

Farmaci modulatori del difetto della CFTR e microbiologia delle vie aeree

Giovanni Taccetti

Centro Regionale Toscano per la Fibrosi Cistica

AOU Meyer - Firenze

Napoli, 22 ottobre 2021

Cause di mortalità in pazienti affetti da FC



Table 9.2 Cause of death distribution of deaths in 2018.

Cause of death	Number of deaths	Percentage of all deaths
Respiratory disease	295	66.14
Transplantation related	36	8.07
Non-CF related	24	5.38
Other-CF related	19	4.26
Cancer	18	4.04
Liver-GI related	15	3.36
Suicide	6	1.35
Trauma	1	0.22
Missing/Unknown	32	7.17
Total	446	

- Le principali cause di mortalità sono essenzialmente da attribuire a infezioni batteriche

Paziente FC e suscettibilità alle infezioni

Liquido periciliare
non FC

Il paziente FC non è
immunodeficiente.

La propensione alle infezioni
si verifica esclusivamente a
livello dell'apparato
respiratorio

Il motivo non è ancora
completamente noto

FC

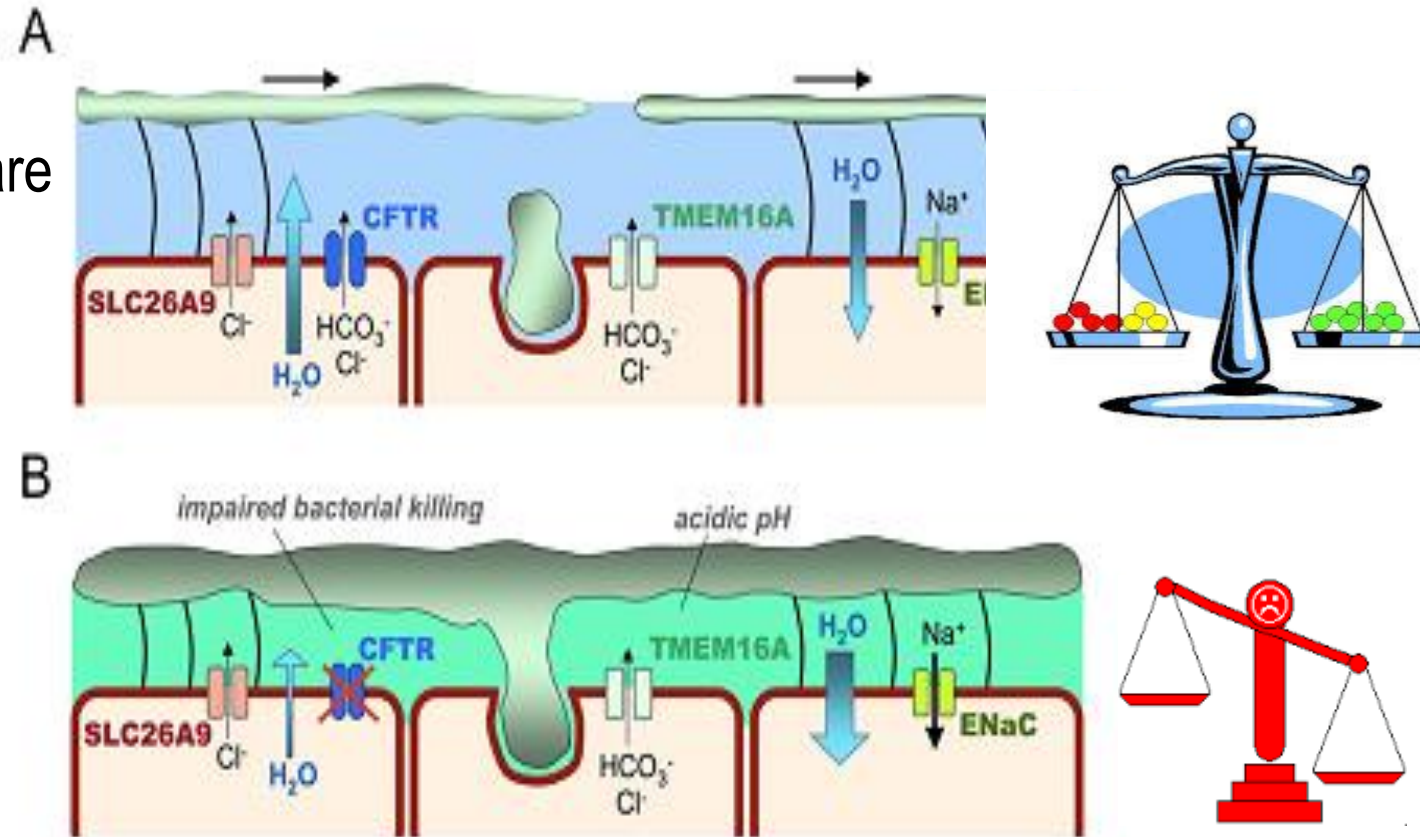
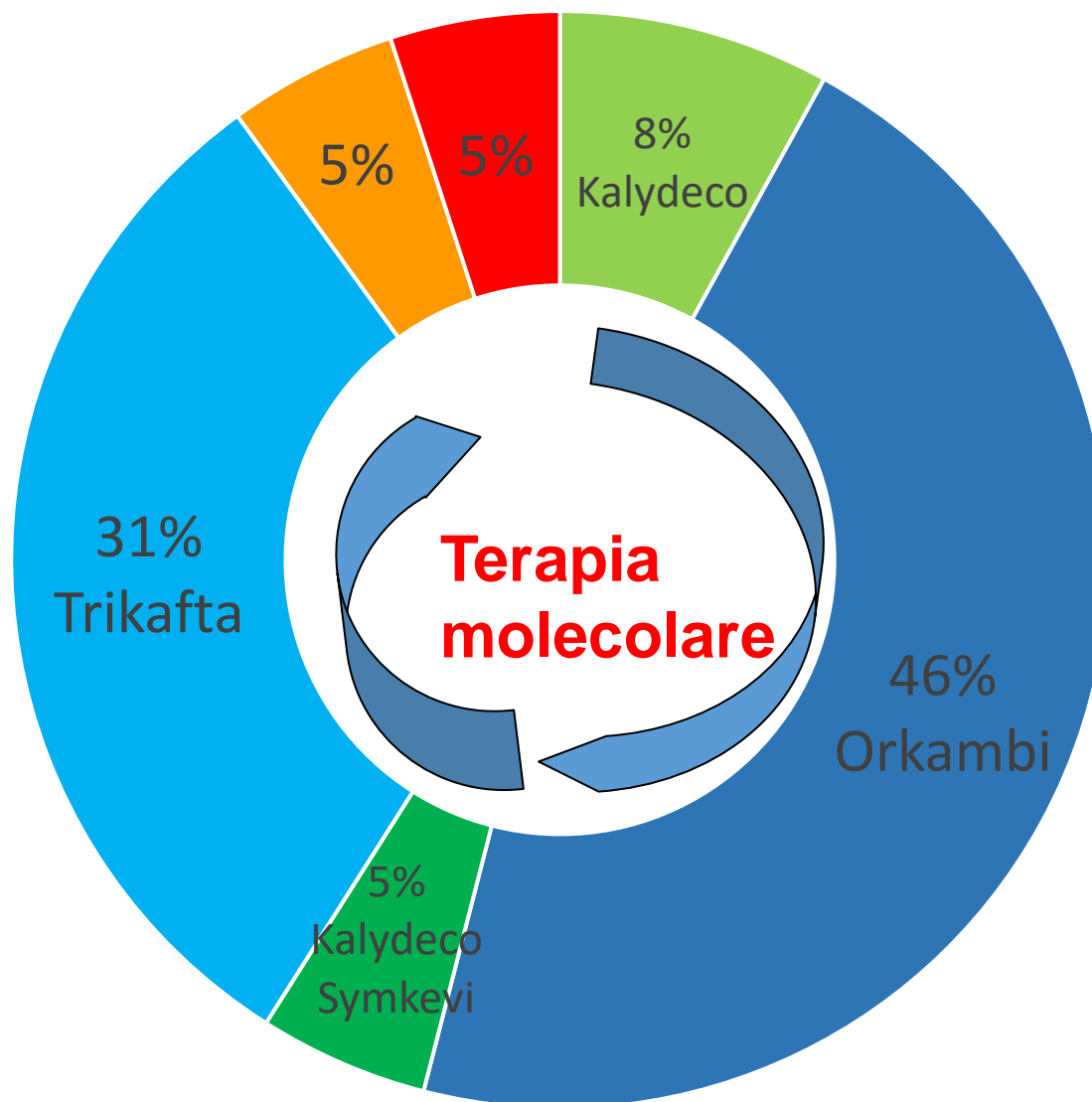


Fig. 1. Epithelial ion transport defects and impaired host defense in CF airways. (A) In healthy airways, coordinated secretion of salt and water driven by CFTR in conjunction with the alternative chloride channels TMEM16A and SLC26A9, and absorption by the epithelial sodium channel ENaC, result in proper hydration of the airway surface layer (ASL) that is essential for effective mucociliary clearance. Further, CFTR-mediated bicarbonate secretion contributes to pH regulation of airway surfaces. (B) In CF airways, CFTR malfunction impairs secretion of chloride/fluid and bicarbonate leading to dehydrated and acidic ASL and hyperconcentrated mucus. ASL dehydration is further aggravated by increased ENaC-mediated sodium/fluid absorption. As a result, mucociliary clearance and bacterial killing are impaired making CF airways vulnerable for infection and inflammation.

Terapia molecolare della fibrosi cistica: evoluzione delle prospettive terapeutiche

Negli ultimi anni si sono resi disponibili «nuovi farmaci» per un numero crescente di pazienti in base al loro genotipo CFTR.

- Ivacaftor: January 31, 2012
- Lumacaftor/ivacaftor: July 2, 2015
- Tezacaftor/ivacaftor February 12, 2018
- Elexacaftor/ivacaftor/tezacaftor October 21, 2019



■ MUT Gating

■ F508del/F508del

■ MUT funzione residua

■ 1 allele F508del

■ MUT rare

■ No CFTR

CFF Patient Registry

Abbiamo finalmente a disposizione terapie che agiscono non sui sintomi ma sulla CAUSA della malattia

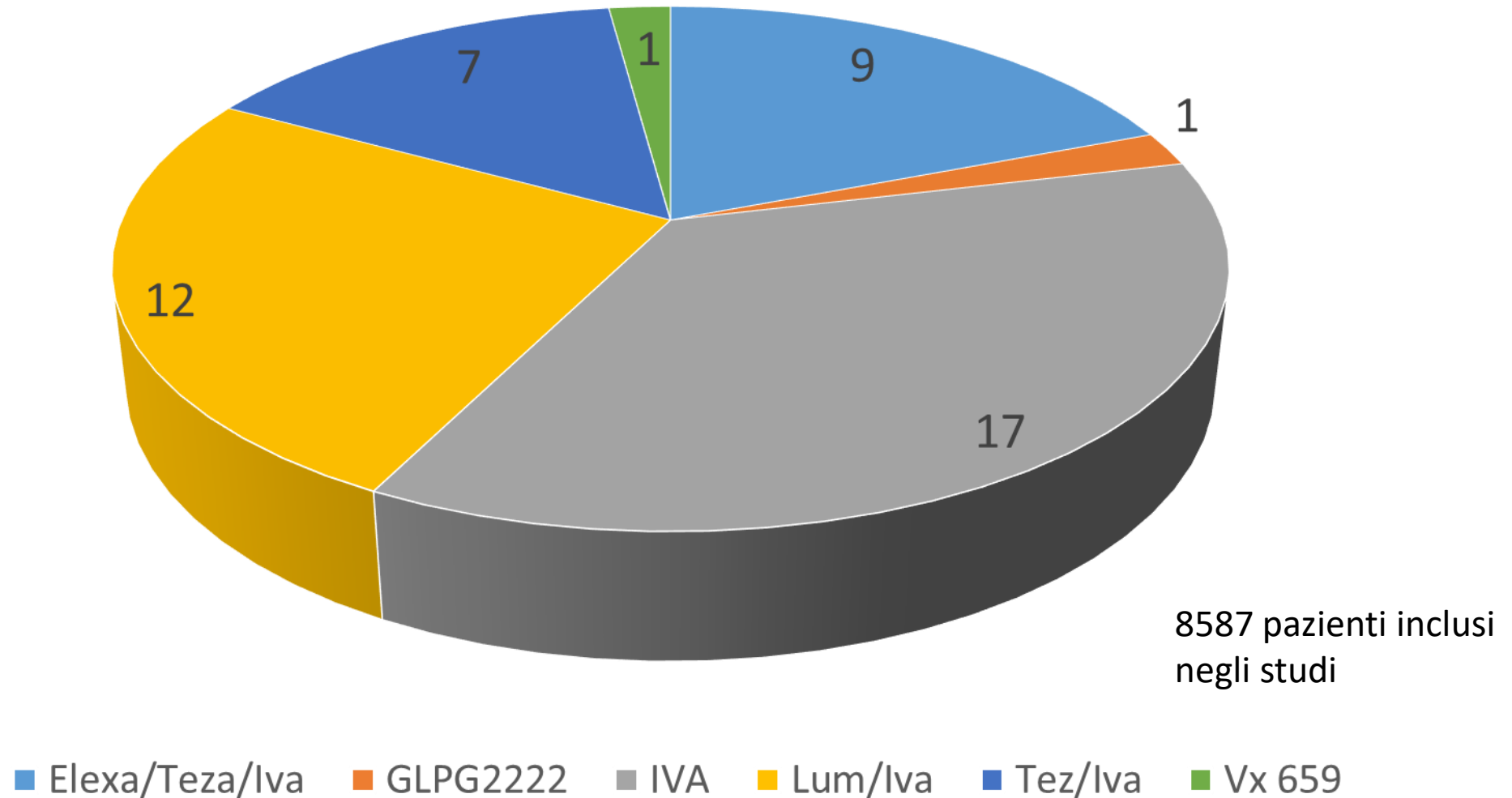
I modulatori stanno rallentando la progressione della malattia e migliorando la funzione polmonare.

