



**HAL**  
open science

# **Facteurs cliniques et génétiques impliqués dans la sévérité des phénotypes et la réponse aux thérapies ciblées dans la mucoviscidose**

Julie Mézinèle

► **To cite this version:**

Julie Mézinèle. Facteurs cliniques et génétiques impliqués dans la sévérité des phénotypes et la réponse aux thérapies ciblées dans la mucoviscidose. Santé publique et épidémiologie. Sorbonne Université, 2021. Français. ⟨NNT : 2021SORUS354⟩. ⟨tel-03662873⟩

**HAL Id: tel-03662873**

**<https://theses.hal.science/tel-03662873v1>**

Submitted on 9 May 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

# Sorbonne Université

Ecole doctorale 394

*Laboratoire de physiopathologie et phéno génomique de la mucoviscidose / UMR-S 938*

*Laboratoire d'épidémiologie et de santé publique / UMR-S 1136*

---

## **Facteurs cliniques et génétiques impliqués dans la sévérité des phénotypes et la réponse aux thérapies ciblées dans la mucoviscidose**

---

Présentée par

**Julie Mézinèle**

Pour obtenir le grade de

Docteur en sciences de Sorbonne Université

Spécialité Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

Soutenue publiquement le **15 décembre 2021**

Devant un jury composé du :

Professeur Annick Clément  
Professeur Pierre-Régis Burgel  
Professeur Isabelle Durieu  
Docteur Virginie Scotet  
Professeur Harriet Corvol  
Professeur Pierre-Yves Boëlle

Présidente du jury  
Rapporteur  
Rapporteuse  
Examinatrice  
Directrice de thèse  
Co-directeur de thèse



### **Octobre 1984**

Dans un couloir de service de cardiologie et de médecine interne, alors âgée de 10 mois, je faisais mes premiers pas ~~debut~~. C'est donc ici, à l'hôpital, que j'ai appris à marcher en rendant visite le week-end à ma maman hospitalisée. C'est probablement en ce lieu-là que j'ai initié mes premiers pas (et mes premières chutes !) vers mon chemin professionnel, et possiblement là où sont nés mes premiers sentiments d'empathie, forgeant ma motivation altruiste. Du plus loin que je me souviens, j'ai toujours aimé cet environnement médical. Cela a commencé par la salle d'attente du pédiatre, où étrangement (grâce aux jouets ?) j'ai tout de suite eu ce sentiment d'être à ma place.

Ma nature intrépide et aventurière (mais surtout maladroite) d'enfant m'a conduite de nombreuses fois, et à ma grande joie (mais au grand malheur de ma maman !) aux urgences et au bloc opératoire. Je me dois de sceller enfin ici ma gratitude pour ma bonne étoile, qui n'a pas interrompu trop précocement mon élan de vie à 4 ans, lors de mon saut "*Mary Poppins*" d'un balcon au 3<sup>ème</sup> étage !

Fort heureusement, j'ai pu cultiver plus sagement ma passion pour l'univers médical en m'émerveillant assidûment devant *Il était une fois la vie*. Probablement les rares moments de répit, silencieux et sécurisés pour la maman d'une enfant hyperactive surnommée "*Pipelette*" (et plus honteusement "*Lili prout*", surnom hérité de mes bêtises).

J'ai grandi avec cette évidence d'être faite pour opérer les gens. Mais, mon malaise en plein bloc opératoire lors de mon stage de 5<sup>ème</sup>, couplé à mes bulletins scolaires "passables", a avorté prématurément cette utopie naissante de devenir chirurgienne.

### **Début 1994**

Je déroge au dessin animé *Il était une fois la vie* et regarde mon premier documentaire. Fortuitement ou pas, le sujet porte sur la première loi de bioéthique et la génétique. Je ne saisis alors pas grand-chose, mais je garde le souvenir de cet homme à la profession intrigante de "*génie génétique*", qui m'explique enfin pourquoi, biologiquement, je n'ai pas la même couleur de peau que mes parents et surtout pourquoi, je n'avais quasiment aucune chance d'hériter des beaux yeux verts de ma maman. Une petite "porte génétique" s'édifie alors en moi et les cours de biologie du lycée sur les petits pois de Mendel en finiront sa construction, me laissant au passage une nouvelle passion enfouie.

### **Avril 2003**

Un tant soit peu devenue plus raisonnable, j'obtiens mon concours d'entrée pour l'école d'infirmière. S'en suivent 3 années d'enseignements et de stages, mes premiers contacts professionnels avec l'hôpital, les soins et les patients. C'est passionnant, mais aussi indélébilement bouleversant émotionnellement. À 18 ans, être confrontée à ces épreuves et réalités douloureuses, me fait descendre de mon petit nuage merveilleux de la vie, tout en renforçant mon sentiment d'être à ma place.

Mai 2008, face à un ressenti énigmatique de "il me manque quelque chose", je pars travailler en Suisse. Deux ans plus tard, je trouverai un début de réponse en débarquant à Paris et en m'orientant vers la recherche clinique. Je passerai les 6 années suivantes à parcourir les premiers kilomètres du chemin de ma réorientation professionnelle, tout en faisant progressivement le difficile deuil de mon activité de soins.

### **Novembre 2013**

Fortuitement (ou pas), mon chemin croise celui du Pr Jean-Sébastien Hulot. Me voilà donc à mettre en place et réaliser cette étude de phase II, SERCA2a *gene therapy*. Nous sommes alors la première équipe de recherche clinique au monde à réaliser l'administration d'une thérapie génique par voie intra-coronarienne. Je pense alors, à tort, que j'ai résolu mon énigme d'accomplissement professionnel. Mais non, au contraire, je viens de dépoussiérer cette "porte génétique" érigée en moi en 1994. Au fil des mois, ré-émerge ce ressenti de "*il me manque quelque chose*". Mon tempérament *challengeuse* et ma promesse me poussent alors à m'inscrire en Master.

Quelle déception quand j'apprends que je suis contrainte de le réaliser en 2 ans, car non compatible avec mon souhait de garder mon activité professionnelle à plein temps. Ça me semble alors tellement long, mais rétrospectivement,

tellement peu avec ce qui va suivre ! Je reprends donc le chemin de l'université en 2015 et panique à la première lecture des "poly" ! Je regrette instantanément et amèrement mon choix, lorsque je vois les cours de statistiques, moi qui ai obtenu mon Bac S avec la note de 6 en maths !

Contre toute attente, je tombe amoureuse des statistiques. Ces cours vont me passionner, me retourner intellectuellement et faire descendre de quelques degrés mon dosimètre de "*il me manque quelque chose*". Je m'épanouirai alors à m'abreuver de ces connaissances soirs et week-ends, en prenant entre autres plaisir à calculer des intégrales pour mes exercices de TD !

