge hyppigheden af hypermuterende *Achromobacter* hos patienter tilknyttet Cystisk Fibrose Centret i Aarhus.

Vi har undersøgt 90 *Achromobacter* isolater fra 42 cystisk fibrose patienter og fandt at 26% af patienterne bar hypermuterende isolater. 44% af de undersøgte isolater var hypermuterende. Undersøgelsen viste dog også at størstedelen af de hypermuterende isolater tilhører den Danske Epidemiske Stamme, DES. DES er en usædvanlig *Achromobacter* stamme, der findes hos patienter på begge danske Cystisk Fibrose på hhv. AUH Skejby og Rigshospitalet. Alle DES isolater var hypermuterende, hvilke kunne tyde, på at hypermutation er en betydende faktor for denne stammes evne til at sprede sig, etablere kronisk infektion og udvikle antibiotika resistens. Alle patienter med hypermuterende isolater var kronisk inficerede med *Achromobacter*. Hos to kronisk inficerede patienter fandt vi, at *Achromobacter* stammen udviklede hypermutation efter henholdsvis fem og seks års infektion.

Vores studie viser, at hypermutation er forholdsvis hyppigt hos *Achromobacter* fra cystisk fibrose patienter, og at det udelukkende findes hos patienter med kronisk *Achromobacter* infektion. Det kan tyde på at hypermutation er en afgørende egenskab for *Achromobacters* evne til at vedblive i lungerne hos cystisk fibrose patienter.

Effekten på fysisk kapacitet og lungefunktion ved individuel tilpasset fysioterapi



Lue Drasbæk et al.

Fysioterapeut

Cystisk Fibrose Center København, Rigshospitalet

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Moderne fysioterapi ved cystisk fibrose inkluderer oprensning af sekret (slim) fra luftvejene, inhalationsbehandling og fysisk træning. Behandlingen sigter primært mod at forebygge negativ udvikling ved sygdommen.

Studiet har søgt at afdække om cystisk fibrose patienter kan forbedre deres situation ved at optimere brugen af fysioterapi som en del af den basale behandling samt afdække, om der er en positiv påvirkning af udviklingen i patienternes lungefunktionsniveau.

Studiet inkluderede 17 patienter over 12-18 måneder. Behandlingsstrategien var en kombination af inhalationsbehandling, fysioterapi og fysisk træning herunder patienternes muskelstyrke, mobilitet af brystkassen og arbejdskapacitet. Patienterne blev fulgt løbende gennem ugentlig kontakt med en fysioterapeut og ved de ordinære månedlige kontrolbesøg på Rigshospitalets Cystisk Fibrose Center.

13 patienter gennemførte alle studiets elementer. Forsøgsresultaterne på denne 'lille' gruppe patienter viste en forbedring på alle endemål. Studiet viste også, at patienterne ikke blot oplevede en begrænsning af det forventede fald i deres lungefunktionsniveau som følge af sygdommens generelle udvikling, men de oplevede en stigende trend i lungefunktionen. Studiet har dog ikke dokumenteret, hvorvidt den optimerede brug af individuel fysioterapi også vil bremse den forventede negative udvikling af sygdommen på lang sigt. Dertil behøves flere studier over tid med flere patienter.

Resultater ved lang tids optimering af fysioterapi på livskvalitet og aktivitets niveau



Louise Lannefors et al.

Fysioterapeut

Cystisk Fibrose Center København, Rigshospitalet

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Fysioterapi ved cystisk fibrose består af oprensning af sekret fra luftvejene, inhalationsbehandling samt fysisk træning. Fysisk træning kan måske begrænse sygdommens fremadskridende negative udvikling. Fysioterapi er krævende for patienterne fordi de skal engagerer sig fysisk i behandlingen, de skal være motiverede og afsætte tid til aktiviteten. Fald i det fysiske aktivitetsniveau er udbredt.

Studiets mål har været at undersøge, om individuel tilpasset fysioterapi og hyppig daglig kontakt med en fysioterapeut har påvirket det daglige aktivitetsniveau fysisk og hvorledes patienterne har responderet.