Come agiscono sulle vie aeree ?

- Migliorare l'idratazione a livello del liquido periciliare.
 - Migliorare la clearance muco-ciliare
 - Effetto anti-infiammatorio
- (Attività antimicrobica *in vitro*)

Con l'uso di questi farmaci sono stati registrati molti benefici e si prospetta un ulteriore, deciso incremento della sopravvivenza.

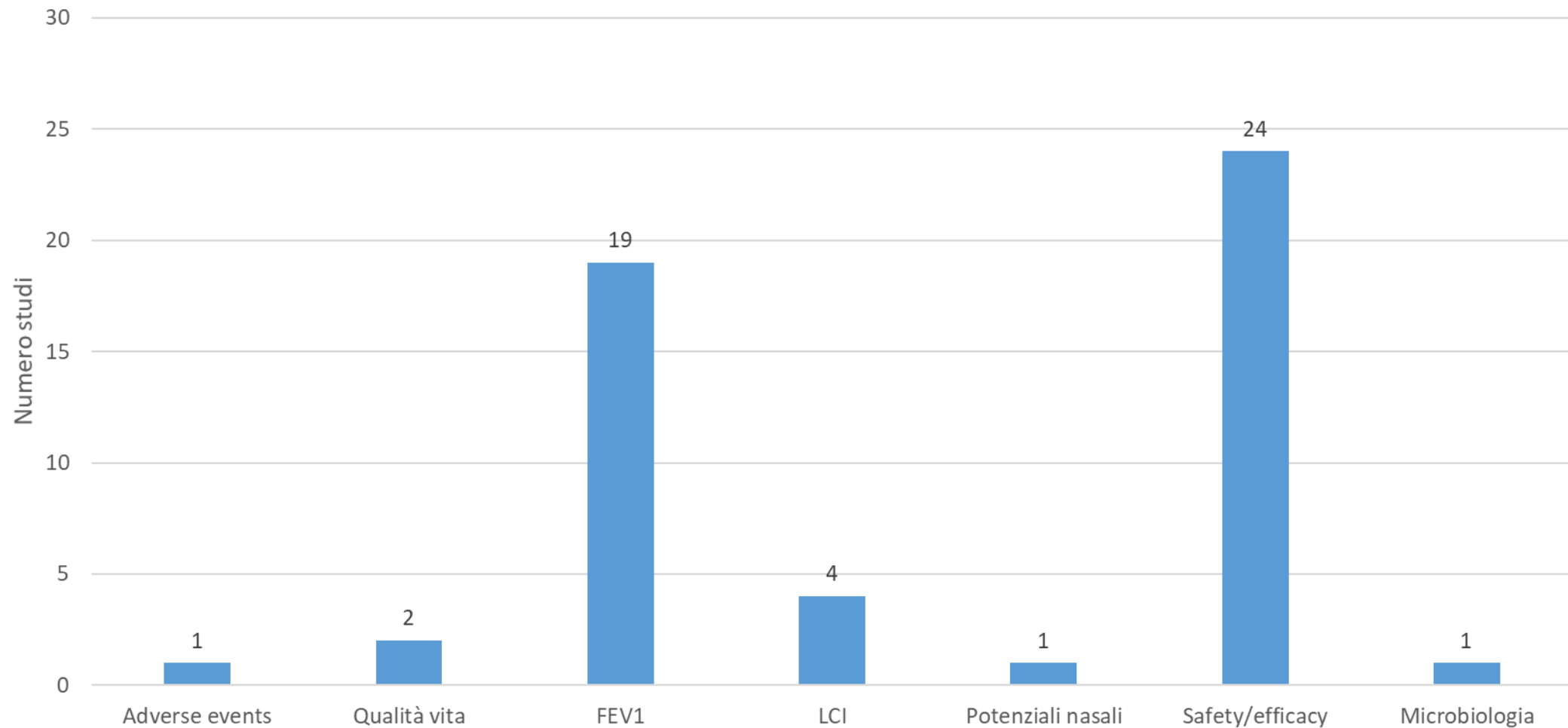
Modulatori CFTR: studi primari pubblicati (trials)



Autore	Journal	Anno	Molecola	N pazienti	età	Outcome 1	Outcome 2
Zemanick	Am J Crit C	2021	ETI	66	6-11 anni	safety tolerability	no
Griese	Am J Crit C	2021	ETI	506	>12		
Griese	Am J Resp	2021	ETI	506	>12	Safety Tolerability	FEV1Sudore
Barry	NEJM	2021	ETI	132	>12	FEV1	sudore CFQ
Burgel	Am J Resp	2021	ETI	245	>12	FEV1	osservazio
Salvatore	Respirator	2021	ETI	47	>12	FEV1 Safety Sudore BMI	
Kerem	Iva	2021	iva	38	> 6 anni	LCI	Lung funct
Davies	Am j Crit C	2021	Iva	25	4-12 mesi	safety PK	
Chilvers	Lancet Res	2021	LumIva	239	6-11 anni	safety tolerability	LCI sudore
Sagel	Ann Am TI	2021	LumIva	193	> 6 anni	FEV1	BMI sudore
Davies	JCF	2021	TezIva	67	6-11 anni	LCI	sudore CFQ
Nick	J CF	2020	Iva		> 12 ani	FEV1	
Ejiofor	Pediatr Pu	2020	LumIva	21	>18	FEV1 esercizio CFQ-R	FEV1 % BM
Munck	JCF	2020	TezIva	168	>12	FEV1	CFQ-R BM
McKone	JCF	2020	TezIva	156	> 12	Efficacy FEV1	Sudore PK
Middletor	NEJM	2019	ETI	403	> 12	FEV1	PEX CRQ-F
Heijermar	Lancet Res	2019	ETI	113	> 12	FEV1	CFQ-R sud
Bell	JCF	2019	GLPG2222	96		Safety Tolerability	sudore
Rosenfeld	JCF	2019	Iva	33	2-5 aani	Safety	Sudore BM
McNamara	Lancet Res	2019	LumIva	72	2-5 anni	PK Safety	PK sudore
Mc Colley	JCF	2019	LumIva	369	>12	FEV1	PEX
Walker	JCF	2019	TezIva	70	> 12 anni	Safetuy Tolerability	FEV1 BMI
Peleg	JCF	2018	ilva	20	>18	microbiota	
Rosenfeld	Lancet Res	2018	Iva	19	1-2 anni	PK Safety	PK sudore
Taylor-Col	JCF	2018	LumIva	46	>12	Safety Tolerability Efficacy	Ospedaliz
Donaldson	Am J Crit C	2018	TezIva	131	>18	Safety Efficacy	Sudore
Keating	NEJM	2018	VX-445 Te	123	>18	Safety FEV1	Cloro CFQ
Davies	NEJM	2018	VX659 Tez	117	>18	Safety FEV1	
McGarry	Pediatr Pu	2017	Iva	7	> 8 anni	Cloro sudore	
Ratjen	JCF	2017	LumIva	206	6-12 anni	LCI Efficacy safety	
Konstan	Lancet Res	2017	LumIva	1030	> 12	Safety Efficacy	PEX
Rowe	Ann Am TI	2017	LumIva	126	> 18	FEV BMI CFQ-R	
Milla	Am J Resp	2017	LumIva	58	6-12 anni	safety Tolerability PK Efficacy	
Rowe	NEJM	2017	TEezIva	248	> 12	FEV1 assoluto	CFQ-R sud
Taylor-Col	NEJM	2017	TezIva	510	> 12	FEV1 assoluto	FEV1reativ
Davies	Lancet Res	2016	Iva	43	2-6 anni	Safety Pk PD	sudore BM
Taylor-Col	JCF	2016	Iva	44	> 6	Adverse events	FEV1 Pesp
Quittner	Health Qu	2015	Iva	152	>12	CFQ	
Konstan	Pediatr Pu	2015	Iva	209	>12	FEV1 sudore	CFQ PEX
Wainwrigl	NEJM	2015	LumIva	1108	>12	FEV1	PEX osped
McKone	Lancet Res	2014	Iva	192	>6	Safety	FEV1 peso
De Boeck	JCF	2014	Iva	20	> 6	FEV1	BMI sudor
Boyle	Lancet Res	2014	LumIva	188	> 18	Sudore Safety	
Davies	Lancet Res	2013	Iva	21	> 6 anni	LCI Efficacy safety	
Davies	Am J Resp	2013	Iva	52	6-12 anni	FEV1, BMI Sudore	
Flume	Chest	2012	Iva	140	>12	Safety efficacy	Sudore
Ramsey	NEJM	2012	Iva	84	>12	FEV1	CFQ.-R, su
Clancy	Thorax	2012	Lumacaftc	89	> 18	Safety	NPD FEV1
Accurso	NEJM	2010	Vx-770	39	>18	Potenziiali nasali Sudore	

Principali misure di outcome dei trials sui modulatori

Aims primari* dei trials pubblicati (riportati negli abstracts)



* non reciprocamente esclusivi

La microbiologia/status microbiologico dei pazienti NON sono rientrano di solito fra outcomes primari dei trials sui modulatori

...eppure le infezioni sono sempre state un chiaro obiettivo terapeutico in FC....

Le ragioni:

I trials clinici hanno una durata limitata. L'interesse è maggiore per le misure di outcome valutabili «nel breve» periodo (FEV1, esacerbazioni, sudore, BMI, CFQ-R) rispetto ad altre valutabili in un periodo «più lungo».

- In FC l'infezione batterica è cronica
- La definizione di «cronicità» dell'infezione
- Lungo periodo di osservazione necessario per definire lo status microbiologico
- Problematiche legate al campionamento
- La frequenza di esecuzione delle colture

Come mai l'outcome microbiologico non è la priorità negli studi clinici?



Thursday 29 November 2012
EMA/769571/2012
Human Medicines Development and Evaluation

Report of the workshop on endpoints for cystic fibrosis clinical trials

The list of core outcomes from which the primary outcomes for a specific study should be chosen includes:

- Lung function: FEV1 and in early disease FEF 25-75, LCI;
- Pulmonary exacerbations / need for additional antibiotic therapy/ hospitalisation;
- PRO measures;
- Imaging: chest CT score for bronchiectasis/air trapping;
- Biometry: Weight and in children also Height;
- Biomarkers depending on the drug class and the supposed mechanism of action;
- Safety outcome measures appropriate for the compound under study.

28 September 2018
EMA/CHMP/SAWP/622564/2018
Product Development and Scientific Support Department

Qualification Opinion on The European Cystic Fibrosis Society Patient Registry (ECFSPR) and CF Pharmacoepidemiology Studies

Outcomes of interest

There is consensus among the CF community as to which outcome measures should be used for drug efficacy clinical trials. Most of these are routinely collected by CF registries annually and could potentially be collected at regular intervals. If required, most CF registry software platforms can be modified to collect some additional outcome measures.