### **Avril 2016**

J'apprends que la recherche ne se passe jamais "comme sur des roulettes". Suite à l'arrêt prématuré de l'étude de thérapie génétique, je me retrouve incidemment au 6<sup>ème</sup> étage du Centre de Recherche Saint Antoine, à pousser la porte (mais pas que) de l'équipe "Mucoviscidose : physiopathologie et phénogénomique". Je postule pour le poste de coordinatrice de recherche de l'étude "Recherche des gènes modificateurs dans la mucoviscidose". Je ne connais rien à la mucoviscidose, pas grand-chose à la génétique, je dois tirer une croix sur mon activité de soin et supposément endosser de nouvelles responsabilités. Avec la "*porte génétique*" dépoussiérée en 2013, c'est sans aucune hésitation que je signe pour ce nouveau *challenge* ! La semaine, je me plais alors à parcourir toutes ces grandes villes pour faire mes visites de *monitoring* dans quasiment tous les CRCM de France. Le soir et le week-end, je poursuis en parallèle mon parcours universitaire. Puis vient alors mon stage de master 1. Harriet, tu me permets d'ouvrir la "*porte génétique*" en me proposant de travailler sur les facteurs génétiques de la réponse respiratoire au traitement ivacaftor. Puis je franchirai cette porte quelques mois plus tard en intégrant le master 2 de Génétique épidémiologique.

### **Février 2018**

Mes travaux de recherche sur *Pseudomonas aeruginosa* lors de mon stage de master 2, ma rencontre avec Pierre-Yves pour le réaliser, le soutien inconditionnel d'Harriet et de l'équipe m'ont permis d'élaborer ce projet et de débiter ma thèse. Quelques mois plus tard, je baissais encore un peu plus mon seuil de "*il me manque quelque chose*" en faisant entrer mon nom, Mésinèle, dans la littérature scientifique.

### **Décembre 2021**

Je suis heureuse d'arriver au bout d'un long parcours ; semé de doutes, de *challenges*, de hauts et de bas et quelques peu épuisant. C'est un accomplissement personnel, mais je ne peux aujourd'hui affirmer que, mon dosimètre de "*il me manque quelque chose*" est à son seuil le plus bas. Néanmoins, je sais que j'ai fini par graver mon nom sur ma "*porte génétique*" et qu'il est maintenant temps que je construisse une maison autour, cette fois-ci en prenant le chemin de ma vie personnelle.



*"Le progrès n'est que l'accomplissement d'une utopie"*  
Oscar Wilde

*"Celui qui ouvre une porte d'école, ferme une prison"*  
Victor Hugo

*À toi papa,*

Je ne peux pas concevoir que, le seul créneau possible pour cette soutenance de thèse, ne soit que le fruit du hasard. Ce 15 décembre, jour qui m'est si difficile, jour de notre aurevoir en cet après-midi de 2014.

Je ne peux concevoir, qu'en 2017, l'attribution "exceptionnelle" par la Fondation Médicale de la Recherche de ma bourse de thèse en pneumologie ne soit que le fruit de mon travail. Toi, qui mystérieusement, as développé simultanément, non pas une, mais deux maladies rares auto-immunes ; provoquant ton HTAP, ta fibrose pulmonaire et te conduisant à nous quitter lors d'un ultime épisode de détresse respiratoire aigüe.

Coïncidence ou pas, il y a 15 ans j'écrivais mon premier mémoire d'élève infirmière portant sur "le rôle du toucher relationnel dans l'acceptation par les soignants de l'échec thérapeutique en service de réanimation". Quelques années plus tard, blottie contre toi dans ton lit de soins intensifs, j'essayais d'accepter, mais cette fois en tant que fille. Ces deux années à affronter avec toi l'échec des traitements conventionnels, l'échec des protocoles expérimentaux, les réclusions aux transplantations pulmonaire et de moëlle, puis le NTBR ("*Not To Be Resuscitated*") m'ont profondément meurtrie. Mais ces deux années douloureuses m'ont aussi amenée à cette promesse, celle de toujours œuvrer pour la recherche. Promesse qui a contribué à mon envie d'être demain chercheur et m'a portée pendant ces 3 ans de doctorat.

Papa, j'espère avoir tenu un peu ma promesse ...

*"Que toutes les étoiles soient alignées ce jour-là"*  
*Anaïs Mésinèle*

*"Il y a quelque chose de plus fort que la mort, c'est la présence des absents, dans la mémoire des vivants"*  
*Jean D'Ormesson*

*À toi mon ami Gildas,*

J'écris ces mots en ce 14 novembre 2021. Aujourd'hui, c'est déjà la troisième année que nous ne pourrons plus jamais nous souhaiter notre anniversaire. C'est douloureux, tu me manques terriblement. Je repense à nos années de rapprochements et d'éloignements, mais surtout de profonde amitié. Nos moments et nos soirées parisiennes nous ont faits explorer nos limites, nos pires côtés comme les meilleurs. Ces instants de vie passés ensemble m'ont fait grandir et ont largement contribué à me faire devenir celle que je suis aujourd'hui. Je ne serais pas là à rédiger mon manuscrit de thèse si un jour tu ne m'avais pas fait ce compliment, m'ayant permis de croire un peu en moi. Merci Gildas.

*“Un sot ne dit pas de choses intelligentes, mais un homme intelligent dit beaucoup de bêtises”*

*Garabet Ibrăileanu, « Aphorismes - En regardant la vie »*

*“Le grand problème dans le monde  
c'est que les personnes intelligentes sont pleines de doutes  
alors que les personnes stupides sont pleines de certitudes”*

*Charles Bukowski*

*“Il y a quelque chose de plus fort que la mort, c'est la présence des absents, dans la mémoire des vivants”*

*Jean D'Ormesson*

*Pour toi Soé,*

Tu ne sais pas encore lire mais j'aimerais laisser ces quelques mots ici, pour toi.

Peu importe où, et surtout comment il a débuté, toi seul décideras de la direction à donner au chemin de ta vie. Ce chemin sera semé d'embûches, mais je sais que tu as cette force en toi, pour parvenir au sommet de la pyramide, celui que Maslow a appelé l'accomplissement personnel de soi.

Ne mets jamais sur le bas-côté du chemin, ces rêves qui sont ancrés et cachés en toi. Ils te permettent d'aller plus loin que l'on ne peut supposer. À condition de les nourrir de passions, de travail, de dépassement de soi, de respect pour toi et les autres et d'amour.

Suis ton cœur, rien n'est jamais trop haut. Saches que tatie sera toujours là quelque part, pour tenir un filet de secours en cas de chute.

Tatie Julie qui t'aime jusqu'à ... la planète de l'espoir !

