

## Danske forskningsprojekter der har modtaget økonomisk støtte fra Cystisk Fibrose Foreningen i 2014

Abstract, poster præsentation, 28<sup>th</sup> North American Cystic Fibrosis Conference

### ***Physiological levels of nitrate support anaerobic growth of Pseudomonas aeruginosa by denitrification at growth rates reported in cystic fibrosis sputum***



Af Laura Line et al.

Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, Danmark

Institut for International Sundhed, Immunologi og Mikrobiologi, Københavns Universitet

Kronisk lungeinfektion med *Pseudomonas aeruginosa* er den mest alvorlige komplikation ved cystisk fibrose. Infektionen er kendetegnet ved, at *P. aeruginosa* gror i biofilm i lungeslim, hvor immunforsvaret forårsager iltvind. I dette studie har vi fundet, at fysiologiske mængder af nitrat gør det muligt for *P. aeruginosa* at gro uden ilt som i lungerne hos cystisk fibrose patienter. Da vi tidligere har observeret at nitrat bliver omsat ved denitrifikation i inficeret cystisk fibrose sputum, fandt vi, at denitrifikation er aktiveret ved iltmangel og tilsætning af fysiologiske mængder af nitrat samt, at denitrifikation er nødvendig for at *P. aeruginosa* kan opretholde vækst ved fysiologiske betingelser. Vi har således vist, at denitrifikation bidrager væsentligt til *P. aeruginosa*'s vækst i de iltfrie zoner i inficerede cystisk fibrose lunger.

Abstract, poster præsentation, 28<sup>th</sup> North American Cystic Fibrosis Conference

### ***Bactericidal activity of colistin against Pseudomonas aeruginosa biofilms is independent of hydroxyl radical formation***



Af Mette Kolpen et al.

M.Sc. i Biologi, Ph.D. studerende, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, København

Institut for International Sundhed, Immunologi og Mikrobiologi, Københavns Universitet

Colistins bakteridræbende aktivitet mod *Pseudomonas aeruginosa* bakteriesamfund er uafhængigt af iltradikaler. Kronisk *Pseudomonas aeruginosa* lungeinfektion hos CF patienter er karakteriseret ved antibiotika-tolerante bakteriesamfund i det iltfrie lungeslim grundet aktive neutrofile leukocytter. Betydningen af ilt for den bakteriedræbende effekt af den mest benyttede antibiotika colistin mod *P. aeruginosa* bakteriesamfund er ikke undersøgt fuldt ud. Vi har vist, at dannelsen af iltradikaler ikke er involveret i colstindrabet på *P. aeruginosa* bakteriesamfund. Colstinbehandling på iltfrie voksende bakteriesamfund i lungeslim og bihulerne er derfor berettiget.

***Physiological levels of nitrate support anaerobic growth of Pseudomonas aeruginosa by denitrification at growth rates reported in cystic fibrosis sputum***



Af Karen Abrahamsen et al.  
Stud. med. Københavns Universitet,  
Center For Excellence in Pulmonary Biology, Stanford University,  
Dansk BørneLunge Center Rigshospitalet, Københavns Universitet, Danmark.

Gentagne lungeinfektioner er et stort problem hos patienter med cystisk fibrose. På Lucile Packard Children's Hospital Stanford (LPCH) består standardbehandlingen for lungeinfektioner med bakterien pseudomonas aeruginosa af en antibiotisk kombinationsbehandling med aminoglykosider og beta-laktam. Den optimale dosering af aminoglykosider i behandlingen af disse patienter er stadig ikke klarlagt.

Dette studie tager udgangspunkt farmakokinetik, der beskriver et lægemiddels optagelse, metabolisme, fordeling og udskillelse i et individ. Studiet undersøger om det ved at benytte en algoritme, hvor dosis tilpasses det enkelte barns farmakokinetik, er muligt at komme den optimale dosering af aminoglykosider nærmere. De cystisk fibrose børn som deltog i studiet, blev behandlet med aminoglykosidet tobramycin, der blev indgivet intravenøst efter en standardiseret doseringsprotokol. Det primære resultat af interesse for studiet var ændring i patienternes lungefunktion beskrevet som forceret ekspiratorisk volumen efter første sekund (FEV1). Lungefunktionen blev som forventet, signifikant bedre efter at børnene havde fået behandling med tobramycin. Studiet viste at tobramycinværdier mellem 10-20 mg/kg og AUC værdier mellem 50-100 ug/mL/time medførte de største forbedringer i lungefunktionen. Dette giver anledning til at udforske området yderligere for at finde specifikke parametre, som kan hjælpe med at forudsige de kliniske resultater hos disse patienter.

