

ROMA, 11 Dicembre 2019

Aula Magna - 1° Clinica Medica

## La microbiologia della fibrosi cistica: aggiornamento e integrazione multidisciplinare



**Non solo Pseudomonas nel polmone dei pazienti con fibrosi cistica...**

**Claudia Pecoraro**

*UOC Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliero Universitaria "Policlinico Umberto I"  
Sapienza Università di Roma*



## Non solo Pseudomonas...

- Formazione di Biofilm
- Quorum Sensing
- Fattori di Virulenza
- Versatilità Metabolica
- Resistenza agli Antibiotici



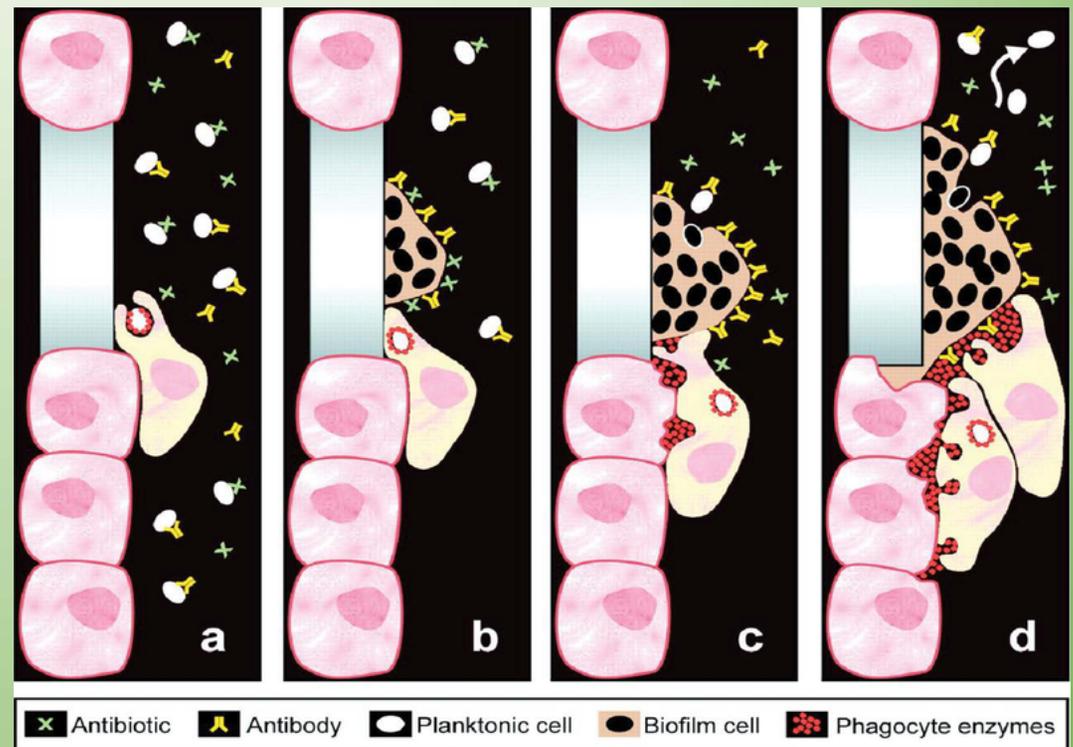
# Non solo Pseudomonas...

- Formazione di Biofilm

Il Biofilm promuove la persistenza batterica durante il trattamento. Nella fase planctonica i batteri vengono aggrediti da antibiotici, anticorpi e cellule del Sistema immunitario. Con la formazione del Biofilm questi elementi diventano meno efficaci e gli enzimi deputati alla fagocitosi aumentano ora il danno cellulare e amplificano la risposta infiammatoria. Se il batterio ritorna poi nella fase planctonica il sistema immunitario dell'ospite e gli antibiotici tornano ad essere più efficaci nei confronti dell'infezione.

Permissions from Copyright Clearance Center - Rightslink, order number:

4336070663094.



Non solo Pseudomonas...