17 patienter blev inkluderet i studiet og 4 faldt fra i forsøgsperioden. Deltagerne skulle i forsøgsperioden gennemgå et træningsprogram ≥ 3 gange om ugen, der var udarbejdet i samarbejde med patienten og som inkluderede træning af muskelstyrke, bevægelighed af brystkassen samt udholdenhedstræning.

Forsøgsresultaterne viste at den individuelt tilpassede fysioterapi og den hyppige kontakt med en fysioterapeut medførte en lille stigning i det daglige aktivitetsniveau og en forbedret opfattelse af livskvaliteten.

Hvordan påvirker overflytningen fra af patienter fra cystisk fibrose læger til diabetes læger (endokrinologer) kontrollen af blodsukker hos patienter med CFRD (Cystisk Fibrose Relateret Diabetes)



Af Rannva a Rogvi et al.

Medicinstuderende

Cystisk Fibrose Center Aarhus Universitetshospital Skejby

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Cystisk Fibrose relateret Diabetes (CFRD) har en negativ påvirkning på patienternes livskvalitet, ernæringstilstand og lungefunktion. Målet med studiet har været, at undersøge om overflytning af cystisk fibrose patienternes diabeteskontrol fra Cystisk Fibrose læger til diabeteslæger, har en positiv indflydelse på patienternes håndtering og udvikling af deres cystisk fibrose diabetes. 17 patienter indgik i studiet, der så på data fra 2010-2015.

Studiet viste, at næsten 2/3 af patienterne havde en lavere værdi af såkaldt HbA1c efter overflytningen, mens restgruppen af patienterne, der generelt er kendetegnet ved at have store udfordringer med at passe behandlingen, havde højere blodsukkerværdier. Studiet viste, at overflytning til kontrol hos diabeteslæger havde en positiv indflydelse for de fleste patienters vedkommende og indirekte positiv påvirkning af patienternes blodsukkerværdier, BMI og lungefunktion. Studiet viste også, at der er behov for særlige tiltag for de patienter som har udfordringer med at passe behandlingen.

Bakterier følsomhed ved cyklisk brug af antibiotika ved cystisk fibrose luftvejsinfektioner



Lea Mette Sommer et al.

M.Sc. i Biologi Ph.d og post-doc.

Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Cystisk Fibrose Center København, Rigshospitalet

Novo Nordisk Foundation Centre for Biosustainability, Hørsholm

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Hovedårsagen til sygelighed og død hos cystisk fibrose patienter er bakterielle infektioner i luftvejene. For at nedkæmpe disse infektioner behandles patienterne med store mængder antibiotika. Trods intensiv behandling er de bakterielle infektioner (især *Pseudomonas aeruginosa*) vedvarende.

Pseudomonas bakterien er modstandsdygtig overfor mange typer antibiotika og udvikler multi-resistens over tid, hvilket medfører store begrænsninger af behandlingsmulighederne med antibiotika. Studiet søger at afdække, hvorledes cyklisk brug af antibiotika kan påvirke både initialisering og kronisk infektion med bakterien *Pseudomonas aeruginosa*.

Studiet viste, at bakterierne tendens til resistens blev nedsat, når man behandlede med stofferne Ciprofloxacin og Aztronam i forhold til stoffet Tobramycin. Hvis laboratorieforsøgene kan overføres på de inficerede patienter med samme effekt kan de betyde en ny behandlingstilgang overfor senarier hvor bakterier har resistens overfor en eller flere antibiotika.

Vedvarende forekomst af *Pseudomonas aeruginosa* i de tidlige stadier af luftvejsinfektionen



Helle Krogh Johansen et al.

Overlæge, Dr. Med.

Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Cystisk Fibrose Center København, Rigshospitalet

Novo Nordisk Foundation Centre for Biosustainability, Hørsholm

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Formålet med studiet har været, at undersøge hvorfor mere end 70 % af unge cystisk fibrose patienter er vedvarende inficerede med samme klon type fra første gang *Pseudomonas aeruginosa* bakterien dyrkes fra lungerne, til trods for at bakterierne behandles intensivt med antibiotika.