*“C'est encore croire en soi que de douter de soi”  
Jean Rostand*

*“L'espoir est une mémoire qui désire”  
De Honoré de Balzac*



# Remerciements

## **Merci à mes directeurs de thèse**

J'adresse mon premier et immense remerciement à Harriet. Au-delà de m'avoir accueillie dans ton laboratoire et d'avoir dirigé mes travaux de thèse, je te remercie de ton soutien et de toute la confiance que tu m'as accordée au fil de ces années. Le 18 octobre 2018, tu m'écrivais : *“Je suis vraiment très contente et fière (tu le sais) : je n'ai jamais douté de tes capacités, je craignais que le système ne te permette pas de t'épanouir comme tu le mérites et suis ravie d'avoir eu des craintes non fondées ! On va pouvoir s'éclater pdt ces 3 prochaines années !!!! à faire des stats bien sur :-)”*. Il y a des choses que l'on n'ose croire et il y a des mots qui restent. Ceux-ci m'ont profondément touchée et fait grandir. Merci.

Pierre-Yves, comme une tique, j'ai débarqué dans ton équipe puis m'y suis attachée solidement. Je n'aurais jamais pensé avoir l'occasion un jour de croiser, et encore moins de pouvoir travailler, avec un tel niveau d'excellence. Je te remercie d'avoir accepté de co-diriger mes stages de Master et cette thèse et t'adresse toute ma gratitude pour tout ce savoir que tu m'as apporté, avec tant de pédagogie et de patience.

Je vous remercie conjointement Harriet et Pierre-Yves pour cette forme de liberté que vous m'avez laissée et dont j'ai pu jouir professionnellement, mais aussi pour passer quelques étapes difficiles de ma vie personnelle.

## **Merci aux membres du jury**

Je suis très reconnaissante au Professeur Annick Clément d'avoir accepté de présider mon jury. J'associe à ces remerciements les Professeurs Isabelle Durieu et Pierre-Régis Burgel, pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit. Vos suggestions et commentaires m'ont éclairée et j'espère avoir rendu la lecture de ce manuscrit la plus agréable possible. Mes remerciements les plus sincères vont également au Docteur Virginie Scotet qui me fait l'honneur d'être examinatrice de cette thèse.

## **Merci à l'équipe 'Kourilsky'**

Je repense à mon premier jour dans l'équipe, à mes premiers pas dans un laboratoire de recherche, un univers qui m'était inconnu et mystérieux. Ma représentation tronquée de l'environnement académique et des chercheurs me laissait alors à penser que j'allais intégrer, pour quelques mois, un milieu austère, grave et froid. Mais, mon premier « apéro du jeudi » quelques jours après, a instantanément et intégralement balayé ces pensées ! Aujourd'hui, 6 ans après, j'essaie progressivement de me faire à l'idée que je vais devoir vous quitter, et c'est difficile (merci Harriet pour le sursis post-doctoral). C'est difficile parce que vous êtes une équipe extraordinaire. Nous avons traversé des moments compliqués, éprouvants et tristes, mais fort heureusement des moments sublimes et très joyeux aussi. Ce qui est extraordinaire avec vous, c'est qu'au-delà de vos inconditionnelles implications et disponibilités professionnelles, vous avez toujours été là pour me soutenir personnellement. Merci également de m'avoir abreuvée de connaissances au de-là de mon domaine, notamment en physiologie. Merci tout particulièrement à Loïc et Manon pour votre investissement dans ce projet de thèse. Merci à l'ensemble de l'équipe : Viviane, Olivier, Nathalie, Claire, Lhousseine ; ceux partis vers d'autres destins professionnels : Astrid et Léa dont les quelques mois de partage de bureau ont été splendides ; ceux qui gravitent autour : Hélène et Stephan ; et Michel, que je n'ai pu remercier à temps. Je suis ravie d'avoir parcouru et partagé ce chemin vers la thèse avec mes co-doctorantes Julia et Christie, et merci à Jeanne de tout ce que tu m'as apportée en soutien, rigolade et partage de moments amicaux en dehors du Labo.

## **Merci à l'équipe 'Caroli'**

J'adresse mon premier remerciement à Nathalie, sans qui ces 3 ans de thèse auraient été bien plus difficiles. Merci d'avoir toujours été là pour moi, de ton petit grain de folie joyeuse, de tes attentions et de tes mots chaleureux et réconfortants. Merci pour tout ce qui a été au-delà aussi, notamment, ce qui concerne les *“Playmobil”*. Merci à l'ensemble de l'équipe, tout particulièrement Gilles et mes co-doctorants : Tristan, Jean-Simon, Bertrand et Titouan.

## **Merci à ma famille**

Ce parcours professionnel implique des sacrifices, le plus difficile a été celui de ne pas être à vos côtés pendant de nombreuses années, malgré tout l'amour que je vous porte. Mais vous êtes toujours là près de moi à me soutenir.

Merci maman de tout ce que tu as fait pour moi, de ce qu'a pu impliquer d'avoir une fille de 38 ans encore étudiante ! Oui je me suis « embêtée à faire tout ça » mais c'est un chemin qui m'était nécessaire pour grandir. Je te rassure, j'arrive enfin (ou presque) au bout.

Merci Patrick, ma vie aurait bien été différente si tu n'avais pas rencontré ma maman, contribué à mon éducation, mon enfance et ma vie tout au long de ces 33 années. Sur le moment, je t'en ai voulu de m'avoir fâchée, mais je te remercie aujourd'hui d'avoir déjoué ma fourberie pour ne pas faire mes devoirs, en CE1 à Courbillac !

Merci à mes frères Alexis et Frédéric. Nous sommes tellement différents mais aussi tellement ressemblants ! Je ne pourrais rêver mieux comme fratrie. Vous êtes les solides et indestructibles piliers de ma vie, ma bulle d'oxygène, ma joie. Il me tarde d'être plus près de vous, pour partager encore plus de moments, sans avoir à subir le « c'est déjà la fin des vacances, c'était trop court ! » (et toutes ces heures de bus !).

Merci à Soé. Il n'y a rien de plus précieux que de voir ton sourire, te donner de l'amour, des bisous et des câlins et d'en recevoir tout autant en retour. C'est une des plus belles choses qui m'ait été permise, celle d'être la tatie d'un neveu d'amour.

Ce qui finalement me touche le plus dans cette thèse, c'est qu'elle se terminera avec vous 5, à mes côtés pour moi, lors de ma soutenance. On sera réunis à Paris, je pourrai enfin et pour la première fois, vous accueillir et vous choyer tous ensemble chez moi.

## **Merci à mes proches**

Sans vous je n'aurai pas eu la force morale nécessaire pour accomplir cette thèse. Merci de votre bienveillance, de votre présence, de vos mots et de votre amour.

Merci à Fanny et mon Clin's.

Merci à mes amis de longue date, Cyrielle, Loïc, Thao et Claude.

Merci à Malek pour ce lourd enseignement de vie, toi qui as aussi été mon 'prof particulier de maths'.

Merci à Camille pour ce petit interlude de vie, si doux et ressourçant pendant ma thèse.

Clothilde, notre cohabitation ces quelques mois a été un vrai coup de peps et riche d'enseignement en cette dernière ligne droite de thèse, merci !