Microrganismi storicamente riconosciuti

Soprattutto in età pediatrica

- *Haemophilus influenzae*
- *Staphylococcus aureus*

# Non solo Pseudomonas...

## *Haemophilus influenzae*

- Può risultare **associato** a *S.aureus*
- Potrebbe avere un ruolo **preparatorio** per la colonizzazione da *P.aeruginosa*



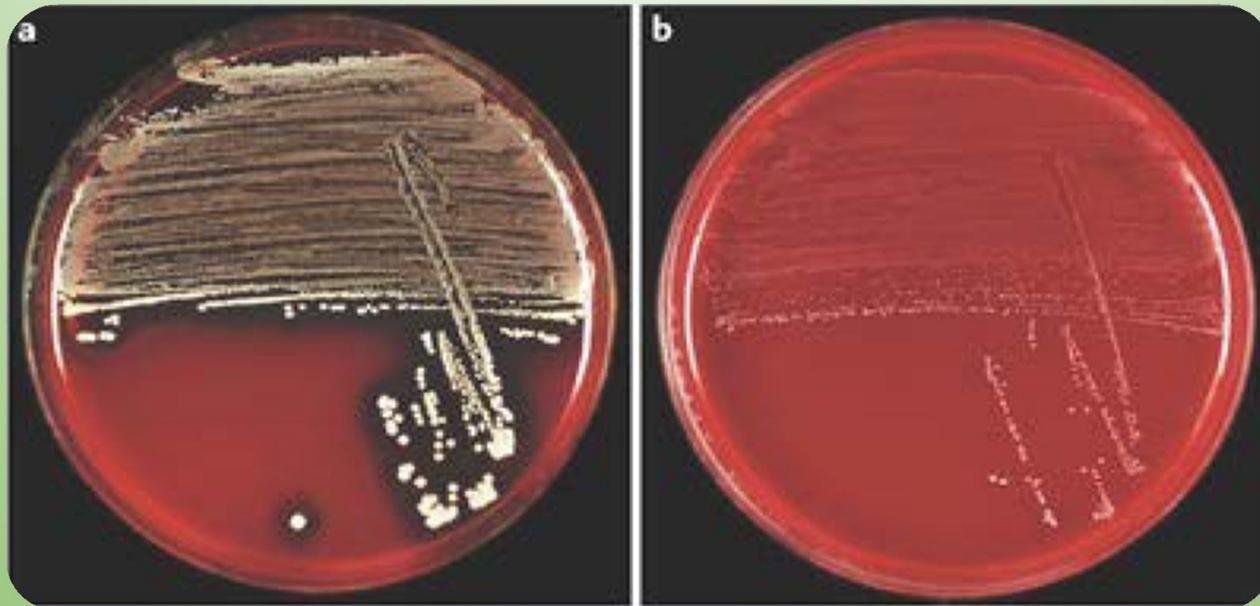
# Non solo Pseudomonas...

## *Stafilococco aureus*

- Diversi fenotipi: mucoide non mucoide e **"small colony variant" (SCV)**
- **Sviluppo di MRSA**
- **Importanza di MSSA**
- Acquisizione ospedaliera ma anche acquisizione comunitaria
- Acquisizione della resistenza maggiore nelle infezioni polmonari di pazienti FC che nella colonizzazione nasale di soggetti sani



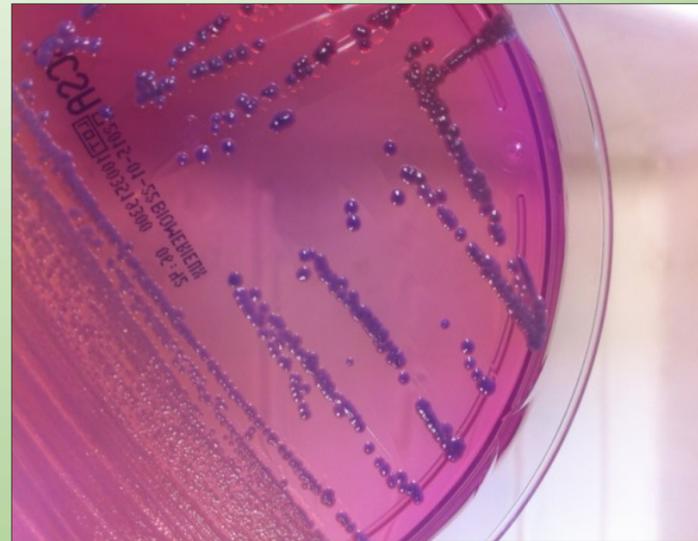
Non solo Pseudomonas...  
*Stafilococco aureus*



