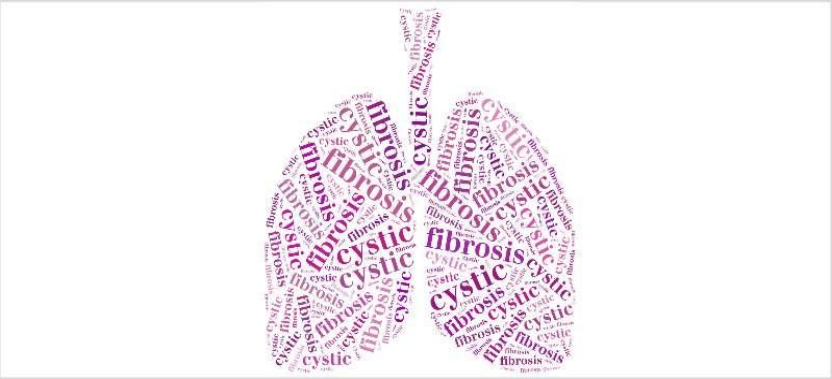


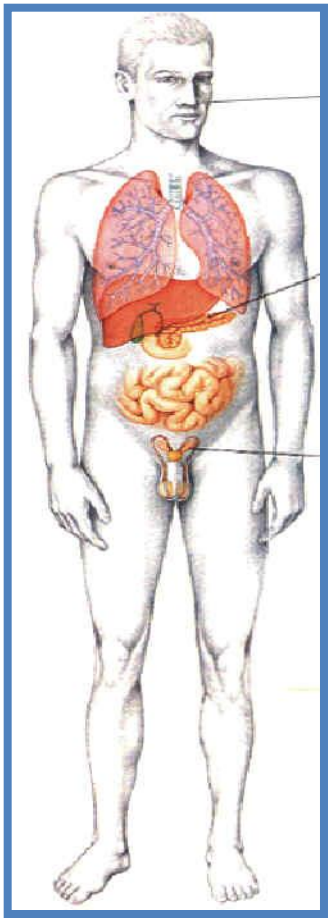
Αντιμικροβιακή αντοχή στην κυστική ίνωση

Φιλία Διαμαντέα

Μονάδα Κυστικής ίνωσης ενηλίκων

Σισμανόγλειο ΓΝΑ

Κλασικές εκδηλώσεις κυστικής ίνωσης



Παραρρίνια: Χρόνια παραρρινοκολπίτιδα
Ρινικοί πολύποδες

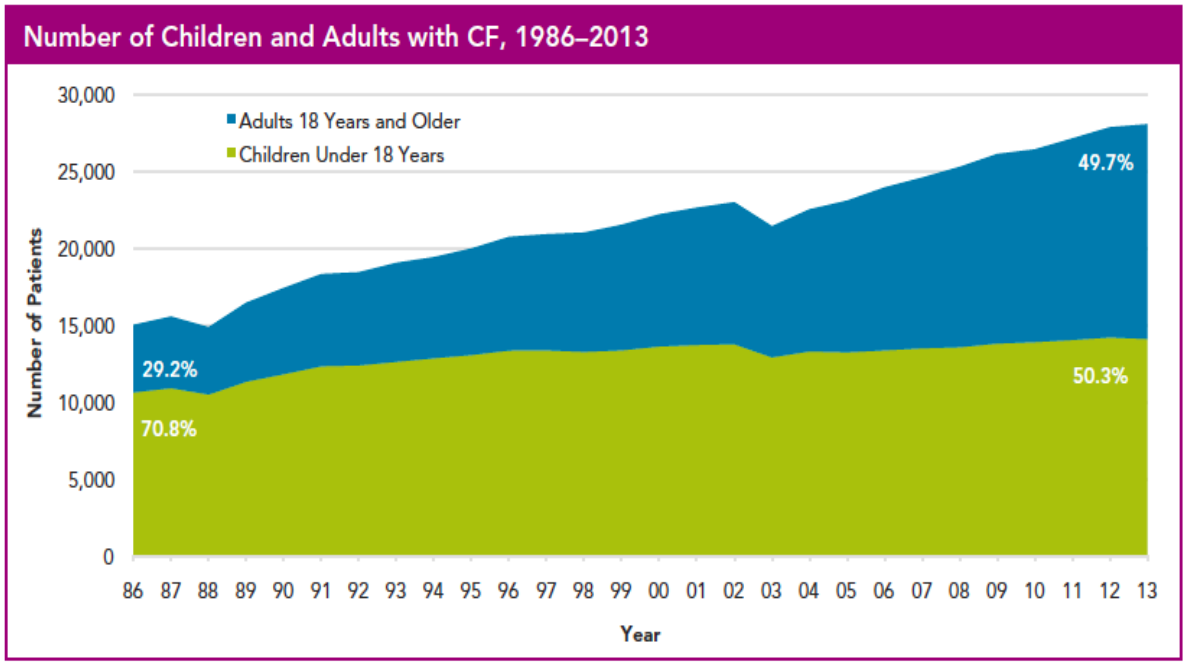
Πνεύμονες: Βήχας και απόχρεμψη
Απόφραξη αεραγωγών
Υποτροπιάζουσες λοιμώξεις (Psa, S. aureus)

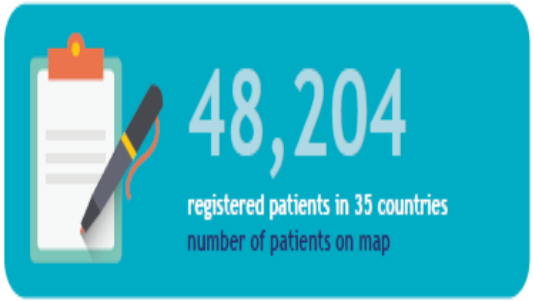
ΓΕΣ: Παγκρεατική ανεπάρκεια (υποθρεψία)
Παγκρεατίτιδα
Ειλεός εκ μηκωνίου και DIOS
Χολική κίρρωση και πυλαία υπέρταση

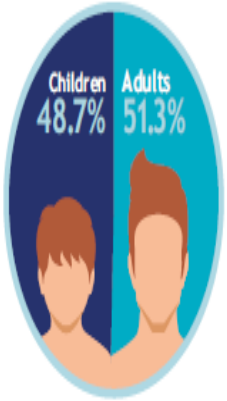
Αναπαραγωγικό σύστημα: Αποφρακτική αζωοσπερμία

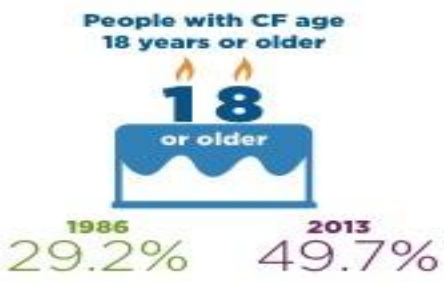
Adapted from Welsh and Smith. *Sci Am*. 1995;273:52-59.

Αύξηση επιβίωσης – αύξηση ενηλίκων ασθενών







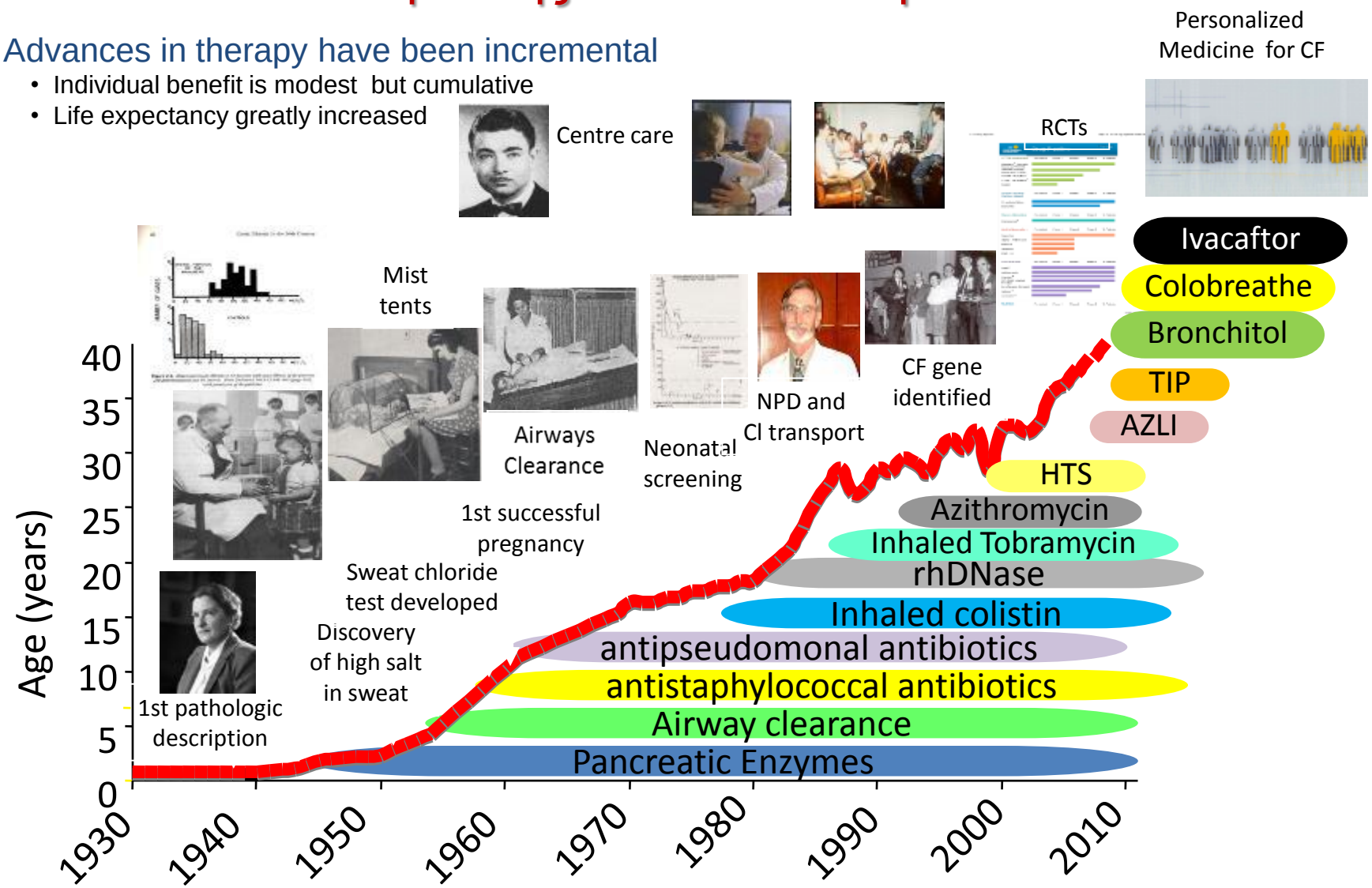


ECFS Registry 2017

Θεραπευτικές παρεμβάσεις που συνέβαλαν στην αύξηση της επιβίωσης των ασθενών με KI

Advances in therapy have been incremental

- Individual benefit is modest but cumulative
- Life expectancy greatly increased



ELSEVIER

Journal of Cystic Fibrosis xx (2018) xxx–xxx

Journal of Cystic Fibrosis

www.elsevier.com/locate/jcf

Review

Defining antimicrobial resistance in cystic fibrosis

Timothy J. Kidd [a], Rafael Canton [b], Miquel Ekkelenkamp [c], Helle Krogh Johansen [d], Peter Gilligan [e], John J. LiPuma [f], Scott C. Bell [g], J. Stuart Elborn [h], Patrick A. Flume [i], Donald R. VanDevanter [j], Valerie J. Waters [k,*], on behalf of the Antimicrobial Resistance International Working Group in Cystic Fibrosis

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN CYSTIC FIBROSIS

Progress Report for the international Working Group/Task force

March 14, 2019

Περιεχόμενο παρουσίασης

- Πως η διαταραχή της CFTR σχετίζεται με την χρόνια βρογχική διαπύηση και την προοδευτικά επιδεινούμενη πνευμονική νόσο
- Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του ΄΄μικροβιώματος΄΄ στην ΚΙ
- Στρατηγική χορήγησης των αντιβιοτικών στην Κυστική ίνωση
- Μηχανισμοί ανάπτυξης αντοχής στην ΚΙ και ιδιαιτερότητες στην χρόνια λοίμωξη
- ΄΄Περιορισμοί΄΄ στην χρήση του συμβατικού test ευαισθησίας στα αντιβιοτικά και νεώτερες τεχνικές ταυτοποίησης και τυποποίησης του μικροβιώματος
- Αντιμετώπιση της αντιμικροβιακής αντοχής στην ΚΙ

Παθοφυσιολογία της πνευμονικής νόσου στην ΚΙ

Μεταλλάξεις στο γονίδιο της CFTR

↓

Διαταραχή στην μεταφορά των ιόντων

↓

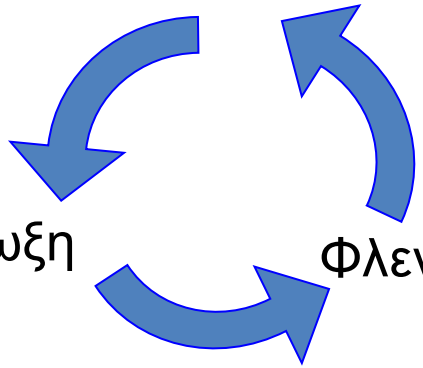
Αφυδάτωση της επιφανειακής στοιβάδας των αεραγωγών