Kliniske isolater af *pseudomonas* bakterier fra patienterne er blevet systematisk indsamlet i 10 år fra de tidligste infektionsstadier hos 41 unge Københavnske cystisk fibrose patienter. Vi har karakteriseret 600 *pseudomonas* isolater ved hjælp af såkaldte genotypiske og fænotypiske undersøgelser. Antibiotisk følsomhed blev bestemt ved anvendelse E-test mod otte forskellige *pseudomonas*-antibiotika og vækstrater og biofilmdannelse blev undersøgt i mikrotiter bakker.

Vi fandt kun få *pseudomonas*, som udviklede antibiotikaresistens i løbet af de første 8-10 års antibiotikabehandling og der var ingen forskel i antallet af resistente isolater, når vi sammenlignede dem der kom fra de øvre og nedre luftveje. Mere end 20 % af alle isolater udviste langsom vækst over tid, og signifikant flere isolater lavede mindre biofilm i løbet af infektionen. Der var ingen forskel mellem øvre og nedre luftveje.

Vedvarende forekomst af *pseudomonas* er uafhængig af om bakterierne kommer fra øvre eller nedre luftveje, og den adaptive evolution er den samme begge steder. Fænotypisk og genetisk betinget antibiotikaresistens er kun observeret sporadisk i de tidlige *pseudomonas* isolater, og den øgede generationstid er ikke forbundet med noget klart mønster i antibiotikaresistensen. Den reducerede eller upåvirket evne til at danne biofilm i løbet af infektionen tyder på, at den vedvarende forekomst ikke er afledt af biofilm udvikling.

Forbedret drab på ilfrie *P. aeruginosa* biofilm med ciprofloxacin ved hyperbar ilt behandling



Af Mette Kolpen et al.

M.Sc. i Biologi, post-doc,

Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Cystisk Fibrose Center København, Rigshospitalet

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

I dette projekt ses der på forbedret drab med ciprofloxacin i *P. aeruginosa* biofilm, der er anerkendt som en væsentlig årsag til terapeutisk svigt ved kronisk lungeinfektion hos patienter med cystisk fibrose. Biofilm er kolonier af bakterier indlejret i slim, hvor *P. aeruginosa* vokser uden tilstedeværelsen af ilt. Iltning af iltfrie biofilm kan dermed forbedre modtageligheden overfor ciprofloxacin.

Vi ser, at der ved iltbehandling ved højt tryk sker en øget baktericid aktivitet med ciprofloxacin i *P. aeruginosa* biofilm ved 90 min behandling. Vi foreslår derfor, at kombinere ciprofloxacinbehandling med hyperbar iltbehandling, som kan overvejes til behandling af *P. aeruginosa* biofilm infektion.

Tab af følsomhed overfor antibiotika i 'Den Danske Epidemiske Stamme' *Achromobacter ruhlandii*



Line N. Penstoft et al.

Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

Achromobacter er en gramnegativ bakterie, som tiltrækker sig stigende opmærksomhed i Cystisk Fibrose sammenhæng. Bakterien er i stand til at forårsage kronisk kolonisation af cystisk fibrose lungerne forbundet med inflammation.

I Danmark en klon af *Achromobacter ruhlandii* beskrevet, 'den Danske Epidemiske Stamme' (DES) *ruhlandii*. Denne klon kan overføres fra patient til patient, og har siden 1990'erne smittet i alt 19 CF-patienter i Aarhus og København. Klonen er endvidere karakteriseret ved at være hypermuterende. Alle danske patienter koloniseret med *Achromobacter* bliver nu adskilt fra hinanden, og der er ikke dokumenteret patientsmitte siden 2011.

Formålet med dette studie er, at belyse mekanismerne bag antibiotikaresistensen observeret i DES stammen, og vi præsenterer tidsrammen for udvikling af β -lactam antibiotika resistens i DES-isolaterne på tidspunktet for patient-til-patient smitte.

DES-klonen, *A. ruhlandii*, udviser tab af følsomhed til β -lactam antibiotika over tid, hvilket ikke har påvirket stammens evne til at forårsage krydssmitte mellem patienter. Hel-genom sekventering har ikke identificeret optag af resistensgener, som kan forklare denne mere resistente fænotype. Den øgede β -lactam resistens kan muligvis forklares ved ændret genekspression. Transkriptomanalyser er ved at blive lavet for udvalgte isolater. Hvis der viser sig signifikante forskelle i resistensgener vil gen-knock-out forsøges.