# Non solo Pseudomonas...

## *Burkholderia cepacia* complex

- Patogeno opportunista ambientale
- Considerata una sola specie
- Suddivisione in **genomovars**
- Alta trasmissibilità, multiresistenza, potenziale diffusione sistemica
- Fattore **prognostico negativo**



# Non solo Pseudomonas...

## *Burkholderia cepacia* cpx

- Consiste in circa 20 specie
- Le più comuni isolate in Fibrosi Cistica sono *B.cenocepacia* e *B.multivorans*
- Le meno comuni in Fibrosi Cistica sono *B.vietnamiensis* e *B.dolosa*
- *B.gladioli* non fa parte del *B.cepacia* complex

- *B.cepacia*
- *B.multivorans* genomovar II
- *B.cenocepacia* genomovar III
- *B.stabilis*
- *B.vietnamiensis*
- *B.dolosa*
- *B.ambifaria*
- *B.anthina*
- *B.pyrrocinia*
- *B.ubonensis*
- *B.lateens*
- *B.diffusa*
- *B.arboris*
- *B.seminalis*
- *B.metallica*
- *B.lata*

# Non solo Pseudomonas...

*Burkholderia cepacia* cpx

Patogenicità legata alla specie

- Variazione della struttura lipopolisaccaridica (Ag O)

INFLUENZA



Aderenza

Colonizzazione

Evasione della risposta immunitaria

## Non solo Pseudomonas.... *Burkholderia cepacia* complex

- Isolamento in FC intorno agli anni '80
- Aumento dell'isolamento dovuto all'impiego di terreni selettivi
- Migliore identificazione con l'introduzione della Spettrometria di massa MALDI-TOF
- Segregazione dei pazienti colonizzati

# Non solo Pseudomonas....

## *Burkholderia cepacia* cpx

- *B. cenocepacia* genomovar III
- Maggior declino FEV1
- Polmonite necrotizzante
- A volte accompagnata da uno stato settico
- «Sindrome da Cepacia»
- Controindicazione per il trapianto?

## Non solo Pseudomonas....

- Emerging Gram-negative bacteria are becoming more frequently encountered in cystic fibrosis.
- Recent data are suggestive that these organisms can have a potential pathogenic role in CF lung disease.
- The clinical consequences of infection differ from species to species.

# Non solo Pseudomonas...

- *Achromobacter* spp.
- *S.maltophilia*
- Altri gram negativi come:
  - *Pandorea* spp.
  - *Inquilius* spp.
  - *Cupriavidus* spp.
  - *Ralstonia* spp.

Non solo  
Pseudomonas...

*Achromobacter* spp.

- **Patogeno clinicamente importante in FC:** infiammazione cronica simile a quella indotta da *P.aeruginosa*.
- Nell'espettorato di pazienti FC colonizzati da *Achromobacter* spp aumentata risposta infiammatoria.
- **Multiresistente agli antibiotici** e quindi difficile da eradicare.
- Aumentata incidenza?

### Species of *Achromobacter*

- *Achromobacter aegrifaciens*
- *Achromobacter agilis*
- *Achromobacter aloeverae*
- *Achromobacter animicus*
- *Achromobacter anxifer*
- *Achromobacter deleyi*
- *Achromobacter denitrificans*
- *Achromobacter dolens*
- *Achromobacter insolitus*
- *Achromobacter insuavis*
- *Achromobacter kerstersii*
- *Achromobacter marplatensis*
- *Achromobacter mucicolens*
- *Achromobacter panacis*
- *Achromobacter pestifer*
- *Achromobacter piechaudii*
- *Achromobacter pulmonis*
- *Achromobacter ruhlandii*
- *Achromobacter spanius*
- *Achromobacter xylosoxidans*
- *Previously described species of Achromobacter, now reclassified*
- *Achromobacter sediminum* – reclassified to novel genus *Verticia sediminum*
- *Achromobacter spiritinus* – reclassified as *Achromobacter marplatensis*