- i) Patients demographics/Predictors of outcomes:
 - a) Gender
 - b) CFTR genotype
 - c) sweat test
 - d) Age
 - e) Country of origin
 - f) Pancreatic sufficiency status: This is usually determined by the need for pancreatic enzyme supplementation. Dosage of pancreatic enzymes is not collected as it varies from day to day depending on the fat content of the patient's meals. As over 90% of CF patients are pancreatic insufficient from birth, a start date is not routinely collected.
- ii) CF Clinical trial outcome measures currently being collected by registries:
 - a) Lung function (FEV1, FVC);
 - b) Nutritional measures (Height, weight, BMI);
 - c) Exacerbation frequency (No. of days of IV/oral antibiotics/hospitalization) as used in clinical trials (*currently exacerbation data is not collected by ECFSPR but is collected by many national registries*)
 - d) CF Microbiology (Presence/Absence of common CF bacterial infections);
 - e) Concomitant medications.

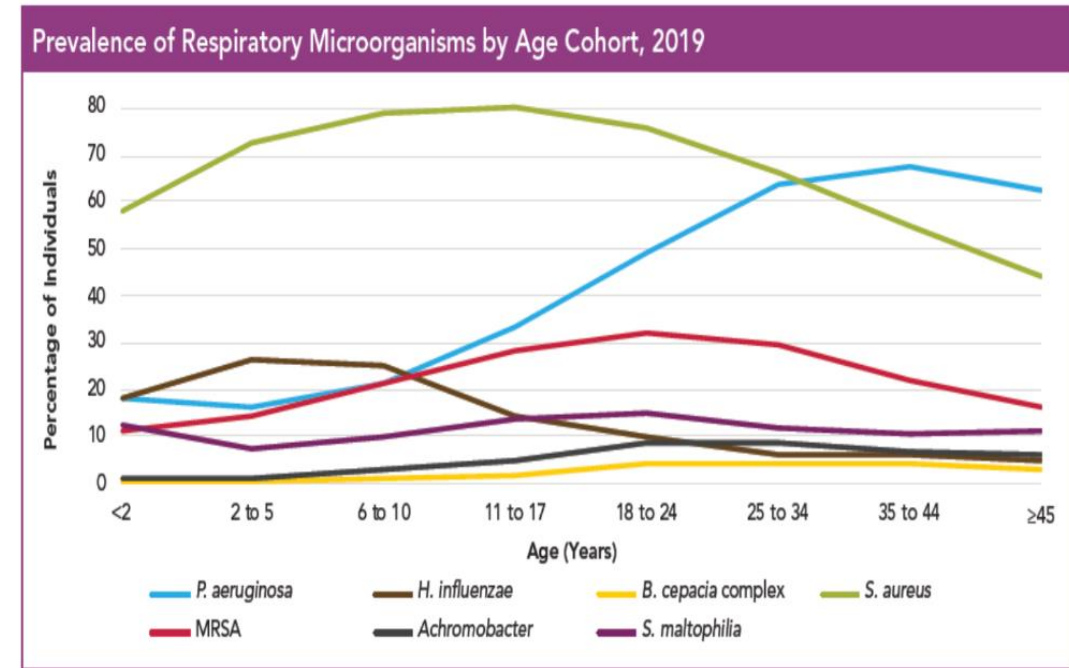


Nozioni essenziali di microbiologia FC per il clinico:

.....quello che abbiamo imparato (.....senza che il quadro sia esaustivo...):

- La problematica delle infezioni batteriche fa parte della descrizione iniziale delle malattia.
- Gli isolamenti batterici non sono da considerare un semplice epifenomeno del danno polmonare.
- Abbiamo molto temuto il comportamento epidemico di alcuni patogeni (*B.cepacia* complex , *P.aeruginosa*....).
- Abbiamo convenuto su certe definizioni (prima infezione, «cronicità»....).
- Abbiamo utilizzato nei nostri Centri tali definizioni organizzando di conseguenza il nostro lavoro (coordinazione dei pazienti, organizzazione delle sedute ambulatoriali, abbiamo proposto ed attuato strategie terapeutiche).
- Abbiamo maturato strategie antibiotiche basate su QUEL singolo patogeno.
- Abbiamo sviluppato farmaci per QUEL patogeno.

Ma le nostre considerazioni
sono effettivamente basate
sulla realtà?
Il problema delle infezioni polimicrobiche



Un terzo circa dei pazienti sono coinfectati da *S.aureus* e da *P.aeruginosa*. La più alta percentuale di coinfezioni è osservata fra 20 e 30 anni.

La coinfezione può associarsi ad un decorso clinico più impegnativo.

Esiste una definizione di cronicità per l'infezione da singolo patogeno, ma non ne è ancora stata ancora proposta una per le infezioni polimicrobiche.

Infezioni polimicrobiche e innovazioni tecnologiche

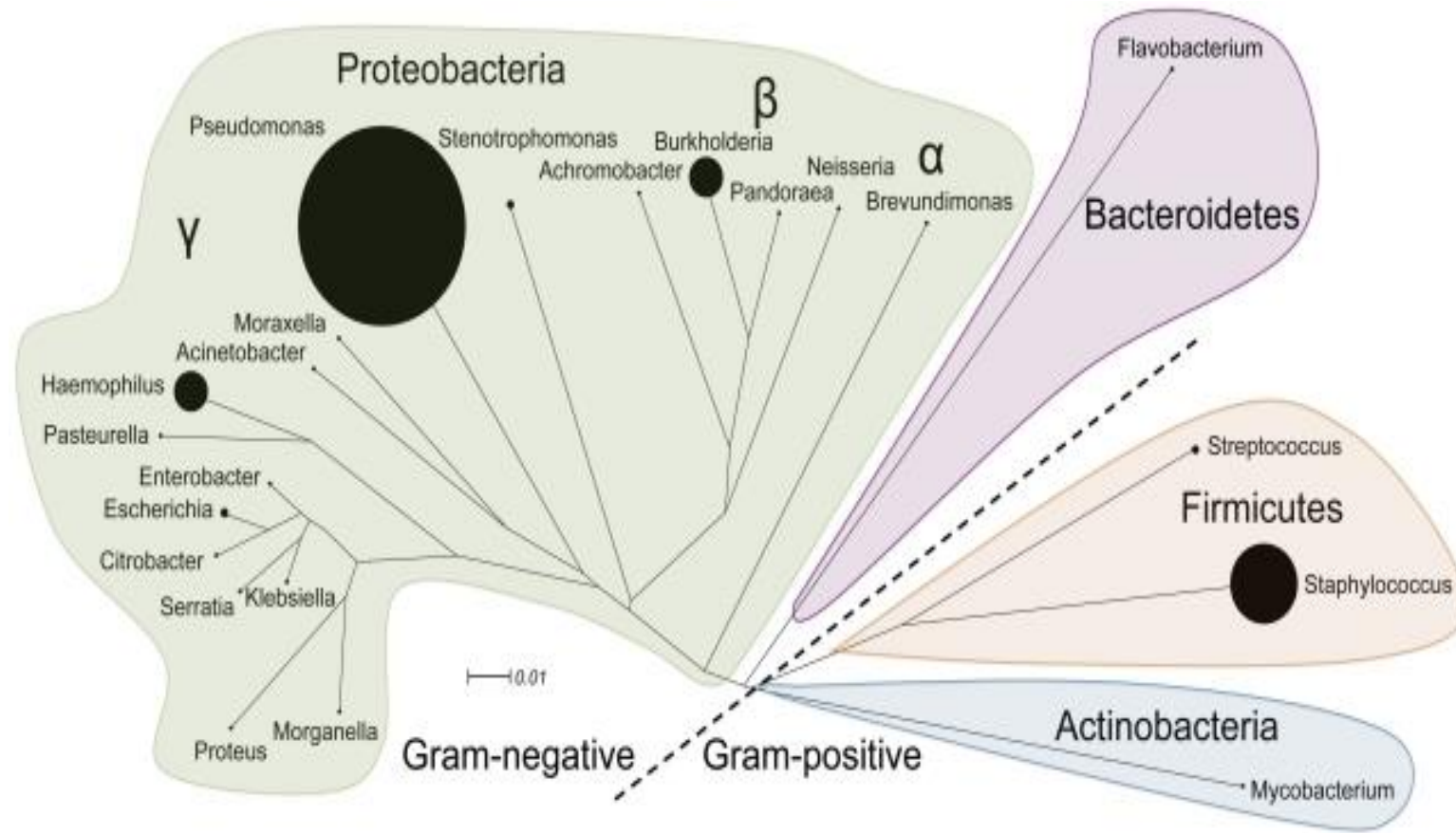
L' applicazione di nuove tecniche di microbiologia (DNA-based) evidenzia una realtà molto più complessa rispetto alle colture convenzionali.

Con il suffisso “oma” (-omics) si fa riferimento alla caratterizzazione collettiva, alla totalità.

Altri approcci “-omics” (trascrittomica, proteomica,.....) possono quantificare molecole che riguardano la struttura, funzione, dinamica di un organismo, studiare il grado di espressione di genomi e identificarne il metabolismo (metabolomica) o la resistenza (resistomica).

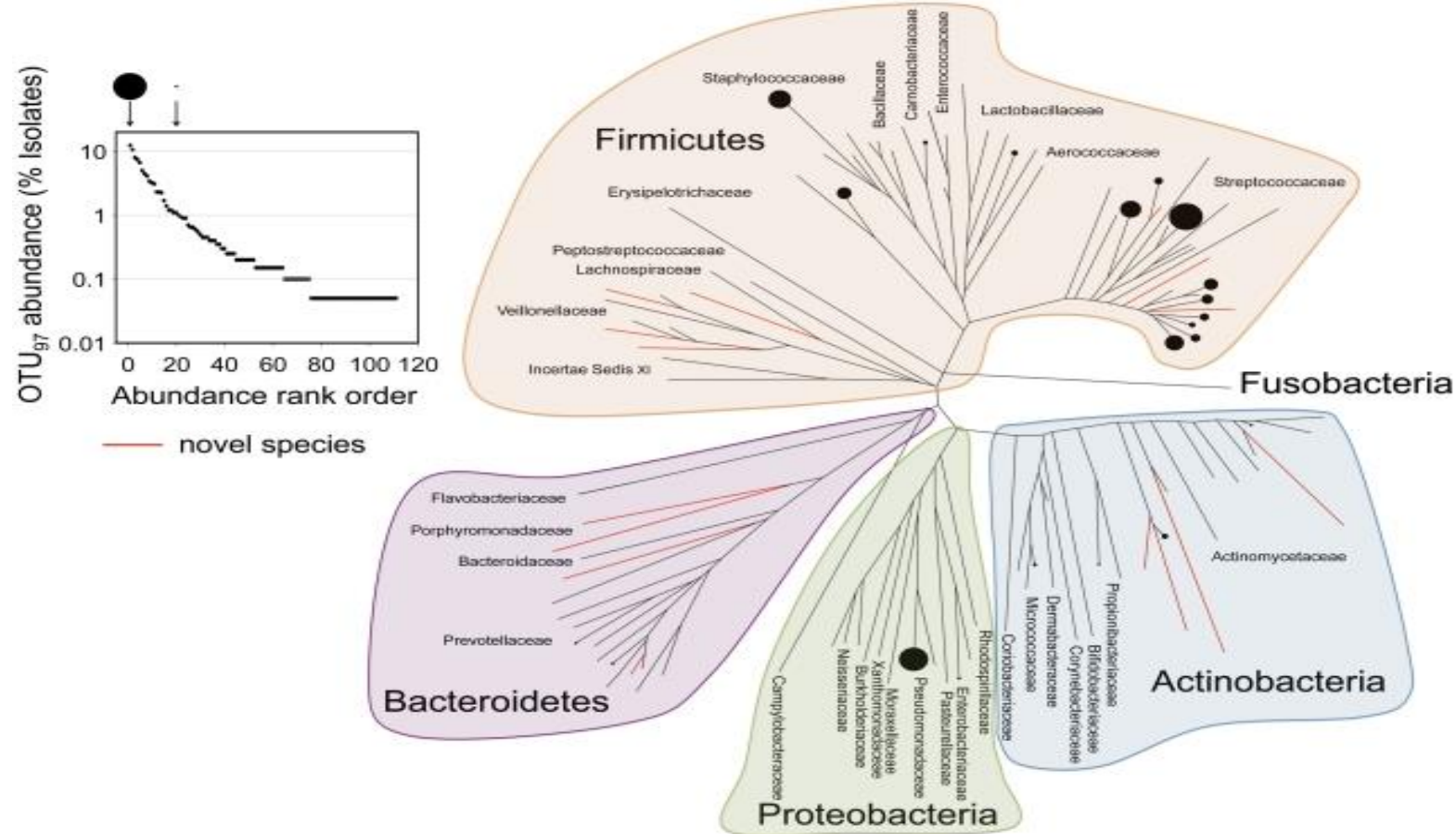
La natura polimicrobica dell'infezione in FC è stata ulteriormente evidenziata dallo studio del microbioma che ha rivelato una coesistenza fra patogeni «classici» e specie batteriche in precedenza considerate contaminanti.