↓

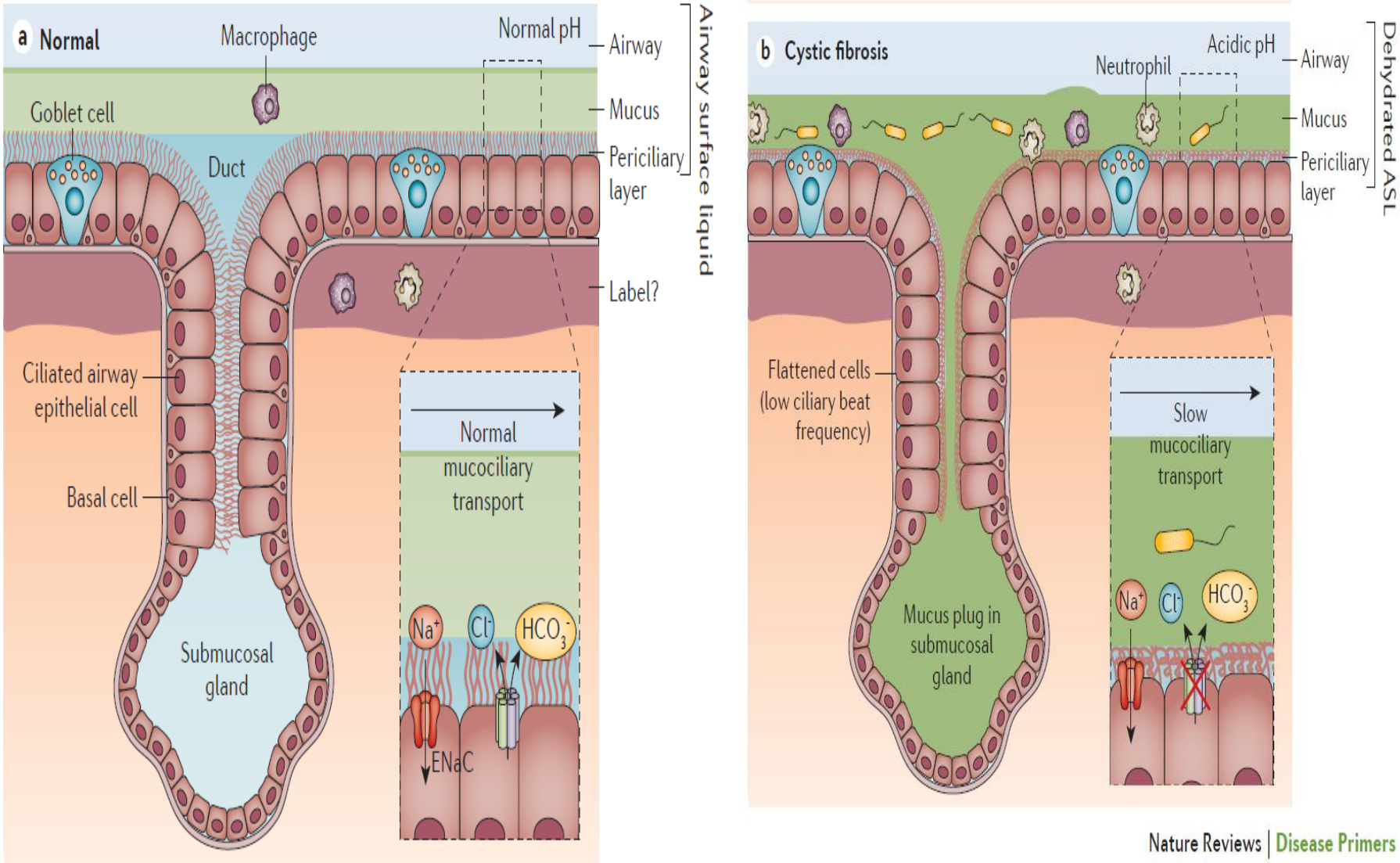
Διαταραχή της βλεννοκροσσωτής κάθαρσης

↓

Βλεννώδης απόφραξη



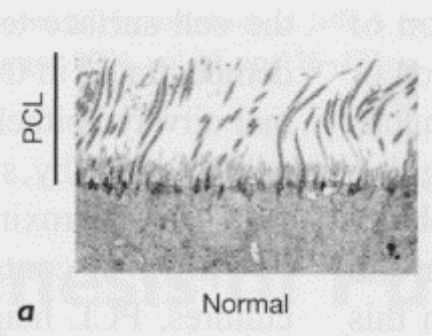
Διαταραχή CFTR και χρόνια βρογχική διαπύηση

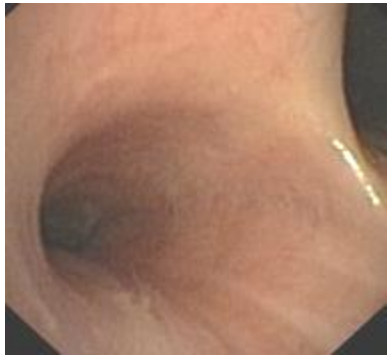


Ratjen F. et all. *Nat Rev Dis Prim* 2015

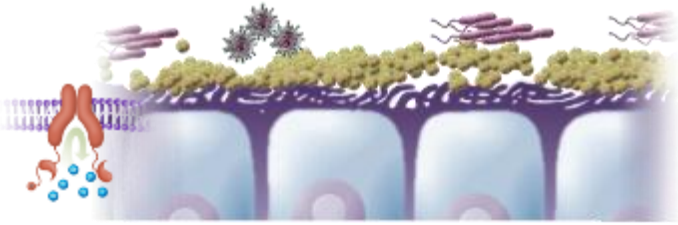
Πνευμονική νόσος στην ΚΙ: Παθοφυσιολογία

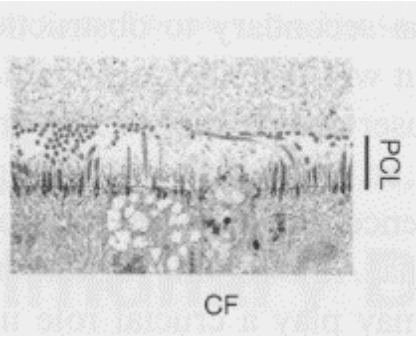
Φυσιολογικοί αεραγωγοί

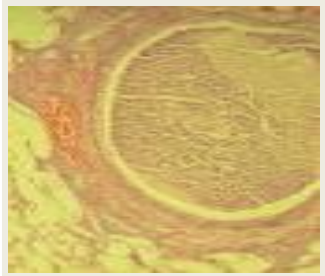




ΚΙ







Derichs, ERS 2012

CF Bugs: the main players

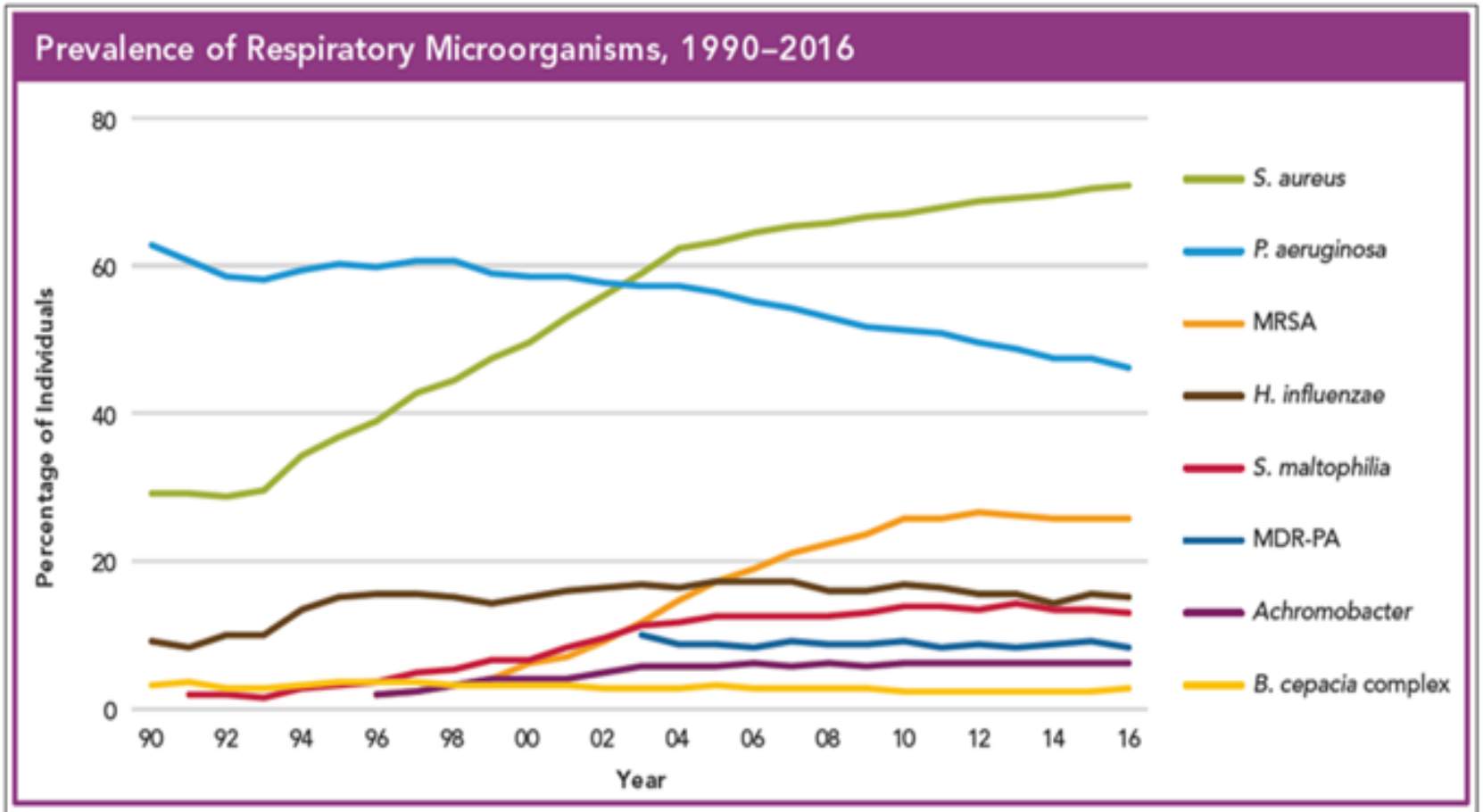
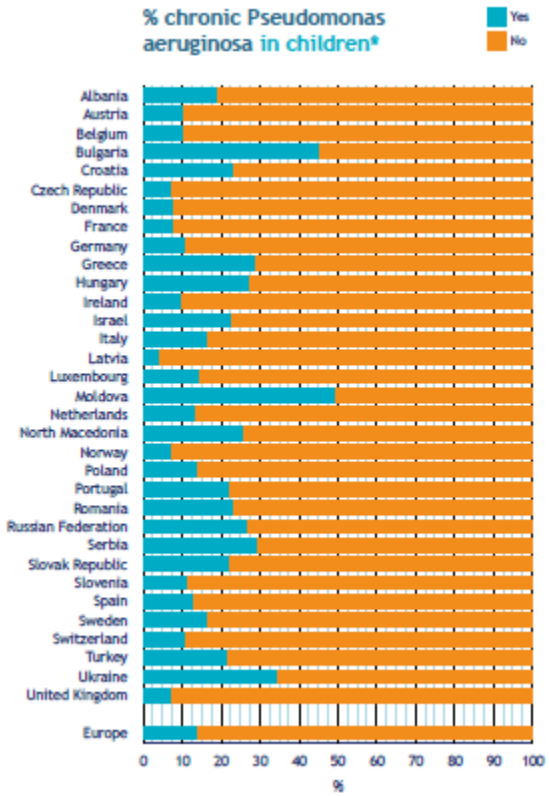
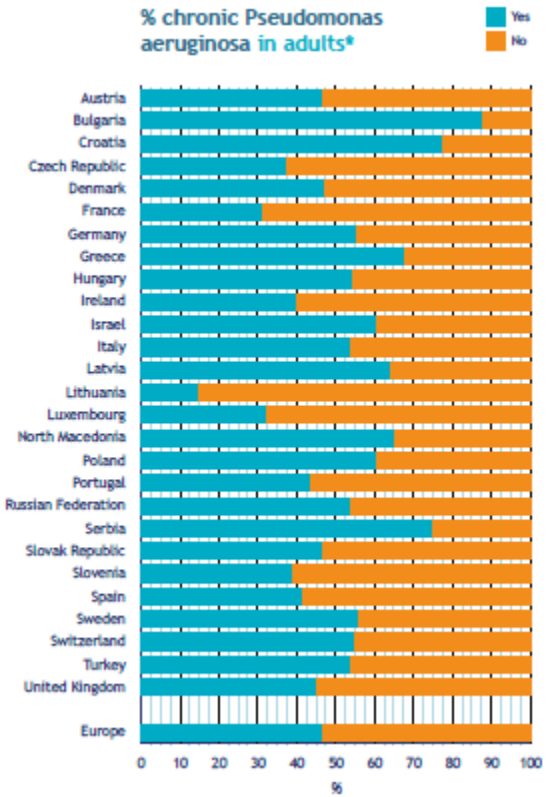


Figure 3. Adapted with permission from the Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry's 2016 Annual Data Report

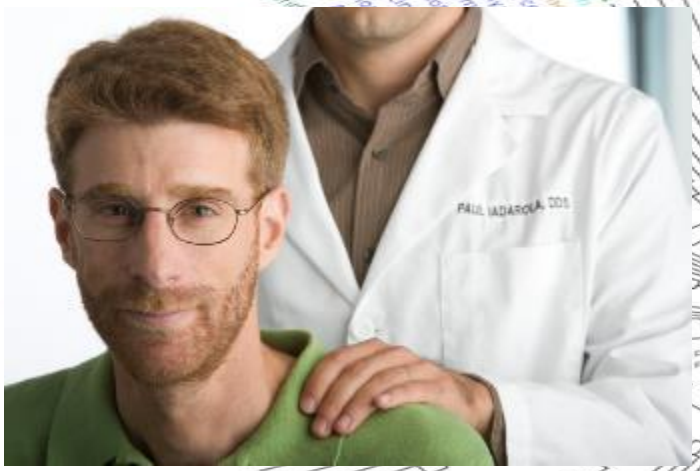
Χρόνια ψευδομοναδική λοίμωξη σε παιδιά & ενήλικες





ECFS patients' Registry 2017

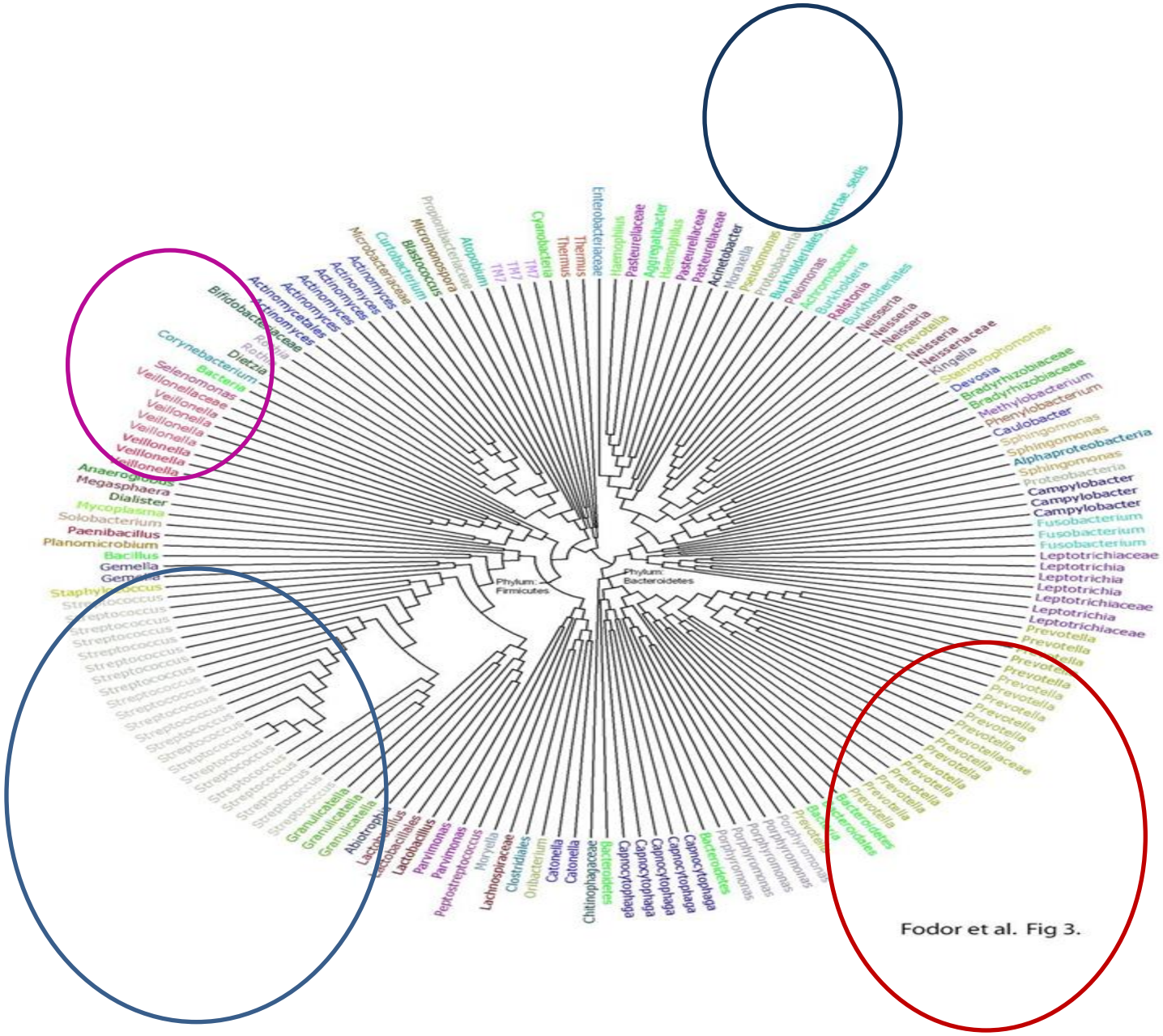
Η λοίμωξη στον πνεύμονα της ΚΙ…



Phylum Bacteroidetes
Phylum Firmicutes
Campylobacter
Campylobacter
Campylobacter
Devosia
Bradyrhizobium
Methylobacterium
Caulobacter
Leptotrichia
Leptotrichia
Leptotrichia
Leptotrichia
Leptotrichia
Leptotrichia
Leptotrichiaceae
Leptotrichiaceae
Leptotrichiaceae
Pasteurellaceae
Pasteurellaceae
Pasteurellaceae
Kingella
Kingella
Kingella