## Non solo Pseudomonas... *S.maltophilia*

- Patogeno opportunista
- Prevalenza nei centri FC europei **15-30%**
- Diffuso in ambiente ospedaliero
- Non è chiaro il suo ruolo patogenetico
- Induce la produzione di Ab specifici nel caso di infezione cronica
- Bassa incidenza di infezioni protratte

## Non solo Pseudomonas.... *Pandorea spp.*, *Ralstonia spp.* etc....

- Il genere *Pandorea* comprende circa **10 specie**
  - Nei pazienti affetti da FC sono state isolate solo 4 specie
  - Prevalenza circa il **4%**
  - Non è ancor certo il ruolo patogenetico a causa del basso numero di dati
  - Spesso è mis-identificato
  - Come *Achromobacter* spp. è in grado di scatenare una evidente risposta infiammatoria
  - Possibile trasmissione da paziente a paziente
  - Generalmente **MDR**
- *P.apista*
  - *P.faecigallinorum*
  - *P.norimbergensis*
  - *P.oxalativorans*
  - *P.pnomenusa*
  - *P.pulmonicola*
  - *P.sputorum*
  - *P.terrae*
  - *P.thiooxydans*
  - *P.vervacti*

## Non solo Pseudomonas.... *Pandorea spp.*, *Ralstonia spp.* etc....

- Il genere comprende **6 specie**
  - Tre specie isolate nei pazienti FC
  - *R.mannitolilytica* specie più frequente
  - Prevalenza inferiore **al 5%**
  - Non è ancor certo il ruolo patogenetico a causa del basso numero di dati
  - In aumento come *Achromobacter spp.* e *Pandorea spp.* per miglioramento dei sistemi di identificazione
  - Generalmente **MDR**
- *R.insidiosa*
  - *R.mannitolilytica*
  - *R.pickettii*
  - *R.pseudosolanacearum*
  - *R.solanacearum*
  - *R.syzygii*

# Non solo Pseudomonas...

## *Micobatteri non tubercolari*

- Sono circa **30 specie**
- I NTM si sono affacciati all'orizzonte della FC negli anni '90
- La prevalenza è **in aumento**
- Maggior consapevolezza, con intensificazione delle ricerche; affinamento delle tecniche
- Utilizzo del terreno **BCSA**
- Prevalenza media **6-13%**

Specie più rappresentative:

- *Mycobacterium abscessus*
- *Mycobacterium fortuitum*
- *Mycobacterium kansasii*
- *Mycobacterium chelonae*
- *Mycobacterium marinum*
- *Mycobacterium goodii*
- ***Mycobacterium avium***
- *Mycobacterium intracellulare*
- *Mycobacterium xenopi*
- *Mycobacterium mucogenicum*

# Non solo Pseudomonas....

## *Micobatteri non tubercolari*

- Le attuali Linee Guida Internazionali raccomandano il trattamento nei seguenti casi:
  - Peggioramento della Funzionalità Respiratoria (FEV1)
  - Presenza del Micobatterio in almeno **due** colture