Gen-ekspression i biofilm dannet af bakterien *Achromobacter* - fra tidlig til kronisk infektion hos cystisk fibrose patienter



Signe Maria Nielsen et al.

Ph.D studerende

Klinisk Mikrobiologisk afdeling, Aarhus Universitetshospital.

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz

I de senere år har man observeret en øget frekvens af infektioner med bakterier fra slægten *Achromobacter*. Betydningen af infektion med *Achromobacter* er endnu ikke fuldstændigt klarlagt, men *Achromobacter* kan forårsage kroniske infektioner.

Kroniske lungeinfektioner hos cystisk fibrose patienter er hovedårsag til en gradvist forringet lungefunktion som følge af vævsdestruktion. Kroniske lungeinfektioner kan opstå som følge af biofilm dannelse i lungerne. En biofilm består af bakterier som klumper sig sammen og klæber sig fast til hinanden. Bakterierne danner en slimet substans omkring sig og danner på denne måde en barriere der er svær at trænge igennem. Her er bakterierne beskyttet mod kroppens immunforsvar og mod indtrængning af antibiotika, hvilket vanskeliggør effektiv behandling af infektioner og øger risikoen for kronisk lungeinfektion.

Bakterierne er op til tusind gange bedre beskyttet, når de sidder tæt sammen i biofilm, end når de er alene. Bakteriernes overlevelses-succes skyldes i høj grad deres evne til at kunne tilpasse sig omgivelserne og dermed være i stand til at undgå værtsens forsvarsmekanismer. Det gør de ved at regulere hvilke gener, der bliver udtrykt under biofilm dannelse og ved kronisk infektion.

Projektet vil bidrage til at opnå en større forståelse af hvilke gener der er vigtige for dannelse af biofilm i bakterieslægten *Achromobacter* og hvordan disse reguleres under udviklingen af kroniske lungeinfektioner hos cystisk fibrose patienter. Det er vores mål at indsigt i de underlæggende mekanismer for biofilm dannelse kan danne grundlag for udvikling af nye strategier for bekæmpelse af kroniske *Achromobacter* lungeinfektioner.

Sammenligning af Fibroskanning, Real-Time Elastography (RTE) og konventionel ultralydsskanning til diagnosticering af Cystisk Fibrose Relateret Leversygdom (CFLD) hos børn og unge

Christine Højte et al.

stud. med, Dansk BørneLungeCenter, Rigshospitalet

Præsenteret på den 39. Europæiske Cystisk Fibrose Konference i Basel, Schweiz



Cystic fibrose relateret lever sygdom (CFLD) er en tidlig og hyppig komplikation blandt patienter med cystisk fibrose. Kliniske symptomer indtræder først sent i sygdommens forløb og der er i øjeblikket ingen pålidelige ikke-invasive diagnostiske redskader, hvorfor radiologiske metoder vinder indpas i diagnosticeringen og monitoreringen af udviklingen af leversygdom hos CF-patienter.

Formålet med dette studie har været, at sammenligne og validere tre ultralydbaserede skanningsmetoder - konventionel ultralyd, målinger af RTE og udførelse af Fibroskanning. Resultater af den konventionelle ultralydsskanning blev klassificeret ud fra "Williams ultrasound scoring system" (WUSS).

Studiet forløb over 6 måneder med deltagelse af 85 patienter med cystisk fibrose i alderen 1-18 år.

28 patienter (32.9 %) havde mindst et skanningsmæssigt positivt fund som viste på CFLD. 9 patienter (11 %) havde mindst to positive fund og 8 patienter (9 %) havde tre positive fund (både forhøjet RTE, Fibroskanning og WUSS). 6 patienter (7 %) havde forhøjet RTE, Fibroskanning og en WUSS-score = 3.

Studiets konklusion er, at resultaterne af Fibroskanning og RTE er meget sammenlignelige. Til diagnose af CFLD tilrådes det, at bruge enten Fibroskanning eller RTE i kombination med WUSS.