Η συμβατική καλλιέργεια πτυέλων ανιχνεύει την κορυφή του παγόβουνου στο μικροβίωμα της ΚΙ

Μόνο το 15% των μικροβιακών πληθυσμών ανιχνεύονται στη συμβατική καλλιέργεια πτυέλων



Fodor et al PLoS-ONE 2012

PLOS | ONE

Anaerobes detected

- 14 different genera (78 isolates)
- *Prevotella, Veillonella, Actinomyces* most prevalent

Genera	No. Isolates	No. patients
Prevotella	20	11
Actinomyces	9	8
Veillonella	8	7
Propionibacterium	7	7
Peptostreptococcus	2	2
Streptococcus	19	13

Tunney et al 2008

Η σημασία των αναεροβίων

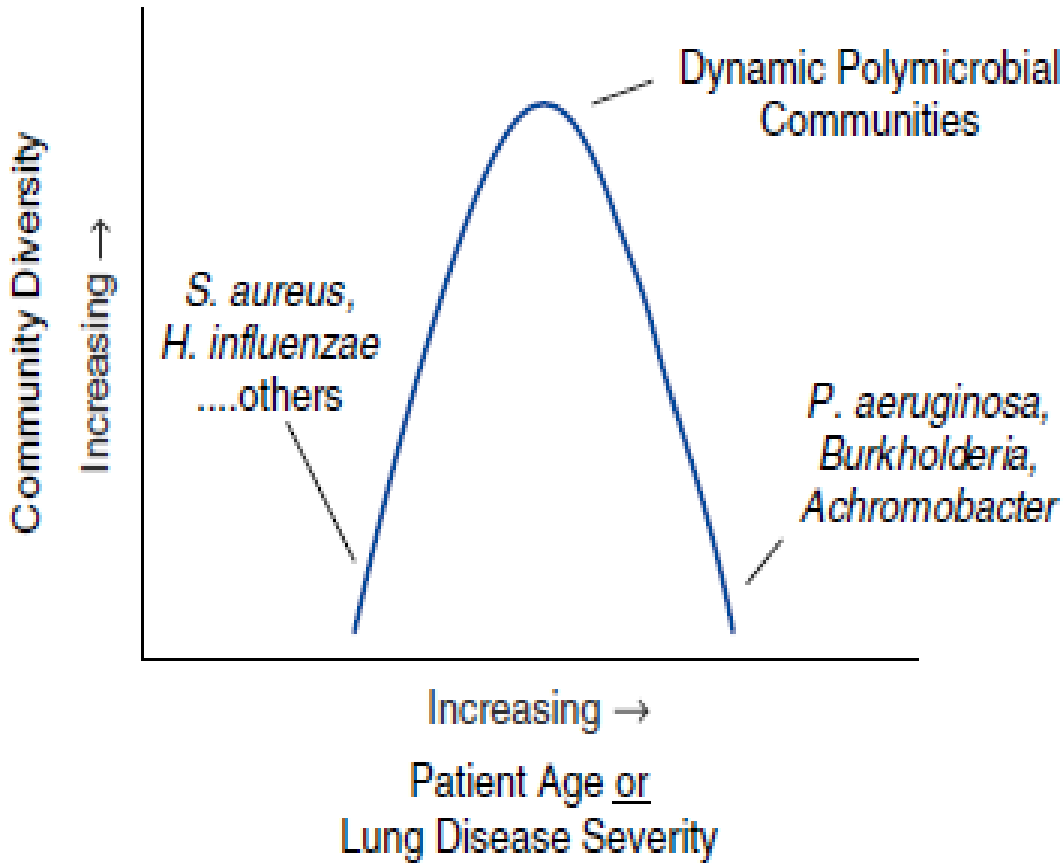
- Η κλινική σημασία των αναεροβίων που ανιχνεύονται στο μικροβίωμα της ΚΙ δεν έχει διευκρινισθεί επαρκώς
- Αναερόβια στην ΚΙ έχουν βρεθεί να παράγουν β-λακταμάσες[1] ή να επηρεάζουν την λοιμογόνο δράση της P.aeruginosa με το να τροποποιούν μέσω του Quorum sensing την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με αυτή τη δράση[2,3].
- Καθένα από αυτά τα φαινόμενα μπορεί να σχετίζεται έμμεσα με την ανάπτυξη αντιμικροβιακής αντοχής και την κλινική ή μη ανταπόκριση στα αντιβιοτικά σε διάφορα στάδια της νόσου.

Sherrard DC et all. *J Antimicrob Chemother* 2013[1]

Shibley CD. Et all. *PLOS Patho* 2008[2]

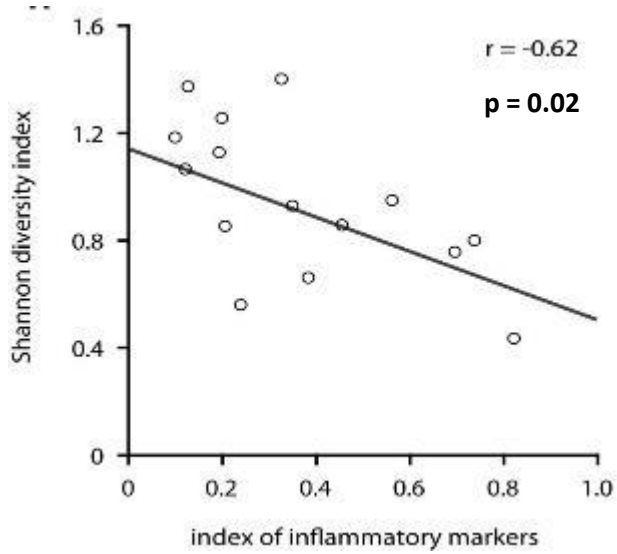
Field TR. et all. *Anaerobe* 2010[3]

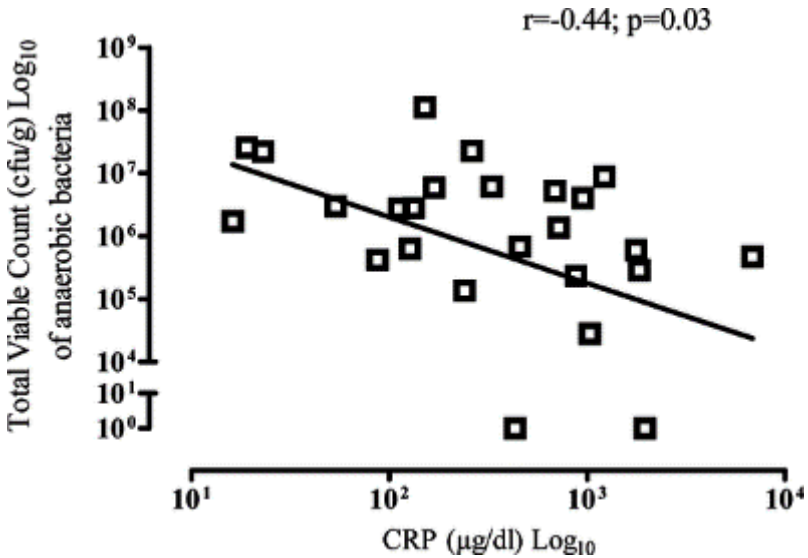
΄΄Ποικιλομορφία΄΄ των μικροβιακών πληθυσμών στην ΚΙ



Ann Am Thorac Soc 2014

Μικροβίωμα ΚΙ/κλινική συσχέτιση

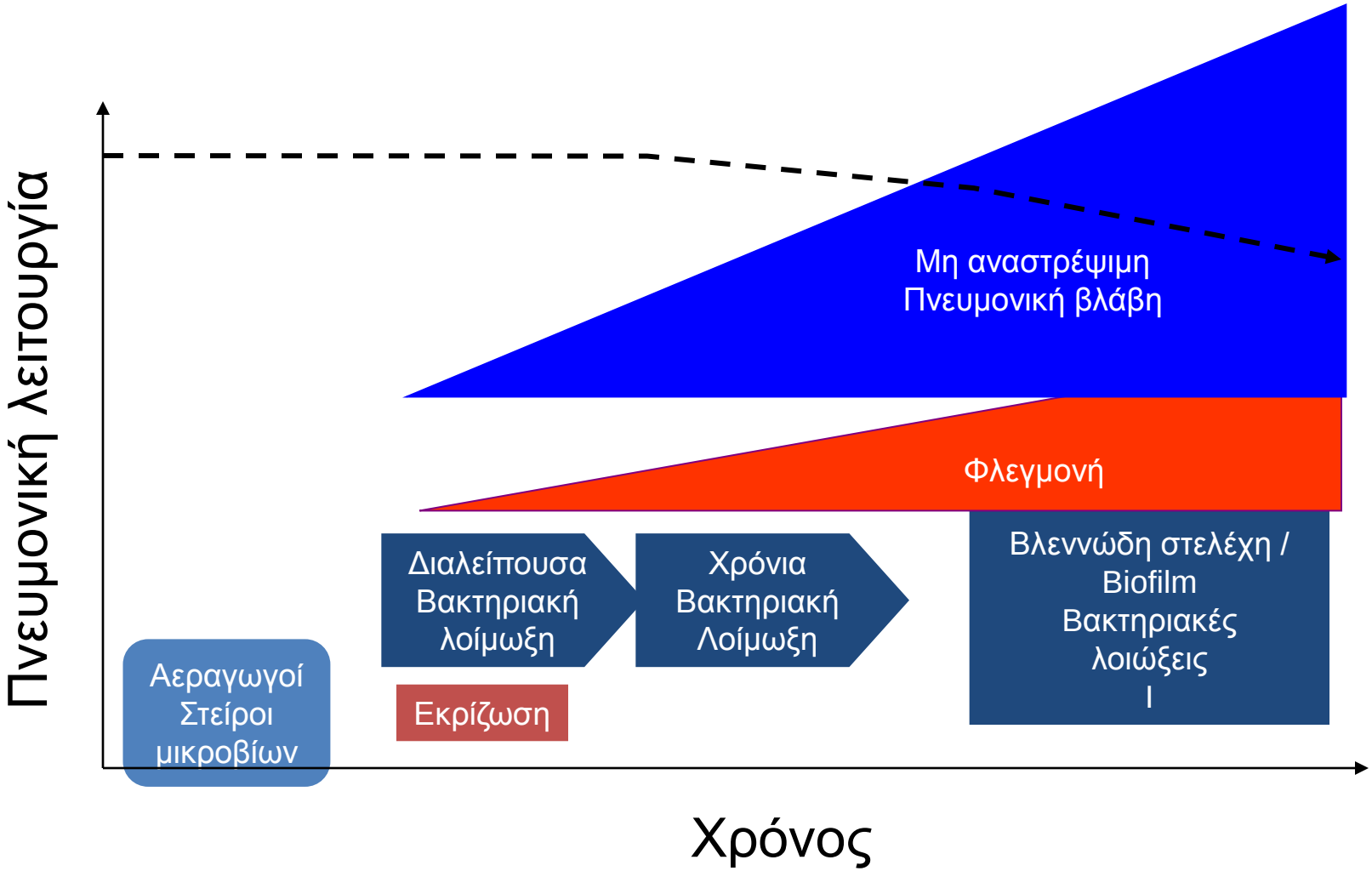




Η ποικιλομορφία των μικροβιακών πληθυσμών προοδευτικά μειώνεται στην ΚΙ και αυτό σχετίζεται με αύξηση της συστηματικής φλεγμονής και μείωση της πνευμονικής λειτουργίας