### **CONSECUTIVE POSITIVE**

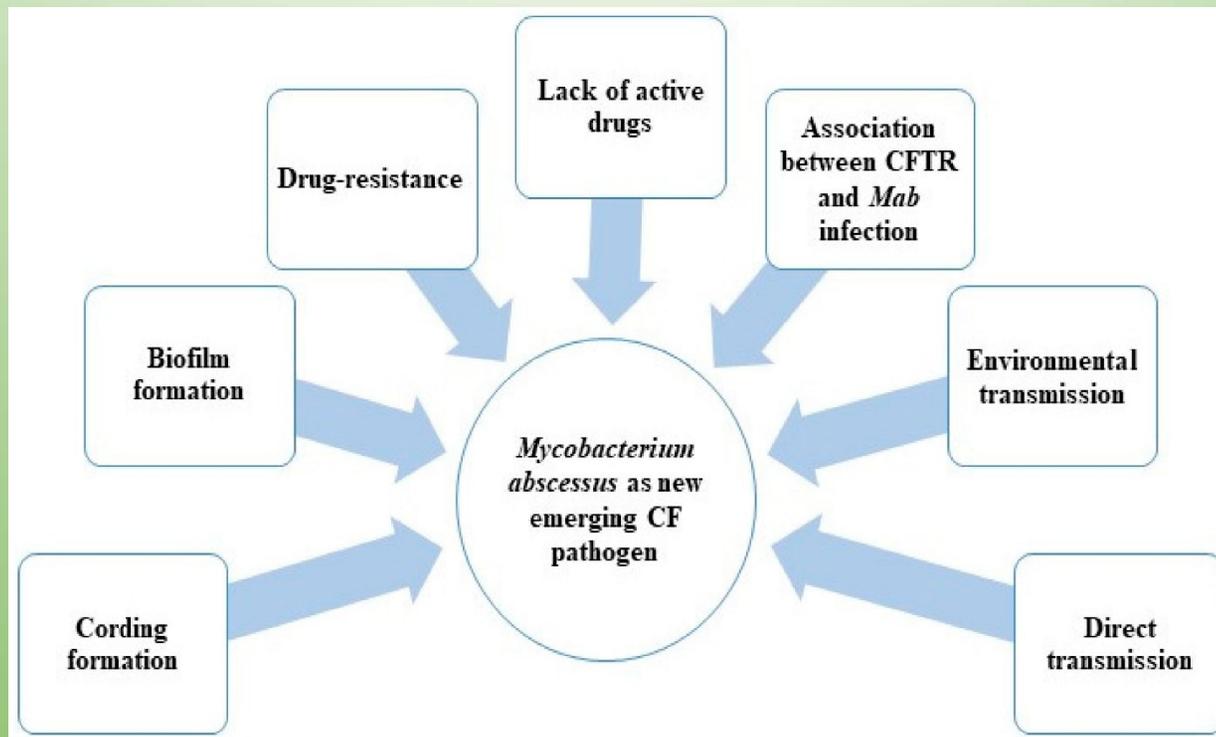
- Caratteristiche radiologiche compatibili

## Non solo Pseudomonas... *Micobatteri non tubercolari*

- NTM più frequenti nei pazienti FC sono :
  - *Mycobacterium avium complex* (Gruppo III a lenta crescita)
  - *Mycobacterium abscessus* (Gruppo IV a rapida crescita)
- *Mycobacterium abscessus* è la specie maggiormente correlata a morbidità e mortalità (**18% delle infezioni da NTM**)

Non solo Pseudomonas...

*Micobatteri non tubercolari: Mycobacterium abscessus*



care workers, N/A not applicable.

# Non solo Pseudomonas...

## *Micobatteri non tubercolari*

Parkins M., Floto A. , Journal of Cystic Fibrosis, 2015

Factor	Epidemic strains			Chronically infecting organisms		
	Existence of clonal strains in CF patients	Patient-patient spread, postulated mechanism	Worse outcomes with clonal strains	Stability of chronically infecting strains	Heterogeneity of chronically infecting strains	Phenotype influences clinical outcomes
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Documented	Documented, Droplet spread, aerosol spread	Commonplace but not universal	Chronically infecting strains persist <sup>a</sup> , including following transplantation	Marked heterogeneity in phenotypes including antibiograms	Conversion to mucoidy associated with accelerated clinical decline
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Documented	Unknown <sup>b</sup>	Unknown	Variable	Unknown	Unknown
<i>Achromobacter xylooxidans</i>	Documented	Unknown <sup>b</sup>	Unknown	Demonstrated	Unknown	Unknown
Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	Documented	Suspected, direct contact, +/- droplet spread, also indirect via Fomites, HCW	Unknown	Unknown	Limited supporting data <sup>e</sup>	Methicillin resistance phenotype increases <i>S. aureus</i> clinical impact*
<i>M. avium complex</i>	Unknown	Unknown, not suspected	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown
<i>M. abscessus complex</i>	Documented	Documented, droplet/airborne	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown
CF Microbiota	No supporting evidence <sup>d</sup>	N/A	N/A	Demonstrated	Unknown	N/A <sup>d</sup>

# Non solo Pseudomonas....

## *Mycobacterium abscessus*

- E' costituito da 3 sub-specie
  - *M.abscessus* subsp.*abscessus*
  - *M.abscessus* subsp.*bolletii*
  - *M.abscessus* subsp.*massiliense*
- Maggior declino della funzionalità respiratoria
- Difficile eradicazione