**Lung Clearance index and Aspergillus colonization are clinical markers of chronic lung changes by spirometry controlled CT in children with Cystic Fibrosis**



Af Thomas Kongstad et al.  
Læge, Ph.D. studerende, Cystisk Fibrose Center København,  
Dansk BørnelungeCenter, Rigshospitalet

Dette abstract er første led i en artikel som danner hovedandelen af mit ph.d. projekt, der drejer sig om kortlægning af kroniske lungeforandringer hos børn med cystisk fibrose. Jeg har undersøgt 64 ud af 81 børn ml. 6-18 år som følges på CF centeret i Kbh. Min undersøgelsesmetode er såkaldt spirometrikontrolleret HRCT scanning af lungerne. Resultaterne er meget interessante ud fra et behandlersynspunkt, hvor opmærksomheden på Aspergillus (svampinfektion) i lungerne har tendens til at drukne lidt i Pseudomonas og andre bakterier. Sammen med den nye lungefunktionsmålemetode Multiple-Breath Washout som over de sidste par år er implementeret i Cystisk Fibrose Centeret, er Aspergillus en parameter der hænger sammen med udbredelsen af kroniske lungeforandringer. Dette er ny viden, der kan få indflydelse på den behandling der ska gives i fremtiden.

Abstract, poster præsentation, 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference

### ***Investigation of the RetS-GacAS regulatory network in clinical P. aeruginosa isolates reveals evolutionary adaptation***



Af Mikkel Lindgaard et al.  
Ph.D. studerende, Danmark Tekniske Universitet,  
Novo Nordisk Foundation Centre for Biosustainability

Ud fra Rigshospitalets samling af isolater af bakterien *Pseudomonas aeruginosa* fra børnepatienter, har vi opdaget, at en bestemt gruppe bakteriegener synes at være særligt udsatte for mutationer. Disse gener kontrollerer om *Pseudomonas* udtrykker gener, der er involveret i akut infektion eller kronisk infektion. Mutationerne i disse gener opstår i en bestemt rækkefølge, hvilket tyder på, at *Pseudomonas* bakterien har en fordel ved at være i akut infektionstilstand på et tidspunkt og i kronisk infektionstilstand på et andet. Ved at undersøge hvordan bakteriens opførsel ændrer sig som følge af disse mutationer, håber vi at kunne forudsige, hvordan bakterien vil opføre sig i luftvejene på et givent tidspunkt og derved kunne tilpasse behandlingen for at modvirke den bedst muligt.

Abstract, poster præsentation, 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference

### ***Genome changes leading to persistence of Pseudomonas aeruginosa in the airways of CF patients***



Af Lea Mette Madsen et al.  
Ph.D. studerende, Danmark Tekniske Universitet,  
Institut for Systembiologi, Lyngby

Formålet med dette studie er, at finde genetiske markører, der viser hvornår en *Pseudomonas* infektion udvikler sig fra en intermitterende til en kronisk infektion hos patienter med cystisk fibrose. Studiet viser at gener, der relaterer sig til cellernes overflade, antibiotika resistens og optagelse af jern er væsentlige faktorer. Gener i disse grupper kan være såkaldte kandidater til markør-gener. Når man kender markør-generne, vil man hurtigere og bedre kunne tilrettelægge tidlig behandling for patienterne og dermed øge chance for at forhindre at infektionen bliver kronisk og forhåbentlig øge patienternes livskvalitet og levetiden.

Abstract, mundtlig præsentation, 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference

### ***The genetic basis of Pseudomonas aeruginosa pathoadaptation to the airways of cystic fibrosis patients***



Af Rasmus Lykke Marvig et al  
Ph.D. studerende, Danmark Tekniske Universitet, Lyngby  
Novo Nordisk Foundation Centre for Biosustainability

Dette studie undersøger hvordan bakterien *Pseudomonas aeruginosa* genetisk tilpasser sig til livet i lungerne hos patienter med cystisk fibrose. Et overraskende resultat ved studiet har været, at bakterierne tilpasser sig ved at ændre deres arvmasse, så de kan leve af hæmoglobinet fra vores røde blodlegemer. Derudover tilpasser bakterierne sig også behandling med antibiotika ved at udvikle resistens. Den viden der kommer fra studiet er nyttig i bestræbelserne på at udvikle fremtidige behandlingsmetoder mod bakterien, der kan resultere i en mere målrettet og effektiv antibiotikabehandling.