Patrick, mes oreilles pleurent ces airs si envoutants de Flamenco à la guitare ; mon odorat ces succulentes effluves de crêpes, de caramel au beurre salé et de gâteaux à la banane ; et mon cœur de ne plus t'avoir comme coloc ! Je te remercie de ta présence et de ton soutien pendant ces 2 années. Au-delà de ces 4 petites cicatrices sur mon tendon d'Achille, la trace de ton passage dans ma vie restera ancrée en moi, avec admiration.

Enfin, je ne te remercierai jamais assez Jean-Guy, je n'ai malheureusement pas tes sublimes mots et phrasés afin de t'adresser tout ma gratitude pour tout ce que tu as fait, pour moi, pour ma famille.

J'espère maintenant pouvoir être une amie plus disponible, être là pour vous donner et vous remercier à la hauteur de tout ce que vous avez pu faire pour moi.

Je termine ces remerciements en adressant toute ma gratitude à l'égard de la Fondation pour la recherche médicale, Vaincre la Mucoviscidose et Blanche pour la mucoviscidose. Ce projet de thèse ne serait jamais né sans votre support financier.

# Table des matières

<b>Avant texte</b> .....	<b>1</b>
<b>I. Liste des figures</b> .....	<b>3</b>
<b>II. Liste des tableaux</b> .....	<b>5</b>
<b>III. Liste des abréviations</b> .....	<b>7</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>13</b>
<b>I. La mucoviscidose : généralités</b> .....	<b>13</b>
1. Historique _____	13
2. Gène et protéine CFTR _____	16
3. Épidémiologie _____	24
<b>II. Manifestations cliniques de la mucoviscidose</b> .....	<b>28</b>
1. Manifestations extra-pulmonaires _____	28
2. Manifestations pulmonaires _____	32
<b>III. Prise en charge de la mucoviscidose</b> .....	<b>46</b>
1. Dépistage, diagnostic et suivi des patients _____	46
2. Stratégies thérapeutiques _____	52
3. Traitement lumacaftor/ ivacaftor _____	60
<b>IV. Infection à <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> .....	<b>62</b>
1. Généralités _____	62
2. Physiopathologie _____	63
3. Définitions cliniques de l'infection _____	64
4. Traitements _____	64
5. Épidémiologie _____	65
<b>V. Variabilité interindividuelle de la mucoviscidose</b> .....	<b>66</b>
1. Corrélation phénotype-génotype liée au gène <i>CFTR</i> _____	67
2. Facteurs sociodémographiques et environnementaux _____	68
3. Gènes modificateurs _____	69

<b>Objectifs .....</b>	<b>75</b>
<b>I. Objectifs .....</b>	<b>76</b>
<b>II. Sources des données.....</b>	<b>76</b>
1. Données phénotypiques .....	76
2. Données génétiques .....	77
3. Autres sources de données et interfaçage .....	78
<b>Partie 1 : Infection à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....</b>	<b>79</b>
<b>I. État de l'art .....</b>	<b>79</b>
<b>II. Matériel.....</b>	<b>83</b>
1. Critères d'inclusion .....	83
2. Critères de jugement .....	83
3. Facteurs de risque .....	83
<b>III. Méthodes .....</b>	<b>84</b>
1. Analyses des facteurs de risque .....	84
2. Analyse de l'impact de l'infection sur la fonction respiratoire .....	85
3. Biais .....	85
<b>IV. Résultats.....</b>	<b>86</b>
1. Description épidémiologique de l'infection par <i>P. aeruginosa</i> .....	86
2. Impact de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> sur le déclin de la fonction respiratoire .....	86
3. Article .....	87
<b>V. Résultats complémentaires.....</b>	<b>95</b>
1. Facteur de risque nutritionnel .....	95
2. Étude des co-infections bactériennes et fongiques respiratoires .....	96
3. Facteurs de risque géographiques .....	97
4. Facteurs de risque climatiques et saisonnalité .....	99
5. Analyse de génome entier .....	101
6. Corrélation entre le déclin de la fonction respiratoire et l'infection à <i>P. aeruginosa</i> .....	105

<b>Partie 2 : Traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor .....</b>	<b>107</b>
<b>I. État de l'art .....</b>	<b>107</b>
<b>II. Matériel et méthodes .....</b>	<b>109</b>
1. Patients .....	109
2. Réponse respiratoire au traitement .....	109
3. Réponse nutritionnelle au traitement .....	110
4. Facteurs de variabilité .....	110
5. Analyses statistiques .....	112
<b>III. Résultats .....</b>	<b>113</b>
1. Population de l'étude .....	113
2. Réponses au traitement .....	113
3. Analyse génétique .....	117
<b>IV. Limites .....</b>	<b>118</b>
<b>V. Discussion .....</b>	<b>118</b>
<b>VI. Communication.....</b>	<b>120</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>121</b>
<b>I. Infection à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....</b>	<b>122</b>
<b>II. Traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor.....</b>	<b>126</b>
<b>III. Perspectives.....</b>	<b>128</b>
1. Application clinique.....	128
2. Application thérapeutique .....	129
3. Le futur de la mucoviscidose .....	129
<b>Annexes .....</b>	<b>131</b>
<b>I. Annexe I : Architecture et détail des données utilisées au cours du travail de thèse .....</b>	<b>132</b>
<b>II. Annexe II : Revue de littérature sur les facteurs de risque de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> .</b>	<b>136</b>
<b>III. Annexe III : Revue de littérature sur les facteurs génétiques de l'infection à <i>P. aeruginosa</i></b>	<b>138</b>
<b>IV. Annexe IV : Revue de littérature sur le déclin de la fonction respiratoire.....</b>	<b>140</b>
<b>V. Annexe V : Description des gènes analysés dans le cadre de la thèse.....</b>	<b>143</b>

VI. Annexe VI : Données complémentaires de l'article .....	146
VII. Annexe VII : Âges de survenue des co-infections bactériennes et fongiques .....	160
VIII. Annexe VIII : Incidences cumulées des co-infections bactériennes et fongiques .....	161
IX. Annexe IX : Méthodologie et modélisation du modèle de régression mixte joint.....	162
X. Annexe X : Article en cours de soumission.....	164
<b><i>Bibliographie</i></b> .....	<b>191</b>
<b><i>Communications scientifiques</i></b> .....	<b>217</b>
I. Liste des communications .....	217
1. Orales .....	217
2. Affichées .....	217
II. Liste des publications .....	217
III. Prix .....	218
<b><i>Parcours professionnel et formations</i></b> .....	<b>219</b>
I. Formations .....	219
1. Diplômes .....	219
2. Formations dans le cadre du parcours doctoral .....	219
II. Expériences professionnelles .....	220
<b><i>Diffusion des travaux de thèse</i></b> .....	<b>223</b>
I. Résumé de la thèse pour diffusion .....	223
II. Thesis abstract for diffusion .....	224
<b><i>Abstract</i></b> .....	<b>225</b>
<b><i>Résumé</i></b> .....	<b>226</b>