# Non solo Pseudomonas... *Anaerobi*

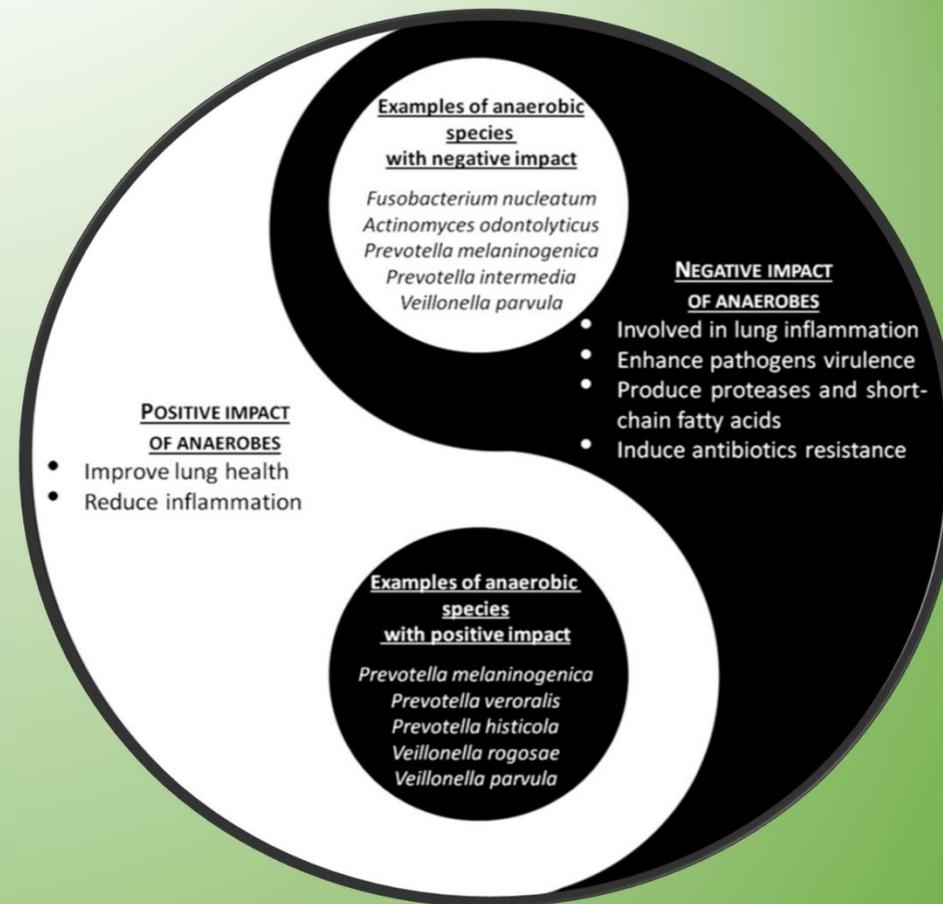
I BATTERI **ANAEROBI** PIU' COMUNEMENTE  
PRESENTI NEL POLMONE FC

- FUSOBACTERIUM
- ACTYNOICES
- PREVOTELLA
- VEILLONELLA

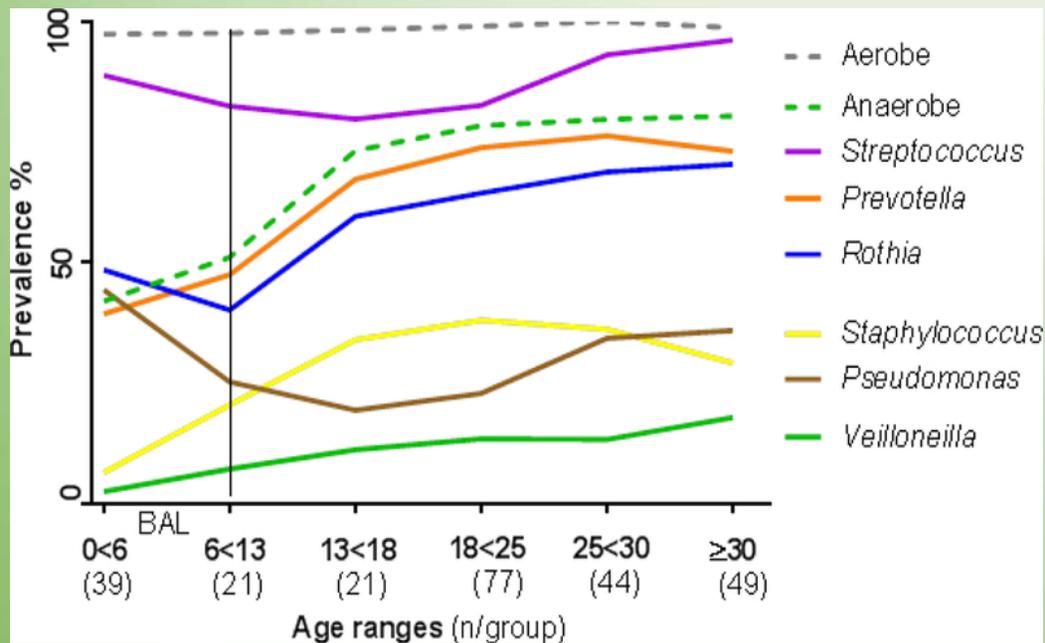
CRITICAL REVIEWS IN MICROBIOLOGY  
2019, VOL. 45, NO. 1, 103–117

**Anaerobes in cystic fibrosis patients' airways**

Claudie Lamoureux, Charles-Antoine Guilloux, Clemence Beauruelle, Anne Jolivet-Gougeon and Genevieve Hery-Arnaud



# Non solo Pseudomonas...



Prevalence of most frequently cultured bacteria by age groups across all sites and sample types. Prevalence for most prevalent bacteria are shown by age groups/range in years. The number of samples for each group is provided in parenthesis. Only BAL samples are included in subjects <6 years, as indicated by the vertical line.

Anaerobic bacteria cultured from CF airways correlate to milder disease—a multisite study Marianne S. Muhlebach, Joseph E. Hatch, [...], and Michael M. Tunney  
 Eur Respir J. 2018 July ; 52(1)

Non solo Pseudomonas...

*Anaerobi*

- Ruolo patogenetico non ancora chiarito
- Patogeni o Commensali?

# NON SOLO PSEUDOMONAS...

## *Anaerobi*

### Impatto Negativo

- Produzione di proteasi che stimolano la risposta infiammatoria e immunitaria dell'ospite
- La condizione di anaerobiosi induce
  - la produzione di alginato e di esopolisaccaride
  - La produzione di biofilm