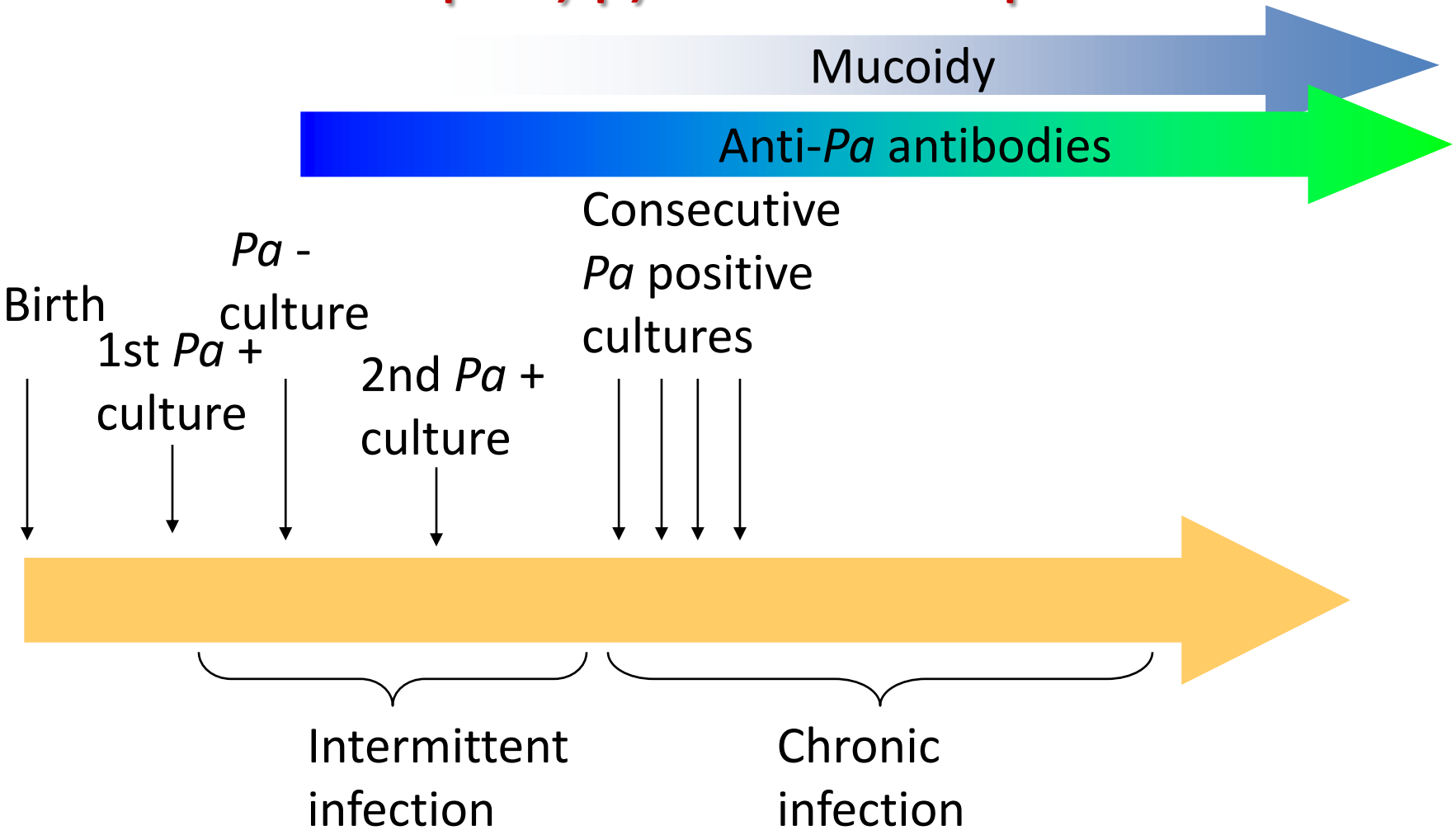
(Lynch et al, Pone, 2010 & O'Neill et al Pone)

Λοίμωξη και προοδευτική έκπτωση της πνευμονικής λειτουργίας στην ΚΙ

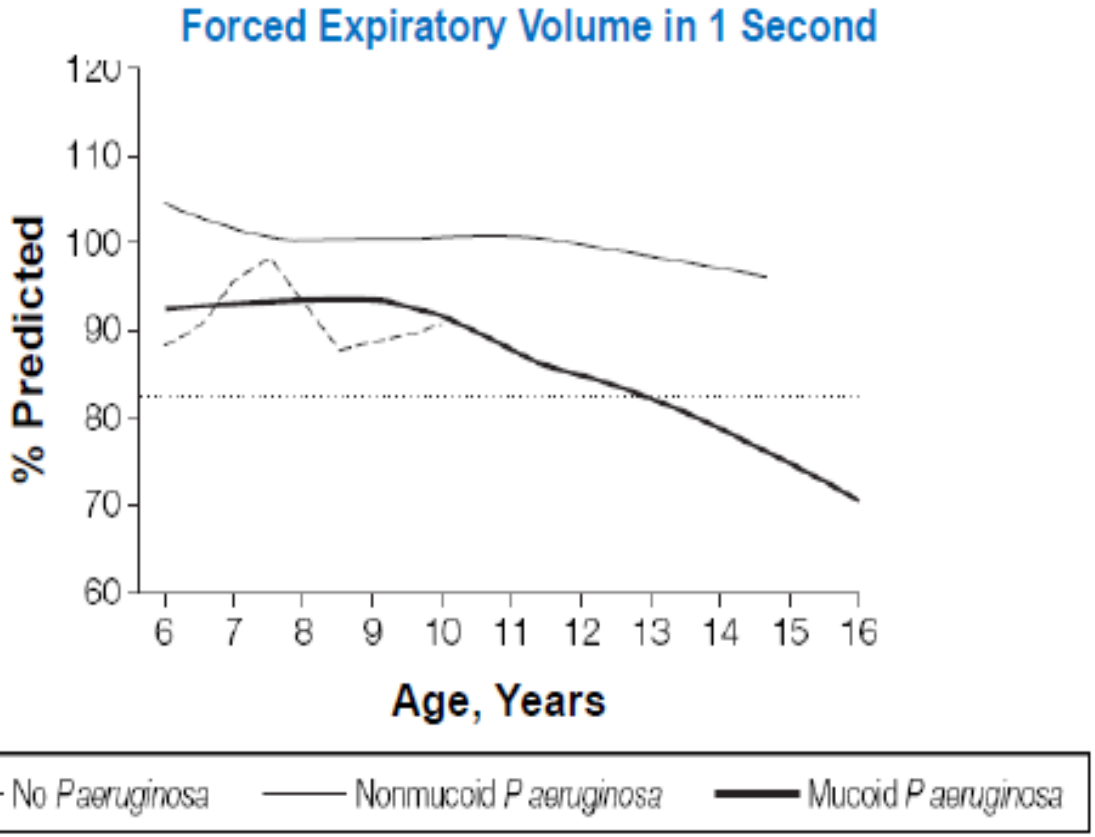


Starner, T et al. *Annals of Int Med*. 2005.

Φυσική ιστορία της πνευμονικής λοίμωξης από Pa στην KI

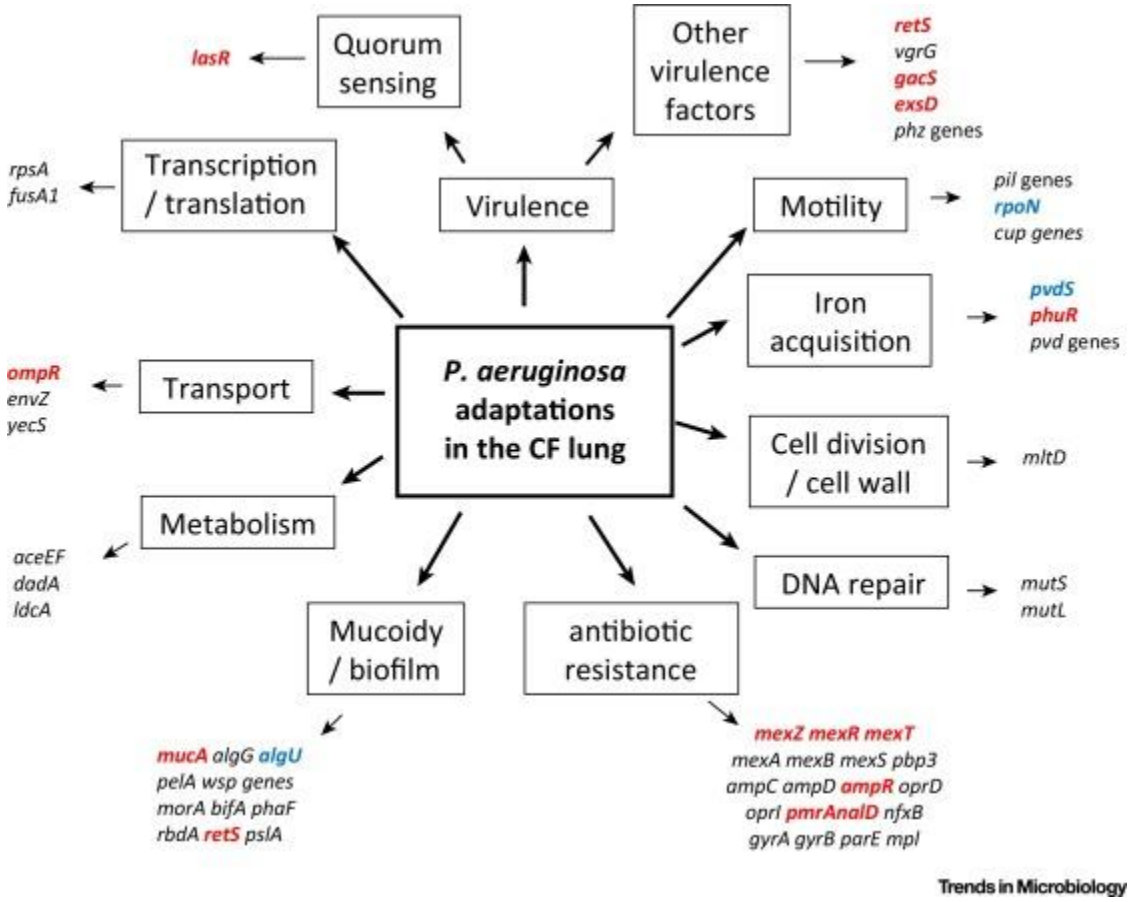


Mucoidy Is Associated With Chronic Infection and Lung Function Decline



Li Z, et al. *JAMA*. 2005;293(5):581-588.

Φαινοτυπικές ΄΄προσαρμογές΄΄ της P.aeruginosa στον πνεύμονα της KI



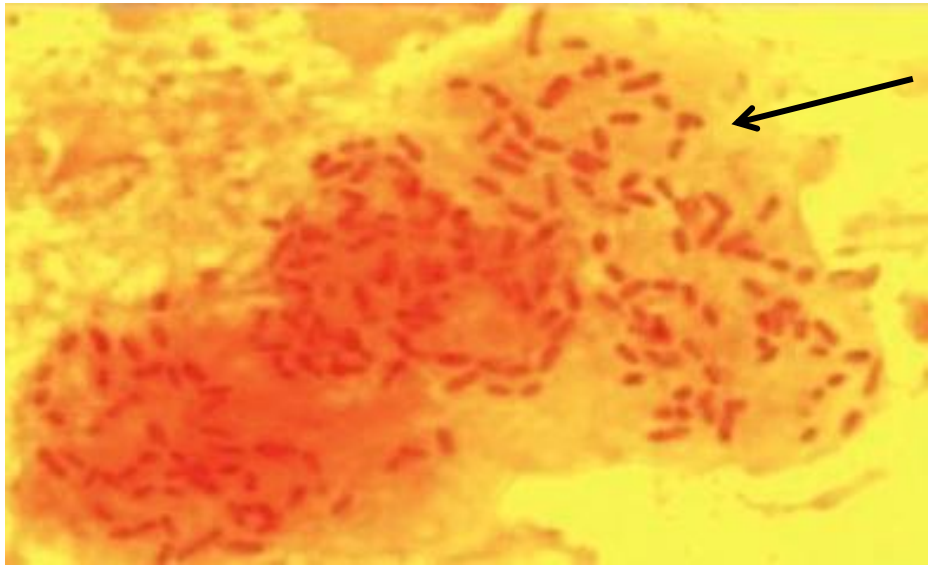
Winstanley C. et all. *Trends in Microbiology* 2016

Biofilm

• Το πιο σημαντικό μοντέλο ανάπτυξης των βακτηριακών αποικιών στην ΚΙ (αλλά και γενικά στις χρόνιες λοιμώξεις)

• Τα βακτήρια αναπτύσσονται μέσα σε ένα εξωκυττάριο υλικό αποτελούμενο από πολυσακχαρίδες, πρωτείνες και DNA

• Μέσα στο biofilm οι βακτηριακές αποικίες ΄΄διαφεύγουν΄΄ απ΄τη δράση των αντιβιοτικών αλλά και την ανοσολογική επιτήρηση του ξενιστή



P. aeruginosa biofilm

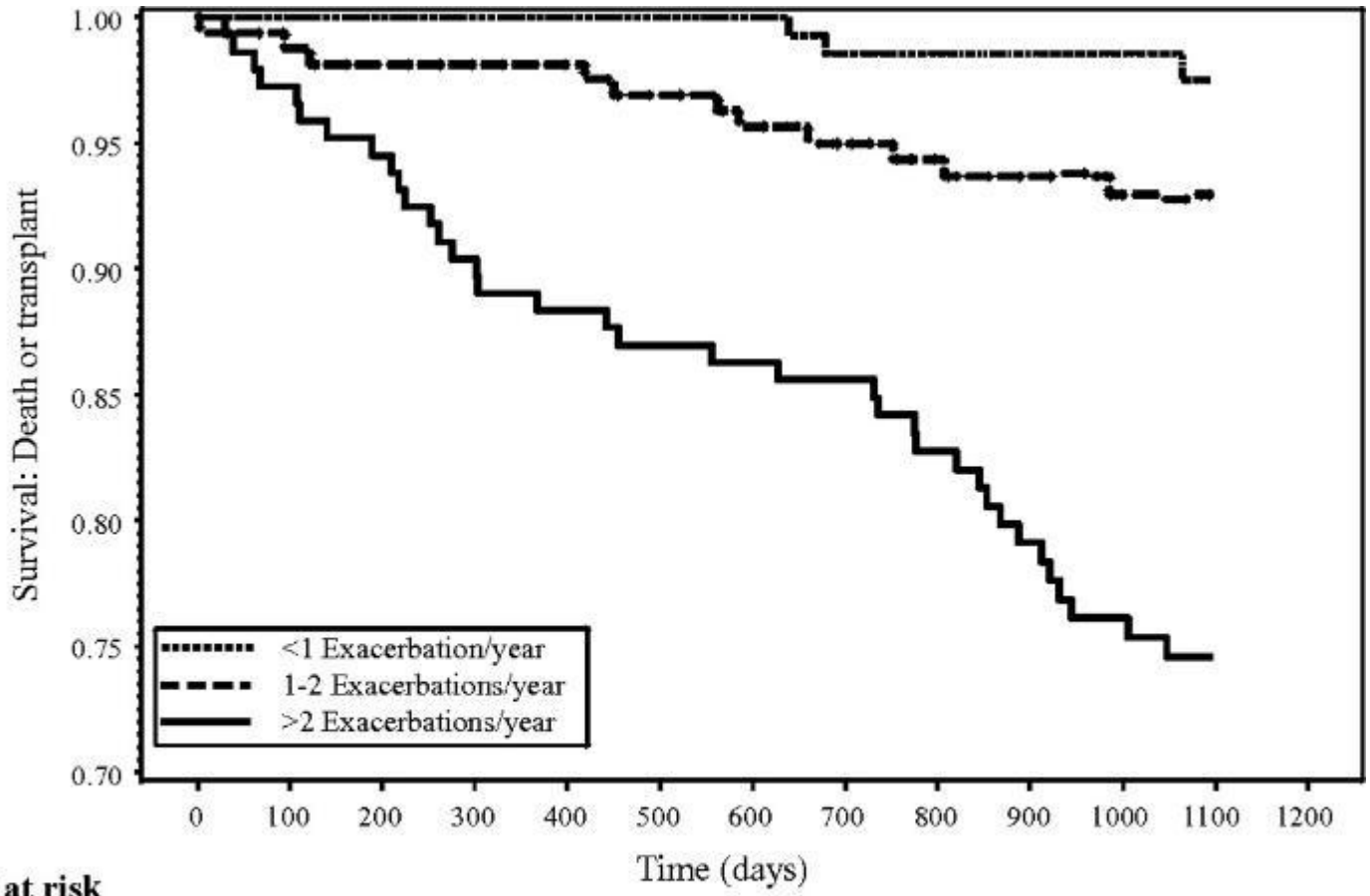
Courtesy of N. Hoiby, Copenhagen

Οι πνευμονικές παροξύνσεις επιβαρύνουν σημαντικά την πρόγνωση της νόσου

- Χαρακτηρίζονται από οξεία ή υποξεία επιδείνωση των αναπνευστικών συμπτωμάτων (βήχας, δύσπνοια, παραγωγή πτυέλων)[1]
- Αυξάνονται προοδευτικά σε συχνότητα και βαρύτητα στην διάρκεια της ζωής ενός ασθενούς με ΚΙ[1,2]
- Οδηγούν σε σημαντική κλινική επιδείνωση:
  - *Μη αναστρέψιμη έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας*[3-6]
  - *Αύξηση του κινδύνου για παροξύνσεις στο μέλλον*[7]
  - *Σημαντική επιβάρυνση στην ποιότητα ζωής*[8]
  - *Αύξηση της θνητότητας*[9-12]

1. Goss CH, Burns JL. *Thorax*. 2007;62(4):360-367. 2. CFF Patient Registry. Annual Report to the Center Directors, 2013. 3. Sanders DB et al. *Am J Resp Crit Care Med*. 2010;182(5):627-632. 4. Sanders DB et al. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46(4):393-400. 5. Waters V et al. *J Cyst Fibros.* 2012;11(1):8-13. 6. Collaco JM et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(9):1137-1143. 7. Van Devanter et al. *J Cyst Fibros*. 2015 Mar 5. [Epub ahead of print]. 8. Britto et al. *Chest.* 2002;121:64–72. 9. de Boer K et al. *Thorax.* 2011;66(8):680-685. 10. Liou TG et al. *Am J Epidemiol*. 2001;153(4):345-352. 11. Stephenson AL et al. *Eur Resp J.* 2015;45(3):670-679. 12. Buzzetti R. *J Cyst Fibros*. 2012;11(1):24-29.