# **Avant texte**



# I. Liste des figures

## *Introduction*

<b>Figure 1</b>   Du chromosome 7 à l'ARN messager <i>CFTR</i> .....	16
<b>Figure 2</b>   Structure de la protéine CFTR.....	17
<b>Figure 3</b>   Fonction de la protéine CFTR.....	19
<b>Figure 4</b>   Expression globale de la protéine CFTR chez l'homme. ....	19
<b>Figure 5</b>   Immunomarquage de la protéine CFTR.....	20
<b>Figure 6</b>   Localisation des principales mutations le long du gène <i>CFTR</i> .....	21
<b>Figure 7</b>   Classification des mutations du gène <i>CFTR</i> selon leurs conséquences sur la fonction et l'expression de la protéine CFTR.....	22
<b>Figure 8</b>   Diagramme de Venn des combinaisons de classes de mutations du gène <i>CFTR</i> .....	23
<b>Figure 9</b>   Prévalence de la mucoviscidose pour 100 000 habitants dans le monde. ....	24
<b>Figure 10</b>   Incidence de la mucoviscidose.....	25
<b>Figure 11</b>   Évolution du nombre de patients atteints de mucoviscidose et du pourcentage d'adulte. ....	26
<b>Figure 12</b>   Prévalence de la mucoviscidose en France par département. ....	26
<b>Figure 13</b>   Taux brut de mortalité et nombre de décès de patients atteints de mucoviscidose. ....	27
<b>Figure 14</b>   Principales manifestations digestives de la mucoviscidose.....	28
<b>Figure 15</b>   Schéma de l'appareil respiratoire.....	32
<b>Figure 16</b>   Représentation des populations cellulaires de l'épithélium des voies aériennes inférieures.....	33
<b>Figure 17</b>   Impact du dysfonctionnement de la protéine CFTR sur la physiologie pulmonaire.....	37
<b>Figure 18</b>   Schéma comparant l'épithélium pulmonaire sain (non-CF) à celui des patients atteints de mucoviscidose (CF). ....	39
<b>Figure 19</b>   Prévalence des bactéries cliniquement importantes en fonction de l'âge des patients atteints de mucoviscidose.....	41
<b>Figure 20</b>   Évolution de la fonction respiratoire chez les patients atteints de mucoviscidose en France.....	43
<b>Figure 21</b>   Mesure de la sévérité de l'atteinte respiratoire : calcul du SaKnorm spécifique à la mucoviscidose.....	44
<b>Figure 22</b>   Mode de transmission autosomique récessif de la mucoviscidose.....	46
<b>Figure 23</b>   Dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France.....	47

<b>Figure 24</b>   Filière Muco-CFTR : acteurs et partenaires.....	50
<b>Figure 25</b>   Évolution de l'âge médian de survie des patients atteints de mucoviscidose depuis 1938.....	52
<b>Figure 26</b>   Prise en charge thérapeutique de l'atteinte pulmonaire chez les patients mucoviscidosiques. ....	54
<b>Figure 27</b>   Facteurs de la variabilité interindividuelle des phénotypes de la mucoviscidose .....	67

## Résultats

<b>Figure 28</b>   Incidences cumulées de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> en fonction du gradient Est/Ouest. ....	99
<b>Figure 29</b>   Nombre d'enfants primo-infectés à <i>P. aeruginosa</i> en fonction des saisons. ....	100
<b>Figure 30</b>   Manhattan plot des résultats de GWAS évaluant par regression de Cox, l'association entre variants génétique et la survenue de la primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> , chez 593 enfants atteints de mucoviscidose.....	103
<b>Figure 31</b>   Zoom sur les locus suggestifs de l'analyse GWAS évaluant la survenue de la primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> par regression de Cox chez 593 enfants atteints de mucoviscidose. ....	104
<b>Figure 32</b>   QQ plot des résultats de GWAS évaluant par regression de Cox l'association entre variants génétique et survenue de la primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> chez 593 enfants atteints de mucoviscidose.....	105
<b>Figure 33</b>   Diagramme de flux de sélection des patients de l'analyse de la variabilité de la réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor. ....	109
<b>Figure 34</b>   Gains absolus moyens après l'initiation du traitement lumacaftor-ivacaftor, selon les terciles <i>baseline</i> , chez 765 patients atteints de mucoviscidose : A) de la fonction respiratoire (SaKnorm Z-value) ; B) de l'état nutritionnel (BMI Z-score). ....	115
<b>Figure 35</b>   Réponse nutritionnelle au cours des deux premières années suivant l'initiation du traitement lumacaftor-ivacaftor en fonction du sexe, chez 765 patients atteints de mucoviscidose : A) Moyenne des gains absolus de BMI Z-score ; B) Moyenne absolue des BMI Z-score.....	116

## Annexes

<b>Figure 36</b>   Incidence cumulée de la primo-infection (bleu) et de la colonisation chronique (orange) selon l'âge, chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose, avec IC 95 %. (A) APBA, (B) <i>Aspergillus Fumigatus</i> , (C) <i>Haemophilus influenzae</i> , (D) <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , (E) <i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la pénicilline, (F) <i>Staphylococcus aureus</i> pénicilline résistant, (G) <i>Alcaligenes xylosoxidans</i> . ....	161
--	-----

## II. Liste des tableaux

### Introduction

<b>Tableau 1</b>   Tableau récapitulatif des principaux gènes modificateurs de l'atteinte pulmonaire chez les patients atteints de mucoviscidose.....	72
---	----

### Résultats

<b>Tableau 2</b>   Analyse du statut nutritionnel comme facteur de risque de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> .....	95
<b>Tableau 3</b>   Analyse des co-infections bactériennes et fongiques respiratoires comme facteur de risque de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> .....	97
<b>Tableau 4</b>   Analyse des facteurs de risque géographiques de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> .....	98
<b>Tableau 5</b>   Analyse des facteurs de risque climatiques et saisonniers de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> .....	101
<b>Tableau 6</b>   Résultats de l'analyse de l'impact de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> sur le déclin de la fonction respiratoire selon un modèle de régression mixte joint, chez 980 enfants atteints de mucoviscidose. ....	106
<b>Tableau 7</b>   Caractéristiques démographiques et cliniques des 878 patients atteints de mucoviscidose et éligibles à l'analyse de la réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor. ....	113
<b>Tableau 8</b>   Réponse respiratoire et nutritionnelle au cours des deux premières années de traitement par lumacaftor-ivacaftor, chez 765 patients atteints de mucoviscidose. ....	114
<b>Tableau 9</b>   Réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor, selon les facteurs de variabilité cliniques et démographiques, chez 765 patients atteints de mucoviscidose. ....	115
<b>Tableau 10</b>   Gains absolus moyens de fonction respiratoire et d'état nutritionnel au cours du premier semestre suivant l'initiation du traitement lumacaftor-ivacaftor chez l'ensemble des patients inclus et selon les terciles <i>baseline</i> , le sexe et les variants génétiques <i>SLC26A9</i> rs7512462 et <i>SLC6A14</i> rs12839137, chez les 765 patients atteints de mucoviscidose inclus.....	116
<b>Tableau 11</b>   Réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor, selon les facteurs génétiques, chez les 765 patients atteints de mucoviscidose inclus.....	117

### Annexes

<b>Tableau 12</b>   Revue de littérature portant sur l'analyse des facteurs de risque cliniques et démographiques de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> dans de larges cohortes de patients mucoviscidosiques. ....	136
<b>Tableau 13</b>   Revue de littérature portant sur l'analyse des facteurs de risque génétiques de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> chez les patients mucoviscidosiques. ....	138
<b>Tableau 14</b>   Revue de littérature portant sur l'analyse du déclin de la fonction respiratoire chez les patients mucoviscidosiques. ....	140
<b>Tableau 15</b>   Description des gènes <i>CAV2</i> , <i>DCTN4</i> , <i>MBL2</i> , <i>SLC26A9</i> , <i>SLC6A14</i> , <i>SLC9A3</i> , <i>TMC6</i> et <i>TNF</i> : concepts et hypothèses de leur implication dans la mucoviscidose.....	143
<b>Tableau 16</b>   Estimation des âges de survenue de primo-infection et de colonisation chronique des co-infections bactériennes, fongiques et de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique, chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose. Estimation par la méthode de Kaplan-Meier adaptée aux données censures par intervalle.....	160



### III. Liste des abréviations

<b>A</b>	<b>A</b>	Adénine
	ABC	<i>ATP-Binding Cassette</i>
	ABCB4	<i>ATP-Binding Cassette sub-family B member 4</i>
	ABCC7	<i>ATP-Binding Cassette sub-family C member 7</i>
	ABPA	Aspergillose broncho-pulmonaire allergique
	ACE	<i>Angiotensin-converting enzyme</i>
	ADN	Acide désoxyribonucléique
	ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
	ADRB2	<i>Adrenoceptor Beta 2</i>
	AGTR2	<i>Angiotensin II receptor</i>
	AIC	<i>Akaike information criterion</i>
	AMM	Autorisation de mise sur le marché
	AMPC	<i>Adenosine MonoPhosphate cyclique</i>
	ANO1	Anoctamine 1
	APIP	Methylthioribulose-1-phosphate déshydratase
	ARN	Acide ribonucléique
	ARNm	Acide ribonucléique messager
	ASMR	Amélioration du service médical rendu
	ATP	Adénosine-5'-triphosphate
	ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
<b>B</b>	<b>BMI</b>	<i>Body mass index</i>
<b>C</b>	<b>C</b>	Cytosine
	C3	<i>Complement factor 3</i>
	Ca <sup>2+</sup>	Ion calcium
	CaCC	<i>Calcium -activated Chloride Channel</i>
	CAV2	<i>Caveolin 2</i>
	CD4	<i>Cluster of differentiation 4</i>
	CDKAL1	<i>Cyclin-dependent kinase 5 regulatory subunit-associated protein 1-like</i>
	CDKN2A/B	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A</i>
	CF	<i>Cystic Fibrosis</i>
	CFBD	<i>Cystic fibrosis related bone disease</i>

CFLD	<i>Cystic fibrosis liver disease</i>
CFRD	<i>Cystic fibrosis-related diabetes</i>
CFTR	<i>Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator</i>
CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	Méthanoate
Cl <sup>-</sup>	Ion chlorure
Corr	Coefficient de corrélation
CRCM	Centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose
CRMR	Centre unique de référence maladie rare
CV	Coefficient de variation
CXCL8	<i>C-X-C Motif Chemokine Ligand 8</i>
CYP	Cytochromes P450
CYP1	<i>Cytochrome P450 Family 1</i>
CYP1A	<i>Cytochrome P450 Family 1 Subfamily A</i>
CYP1A2	<i>Cytochrome P450 Family 1 Subfamily A Member 2</i>
CYP2	<i>Cytochrome P450 Family 2</i>
CYP2A	<i>Cytochrome P450 Family 2 Subfamily A</i>
CYP2C9	<i>Cytochrome P450 Family 2 Subfamily C Member 9</i>
CYP2D6	<i>Cytochrome P450 Family 2 Subfamily D Member 6</i>
CYP3	<i>Cytochrome P450 Family 3</i>
CYP3A	<i>Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A</i>
CYP3A4	<i>Cytochrome P450 Family 3 Subfamily A Member 4</i>
<b>D</b>	
DCTN4	<i>Dynactin Subunit 4</i>
DDN	Date des dernières nouvelles
DDP	Différence de potentiel transépithélial
DZ	Dizygote
<b>E</b>	
ECA&D	<i>European climate assesment and datasets</i>
ECBC	Examen cyto bactériologique des crachats
ECFS	<i>European cystic fibrosis society</i>
EDNRA	<i>Endothelin Receptor Type A</i>
EFR	Exploration fonctionnelle respiratoire
EHF	<i>E26 transformation-specific Homologous Factor</i>
ENaC	<i>Epithelial Na<sup>+</sup> Channel</i>

<b>F</b>	FEV <sub>0,5</sub>	Volume expiratoire maximal par 0,5 seconde
	FEV <sub>0,75</sub>	Volume expiratoire maximal par 0,75 seconde
	FLRT2	<i>Fibronectin-Like Domain-Containing Leucine-Rich Transmembrane Protein 2</i>
	FPN1	<i>Ferroportin 1</i>
<b>G</b>	G	Guanine
	GEE	<i>Generalized estimating equation</i>
	GLI	<i>Global Lung Initiative</i>
	GSH	Glutathion réduit
	GSTM13	<i>Glutathione S-transferase mu 13</i>
	GSTM3	<i>Glutathione S-transferase mu 13</i>
	GSTP1	<i>Glutathione S-transferase pi 1</i>
	GWAS	<i>Genome Wide association study</i>
<b>H</b>	HAS	Haute autorité de santé
	HCCO <sup>-</sup>	Méthanoate
	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonate
	HFE	<i>Hemochromatosis</i>
	HGPO	Hyperglycémie provoquée par voie orale
	HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
	HMOX1	<i>Heme oxygenase-1</i>
	HMZ	Homozygote
	HR	Hazard-ratio
	HTZ	Hétérozygote
	HWE	<i>Hardy-Weinberg equilibrium</i>
<b>I</b>	I <sup>-</sup>	Ion iodure
	IC	Intervalle de confiance
	IFRD1	<i>Interferon Related Developmental Regulator 1</i>
	IgE	Immunoglobuline E
	IGF2BP2	<i>Insulin Like Growth Factor 2 mRNA Binding Protein 2</i>
	IL-10	Interleukine 10
	IL-1B	Interleukine 1 beta
	IL-8	Interleukine 8
	IMC	Indice de masse corporelle

	IV	Intra-veineuse
<b>L</b>	LCT	<i>Lactase</i>
	LUMA-IVA	Lumacaftor-ivacaftor
	LSA	Liquide de surface des voies aériennes respiratoires
<b>M</b>	MAF	<i>Minor allele frequency</i>
	MARPA	<i>Multiple antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa</i>
	MBL2	<i>Mannose Binding Lectin 2</i>
	MIF	<i>Macrophage Migration Inhibitory Factor</i>
	MSD	<i>Membrane-Spanning Domain</i>
	MSD1	<i>Membrane-Spanning Domain 1</i>
	MSD2	<i>Membrane-Spanning Domain 2</i>
	MUC20	<i>Mucin 20, Cell Surface Associated</i>
	MUC4	<i>Mucin 4, Cell Surface Associated</i>
	MUC5A	<i>Mucin 5A, Oligomeric Mucus/Gel-Forming</i>
	MUC5B	<i>Mucin 5B, Oligomeric Mucus/Gel-Forming</i>
	MZ	Monozygote
<b>N</b>	Na <sup>+</sup>	Ion sodium
	NBD	<i>Nucleotide Binding Domain</i>
	NBD1	<i>Nucleotide Binding Domain 1</i>
	NBD2	<i>Nucleotide Binding Domain 2</i>
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	<i>Nitrate</i>
	NOS1	<i>Nitric Oxide Synthase 1</i>
	NR3C1	<i>Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 1</i>
<b>O</b>	OMS	Organisation mondiale de la santé
	OR	Odds ratio
	ORCC	<i>Outwardly Rectifying Chloride Channel</i>
	ORL	Oto-rhino-laryngologie
<b>P</b>	<i>Pa-CC</i>	Colonisation chronique à <i>P. aeruginosa</i>
	<i>Pa-IA</i>	Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i>
	PAMPs	<i>Pathogen associated molecular patterns</i>

	PI	<i>Pancreatic insufficient</i>
	PNDS	Protocole national de diagnostic et de soins
	PRS	<i>Polygenic risk score</i>
	PS	<i>Pancreatic sufficient</i>
	PTMA	<i>Prothymosin Alpha</i>
<b>Q</b>	QQ	Quantile-Quantile
<b>R</b>	ROMK	<i>Renal Outer Medullary Potassium</i>
<b>S</b>	SaKnorm Z-value	<i>Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype</i>
	SAMR	<i>Staphylocoque aureus méticilline résistant</i>
	SAMS	<i>Staphylocoque aureus sensible à la méticilline</i>
	SCN <sup>-</sup>	Ion thiocyanate
	SD	<i>Standard deviation</i>
	SDM	<i>Standard deviation of mean</i>
	SERPINA1	<i>Alpha 1-antitrypsin</i>
	SLC	<i>Solute carriers</i>
	SLC26A3	<i>Solute carrier family 26 member 3</i>
	SLC26A6	<i>Solute carrier family 26 member 6</i>
	SLC26A9	<i>Solute carrier family 26 member 9</i>
	SLC6A14	<i>Solute carrier family 6 member 14</i>
	SLC9A3	<i>Solute carrier family 9 member 3</i>
	SMR	Service médical rendu
	SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
	SOID	Syndrome d'obstruction intestinale distale
<b>T</b>	T	Thymine
	TCF7L2	<i>Transcription Factor 7 Like 2</i>
	TDM	<i>TransMembrane Domain</i>
	TFR2	<i>Transferrin receptor 2</i>
	TGFβ1	<i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
	TIR	Trypsine immuno-réactive
	TMC6	<i>Transmembrane Channel Like 6</i>
	TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>

	TSA	Test de sensibilité aux antibiotiques
<b>V</b>	VEMS	Volume expiratoire maximal par seconde
	VEMSpp	Volume expiratoire maximal par seconde exprimé en pourcentage prédit
	VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
	VRS	Virus respiratoire syncytial
	VWA5B1	<i>Von Willebrand Factor A Domain Containing 5B1</i>
<b>W</b>	WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
	WGEE	<i>Weighted generalized estimating equation</i>
	WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i>
<b>Z</b>	ZNF217	<i>Zinc Finger Protein 217</i>

# Introduction

## I. La mucoviscidose : généralités

### 1. Historique

#### a. De la description clinique au gène *CFTR*

La mucoviscidose, ou fibrose kystique (*Cystic Fibrosis* en anglais : CF) est une maladie génétique rare létale, à transmission autosomique récessive : seuls les individus ayant hérité de deux mutations, l'une du père, l'autre de la mère, sont atteints de la maladie.

Les recherches historiques laissent à penser que certains symptômes caractéristiques de la maladie ont pu être reconnus et associés à sa mortalité dans les sociétés primitives de l'Europe de l'Est avant même le Moyen Âge.

Les premières références apparaissent à l'époque médiévale et proviennent du folklore populaire d'Europe du Nord qui prédisait le destin des nourrissons atteints de mucoviscidose : «Malheur à l'enfant chez qui un baiser sur le front a un goût salé, il est maudit et doit bientôt mourir» (Busch 1990).

La première description médicale de la mucoviscidose est attribuée à Pieter Pauw (1564-1617), professeur de botanique et d'anatomie néerlandais. Dans un rapport d'autopsie de 1595, il relate l'histoire d'un enfant de 11 ans, aux symptômes étranges depuis 8 ans et supposée ensorcelée. Il décrit une petite fille très maigre, épuisée par une fièvre persistante et fluctuante. Il impute son décès à une anomalie du pancréas, qu'il présente comme singulièrement hypertrophié et ressemblant à une masse visqueuse et blanche.

Au début du XX<sup>ème</sup>, plusieurs cas cliniques contribuent progressivement à la description de la maladie. En 1905, le pathologiste autrichien Karl Landsteiner (1868-1943) fait la première description de l'iléus méconial avec l'observation d'une obstruction intestinale par du méconium épaissi, qu'il attribue au manque de sécrétions pancréatiques associé à des modifications histologiques du pancréas (Landsteiner 1905). En 1912, le médecin britannique Archibald Edward Garrod (1857-1936) associe stéatorrhée et atteinte pulmonaire par la publication des cas d'enfants de même famille mourant d'infection pulmonaire et présentant une diarrhée graisseuse (Garrod et Hurlley 1913). En 1936, le professeur en pédiatrie allemand

Guido Fanconi (1892-1979) décrit une «fibrose kystique du pancréas et broncheectasie» en mettant en lien le syndrome cœliaque, les anomalies pancréatiques et pulmonaires (Fanconi *et al.* 1936).

En 1938, la pédiatre américaine Dorothy Hansine Andersen (1901-1963) est la première à caractériser la mucoviscidose comme entité pathologique à part entière (Andersen 1938). Elle corrèle et décrit précisément les complications digestives et respiratoires, l'obstruction intestinale néonatale et l'histologie caractéristique du pancréas qu'elle attribue à tort à un déficit en vitamine A. En 1943, le médecin et pathologiste américano-polonais Sydney Farber (1903-1973) fait de la «fibrose kystique» une maladie généralisée due à la dilation des structures glandulaires et à l'obstruction des voies respiratoires par un mucus épais (Farber 1943). On lui attribue l'introduction du terme *mucoviscidosis* dérivé des termes «mucus» et «visqueux».