Generi batterici isolati da campioni F C con metodi colturali classici



L'ampiezza dei cerchi neri indica l'abbondanza del singolo genere batterico
Sibley et al Plos one 2011

Generi batterici identificati da campioni FC con metodi “non culturali”



L'ampiezza dei cerchi neri indica
l'abbondanza del singolo batterico

Sibley et al Plos one 2011

In FC dall'analisi del microbioma si identifica un “core” di batteri spesso presenti, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Rothia*, *Actinomices*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Atopobium*, *Porphyromonas*. Sono consistentemente rappresentati *S. aureus* e i *Proteobacteria* (*Pseudomonas*).

E' stato osservato che il microbioma si modifica con l'età, la malattia polmonare e il trattamento.

- Il modello «un solo patogeno» non regge più, rappresentazione «statica» non correlabile alla realtà clinica.
- In pazienti FC la diversità delle specie batteriche nelle vie aeree nei primo 10 anni di vita è alta.
- La diversità correla con una buona funzione polmonare e la stabilità clinica.
- La diversità diminuisce con la colonizzazione cronica da parte dei patogeni classici FC (*P. aeruginosa* e *B.cepacia* complex).
- La progressione della malattia si associa ad una perdita della diversità batterica e a riduzione dei valori del FEV₁

X

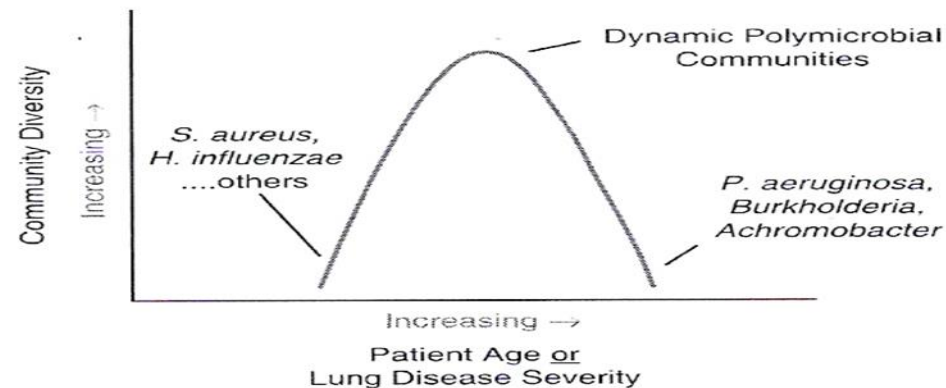
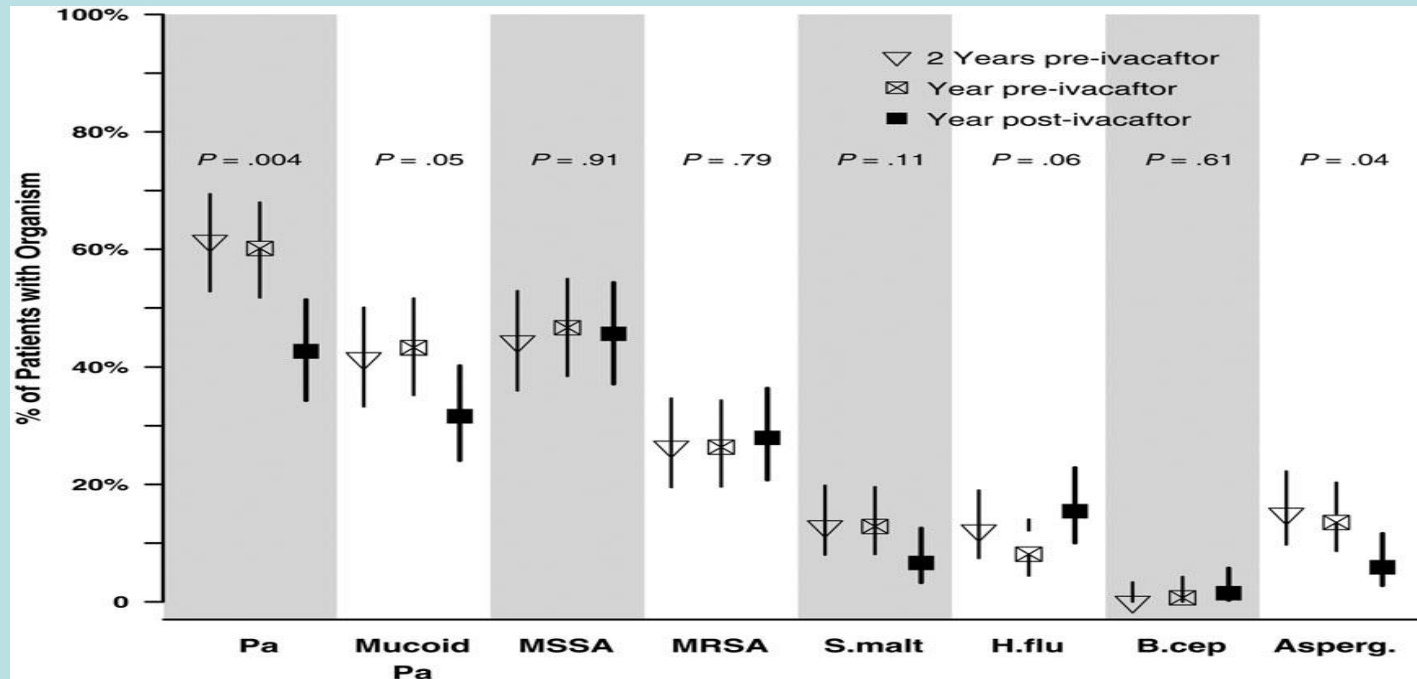


Figure 1. Schematic representation of airway bacterial community diversity versus patient age or lung disease severity. Available data suggest that after an initial increase during childhood, airway bacterial diversity peaks in young adulthood and then declines with advancing age and lung disease progression. At end-stage disease, bacterial communities may be dominated by a single species, most often a "typical" cystic fibrosis opportunistic pathogen. *H. influenza* = *Haemophilus influenzae*; *P. aeruginosa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*.

Che sappiamo della microbiologia FC dal momento in cui sono arrivate al paziente le «nuove terapie»?

Ivacaftor: follow-up di 151 soggetti G551D > 6 anni (≥ 3 colture/anno)



Heltshe SL et al. Clin Infect Dis. 2015;60:703-12.

Table 3. Shift in *Pseudomonas aeruginosa* Infection Category Post-Ivacaftor Initiation

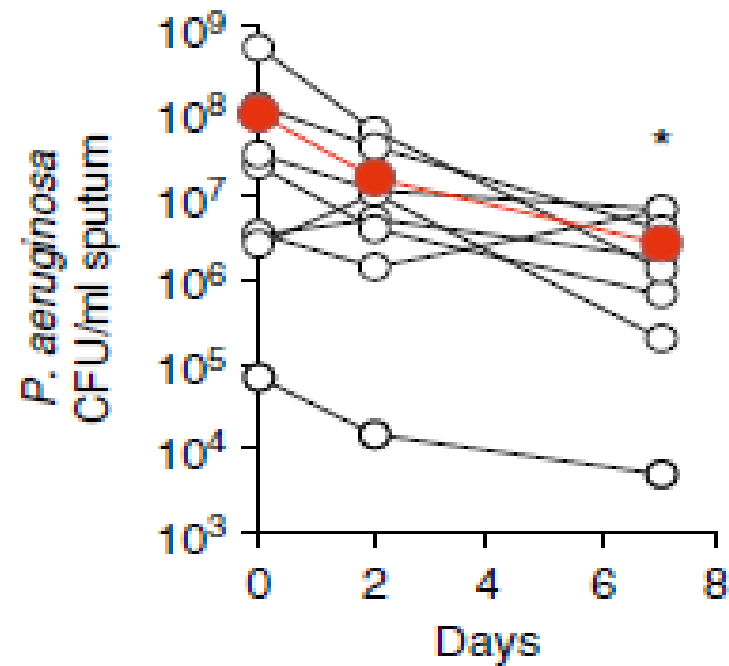
<i>Pa</i> Infection Category in Year Prior to Ivacaftor	No. (%) of Participants (N = 151)	<i>Pa</i> Infection Category in Year After Ivacaftor ^a			
		Free	Intermittent	Persistent	No Cultures
		No. (%) of Row	No. (%) of Row	No. (%) of Row	No. (%) of Row
Free	59 (39.1)	52 (88.1)	2 (3.4)	2 (3.4)	3 (5.1)
Intermittent	30 (19.9)	21 (70.0)	6 (20.0)	3 (10.0)	0 (0)
Persistent	59 (39.1)	5 (8.5)	10 (17.0)	33 (55.9)	11 (18.6)
No cultures	3 (2.0)	0 (0)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)

Abbreviation: *Pa*, *Pseudomonas aeruginosa*.

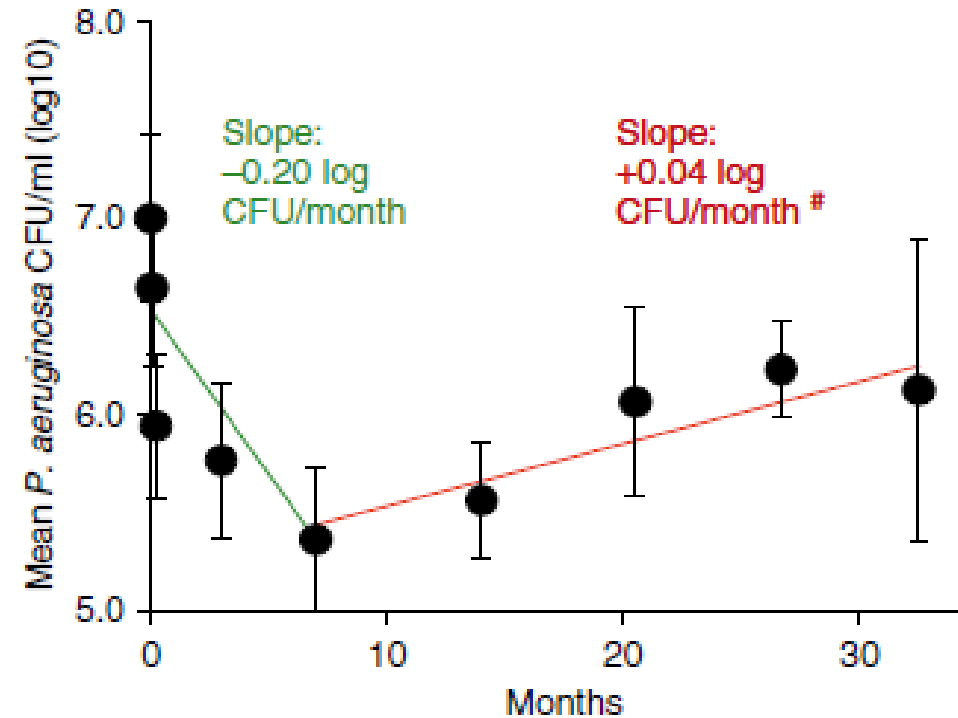
^a Free: 0% of respiratory cultures *Pa* positive; intermittent: 1%–50% *Pa* positive; persistent: >50% *Pa* positive.

Ivacaftor: 12 pazienti adulti G551D (8 su 12 con *P. aeruginosa* cronica)

A



E



Ivacaftor e *P. aeruginosa* cronica : studi molecolari evidenziano diminuzione della densità.
Nel lungo periodo è stata osservata la persistenza dello stesso ceppo (mancata eradicazione).

Studio retrospettivo su 57 FC G551D

92

D. Hubert et al. / Journal of Cystic Fibrosis 17 (2018) 89–95

Table 3

Evolution of other clinical parameters after one and 2 years of ivacaftor treatment in comparison to baseline.

	Baseline		Year 1			Year 2		
	n	Mean \pm SD or proportion of patients (%)	n	Mean \pm SD or proportion of patients (%)	p Value	n	Mean \pm SD or proportion of patients (%)	p Value
Weight (kg)	54	48.2 \pm 17.6	55	52.3 \pm 17.5	<0.0001	45	53.8 \pm 16.9	<0.0001
BMI z-score	54	0 \pm 0.9	55	0.3 \pm 1.0	<0.0001	45	0.4 \pm 1.1	<0.0001
BMI in adults (kg/m ²)	26	21.2 \pm 1.5	25	22.1 \pm 1.9	0.0004	19	22.7 \pm 2.7	0.003
Number of outpatient visits/year	57	6.0 \pm 3.7	56	5.8 \pm 2.9	NS	48	4.9 \pm 3.0	0.038
Number of sputum sample analyses/year	52	5.0 \pm 2.7	52	4.3 \pm 1.7	NS	47	3.4 \pm 1.9	0.001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52	58.2	52	33.3	0.0005	47	41.3	0.039
<i>Staphylococcus aureus</i>	52	75.0	52	57.4	0.004	47	58.7	0.022
Number of IV antibiotic courses/year	57	0.9 \pm 1.3	56	0.3 \pm 0.9	0.008	48	0.3 \pm 0.8	0.011
Number of days of IV antibiotic courses/year	57	12.7 \pm 21.0	56	5.6 \pm 15.3	0.013	48	5.4 \pm 14.7	0.016
Number of oral antibiotic courses/year	57	1.8 \pm 2.1	56	1.1 \pm 1.6	0.120	48	1.1 \pm 1.6	0.072
Number of days of oral antibiotic courses/year	57	37.2 \pm 58.0	56	23.4 \pm 52.9	0.118	48	23.6 \pm 57.7	0.055
Number of hospitalisations/year	57	0.4 \pm 1.0	56	0.2 \pm 0.7	NS	48	0.3 \pm 1.0	NS
Number of days of hospitalisation/year	57	2.4 \pm 8.0	56	1.2 \pm 5.2	NS	48	2.2 \pm 7.6	NS

n: number of patients - NS: not significant.

Informazioni migliori possono provenire da Registri

«Real world evidence» per valutare l'impatto delle nuove terapie sull'esito della malattia



Original Article

Long term clinical effectiveness of ivacaftor in people with the G551D CFTR mutation [☆]

J.S. Guimbellot^{a,b,*}, A. Baines^c, A. Paynter^c, S.L. Heltshe^{c,d}, J. VanDalfsen^c, M. Jain^e, S.M. Rowe^{a,b,f}, S.D. Sagel^g, On behalf of the GOAL-e2 Investigators

J.S. Guimbellot, A. Baines, A. Paynter et al.

Journal of Cystic Fibrosis 20 (2021) 213–219

Studio prospettico, follow-up 5,5 anni

Table 3

Clinical outcomes captured through the U.S. CF Foundation National Patient Registry.

Variable	Period*	N	Experienced outcome (%)	OR	95% CI	p value
<i>P. aeruginosa</i> positive	Baseline	93	58 (62.4)	–	–	–
	0.5 – 1.5 years	93	41 (44.1)	0.095	(0.011, 0.390)	<0.001
	4.5 – 5.5 years	90	35 (38.9)	0.045	(0.001, 0.281)	<0.001
Any pulmonary exacerbation	Baseline	94	34 (36.2)	–	–	–
	0.5 – 1.5 years	94	15 (16.0)	0.136	(0.026, 0.454)	<0.001
	4.5 – 5.5 years	90	15 (16.7)	0.250	(0.084, 0.628)	0.001
Pulmonary exacerbation with hospitalization	Baseline	94	32 (34.0)	–	–	–
	0.5 – 1.5 years	94	15 (16.0)	0.190	(0.048, 0.565)	0.001
	4.5 – 5.5 years	90	15 (16.7)	0.273	(0.090, 0.694)	0.004

* This data comes exclusively from the CFFPR. Patients are seen as clinically indicated and not at specified intervals as they were for all other data in this study, therefore intervals were used instead of precise time points. Baseline period is the one-year period before ivacaftor initiation. The other two periods are the number of years after ivacaftor initiation.

Prevalenza di *P. aeruginosa* e terapia con ivacaftor nel registro USA e UK

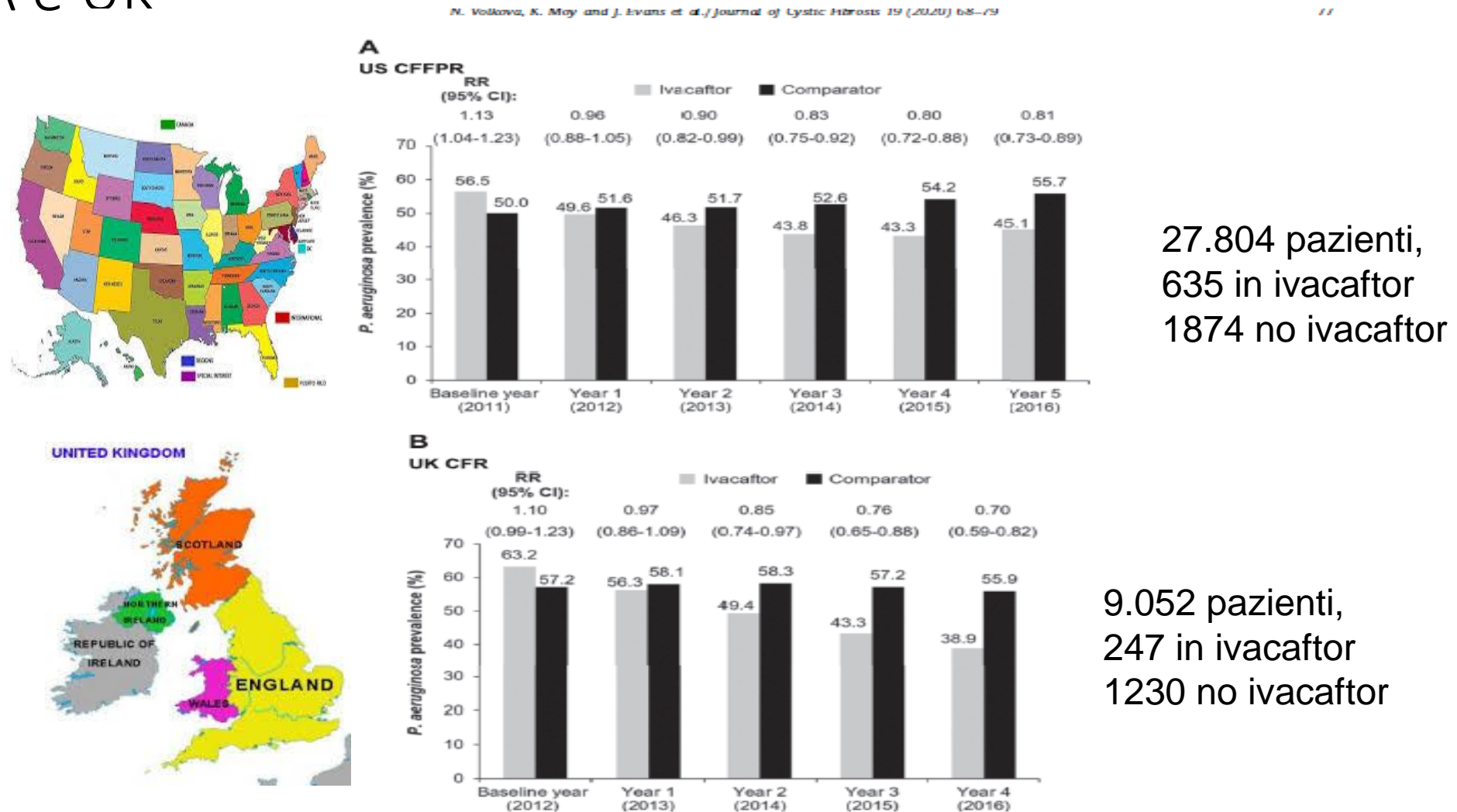


Fig. 6. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* over time in (A) US patients and (B) UK patients. CFFPR, Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry; CFR, Cystic Fibrosis Registry; *P. aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa*; RR, relative risk.

..non solo G551D....Accurato matching dei pazienti (rapporto 5:1) per età, sesso, alleli (classe) della stessa severità.

Ivacaftor Is Associated with Reduced Lung Infection by Key Cystic Fibrosis Pathogens

A Cohort Study Using National Registry Data

Freddy J. Frost^{1,2}, Dilip S. Nazareth^{1,2}, Susan C. Chaman³, Craig Winstanley², and Martin J. Walshaw^{1,2}

¹Liverpool Adult Cystic Fibrosis Centre, Liverpool Heart and Chest Hospital NHS, Foundation Trust, Liverpool, United Kingdom; ²Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, Liverpool, United Kingdom; and ³Cystic Fibrosis Trust, London, United Kingdom



> 6 anni
Ivacaftor: 276 pazienti G551D
No ivacaftor: 5296 pazienti

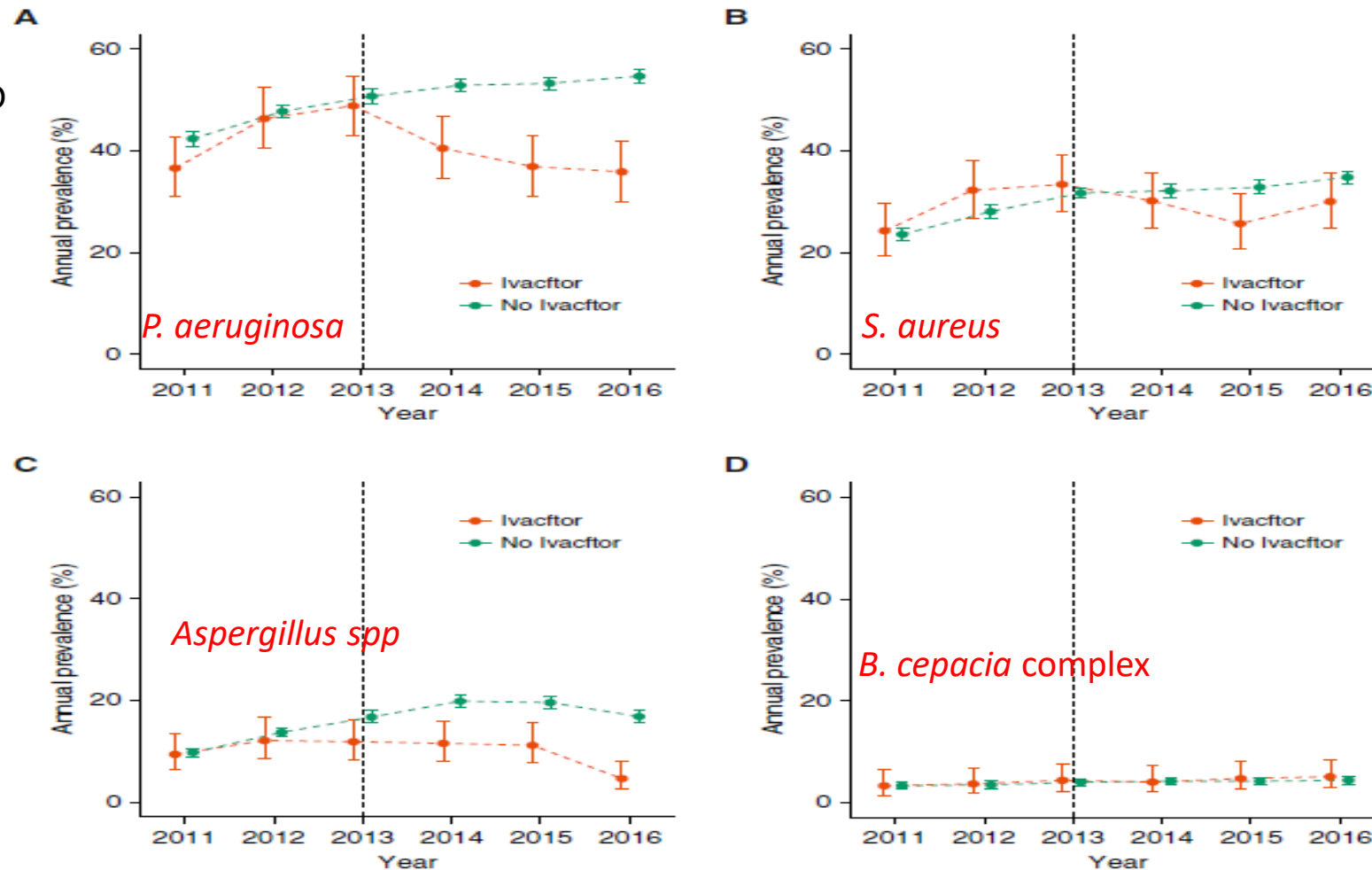
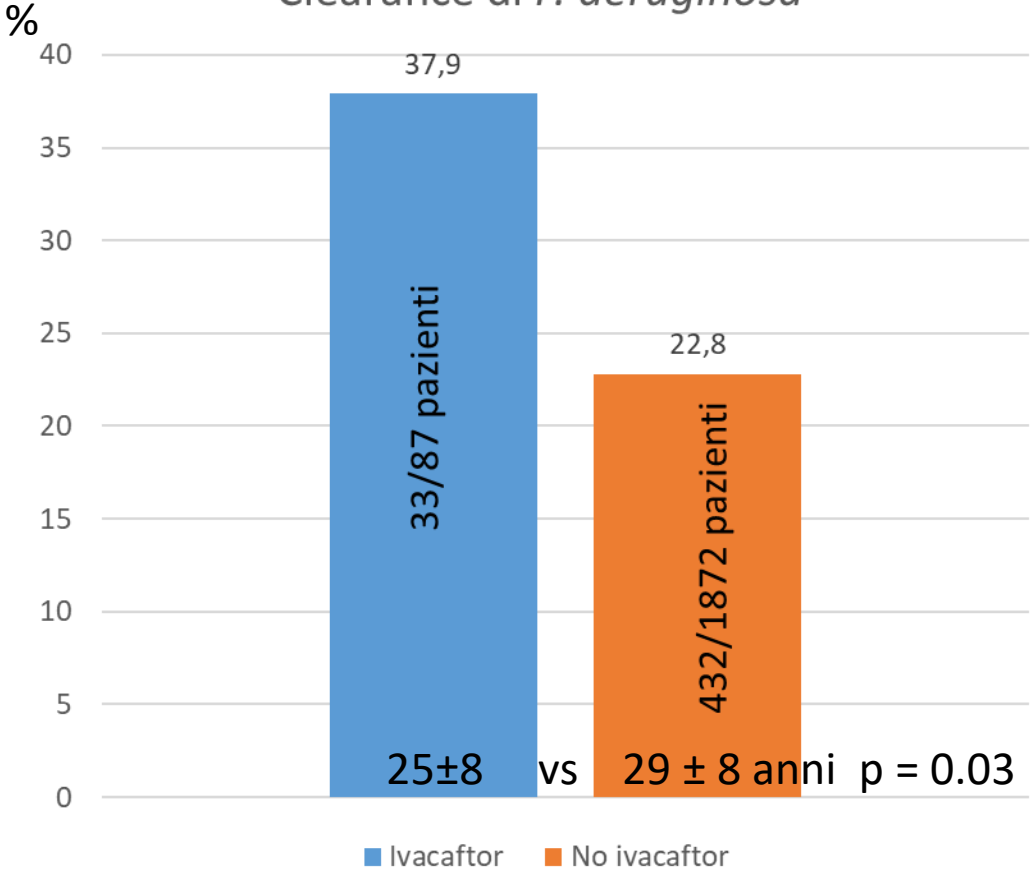