Abstract, mundtlig præsentation, 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference

***Rethinking Pseudomonas aeruginosa lung infection: using molecular microbiology Rather than culture and antibodies***



Af Helle Krogh Johansen et al,  
Overlæge, Dr. Med., Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, København  
Novo Nordisk Foundation Centre for Biosustainability, Hørsholm

Arbejdet med dette projekt er resultat af forskning med de første og efterfølgende *Pseudomonas aeruginosa* bakterier isolater og deres initiale etablering som lungeinfektion hos patienter med cystisk fibrose. Ud fra dette søger projektet at redefinere de kliniske definitioner for lungeinfektion med *Pseudomonas aeruginosa*. Den nuværende definition har været benyttet siden midten af 70'erne og bygger på vedvarende positive dyrkninger af bakterierne i patienternes slim fra lungerne og udviklingen af stigende antistoffer mod bakterierne målt i blodet. Projektet benytter genommedicin (biologi) og bakteriedyrkningen (medicin) til at lave en ny og mere direkte definition af *Pseudomonas* infektion hos patienter med cystisk fibrose.

Abstract, poster præsentation, 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference

***A rapid biofilm antimicrobial susceptibility assay under 24 hours for cystic fibrosis patients with P. aeruginosa lung infection***



Af Wang Hengzhuang et al.  
Læge, Ph.D. studerende, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling Rigshospitalet, København

Kroniske lungeinfektioner med bakterier der producerer såkaldt biofilm, som eksempelvis *Pseudomonas aeruginosa*, er den væsentligste årsag til sygdom, ødelæggelse af lungerne og tidlig død for patienter med cystisk fibrose. Metoder der undersøger biofilms følsomhed for behandling med antibiotika er en nyttig måde til at bestemme hvilke antibiotika og hvilke antibiotikakombinationer, der vil være mest succesfulde til at behandle kroniske biofilmsinfektioner. Ved dette projekt er der anvendt en helt ny type undersøgelsesmetode. Tidligere tog sådanne undersøgelser 4-6 dage. Med den nyudviklede metode tager det nu kun 12-24 timer. Dermed er den nye undersøgelsesmetode en god kandidat til hurtigt at finde den rette behandling mod disse biofilmsinfektioner ved cystisk fibrose.

Abstract, poster præsentation, 37<sup>th</sup> European Cystic Fibrosis Conference

***Development of tolerance to antibiotics in Pseudomonas aeruginosa populations in the lungs of cystic fibrosis patients***



Af Linda Rojek Jensen et al.  
Ph.D. studerende, Danmarks Tekniske Universitet,  
Institut for Systembiologi, Lyngby

Dette projekt undersøger hvordan bakterien *Pseudomonas aeruginosa* udvikler sig når den udsættes for stress ved antibiotika behandling. Projektet har identificeret resistente stammer af bakterierne, som knytter sig til den type antibiotika som patienterne har modtaget. Og projektet har fundet kombinationer af gener der ændre sig i bakterierne (muterer) og som giver anledning til resistensudvikling.

**Anti-*Pseudomonas aeruginosa* IgY antibodies promote bacterial clearance in a murine pneumonia model**



Af Kim Thomsen et al.

Læge, Ph.D. studerende, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, Danmark

Dette forskningsprojekt handler om muligheden for at undgå, at patienter med cystisk fibrose bliver inficeret med bakterien *Pseudomonas aeruginosa* i lungerne. Projektet har gennemført en række eksperimenter på dyr med såkaldte IgY antistoffer, som er udvundet fra kyllinger. Resultaterne viser, at man kan forbygge *Pseudomonas* infektion hos dyr med denne antistofbehandling. Dermed kan der være en fremtidig behandling som kan forhindre at patienter med cystisk fibrose bliver inficeret med *pseudomonas* bakterien i lungerne. Det vil kunne forøge patienternes livskvalitet og levetid.

**Distribution of Tobramycin and the Impact on Bacterial Killing in a Biofilm Model**



Af Bao Cao et al.

Læge, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, Danmark

Dette forskningsprojekt studerer en biofilmmodel ved *Pseudomonas* bakterien. Biofilm er kolonier af bakterier indlejret i en slimet substans, som er særligt svære at behandle trods stadig større forskning og viden på området. Vores studie viser, at når *Pseudomonas* bakterier i biofilm behandles med antibiotikummet tobramycin, så sker der en god fordeling af stoffet i biofilmmodellen. Efterhånden som biofilmen modnes bliver kolonierne af bakterier større, de lejres perifert i kuglen og de bliver mere modstandsdygtige over for tobramycin. Med flere studier kan vores model bidrage til viden om hvordan behandlingen af biofilminfektioner forbedres.

***Outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT) in patients with cystic fibrosis***

Af Maya Graham Pedersen et al.

Stud.med, Infektionsmedicinsk Afdeling, Aarhus Universitetshospital Skejby

Cystisk fibrose patienter med kroniske bakterielle lungeinfektioner har stor glæde af at kunne få deres intravenøse antibiotika behandlinger som hjemmekur. Dette er dog ikke uden komplikationer. Dette projekt har registreret hyppigheden af komplikationer ved forskellige former for intravenøse adgange (drop, PICC-line og port-a-cath). Der er set en høj hyppighed for dropskift ved et såkaldt perifert drop (en kanyle i armen eller hånden) hvilken reduceres ved kontinuerlig indgivelse af medicin med en pumpe. Port-a-cath har den absolut laveste hyppighed af komplikationer, men når de opstår ved denne indgivelsesform, vil de typisk være af alvorligere karakter (infektion, blodprop).

***Physiological levels of nitrate support anaerobic growth of Pseudomonas aeruginosa at growth rates reported from cystic fibrosis sputum***



Af Laura Line et al.

Bachelorstuderende, University of Bristol, UK

og Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, Danmark

Kronisk Pseudomonas aeruginosa lungeinfektion er en af den mest alvorlige komplikation ved cystisk fibrose. Infektionen er karakteriseret ved at Pseudomonas gror i uden ilt i biofilm i lungeslim. For at opklare hvordan Pseudomonas kan gro uden ilt, har vi fundet at fysiologiske mængder af nitrat gør dette muligt. Da vi tidligere har observeret denitrifikation i inficeret slim fra cystisk fibrose patienternes lunger, fandt vi at denitrifikation er aktiveret ved iltmangel og tilsætning af fysiologiske mængder af nitrat. Vi har således dokumenteret, at fysiologiske mængder af nitrat giver Pseudomonas bakterien mulighed for at gro i de iltfrie zoner i inficerede CF lunger, og vi foreslår, at denitrifikation bidrager til væksten.

***Significance of oxygen depletion in chronic lung infections in cystic fibrosis patients***



Af Mette Kolpen et al.

M.Sc. i Biologi, Ph.D. studerende, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, København

Kronisk Pseudomonas aeruginosa lungeinfektion hos cystisk fibrose patienter er karakteriseret ved tilstedeværelsen af bakteriesamfund omgivet af talrige neutrofile leukocytter (hvide blodlegemer) i iltfri lungeslim. Vi har i et tidligere forskningsprojekt vist, at aktive neutrofile leukocytter danner iltfrie zoner i lungeslimen hos CF patienter, mens Pseudomonas denitrificerer i disse zoner. Dvs at bakterierne kan vokse ved iltfri ånding med  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ . Komplet denitrifikation involverer afgiftning af  $\text{NO}$ , hvorved tolerancen mod  $\text{NO}$  dannet af værten øges. Vi har undersøgt om evnen til at udføre denitrifikation er relateret til de bakterier der er kendt for at fremkalde sygdom hos patienter med cystisk fibrose. Vi har således sammenlignet bakterierne Pseudomonas aeruginosa, Achromobacter xylosoxidans, Burkholderia multivorans, der er kendt for at forårsage forværrer lungefunktion hos patienter med cystisk fibrose mod bakterien S. maltophilia, der ikke fører til en mærkbar forværrer lungefunktion. Den manglende evne til at opnå energi ved denitrifikation kan forklare vores fund af sovende og meget langsomt voksende S. maltophilia i CF lungeslim. Den langsomme iltfrie vækst kan forhindre spredning af S. maltophilia i lungerne. Vi foreslår, at evnen til at udføre denitrificering kan bidrage til sygdomsfremkaldelse af bakterierne, da fuldstændig denitrifikation fremmer hurtigere iltfri vækst.