Time to death or lung transplant over 3 years



# at risk						
<1 /year	140	140	140	140	128	107
1-2 /year	160	157	157	152	141	122
>2 /year	146	138	129	125	116	100

THORAX

de Boer K et al. Thorax 2011;66:680-685

Θεραπεία της πνευμονικής λοίμωξης στην ΚΙ

	Recommendations
Prophylaxis of infection[11,13]	
Staphylococcus aureus	Oral flucloxacillin is prescribed in young children in the UK This prophylactic treatment is not advocated by a US consensus report because of the scarcity of evidence
Eradication of initial infection[2,10,12,13]	
Pseudomonas aeruginosa	Aerosolised antibiotics have been recommended for eradication of initial infection in the UK, USA, and Europe with inhaled tobramycin advised in a European consensus report First-line treatment in the UK is nebulised colistin and oral ciprofloxacin When a more aggressive treatment is needed intravenous antibiotics are used including meropenem and tobramycin
S aureus	Eradication with oral antibiotics including flucloxacillin, sodium fusidate, or rifampicin is recommended in the UK and Europe Combination oral or intravenous antibiotic treatment might be necessary for refractory infections
Haemophilus influenzae	UK and European guidelines advocate an oral antibiotic including co-amoxiclav or doxycycline
Suppression of chronic infection[7,10,12,13]	
P aeruginosa	First-line treatment in the UK is nebulised colistin A US consensus report[12] recommends nebulised tobramycin, which is also second-line treatment in the UK Inhaled aminoglycosides or colistin is advised in a European consensus report[10] In 2010, nebulised aztreonam was approved by the US Food and Drug Administration (FDA) and is an option for patients with cystic fibrosis
Treatment of pulmonary exacerbations[11,13]	
Depends on the bacterium isolated	Two or more antibiotics with different mechanisms of action are normally used and are administered intravenously, orally, or via inhalation

***Table 1*: Bacterial targets of antibiotic regimens used to prevent, control, or eradicate cystic fibrosis pulmonary infection in the UK, USA, and Europe**

Laura J Sherrard et all. Lancet 2014

Μικροβιακή αντοχή
Βασικοί ορισμοί

- **Δραστικότητα αντιβιοτικού**

  - Μικροβιολογική (in vitro)
  - Κλινική (in vivo)

- **Αντοχή μικροοργανισμού**

  - Μικροβιολογική (in vitro)
  - Κλινική (in vivo)

Μικροβιακή αντοχή
Βασικοί ορισμοί

In vitro κριτήριο μικροβιολογικής δραστικότητας

Ο προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής πυκνότητας (MIC)

MIC: Η ελάχιστη πυκνότητα του αντιβιοτικού που αναστέλλει την ανάπτυξη του μικροβίου

BREAKPOINT: ΣΗΜΕΙΟ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

Το ΄΄σημείο΄΄ στο αντιβιόγραμμα που διαχωρίζει την ευαισθησία από την αντοχή (*εκφράζεται σε **μg/ml** και μεταφράζεται σε **mm διαμέτρου ζώνης αναστολής***)

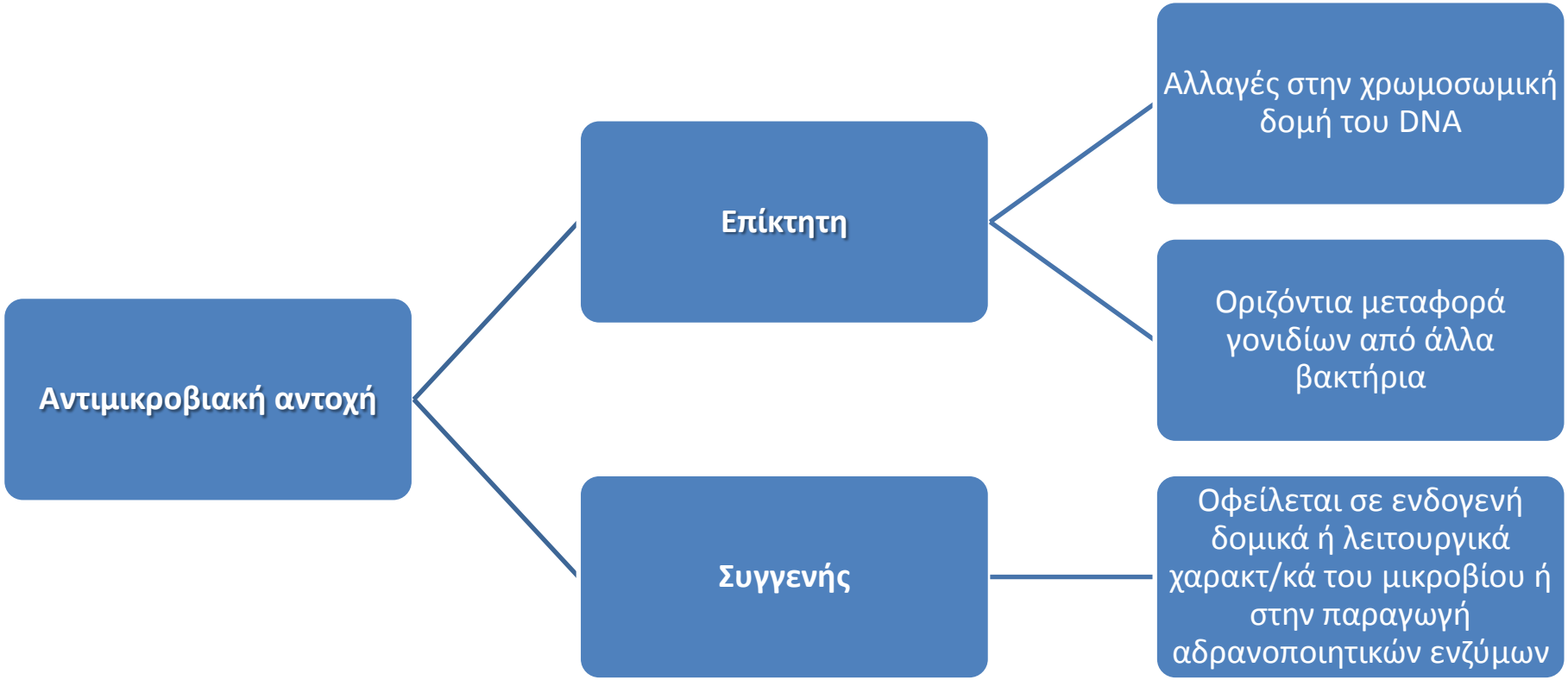
Μικροβιακή αντοχή
Βασικοί ορισμοί

Τα μικρόβια κατηγοριοποιούνται ως:

- Ευαίσθητα
- Ενδιάμεσης ευαισθησίας
- Ανθεκτικά στα αντιβιοτικά, ανάλογα με την σύγκριση της MIC με το Breakpoint του συγκεκριμένου αντιβιοτικού

  - Η αναστολή του μικροβίου από μικρότερες ποσότητες δείχνει ευαισθησία
  - Η απαίτηση μεγαλύτερων από το Breakpoint ποσοτήτων δείχνει αντοχή στο αντιβιοτικό

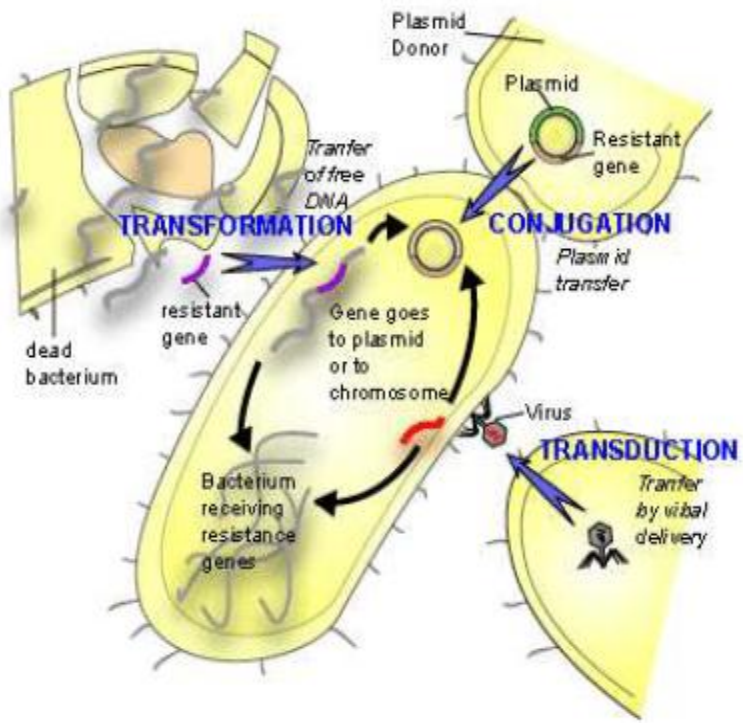
Τρόποι ανάπτυξης της αντιμικροβιακής αντοχής



Γενετικοί μηχανισμοί επίκτητης αντοχής

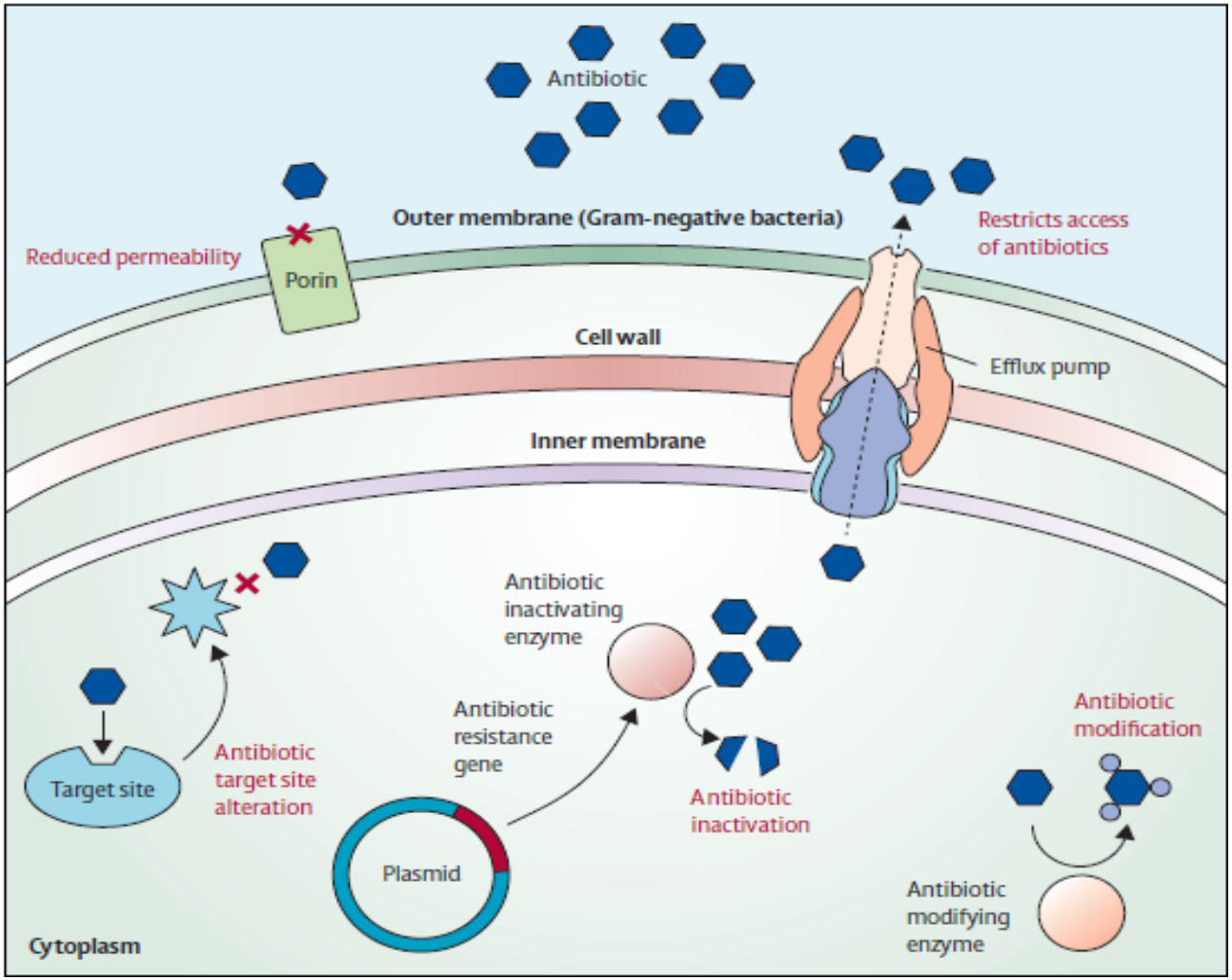
Η επίκτητη αντοχή οφείλεται σε:

- αλλαγές (mutations) στη δομή του χρωμοσωματικού DNA ή / και
- απόκτηση γενετικού υλικού από άλλα βακτήρια:
  - Μεταμόρφωση (transformation)
  - Σύζευξη (conjucation)
  - Μεταγωγή (transduction)



Η επίκτητη αντοχή αποτελεί το καλύτερο παράδειγμα ταχύτατης προσαρμογής των βακτηρίων στο νέο οικοσύστημα

Μηχανισμοί αντοχής των μικροβίων στα αντιβιοτικά



Laura sherrard et all. Lancet 2014

Μηχανισμοί αντοχής στα β-λακταμικά αντιβιοτικά

1. Παραγωγή β-λακταμασών

2. Μειωμένη διαπερατότητα – απώλεια πορινών
   1. Παράδειγμα: Απώλεια πορίνης OprD στην *P. aeruginosa* προκαλεί αντοχή στην Ιμιπενέμη

3. Συστήματα αντλιών ενεργητικής αποβολής του αντιβιοτικού
   1. Παράδειγμα: Υπερέκφραση αντλίας στην *P. aeruginosa* προκαλεί αντοχή σε Μεροπενέμη και άλλες τάξεις αντιβιοτικών

4. Τροποποίηση του στόχου δράσης – PBPs (σπάνια)

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της αντιμικροβιακής αντοχής στην ΚΙ

- Στην ΚΙ υπάρχουν βακτηριακοί πληθυσμοί που είναι **βραδέως αναπτυσσόμενοι**:
  - Οι πληθυσμοί που αναπτύσσονται στα biofilms
  - Οι small colony variants

  (πχ ο Staphylococcus aureus μπορεί να έχει χρόνο αναδιπλασιασμού 2 μέρες στους αεραγωγούς της ΚΙ συγκριτικά με την 1h που χρειάζετα για να αναδιπλασιασθεί in vitro)
- Οι βραδέως αναπτυσσόμενοι πληθυσμοί μπορεί να εμφανίζουν αντοχή πχ στα Β-Λακταμικά αντιβιοτικά όταν χορηγούνται σε υψηλές συγκεντρώσεις αλλά για βραχύ χρονικό διάστημα
- Στις χρόνιες διαπυητικές λοιμώξεις επίσης αναπτύσσονται υπο-πληθυσμοί βακτηριδίων που χαρακτηρίζονται ως ***persisters (επιμένοντες)*** οι οποίοι παρότι δεν έμφανίζουν in vitro αντοχή, εμφανίζουν in vivo και συνδέονται με αποτυχία της θεραπείας

Proctor RA et all. *Clin Infect Disease* 1998

Mulcahy RL, et all. *J Bacteriol* 2010

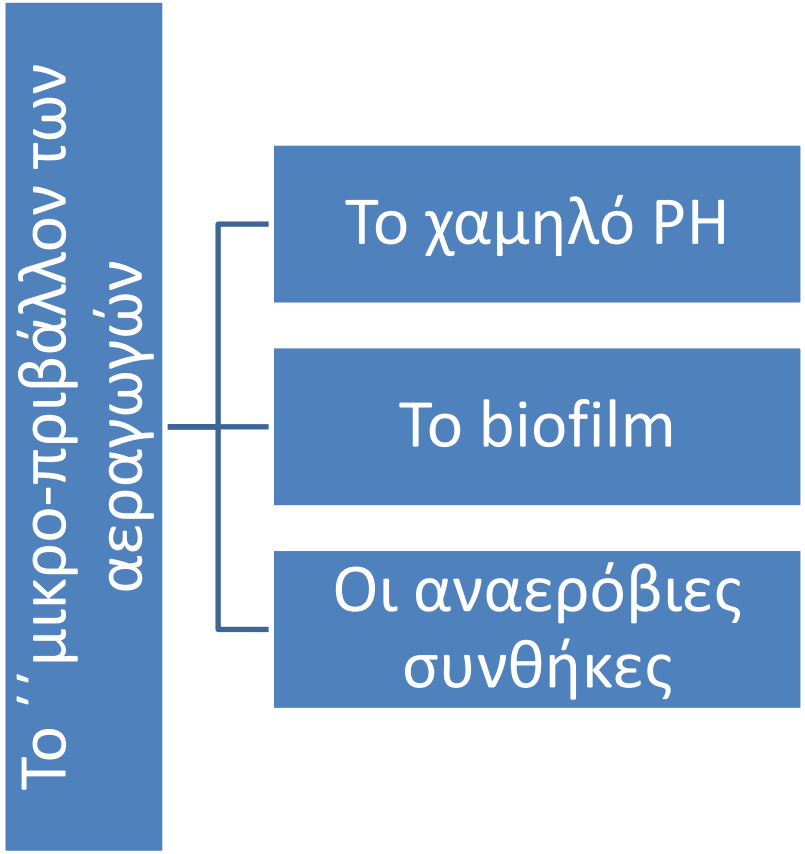
Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της αντιμικροβιακής αντοχής στην KI

- Τα Breakpoints (FDA,CLSI,EUCAST) έχουν καθορισθεί με βάση κλινικά, μικροβιολογικά και φαρμακολογικά δεδομένα και αφορούν συγκεντρώσεις που επιτυγχάνουν τα αντιβιοτικά **στο αίμα**, μετά από ***παρεντερική χορήγηση***

- Η συγκέντρωση ενός εισπνεόμενου αντιβιοτικού στα πτύελα μπορεί να είναι έως και **100 φορές μεγαλύτερη** σε σύγκριση με την συγκέντρωση που επιτυγχάνεται από την παρεντερική χορήγησή του

- Δεν υπάρχουν σαφώς καθορισμένα Breakpoints για τα εισπνεόμενα αντιβιοτικά

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της αντιμικροβιακής αντοχής στην ΚΙ

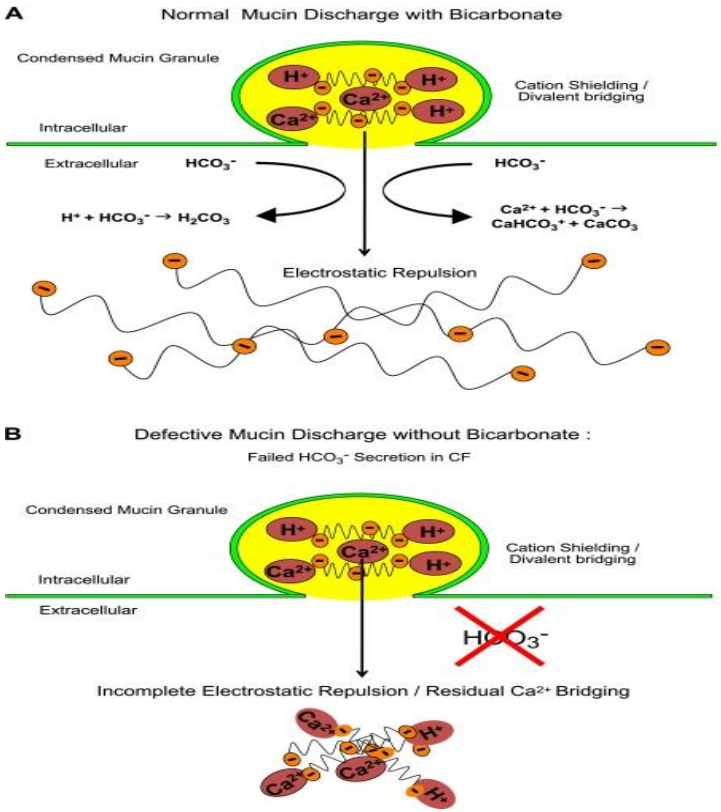


Μηχανισμοί αντοχής στην κυστική ίνωση

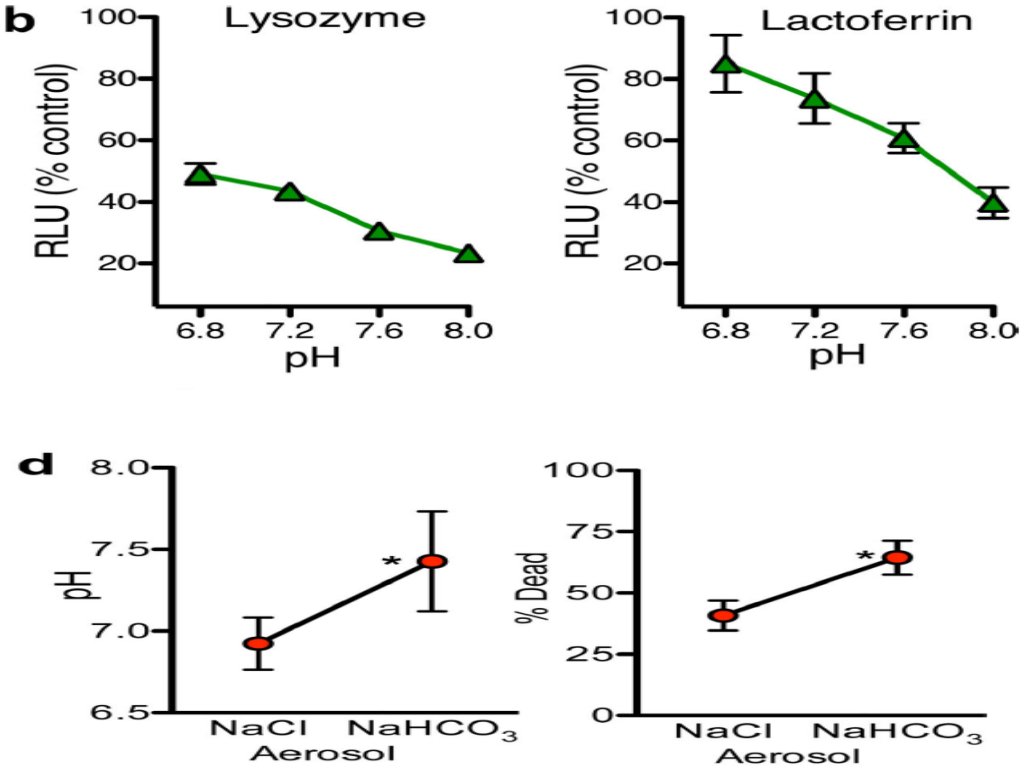
Το ΄΄*μικροπεριβάλλον*΄΄ των αεραγωγών

1. Το όξινο PH στην ASL

Διαταραχή της έκκρισης των HCO3 → **Μείωση PH στην ASL** → **Μείωση αντιμικροβιακής δράσης**

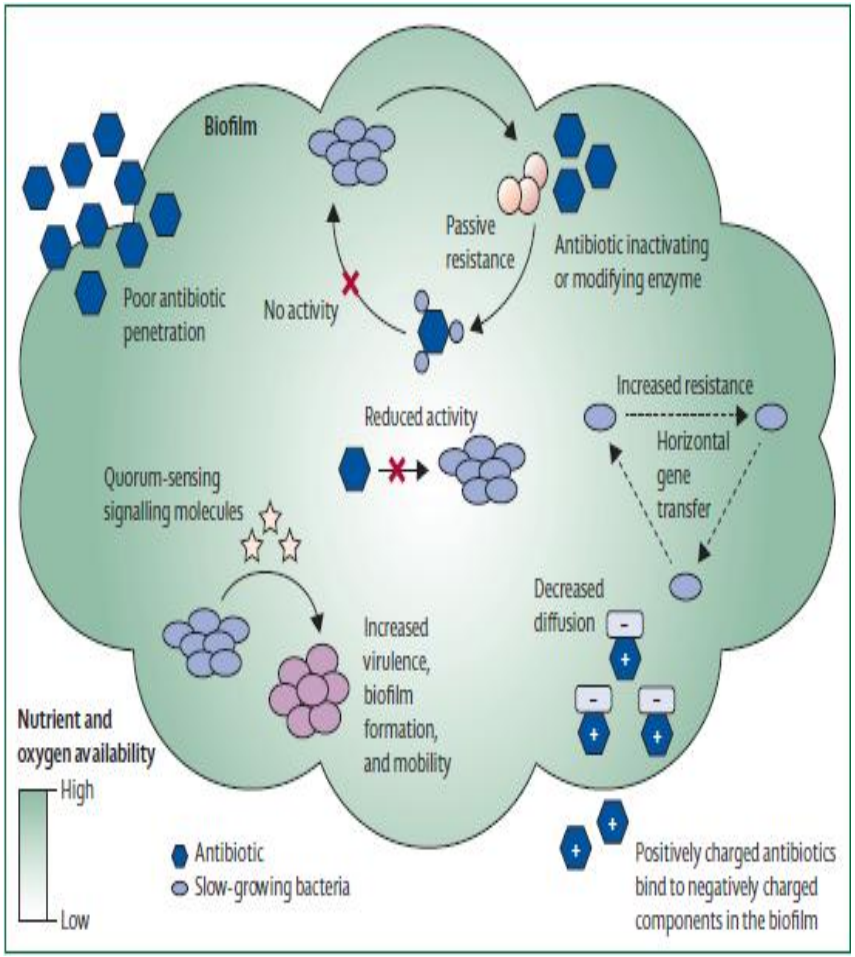


Quinton et all. Am J Physiol 2010



Pezzulo AA et al, *Nature* 2012

Μηχανισμοί αντοχής στην κυστική ίνωση
Το ΄΄*μικροπεριβάλλον*΄΄ των αεραγωγών
2. Το Biofilm



- Η ανάπτυξη των βακτηριακών στελεχών σε μορφή biofilm τα καθιστά 100 έως 1000 φορές πιο ανθεκτικά στα αντιβιοτικά συγκριτικά με την ανάπτυξη σε ΄΄πλαγκτονική΄΄ μορφή, εξαιτίας:
  - μειωμένης διαπερατότητας του biofilm από το αντιβιοτικό
  - αδρανοποίησης αντιβιοτικού
  - μεταβίβασης ΄΄γονιδίων αντοχής΄΄
  - ανάπτυξης ΄΄ενδο-επικοινωνίας΄΄ μέσω quorum-sensing (QS) signals

Laura sherrard et all. Lancet 2014

Μηχανισμοί αντοχής στην κυστική ίνωση
Το ΄΄*μικροπεριβάλλον*΄΄ των αεραγωγών
3. Οι αναερόβιες συνθήκες

- Οι αναερόβιες συνθήκες στην βρογχική διαπύηση της ΚΙ, επηρεάζουν την ανάπτυξη όχι μόνο των αναερόβιων στελεχών αλλά και πολλών αερόβιων που μπορούν αναπτυχθούν σε αναερόβιες συνθήκες.
- Η *P.aeruginosa* που αναπτύσσεται σε μικροαερόφιλες ή αναερόβιες συνθήκες εμφανίζει φαινοτυπικές αλλαγές που αυξάνουν την αντοχή της στις αμινογλυκοσίδες, τις β-λακτάμες και την κολυμικίνη.
- Η βακτηριοκτόνος δράση των αμινογλυκοσιδών μειώνεται σε συνθήκες υποξίας.

Hill D et all. *J Clin Microbiol* 2005
Schaible B et all. *Antimicrob Agents Chemother* 2012
Nichols WW et all. *Antimicrob Agents Chemother* 1988

Μηχανισμοί αντοχής στην κυστική ίνωση
Το ΄΄*μικροπεριβάλλον*΄΄ των αεραγωγών
4. Οι συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών

- Η συστηματική χορήγηση των αντιβιοτικών μπορεί να οδηγήσει σε υπο-θεραπευτικές συγκεντρώσεις στις εστίες της λοίμωξης.

Moriarty TF, et all. *Pediatr Pulmonol* 2007

- Οι υπο-θεραπευτικές δόσεις αντιβιοτικών οδηγούν σε επιλογή ανθεκτικών στελεχών.

Jorgensen KM, et all. *Antimicrob Agents Chemother* 2013

- Επίσης ευνοούν την ανάπτυξη της *P.aeruginosa* σε μορφή Biofilm

McCaughey G, et all. *PLoS One 2013*
Hoff man LR, et all. *Nature* 2005

Τρόποι ΄΄ανίχνευσης΄΄ της αντιμικροβιακής αντοχής

1. Η συμβατική καλλιέργεια

↓

Ταυτοποίηση γένους & είδους με βιοχημικές μεθόδους

Sabouraud agar

Endo (MacConkey) agar

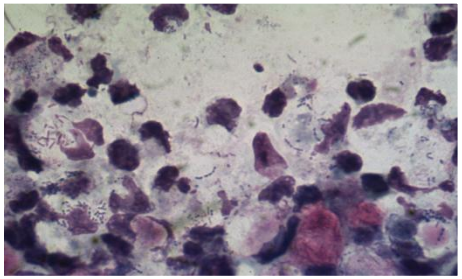
Columbia blood agar

B. Cepacia selective agar

2. Νεώτερες τεχνικές

- Μοριακή ταυτοποίηση & τυποποίηση
- Proteomics (Maldi TOF MS)

΄΄Περιορισμοί΄΄ της συμβατικής καλλιέργειας πτυέλων



1. Φτωχή αναπαραγωγιμότητα

1 clinical sample ~ 4 morphotypes of *P. aeruginosa*
1 morphotype ~ 3 different antibiograms

Foweraker JE. *J Antimicrob Chemother* 2005

2. Το αντιβιόγραμμα προβλέπει την έκβαση σε μονομικροβιακές, οξείες λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια που αναπτύσσονται ελεύθερα (planktonic bacteria) και όχι σε μορφή biofilm (δεν αντιπροσωπεύει τους πολυμικροβιακούς, αργά αναπτυσσόμενους και ποικιλόμορφους μικροβιακούς πληθυσμούς στον πνεύμονα της ΚΙ αλλά ***ούτε και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους***)

3. Φτωχή συσχέτιση με την κλινική ανταπόκριση του ασθενούς

J. Kidd et all. Defining Antimicrobial Resistance in Cystic Fibrosis.
Journal of Cystic Fibrosis 2018

Το αντιβιόγραμμα της συμβατικής καλλιέργειας πτυέλων και η κλινική ανταπόκριση του ασθενούς ΔΕΝ ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ στην ΚΙ

- Σε πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι το 57% των πνευμονικών παροξύνσεων σε ασθενείς χρονίως αποικισμένους με *P.aeruginosa,* θεραπεύτηκαν επιτυχώς με συνδυασμούς αντιβιοτικών τα οποία εμφάνιζαν in vitro αντοχή στο αντιβιόγραμμα.

Parkins MD et all. *Chest* 2012

- Σε άλλη μελέτη φάνηκε ότι στο 24% των παροξύνσεων στις οποίες χορηγήθηκαν αντιβιοτικά με ευαισθησία στο αντιβιόγραμμα, δεν υπήρξε κλινική ανταπόκριση (*΄΄treatment failures΄΄*)

Smith AL. et all. *Chest* 2003

Το αντιβιόγραμμα δεν σχετίζεται με την ανταπόκριση στην θεραπεία

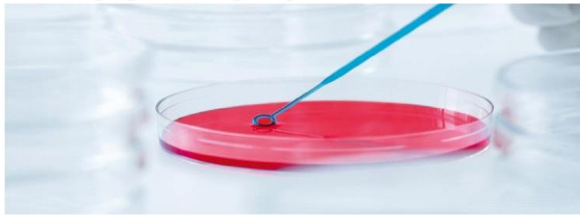
Antimicrobial Resistance International Working Group in Cystic Fibrosis in a systematic review in the *Journal of Cystic Fibrosis*

↓

''The studies assessed both treatment of pulmonary exacerbations and maintenance therapy. The results showed that AST accurately predicted treatment response in only 2 of 16 studies evaluating treatment of pulmonary exacerbations and 1 of 7 studies that addressed maintenance therapy''.

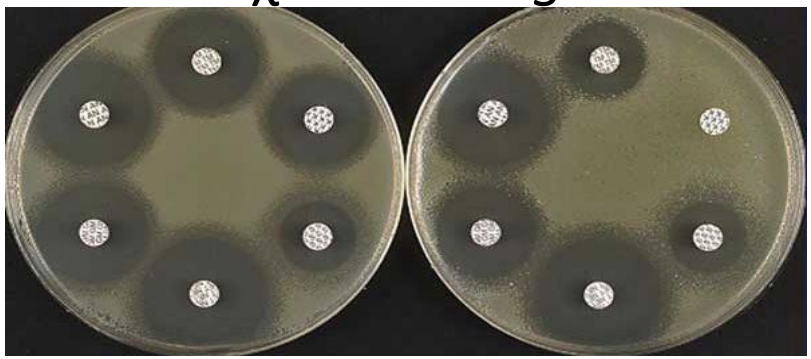
Somayaji R, et al. Antimicrobial susceptibility testing (AST) and associated clinical outcomes in individuals with cystic fibrosis: a systematic review. *J Cyst Fibros*. 2019

Πότε είναι χρήσιμο το αντιβιόγραμμα;



Το αντιβιόγραμμα μπορεί να είναι χρήσιμο:

1. Όταν απομονώνεται ένα νέο μικροβιακό στέλεχος που δεν προϋπήρχε
2. Όταν δεν υπάρχει κλινική ανταπόκριση στον συνδυασμό των αντιβιοτικών που έχει χορηγηθεί και απαιτείται αλλαγή της θεραπείας
3. Επιτήρηση & παρακολούθηση MDR στελεχών *P.aeruginosa* σε συνδυασμό με τυποποίηση του στελέχους



΄΄The finding of in vitro antibiotic resistance does not necessarily indicate that treatment should be changed if the patient isresponding to the current therapy.΄΄

Doring et al.: Treatment of lung infection in patients with CF: current and future strategies. *JCF* 2012

Randomized Trial of Biofilm Testing to Select Antibiotics for Cystic Fibrosis Airway Infection*

Changes in *Pseudomonas* sputum density and FEV_1, by study group.

	BIC group	MIC group	Mean difference between groups, adjusted for baseline (95% CI)	p-value
Change in *P. aeruginosa* sputum density (log_{10} CFU/g)[a]				
Subjects with follow-up data, n	17	14		
Baseline density, mean (SD)	7.26 (1.04)	7.68 (1.20)		
Follow-up density, mean (SD)	4.32 (3.04)	4.42 (3.17)		
Change in density, mean (SD)	-2.94 (2.83)	-3.27 (3.09)	0.28 (-1.98, 2.54)	0.80
Change in FEV_1 (L)				
Subjects with follow-up data, n	18	16		
Baseline FEV_1, mean (SD)	2.47 (1.06)	2.39 (1.39)		
Follow-up FEV_1, mean (SD)	2.66 (1.07)	2.51 (1.35)		
Change in FEV_1, mean (SD)	0.18 (0.20)	0.12 (0.22)	0.07 (-0.08, 0.22)	0.34

Samples with a total density of zero were assigned a value of 1 so that the transformed (log_{10}) value would be equal to zero.

- Σύγκριση του BST με την συμβατική καλλιέργεια πτυέλων, στην επιλογή των αντιβιοτικών για P.aeruginosa σε παιδιατρικούς ασθενείςχωρίς παρόξυνση
- Συμπεριλήφθηκαν 39 ασθενείς και έλαβαν 14 μέρες IV αγωγής ανάλογα με τα αποτελέσματα των test ευαισθησίας
- Η επιλογή των αντιβιοτικών με βάση τις 2 διαφορετικές δοκιμασίες οδήγησε σε παρόμοια μικροβιολογικά και κλινικά αποτελέσματα

S.M. Moskowitz et. All. *Pediatr Pneumol* 2011

Combination antibiotic susceptibility testing to treat exacerbations of cystic fibrosis associated with multiresistant bacteria: a randomised, double-blind, controlled clinical trial

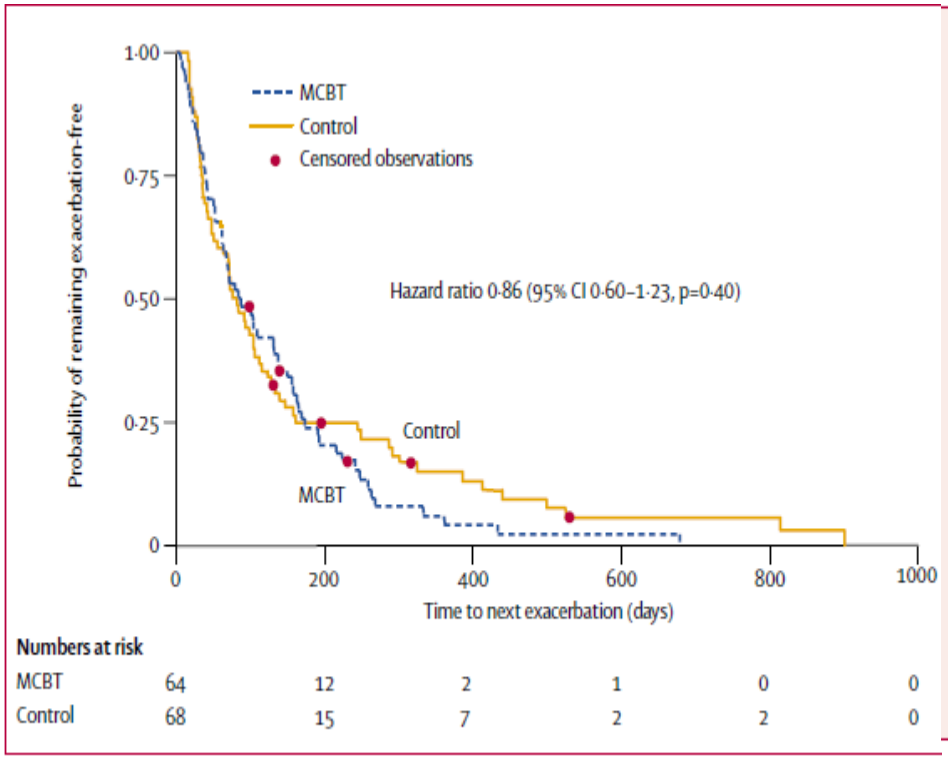


Figure 2: Kaplan-Meier estimates of the probability of remaining exacerbation-free, according to treatment assignment

	MCBT (n=64)	Control (n=68)	p
Mean change in FEV_1 in L, day 1 to day 14 (SD)	0·29 (0·38)	0·23 (0·32)	0·35
Mean change in FVC in L, day 1 to day 14 (SD)	0·36 (0·46)	0·48 (0·61)	0·26
Transitional dyspnoea index score, day 14 (SD)	5·77 (3·89)	5·79 (3·50)	0·98
Mean hospital length of stay in days (SD)	16·6 (10·2)	13·6 (6·8)	0·03
Treatment failure rate (%)	6/64 (9·4%)	5/68 (7·4%)	0·76
Mean change in sputum bacterial density, day 1 to day 14	$-4{\cdot}32\times10^7$ CFU/mL	$-2{\cdot}26\times10^7$ CFU/mL	0·26

All continuous outcome variables were analysed using independent sample *t* tests except hospital length of stay, which was analysed using a non-parametric Wilcoxon test.

Table 3: Changes in lung function, dyspnoea, hospital length of stay, treatment failure rates, and sputum bacterial density according to treatment assignment

Interpretation Antibiotic therapy directed by combination antibiotic susceptibility testing did not result in better clinical and bacteriological outcomes compared with therapy directed by standard culture and sensitivity techniques. The non-bactericidal effects of antibiotic therapy might play an important part in determining improvement in patients with cystic fibrosis pulmonary exacerbations.

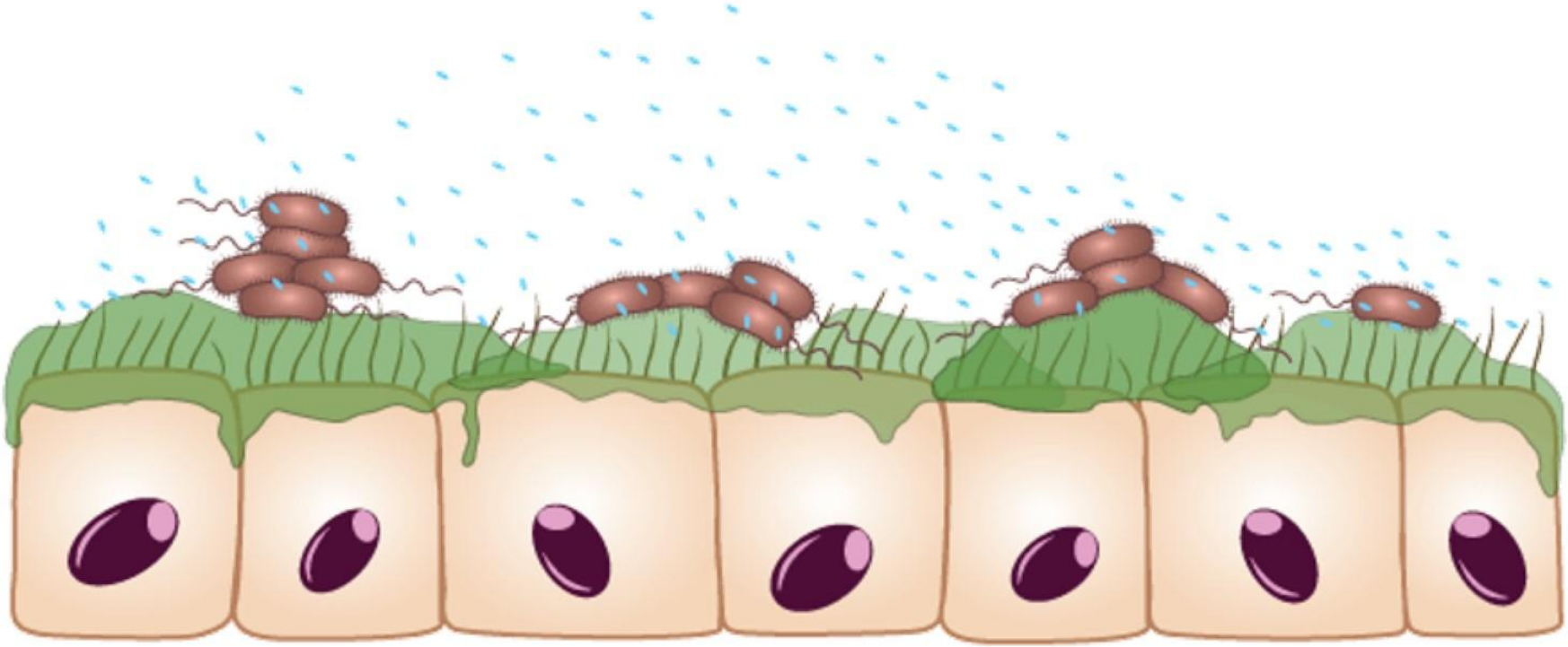
S.D Aaron et all. *Lancet* 2005

Νεώτερες τεχνικές ανίχνευσης της αντιμικροβιακής αντοχής

- Μοριακές τεχνικές (WGS – Whole Genome Sequencing) χρησιμοποιούνται ερευνητικά στην παρούσα φάση, για να αναλύσουν το σύνολο του ΄΄μικροβιώματος΄΄ της ΚΙ (ταυτοποίηση) και να ανιχνεύσουν τους μηχανισμούς αντίστασης στο σύνολο του βακτηριακού γονιδιώματος (΄΄Resistome΄΄ analysis)
- Πολλές μελέτες δείχνουν ότι το μικροβίωμα της ΚΙ αλλάζει στην πορεία του χρόνου και με την χρήση των αντιβιοτικών
- Η μοριακή ανάλυση θα επιτρέψει την παρακολούθηση των μηχανισμών αντοχής σε βάθος χρόνου και αυτό μπορεί να έχει θεραπευτικές εφαρμογές

Targeting the Airway Microenvironment With Inhaled Antibiotics

- Bacteria proliferate in mucus and biofilm on cell surface
- Inhaled antibiotics target the infectious milieu to restore the normal airway microenvironment



Cohen TS, et al. *Nat Med*. 2012;18:509-519.