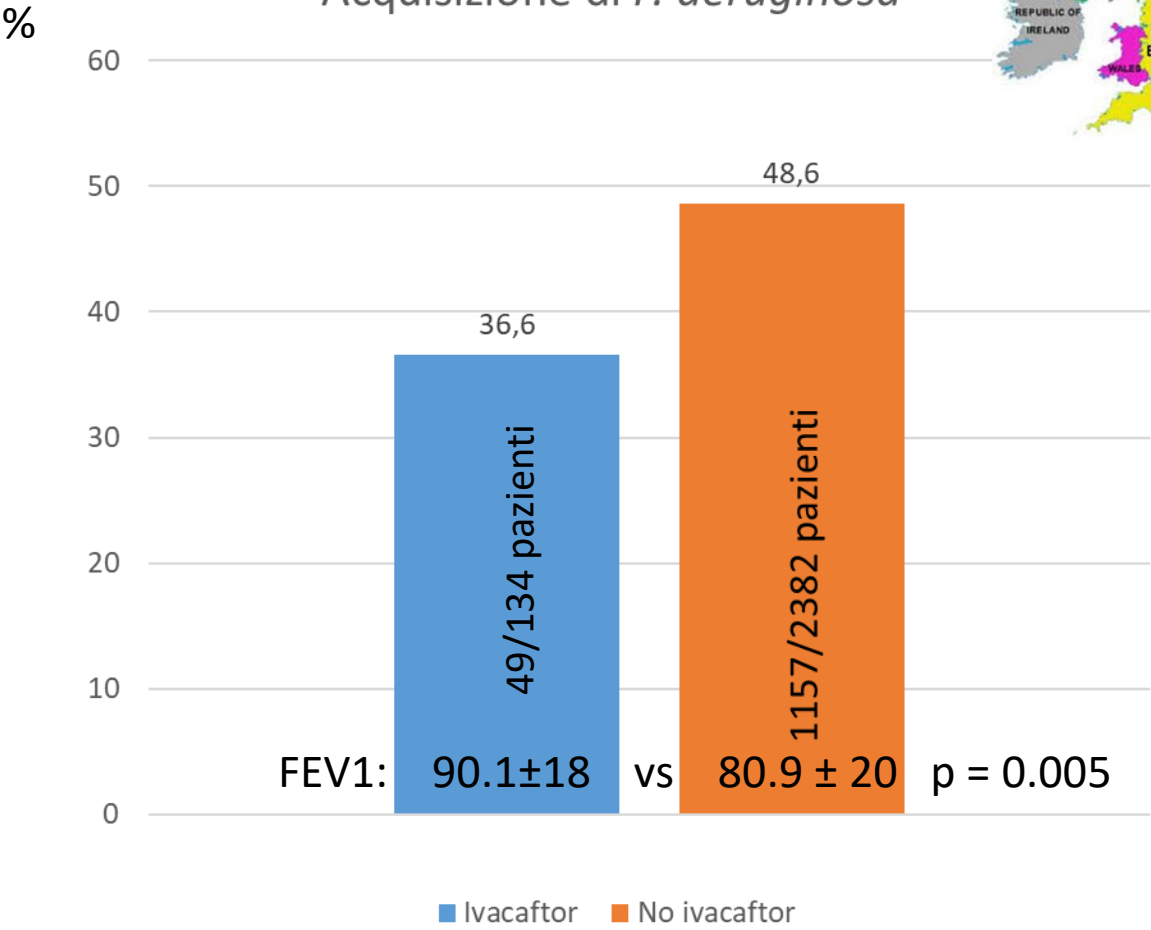
Figure 1. (A–D) Annual prevalence \pm 95% confidence interval of a positive respiratory culture for *Pseudomonas aeruginosa* (A), *Staphylococcus aureus* (B), *Aspergillus* spp. (C), and *Burkholderia cepacia* complex (D) in the ivacaftor ($n = 276$) and nonivacaftor groups ($n = 5,296$). Dotted black line represents ivacaftor initiation in 2013.

Aumentata clearance di *P.aeruginosa* o ridotta acquisizione? ...i dati del Registro UK.

Clearance di *P. aeruginosa*



Acquisizione di *P. aeruginosa*



Ivacaftor : 276 pazienti G551D > 6 anni No Ivacaftor : 5296 pazienti

Observational Study of Outcomes in Cystic Fibrosis Patients With Selected Gating Mutations on a CFTR Allele (The VOCAL Study) (VOCAL)

Last Update Posted : November 13, 2020

Outcome Measures

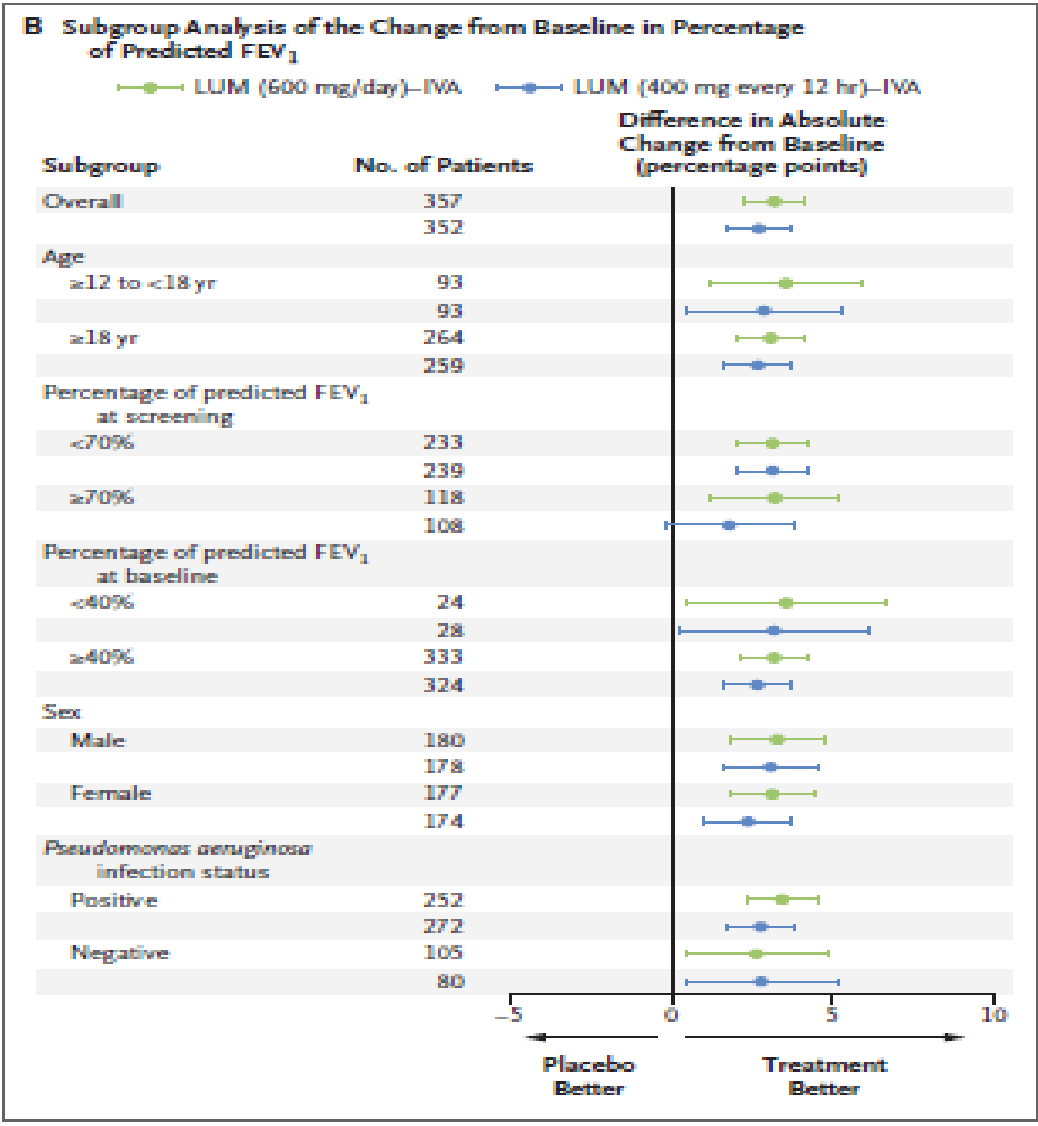
Primary Outcome Measures :

- Pulmonary exacerbations - Number of pulmonary exacerbations and duration of treatment for pulmonary exacerbations during Kalydeco treatment compared to the period before Kalydeco treatment
- **Respiratory Microbiology - Percentage of patients with cultures positive for *Pseudomonas aeruginosa* during Kalydeco treatment compared to the period before Kalydeco treatment**
- **Respiratory Microbiology - Percentage of patients with cultures positive for bacteria other than *Pseudomonas aeruginosa* and for fungi during Kalydeco treatment compared to the period before Kalydeco treatment**
- FEV1: Absolute change in percent predicted FEV1 during Kalydeco treatment
- Measures of nutritional status: Absolute change in weight, weight-for-age Z score, body mass index (BMI), and BMI-for-age Z-score during Kalydeco treatment
- Comorbidities: Incidence and prevalence of comorbidities during Kalydeco treatment compared to the period before Kalydeco treatment
- Mortality: Incidence and cause of deaths
- Organ transplantation: Incidence and reason for organ transplantations

