

AREA 5

Ricerca clinica ed epidemiologica



Progetto FFC #22/2020

Ruolo delle forme batteriche vitali ma non coltivabili (VBNC) nei pazienti con fibrosi cistica dal punto di vista clinico



**Chi ha condotto la ricerca:**

Responsabile: **Natalia Cirilli**  
(Ospedali Riuniti, Dipartimento Materno Infantile, Centro FC, Ancona)



**Partner:**

**Luca Tiano** (Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche), **Rosaria Gesuita** (Centro di Epidemiologia, Biostatistica e Informatica Medica, Università Politecnica delle Marche)



**Ricercatori coinvolti:** 14



**Qual è la durata dello studio:** 2 anni

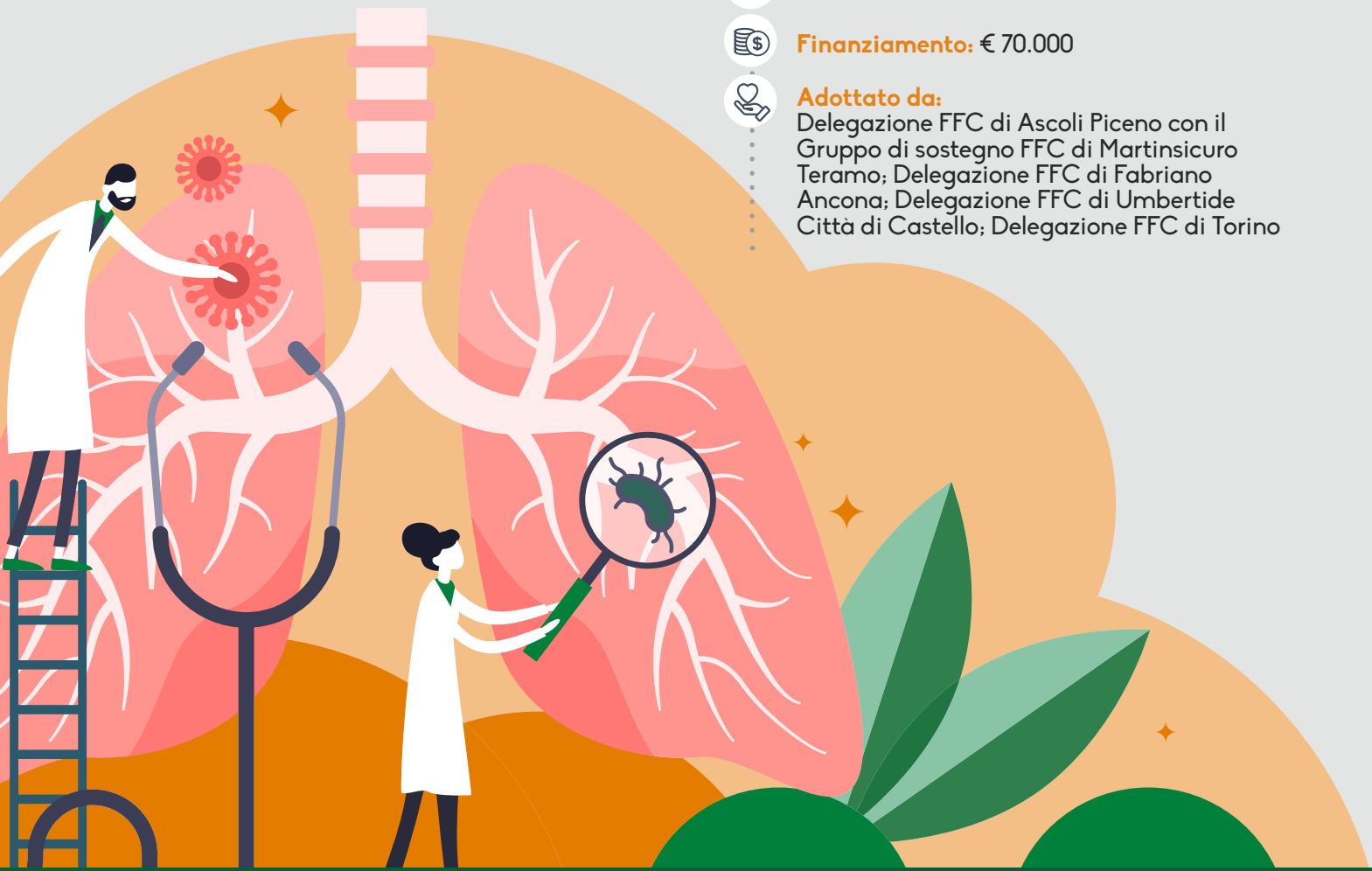


**Finanziamento:** € 70.000



**Adottato da:**

Delegazione FFC di Ascoli Piceno con il Gruppo di sostegno FFC di Martinsicuro Teramo; Delegazione FFC di Fabriano Ancona; Delegazione FFC di Umbertide Città di Castello; Delegazione FFC di Torino





## Perché è importante

Le infezioni polmonari croniche nelle persone con fibrosi cistica (FC) sono caratterizzate da esacerbazioni polmonari ricorrenti. Tra i microrganismi coinvolti ci sono i cosiddetti batteri vitali ma non coltivabili (VBNC), batteri insensibili al trattamento antibiotico e non rilevabili con metodi di coltura di routine. Una migliore individuazione delle forme persistenti, sia coltivabili che non, è importante per lo sviluppo di efficaci strategie di eradicazione.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono stati usati campioni di espettorato provenienti da 102 persone con FC con infezione cronica. L'obiettivo era indagare la presenza di forme VBNC e le caratteristiche cliniche degli individui, in base ai risultati del test per le forme VBNC. Inoltre, analizzare l'associazione tra esiti clinici e risultati del test per le forme VBNC.