  - L'antibiotico resistenza
  - La formazione di macrocolonie di *P.aeruginosa* più R ai meccanismi di difesa

### Impatto Positivo

- Correlazione inversa tra fermentazione anaerobia e habitat per *P.aeruginosa*
- Miglioramento della funzionalità respiratoria soprattutto in presenza di Prevotella e Porphyromonas

# Non solo Pseudomonas....

## *Miceti*

- Percentuale di colonizzazione 9-57%
- Protratta terapia antibiotica
- Protratta terapia corticosteroidea
- ***A.fumigatus***
- Asma, bronchite, aspergilloma e ABPA (aspergillosi bronco-polmonare allergica)
- Specie emergenti: ***Scedosporium apiospermum*** (3-10%) spesso associato a ***A.fumigatus***, ***Exophiala dermatitidis*** (1-6%) , ***Penicillium spp.***

# NON SOLO PSEUDOMONAS....

## Conclusioni

- Le specie batteriche di gram-negativi cosiddette “emergenti” che possiamo incontrare in Fibrosi Cistica sono in aumento.
- C'è una evidenza che suggerisce un ruolo potenzialmente patogenetico per almeno alcuni di essi.
- La sfida che bisogna affrontare è capire quali di essi sia in grado di far evolvere l'infezione iniziale verso una infezione cronica, e, in tal caso, come implementare i piani terapeutici quando vengano isolati ripetutamente nelle colture dei campioni respiratori dei pazienti FC.

# Ringraziamenti

Guido Antonelli – Dipartimento di Medicina Molecolare

Maria Trancassini – Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive