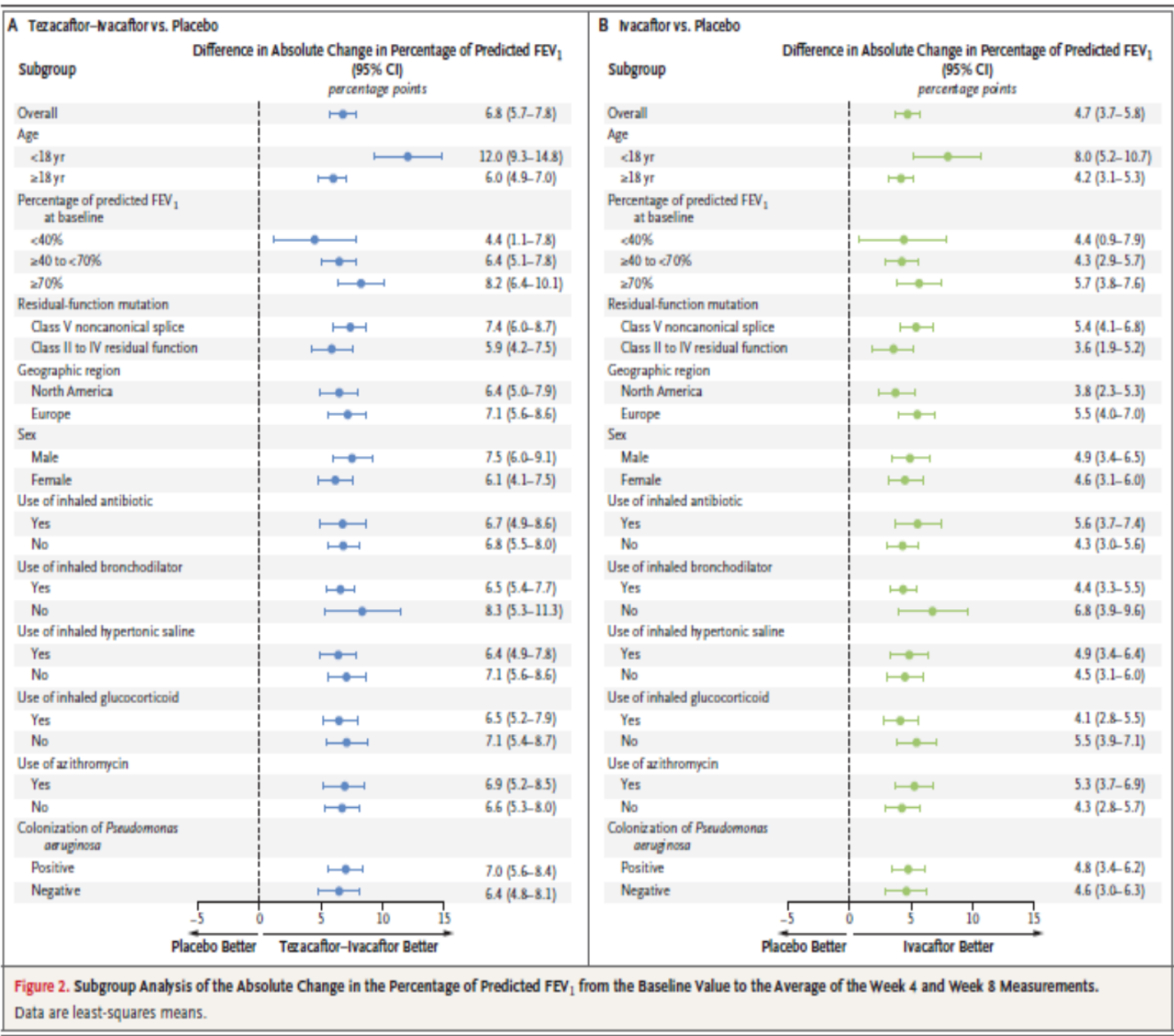
Luma/Iva

Teza/Iva

microbiologia vie aeree



2030
N ENGL J MED 373:231
NEWMORG
NOVEMBER 23, 2017



THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE

...contemporaneamente agli studi basati su microbiologia classica sono andati avanti anche gli studi sul microbioma....

Che sappiamo dell'effetto modulatori sul microbioma?



RESEARCH ARTICLE

Comparing Apples and Oranges?: Next Generation Sequencing and Its Impact on Microbiome Analysis

Adam G. Clooney^{1,3,5}✉, Fiona Fouhy^{2,5}✉, Roy D. Sleator^{3,5}, Aisling O' Driscoll^{4,5}, Catherine Stanton^{2,5}, Paul D. Cotter^{2,5*}, Marcus J. Claesson^{1,5*}

1 School of Microbiology, University College Cork, Cork, Ireland, **2** Teagasc Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Ireland, **3** Department of Biological Sciences Cork Institute of Technology, Cork, Ireland, **4** Department of Computing, Cork Institute of Technology, Cork, Ireland, **5** Institute of Food and Nutritional Sciences, University College Cork, Cork, Ireland

✉ These authors contributed equally to this work.

* m.claesson@ucc.ie (MC); paul.cotter@teagasc.ie (PC)





ORIGINAL RESEARCH

Changes in Airway Microbiome and Inflammation with Ivacaftor Treatment in Patients with Cystic Fibrosis and the G551D Mutation

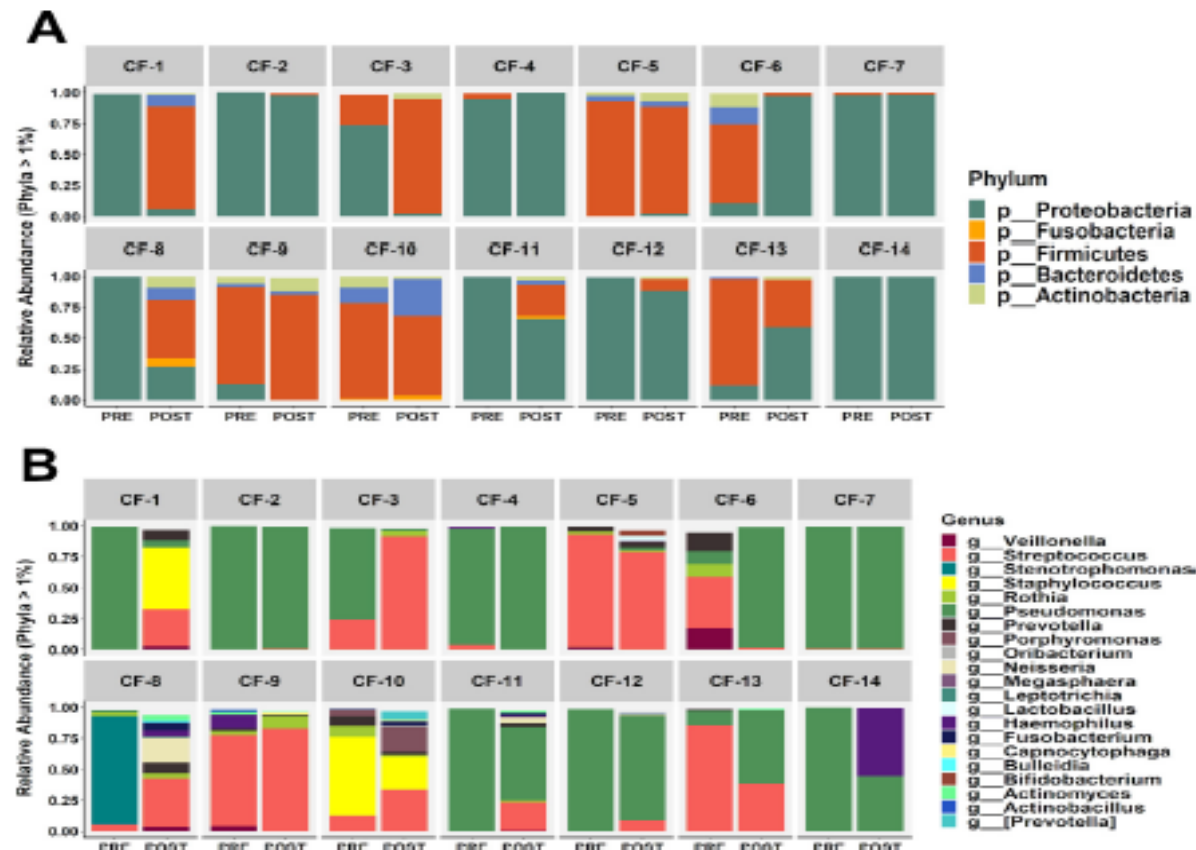
J. Kirk Harris¹, Brandie D. Wagner², Edith T. Zemanick¹, Charles E. Robertson³, Mark J. Stevens¹, Sonya L. Heltshe⁴, Steven M. Rowe⁵, and Scott D. Sagel¹; on behalf of the GOAL Investigators of the Cystic Fibrosis Foundation Therapeutics Development Network

Methods: The study included 31 people with CF, ages 10 years and older, with at least one G551D CFTR allele and an forced expiratory volume in 1 second (FEV1) of 40% predicted or greater who were enrolled in the GOAL (G551D Observational) study.

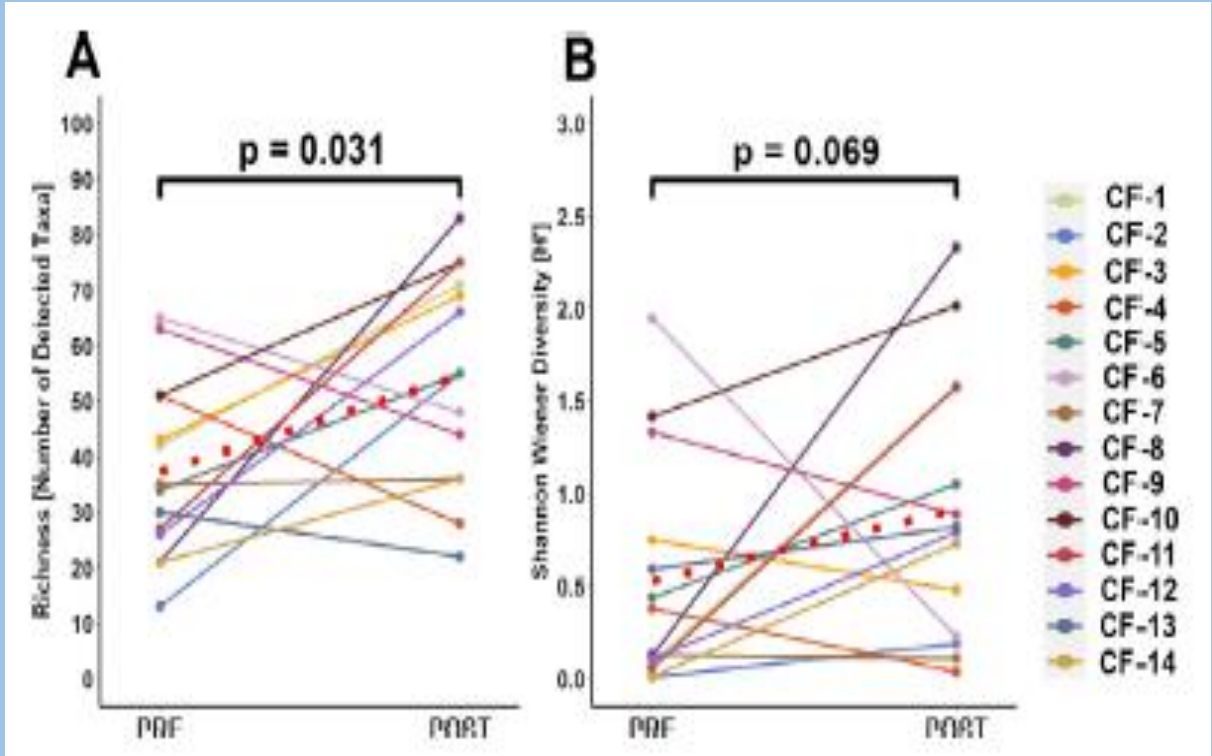
Conclusions: In this multicenter cohort, 6 months of ivacaftor treatment were not associated with significant changes in airway microbial communities or measures of inflammation.

These data suggest that concomitant antimicrobial and anti-inflammatory treatments will still be needed to manage airway disease in patients with CF treated with highly effective CFTR modulator therapy, especially in older patients with more advanced disease.

Analisi molecolare del microbiota in 14 pazienti adulti G551D/other pre- e post-ivacaftor (Einarsson Get al. JCF 2021)



Mean relative abundance (%) of (A) top 5 phyla and (B) all genera in sputum samples from PWCF PRE- and POST-treatment with ivacaftor. Values shown depict percentage relative abundance > 1% of the total bacteria detected.