***Multicenter prevalence study of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in Scandinavia***



Af Tavs Qvist et al.

Læge, Ph.D. studerende

Cystisk Fibrose Center København, Infektionsmedicinsk Afdeling, Rigshospitalet

Dette projekt ser på forekomsten af såkaldte non-tuberkuløse mycobakterier. Generelt beskrives forekomsten af disse bakterier at være stigende blandt patienter med cystisk fibrose, men der er store regionale forskelle. Forekomsten blandt skandinaviske cystisk fibrose patienter har hidtil ikke været afdækket. Dette projekt viser, at forekomsten af non-tuberkuløse mycobakterier også har været stigende i de skandinaviske lande fra 2000-2012 og 1 ud af 9 patienter har haft bakterierne i lungerne mindst én gang.

***Day-time variability and short term effect of chest physiotherapy on multiple breath nitrogen washout in children with cystic fibrosis.***



Af Kent Green (på vegne af Christian Volby) et al.

Læge, klinisk assistent, Cystisk Fibrose Center København,

Dansk BørnelungeCenter, Rigshospitalet

Studiet omhandler den relativt nye kliniske lungefunktionsmetode, Nitrogen Multiple-Breath Washout (N2 MBW), som er ved at blive implementeret i Cystisk Fibrose Center København med henblik på tidlig opsporing af forandringer i de helt små luftveje, og er en del af en række delstudie som har til formål at klarlægge N2 MBW teknikens behandlingsmæssige potentiale og anvendelse. Resultaterne viser, at det ikke har markant betydning på testens primære resultat, Lung Clearance Index eller blot LCI, hvornår på dagen N2 MBW undersøgelsen udføres eller om testen er forudgået af den daglige lungefysioterapi. Dette er ny og uhyre vigtig viden, idet man således ikke nødvendigvis skal tage højde herfor ved planlægning af forskningsstudier eller når metoden i den nærmeste fremtid bliver indført til skærpet overvågning af CF patienternes lungefunktion.

***Can lung function predict exercise capacity in patients with CF?***

Af Iben Østergaard Jensen et al.

Fysioterapeut, Fysioterapi- og Ergoterapiafdelingen, Aarhus Universitets Hospital Skejby

En lang række studier har tidligere fundet en sammenhæng mellem fysisk arbejdskapacitet og lungefunktion. Formålet med dette forskningsprojekt har været, at undersøge om der fandtes et lungefunktionsmål, der kunne forudsige fysisk arbejdskapacitet hos børn og voksne med cystisk fibrose. Projektet er baseret på registerdata af lungefunktion og iltoptagelse fra 78 patienter med cystisk fibrose i alderen 9-42 år. En model med at forudsige fysisk arbejdskapacitet alene ud fra lungefunktion blev ikke fundet anvendelig i praksis, da modellen var mere unøjagtig end hvad køn og alder kunne have forudsagt. Fysisk arbejdskapacitet skal derfor testes selvstændigt ved en iltoptagelsestest i stedet for at forudsiges ud fra lungefunktion. Resultatet af projektet er blandt andet, at man på Cystisk Fibrose Center Aarhus Universitetshospital Skejby fremover i praksis vil teste patienternes iltoptagelse med en ny og mere præcis metode, samt sætte fokus på at få alle patienter testet en gang om året.

***Genome sequence of the Danish epidemic strain of Achromobacter ruhlandii***



Af Kurt Handberg Jensen et al.

M.Sc. i Molekylærbiologi, Ph.D., Klinisk Mikrobiologisk Afdeling,  
Aarhus Universitetshospital Skejby

Bakterien *Achromobacter xylosoxidans* er kendt for at kunne spredes mellem patienter med cystisk fibrose ved krydsinfektion og er generelt forbundet med dårlig prognose. Dette projekt har afdækket forekomsten af en anden en bakteriestamme kaldet *Achromobacter ruhlandii*, der har spredt sig mellem patienter de to danske Cystisk Fibrose Centre i perioden 2000 til 2011. For at lære mere om årsagen til spredningen samt stammens resistens udvikling, er der foretaget en såkaldt genom sekventering af stammens DNA, som kan bruges til at bestemme om patienterne er smittet med bakterien ved krydsinfektion eller er inficeret med bakterien fra naturen/omgivelserne.