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

I campioni di espettorato sono stati saggiati per la presenza dei batteri *P. aeruginosa* (PA), *A. xylosoxidans* (AX), *S. maltophilia* (SM), *S. aureus* meticillino resistente (MRSA) e suscettibile (MSSA).

Per i parametri di esito clinico, sono stati presi in considerazione il FEV1 (indice di funzionalità polmonare), la terapia antibiotica, lo stato nutrizionale e le comorbilità.



## Che cosa hanno ottenuto

Nelle persone che hanno avviato la terapia con modulatori di CFTR non è stata rilevata la presenza di alcuni batteri nelle basse vie respiratorie, ma in più casi è stata individuata la presenza di cellule VBNC. Probabilmente i microrganismi che colonizzano in modo cronico le basse vie respiratorie delle persone con FC persistono anche quando l'esame colturale fornisce esito negativo, in quanto dormienti e non coltivabili.

Inoltre, si è visto che le forme batteriche VBNC possono sopravvivere alla terapia antibiotica, riguadagnare la coltivabilità e proliferare, ostacolando l'eradicazione dell'infezione. Infine, PA e MSSA sono risultati i batteri più inclini a sviluppare varianti VBNC.

Il trattamento con i modulatori di CFTR sembra esercitare un effetto positivo sui valori di FEV1 a dispetto della presenza di cellule VBNC, sebbene tale associazione sia risultata inconsistente.



## Che cosa succederà ora

I risultati di questo studio evidenziano l'urgenza di integrare le tecniche colturali con tecniche molecolari più sensibili e specifiche sia per le forme batteriche vitali che non vitali.

Saranno comunque necessari ulteriori studi sull'effetto dei modulatori di CFTR nell'eradicazione dell'infezione stessa.