Comparison of ecological parameters by molecular based analysis in sputum samples from PWCF PRE- and POST-treatment with ivacaftor. (A) taxonomic richness (B) community diversity (Shannon Wiener Diversity [H']). Red dotted line demonstrates the change in mean values. $P < 0.05$ denotes statistical significance.



ORIGINAL ARTICLE
CYSTIC FIBROSIS

Lumacaftor/ivacaftor changes the lung microbiome and metabolome in cystic fibrosis patients

Anne H. Neerincx ¹, Katrine Whiteson², Joann L. Phan², Paul Brinkman ¹,

Conclusions: After starting CF transmembrane conductance regulator (CFTR) modulating treatment in CF patients with a homozygous Phe508del mutation, a temporary and moderate change in the lung microbiome is observed, which is mainly characterised by a reduction in the relative abundance of *Pseudomonas aeruginosa*.

16 pazienti FC adulti, 12 mesi follow-up

Non cambiano BMI

Non gruppo di controllo

Valutato un solo campione prima dell'inizio terapia con modulatori

Non considerato l'uso di antibiotici

.....

Effects of Lumacaftor-Ivacaftor on Lung Clearance Index, Magnetic Resonance Imaging and Airway Microbiome in Phe508del Homozygous Patients with Cystic Fibrosis (dati di microbiologia → 14 pazienti FC)

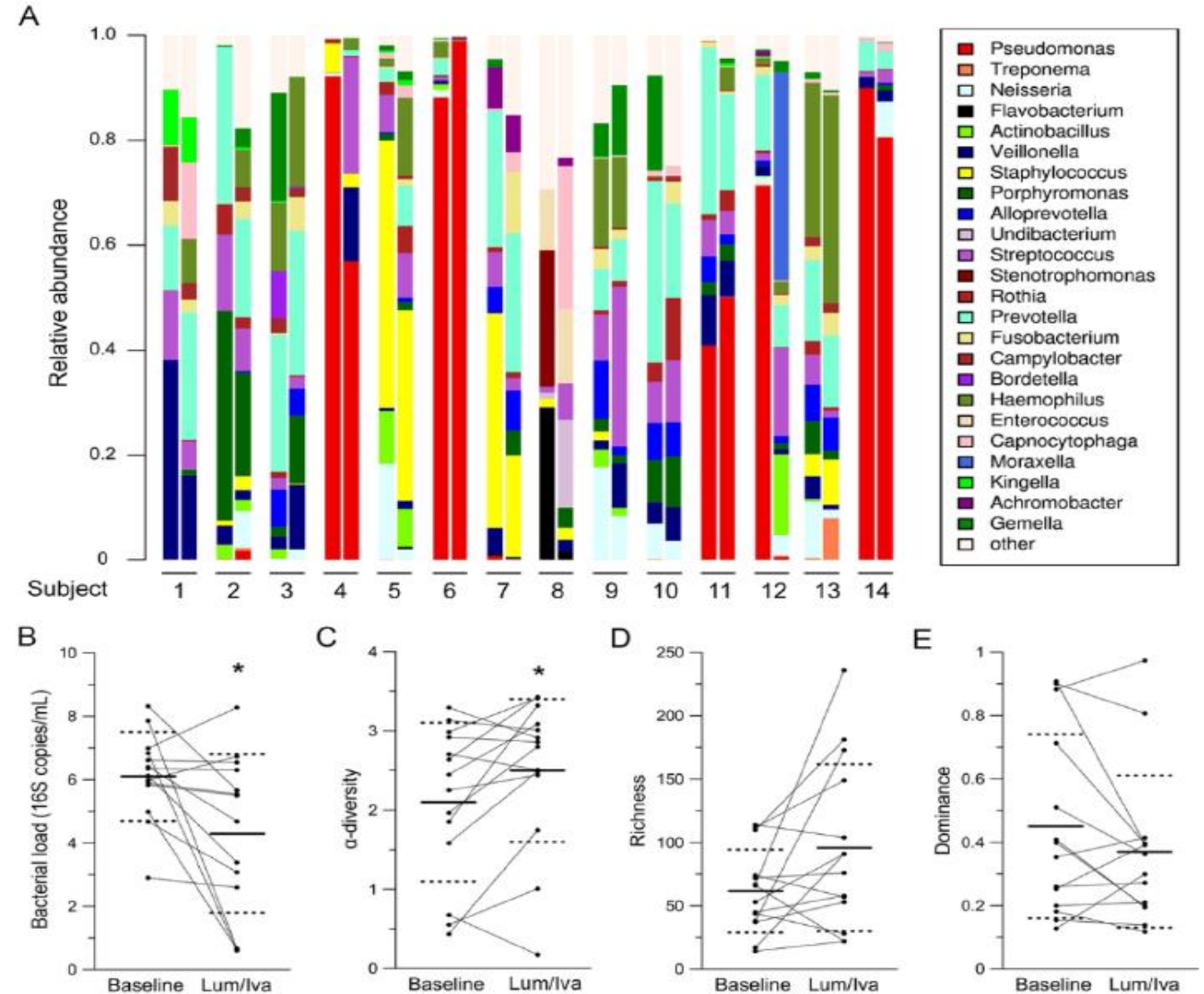
The abundance of single genera did not change under lumacaftor-ivacaftor .

The total bacterial load was significantly reduced under treatment with lumacaftor ivacaftor ($P < 0.05$).

The diversity of the microbiome was significantly increased under lumacaftor-ivacaftor ($P < 0.05$).

The richness of the microbiome showed a trend toward increase under lumacaftor-ivacaftor therapy ($P = 0.053$).

The dominance, defined as the relative abundance of the most dominant species, remained unchanged ($P = 0.150$).



Tripla terapia e futuro delle infezioni: lo studio PROMISE

Studio prospettico (T0, T1, T3, T6, T12, T24) su 250 partecipanti in trattamento con HEMT.

Verranno eseguiti sequenziamenti per determinare la persistenza dei patogeni e per studiare l'adattamento batterico all'ambiente polmonare nel contesto del trattamento con modulatori.

Verrà ricercata una correlazione con i markers di infiammazione

Table 2

Primary and secondary investigational areas of focus sub-studies within PROMISE.

Focus Area	Key Outcomes of Interest	Additional Biomarkers or Assays
Clinical Changes	lung function (FEV ₁), respiratory symptoms, sweat chloride, BMI	
Mucus Biology	mucociliary clearance, percent solids in sputum	Sputum viscosity, exhaled breath condensate pH and sialic acid:urea ratio
Microbiology	<i>P. aeruginosa</i> and <i>S. aureus</i> sputum density, stool and respiratory microbiota, stool metagenome	<i>S. maltophilia</i> , <i>A. xylosoxidans</i> , and <i>Burkholderia</i> species, PCR vs. culture-based results, bacterial lineage stability
Inflammation and Host Response	Sputum free neutrophil elastase, serum hsCRP	Sputum IL-1B, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- γ , calprotectin, serum HMGB-1, calprotectin
Gastroenterology	GI symptoms (PAGI-SYM, PAC-SYM, PAC-QOL), intestinal pH and transit time	Bristol stool score, fecal calprotectin, elastase, steatocrit. Serum IRT, intestinal fatty acid binding protein, 7-hydroxy-4-cholesten-3-one, FGF-19. Urine prostaglandin E2 metabolites
Endocrinology	Effect on glucose metabolism/control (glucose excursion, peak, glucose tolerance category), insulin use and dosage. Lumbar and hip bone mineral density. Whole body lean body mass	Insulin, glucagon, incretin activities, free fatty acid flux and glucose disposal. Additional measures of bone mass, mineral content, and density. Additional measures of body composition, IGF-1, and IGF-BP3.
Liver disease	Transient elastography, serum C4, and FGF-19	Liver disease classification, GGTP, FIB4, and APRI
Nasal airway epithelial cell function	Forskolin-stimulated Isc	Airway surface liquid depth, in vitro ciliary functioning and mucus viscosity
Pediatric (age 6–11y) participants	Lung clearance index, sweat chloride, FEV ₁ , airway microbiology from sputum and oropharyngeal swab collection, respiratory and GI symptoms, BMI	
Biospecimen collection for future research	Historical and prospective data, serum, plasma, blood leukocytes, urine, bacterial colonies and bacterial DNA, stool, processed sputum, expanded nasal airway epithelial cells	

Quale impatto sulla microbiologia potrebbero avere i modulatori ?

In cronicità:

- Cambierà o meno lo status microbiologico dei soggetti cronicamente infetti?
- Nel caso non cambi, potrebbe verificarsi una riduzione della carica batterica? Con quale effetto?

E nel caso di infezioni iniziali?

- Considerato che la prima infezione da *P.aeruginosa* si verifica nei primi anni di vita, e che i modulatori saranno sempre più usati in giovane età, cosa accadrà?
- Potrebbero aiutare il trattamento eradicante riducendo la percentuale di soggetti che evolvono verso la cronicità?

(Saiman L Pediatr Pulmonol 2019; 54 S18-S26)

L'azione dei modulatori di CFTR, oltre a determinare la riduzione delle esacerbazioni, potrebbe essere efficace nel ridurre la suscettibilità a infezioni. Il clinico è molto interessato (...aspira!) a rimuovere anche quelle che abbiamo considerato a lungo le principali cause del danno polmonare (circolo vizioso infezione - infiammazione).

Nel 20-25% dei soggetti non è attualmente possibile usare modulatori e non si attendono quindi cambiamenti sostanziali .

La filosofia dell'intervento precoce in FC vale anche per modulatori?



Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) 67–91



Consensus report

Early intervention and prevention of lung disease in cystic fibrosis: a European consensus[☆]

Gerd Döring*, Niels Hoiby
for the Consensus Study Group¹

Institute of General and Environmental Hygiene, Eberhard, Karls-University of Tübingen, Wilhelmstrasse 31, D-72074 Tübingen, Germany

Received 23 March 2004; accepted 24 March 2004

Abstract

In patients with cystic fibrosis (CF), early intervention and prevention of lung disease is of paramount importance. Principles to achieve this aim include early diagnosis of CF, regular monitoring of the clinical status, various hygienic measures to prevent infection and cross-infection, early use of antibiotic courses in patients with recurrent or continuous bacterial colonisation and appropriate use of chest physiotherapy.

© 2004 European Cystic Fibrosis Society. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Lung disease; Cystic fibrosis; European consensus

....ma perché l' «early intervention» non dovrebbe funzionare per i modulatori?

- Nei primi anni di vita il danno anatomico a livello polmonare non è ancora completamente sviluppato
- In giovane età la comunità batterica dei pazienti FC ha caratteristiche più vicine a quelle «fisiologiche»
- L'infezione da patogeni classici può non essersi ancora verificata
- I germi potrebbero non aver ancora sviluppato «l'adattamento genetico» alle vie aeree FC

Queste osservazioni (insieme ai dati di «safety» che proviene dagli studi clinici) supportano il razionale di introdurre in terapia le nuove molecole in fasce di età sempre più basse.

Conclusioni

- La microbiologia FC sta diventando «più difficile»..... Le performances dei vari laboratori stanno cambiando....
- L'effetto benefico di ivacaftor è meglio precisato in soggetti G551D nei confronti di *P. aeruginosa* rispetto ad altri patogeni classici.
- Effetti positivi di ivacaftor sulla riduzione degli isolamenti di *P. aeruginosa* sono già stati documentati su larga scala (Registri). La persistenza di *P. aeruginosa* suggerisce che le misure per controllare l'infezione (terapia cronica soppressiva) debbano continuare .
- Rimangono da precisare gli effetti dei modulatori di più recente introduzione (studi in corso).
- Il mito che il paziente (o una certa % di pazienti) possa diventare realmente «infection free» va verificato nella clinica.
- In futuro i modulatori saranno sempre più usati, in un numero crescente di soggetti, in età infantile e prima dell'evoluzione verso la cronicità (ad es. *P.aeruginosa*).
- I modulatori, soprattutto se somministrati in giovane età (prima cioè che si verifichi il danno anatomico del polmone), potrebbero modificare la recettività dei pazienti all'infezione e prevenire lo sviluppo della fase di cronicità.
- Vanno studiati in modo più approfondito e su più ampia casistica gli effetti che i modulatori di più recente introduzione potrebbero avere non sui singoli patogeni ma sull'intera comunità batterica polmonare. C'è la necessità di continuare a monitorare i pazienti dal punto di vista microbiologico.