Delivery of Inhaled Antibiotics

Potential advantages	• Deposition of higher antimicrobial concentrations at infection site vs same dose with oral or IV delivery • Reduced potential for systemic toxicities and acquired microbial resistance mechanisms despite elevated local drug exposure
Potential Disadvantages	• Drug delivery limited to ventilated areas with no obstruction • Potential for variable drug deposition in differently ventilated regions • Local adverse events can interfere with adherence

Flume PA, et al. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;85:1-6.

Maximizing Delivery of Inhaled Antibiotics

- Both particle and host factors play a role in delivery of sufficient therapy to target airways
- Treatment selection should be tailored to each patient

Particle Factors

- Size: small enough to bypass upper airways but still carry drug
- Shape/density: optimal transport velocity to ensure deposition in small airways

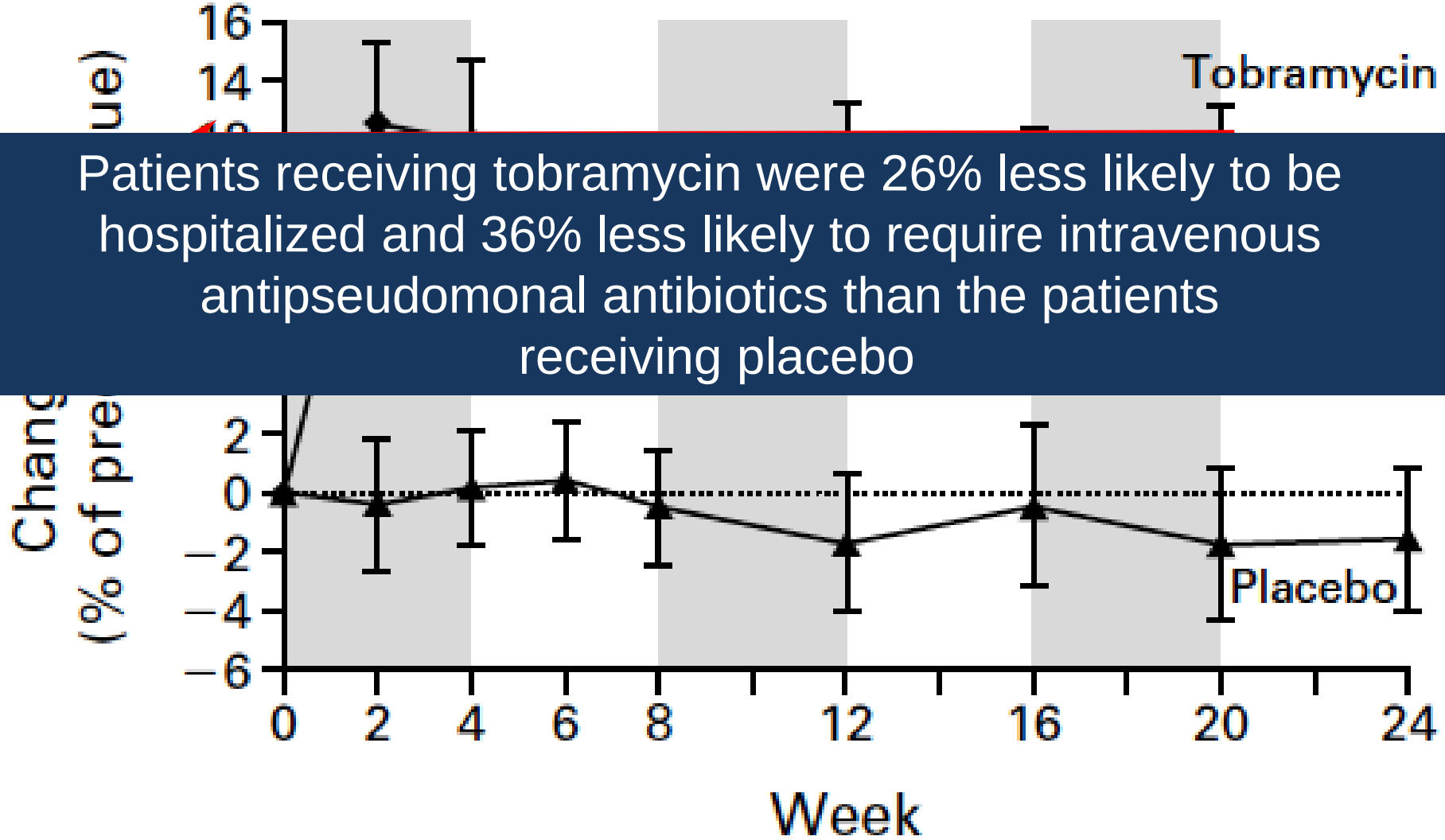
Host Factors

- Diameter of airways
- Inhalation technique (fast vs slow and deep)
- Structural damage that disrupts/blocks airflow
- Structural damage that limits lung expansion

Tiddens HA, et al. *Eur Respir J*. 2014;44:1308-1318.

Long term antibiotics

Tobramycin



Patients receiving tobramycin were 26% less likely to be hospitalized and 36% less likely to require intravenous antipseudomonal antibiotics than the patients receiving placebo

Ramsey et al 1999

Tobramycin Solution for Inhalation
Chronic Airway Infection

Patient Survival

	Mortality rate without TSI	Mortality rate with TSI	Increase in the predicted % of patients surviving
2 years	2.1%	1.3%	0.8%
5 years	8%	5.2%	2.8%
10 years	15%	9.9%	5.1%

TSI use was associated with a 21% reduction in the odds of subsequent year mortality ($P < 0.001$)

Sawicki GS, et al. *Pediatr Pulmonol*. 2012;47(1):44-52.

Inhaled Antibiotics Targeting *P aeruginosa*

Antibiotic Class	FDA or EMA Approved Agents	Agents in Development	Agents Used Off-Label
Aminoglycosides	Tobramycin inhaled solution Tobramycin inhaled powder	Liposomal amikacin	Gentamicin
Beta-lactams	Aztreonam inhaled solution		Ceftazidime
Fluoroquinolones	Levofloxacin aerosol (EU)	Levofloxacin aerosol (US) Liposomal ciprofloxacin Ciprofloxacin powder	
Polymyxins	Colistimethate (EU)		Colistimethate
Fosfomycin		Fosfomycin/tobramycin	

Inhaled Antibiotic Therapy: Guideline Recommendations

Inhaled Antibiotic	CFF Guidelines[a]	European Consensus[b]
Tobramycin inhaled solution 28 days on/off *Age 6 years or older*	• Moderate to severe disease • Mild disease	• All patients with chronic infection
Inhaled aztreonam 28 days on/off *Age 6 years and older*	• Moderate to severe disease • Mild disease	• Patients who require additional therapy (available in EU, Switzerland, US, Canada)
Inhaled colistin	*No recommendation*	• All patients with chronic infection • Continuous
Continuous alternating therapy	• Potential area for further research	• Potential use in patients with unstable or deteriorating disease

a. Mogayzel PJ Jr, et al. *Ann Am Thorac Soc.* 2014;11:1640-1650.
b. Doring G, et al. *J Cyst Fibros.* 2012;11:461-479.

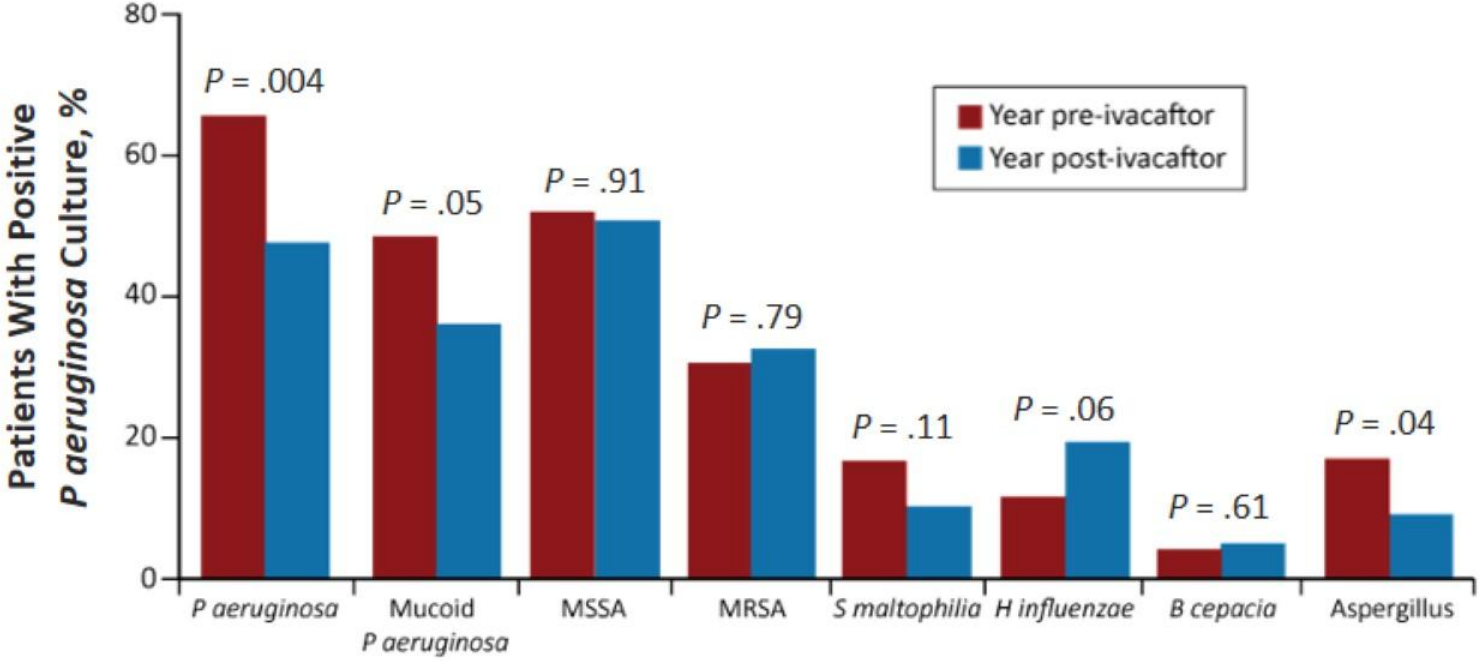
Potential Impact of CFTR Modulators on the Microbiome

Observed changes in airway bacterial community composition	• Decreased relative abundance of *Pseudomonas* • Increased relative abundance of *Streptococcus*, *Haemophilus*, and *Prevotella*
Considerations	• May be due to decreased mucus production providing fewer *P aeruginosa* positive samples • May be due to evolution in microbiome or natural history of pathogens • Longer-term studies are needed

Mooney D, et al. ECFC 2016. Abstract WS07.4.

Using Inhaled Antibiotics Alongside CFTR Modulators

- Use of CFTR modulators → 25-35% reduction in *P aeruginosa* culture positivity[a]
- 70% with intermittent infection vs 10% with chronic infection were culture negative in year 1 after treatment initiation[a]
- Regular monitoring through year 2 likely needed before considering inhaled antibiotic discontinuation



Heltshe SL, et al. *Clin Infect Dis*. 2015;60:703-712.

Παράγοντες που ενισχύουν την δράση των αντιβιοτικών
΄΄Antimicrobial adjuvants΄΄

- Οι χηλικές ενώσεις του σιδήρου (Fe II & Fe III) έχει φανεί in vitro ότι μειώνουν τον σχηματισμό του biofilm της *P.aeruginosa* σε συνθήκες υποξίας και επίσης ΄΄διαλύουν΄΄ το ήδη σχηματισμένο biofilm κατά 33% σε αερόβιες συνθήκες και κατά 28% σε αναερόβιες[1]
- Οι αναστολείς της ΄΄ενδο-επικοινωνίας΄΄ των βακτηριδίων (Quorum sensing inhibitors – QSI)[2] πχ η αζιθρομυκίνη
- Άλλοι παράγοντες που έχει φανεί ότι ενισχύουν την δράση των αντιβιοτικών ή την άμυνα του ξενιστή, είναι το β-καροτένιο, ο ψευδάργυρος και το σκόρδο. Ωστόσο μια Cochrane μετα-ανάλυση αυτών των μελετών δεν έδειξε σημαντικό όφελος στην πνευμονική λειτουργία, τις παροξύνσεις ή την ποιότητα ζωής των ασθενών[3].

Hunter RC. *M Bio* 2013[1], Tateda K. Et all *Antimicrob Agents Chemother* 2001[2], Hurley MN et all. *Cochrane Database Syst Rev* 2013[3]

Συμπερασματικά…

- Σύγχρονες μέθοδοι ανάλυσης του μικροβιώματος της ΚΙ – ερευνητικές στην παρούσα φάση- έχουν δείξει πολυμικροβιακούς πληθυσμούς που μεταβάλλονται στην πορεία του χρόνου αλλά και με τη χορήγηση των αντιβιοτικών

- Καθώς οι ασθενείς με κυστική ίνωση γίνονται μακροβιότεροι και εκτίθεται μακροχρόνια σε πολλαπλά σχήματα αντιβιοτικών, το πρόβλημα της αντιμικροβιακής αντοχής θα επιτείνεται

- Η ανάπτυξη της αντιμικροβιακής αντοχής ευνοείται στο περιβάλλον των αεραγωγών της ΚΙ (πχ horizontal gene transfer)

- Η αντιμικροβιακή αντοχή στην ΚΙ επίσης επηρεάζεται από τις συνθήκες υποξίας, το χαμηλό PH, το biofilm και τις υποθεραπευτικές συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών στο ΄΄μικροπεριβάλλον΄΄ των αεραγωγών της ΚΙ

Συμπερασματικά..

- Μελλοντικές προοπτικές στην αντιμετώπιση της αντιμικροβιακής αντοχής περιλαμβάνουν την χρήση παραγόντων που ενισχύουν την δράση των αντιβιοτικών, την εξέλιξη των μοριακών τεχνικών ταυτοποίησης και τυποποίησης των μικροβιακών πληθυσμών και την διευκρίνιση του ρόλου των αναεροβίων πληθυσμών στην μικροβιακή λοίμωξη και την αντιμικροβιακή αντίσταση.

Ευχαριστώ για την προσοχή σας !