## Per saperne di più



### Obiettivi

#### **Scoprire il ruolo dei batteri dormienti e non coltivabili ma pronti a risvegliarsi nelle infezioni respiratorie FC**

Nel precedente progetto FFC#13/2017 lo stesso gruppo di ricerca ha mostrato che nel polmone FC i VBNC (Batteri Vitali Non Coltivabili) sono batteri che possono sfuggire alla ricerca fatta con la tecnica classica della coltura, essendo inattivi ma ancora vitali (dormienti). Possono però interrompere questo stato di quiescenza per riattivarsi, provocare recidive e cronicizzare lo stato di infezione respiratoria. Avendo messo a punto i metodi di indagine per identificarli (tecniche combinate di biologia molecolare -qPCR- e citofluorimetria), ora si vuole capire la loro importanza nella storia clinica del malato FC. Attraverso questo studio prospettico della durata di due anni, che coinvolgerà circa un centinaio di pazienti, nei campioni di escreato raccolti a ogni controllo saranno indagati sia i VBNC sia gli altri batteri e sarà valutato il peso dei VBNC nell'associazione con i quadri clinici e con l'evoluzione della malattia polmonare FC.



### Risultati

#### **Le forme dormienti e non coltivabili dei batteri colonizzano in modo cronico le basse vie respiratorie delle persone con FC e persistono anche quando l'esame colturale fornisce esito negativo**

Le infezioni polmonari croniche nelle persone con fibrosi cistica (FC) sono caratterizzate da esacerbazioni polmonari ricorrenti. La comunità batterica in questi pazienti è molto variabile: tra i microrganismi presenti ci sono i cosiddetti batteri vitali ma non coltivabili (VBNC), batteri insensibili al trattamento antibiotico non rilevabili con metodi di coltura di routine (a causa della loro incapacità di crescere su terreni batteriologici), sebbene rimangano vitali e potenzialmente virulenti. Una migliore individuazione delle forme persistenti, sia coltivabili che non, è importante per lo sviluppo di efficaci strategie di eradicazione.

Gli obiettivi del progetto erano: i) indagare la presenza di forme VBNC in campioni di espettorato delle persone con FC con infezione cronica; ii) indagare le loro caratteristiche cliniche; iii) analizzare l'associazione tra esiti clinici e risultati del test per le forme VBNC; iv) stimare i tempi di riattivazione delle cellule VBNC.

Sono stati usati campioni di espettorato provenienti da 102 persone con FC, per un totale di 407 campioni analizzati. I campioni di espettorato (4 per ciascuna persona con FC arruolata nello studio) sono stati analizzati sia tramite saggi colturali sia tramite tecniche di biologia molecolare per verificare la presenza di forme VBNC.

I campioni sono stati saggiati per la presenza dei seguenti batteri: *P. aeruginosa* (PA), *A. xylosoxidans* (AX), *S. maltophilia* (SM), *S. aureus* meticillino resistente (MRSA) e suscettibile (MSSA). Dal punto di vista microbiologico, si è osservato che nelle persone che hanno avviato la terapia con un modulatore di CFTR non è stata rilevata la presenza di alcune specie batteriche nelle basse vie respiratorie, ma in più casi è stata individuata la presenza di cellule VBNC negli stessi campioni di espettorato. Ciò avvalorava l'ipotesi secondo cui i microrganismi che colonizzano in modo cronico le basse vie respiratorie delle persone con FC persistono anche quando l'esame colturale fornisce esito negativo, in quanto dormienti e non coltivabili.

## Per saperne di più



Il trattamento con i modulatori di CFTR sembra esercitare un effetto positivo sui valori di FEV1 a dispetto della presenza di cellule VBNC, sebbene tale associazione sia risultata inconsistente. Si è osservato che le forme batteriche VBNC possono svilupparsi nelle persone con FC con infezione polmonare cronica, sopravvivere alla terapia antibiotica, riguadagnare la coltivabilità e proliferare, ostacolando l'eradicazione dell'infezione.

Infine, PA e MSSA sono risultati i batteri più inclini a sviluppare varianti VBNC.

I risultati di questo studio evidenziano l'urgenza di integrare le tecniche colturali con tecniche molecolari più sensibili e specifiche sia per le forme batteriche vitali che non vitali; evidenziano inoltre la mancata eradicazione batterica nelle persone con FC con infezione cronica o intermittente.

Saranno necessari ulteriori studi sull'effetto dei modulatori di CFTR nell'eradicazione dell'infezione stessa.

## Pubblicazioni



- **Clinical relevance of *Pseudomonas aeruginosa* viable but non-culturable forms in cystic fibrosis**

*European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2024

› [Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2024 Jul 8. doi: 10.1007/s10096-024-04890-z](#). Online ahead of print.

### Clinical relevance of *Pseudomonas aeruginosa* viable but non-culturable forms in cystic fibrosis

Gianmarco Mangiaterra <sup>1</sup>, Valentina Schiavoni <sup>2</sup>, Nicholas Cedraro <sup>2</sup>, Barbara Citterio <sup>3</sup>,  
Carla Vignaroli <sup>2</sup>, Rosaria Gesuita <sup>4</sup>, Benedetta Fabrizzi <sup>5</sup>, Francesca Biavasco <sup>2</sup>, Natalia Cirilli <sup>5</sup>

Affiliations + expand

PMID: 38976176 DOI: 10.1007/s10096-024-04890-z

### Grants and funding

FFC#22/2020/Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica

## Pubblicazioni



- **Role of viable but non culturable cells in patients with cystic fibrosis in the era of highly effective modulator therapy**  
*Journal of Cystic Fibrosis*, 2024



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Cystic Fibrosis

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jcf](http://www.elsevier.com/locate/jcf)



### Original Article

## Role of viable but non culturable cells in patients with cystic fibrosis in the era of highly effective modulator therapy

Natalia Cirilli <sup>a,\*</sup>, Valentina Schiavoni <sup>b</sup>, Valentina Tagliabracci <sup>a</sup>, Rosaria Gesuita <sup>d</sup>, Luca Tiano <sup>b</sup>,  
Benedetta Fabrizzi <sup>a</sup>, Anastasia D'Antuono <sup>a</sup>, Arianna Peruzzi <sup>a</sup>, Nicholas Cedraro <sup>b</sup>,  
Flavia Carle <sup>d</sup>, Marco Moretti <sup>e</sup>, Luigi Ferrante <sup>d</sup>, Carla Vignaroli <sup>b</sup>, Francesca Biavasco <sup>b</sup>,  
Gianmarco Mangiaterra <sup>b,c</sup>

<sup>a</sup> Cystic Fibrosis Centre, Department of Gastroenterology and Transplantation, University Hospital of Marche, Via Conca, 71, Ancona 60126, Italy

<sup>b</sup> Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy

<sup>c</sup> Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino Carlo Bo, Urbino, Italy

<sup>d</sup> Center of Epidemiology, Biostatistics e Medical Information Technology, Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy

<sup>e</sup> Clinical Laboratory, University Hospital of Marche, Ancona, Italy

### Acknowledgments

We would like to thank patients and their families who participated in this trial, the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC Ricerca) and CFF Delegations (Ascoli Piceno, Martinsicuro Teramo, Fabriano Ancona, Umbertide Città di Castello, Torino) who funded the project (FFC#22/2020).



## Convegni



- ***Detection of viable but non culturable *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis sputum samples: evidence and perspectives***

*46th European Cystic Fibrosis Conference in Vienna, Austria 7-10 June 2023*

## Rendiconto economico



### AREA 5

### Ricerca clinica ed epidemiologica

#### Progetto FFC #22/2020

### Ruolo delle forme batteriche vitali ma non coltivabili (VBNC) nei pazienti con fibrosi cistica dal punto di vista clinico



**Responsabile:**  
Natalia Cirilli

(Ospedali Riuniti, Dipartimento Materno Infantile, Centro FC, Ancona)



**Periodo:**

2020-2023



**Grant assegnato:**

€ 70.000



**Usato per:**

- Materiale di consumo € 22.507
- Borse di studio € 23.400
- Servizi scientifici € 5.200
- Pubblicazioni scientifiche € 3.880

€ 54.987



**Saldo (usato per altri progetti):**

€ 15.013