En 1946, à partir de l'étude de 47 familles, l'étiologie génétique est évoquée pour la première fois, le caractère héréditaire selon un modèle mendélien à transmission autosomique récessif est alors suggéré (Andersen et Hodges 1946).

Le docteur Paul Di Sant'Agnese (1914-2005) met en évidence en 1953 les anomalies électrolytiques des patients atteints de mucoviscidose, caractérisée par une élévation importante des ions chlorure (Cl<sup>-</sup>) et sodium (Na<sup>+</sup>) dans la sueur des patients (Di Sant'Agnese *et al.* 1953). Cette découverte a conduit au premier outil diagnostique spécifique de la mucoviscidose : le test de la sueur.

En 1981, le lien physiologique entre les différents organes atteints (poumons, pancréas et glandes sudoripares) est expliqué par des anomalies électrolytiques. Knowles et ses collaborateurs montrent que le potentiel électrique de la muqueuse nasale des patients atteints de mucoviscidose est plus électronégatif, due à une réabsorption massive de sodium et conduisant à une déshydratation du liquide de surface de l'épithélium de voies aériennes (Knowles *et al.* 1981).

En 1985, le généticien canadien Lap-Chi Tsui localise sur le bras long du chromosome 7 le gène impliqué dans la mucoviscidose (Tsui *et al.* 1985). En 1989, les équipes de Lap-Chi Tsui, John Richard Riordan et Francis Collins publient une série de trois articles dans la revue *Science* portant sur l'identification du gène de la mucoviscidose. Ces études permettent d'isoler et séquencer le gène, alors nommé *CFTR* pour *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator* (Riordan *et al.* 1989; Rommens *et al.* 1989) ; mais également, d'identifier une délétion de trois paires de bases nucléotidiques : la mutation F508del, la plus fréquemment

retrouvée chez les patients (B. Kerem *et al.* 1989). En 1991, la protéine transmembranaire CFTR (produit du gène *CFTR*) est associée à la fonction de canal chlorure, permettant d'ouvrir le spectre de la recherche sur la mucoviscidose et d'envisager des thérapeutiques (Anderson *et al.* 1991).

## **b. Une origine mystérieuse**

Le caractère génétique de la mucoviscidose fait que son histoire pourrait être aussi vieille que l'humanité. La datation de la mutation F508del et son origine géographique restent non consensuelles. Morral *et al.* ont estimé une origine datant de 11000 à 52000 ans, hypothèse remise en question par Kaplan *et al.* en désaccord avec la méthodologie de cette estimation (N. L. Kaplan *et al.* 1994; Morral *et al.* 1994). L'hypothèse la plus communément reconnue serait une apparition il y a ~ 5000 ans en Europe du Sud, et ~ 3000 à 4000 ans Europe de l'Ouest et centrale. Elle serait apparue au Proche et Moyen-Orient (Turquie-Iran) puis aurait migrée via des flux terrestres et maritimes des agriculteurs du croissant fertile (Fichou *et al.* 2008; Serre *et al.* 1990). Récemment, les recherches de Farrell *et al.* ont supportées l'apparition de la mutation en Europe à l'âge de Bronze ; néanmoins, ils présument que la dissémination au travers l'Europe s'est produite du nord-ouest au sud-est, via les migrations à grande échelle du peuple issu de la culture campaniforme, lors de l'avènement de la métallurgie (P. Farrell *et al.* 2018).

La persistance de la mutation F508del et la fréquence élevée des porteurs sains d'une seule mutation de *CFTR*, estimée entre 2,5 % et 3,6 % dans les populations à descendance européenne, suggèrent que le gène *CFTR* est sous sélection balancée (Scotet, L'Hostis, *et al.* 2020). La sélection balancée contribue au maintien d'un polymorphisme dans le patrimoine génétique car elle permet de fortes possibilités d'adaptation à l'espèce lorsque les conditions environnementales changent, en donnant un avantage phénotypique aux hétérozygotes.

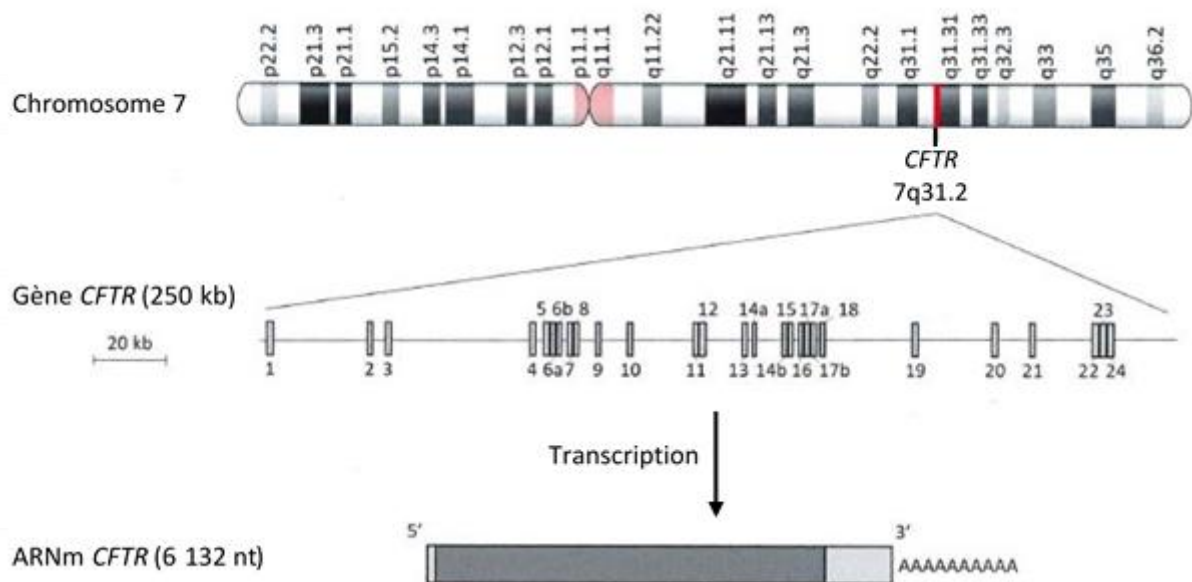
Plusieurs hypothèses ont été émises quant à la survenue du polymorphisme de *CFTR*, qui pourrait être une réponse à des pressions environnementales telle que des changements climatiques (avantage respiratoire face à un climat plus froid et plus chargé de poussières apparu lors de la dernière période glaciaire) (Borzan *et al.* 2014). Modiano *et al.* ont supposé une adaptation à la persistance à l'âge adulte de la lactase, protéine permettant d'hydrolyser le lactose et codée par le gène *LCT* (pour *lactase*), dont la fréquence de l'allèle dominant est plus élevée chez patients atteints de mucoviscidose (Modiano *et al.* 2007). Il a été également suggéré que cette sélection balancée serait une réponse à un agent de pression infectieux tels que la tuberculose (réponse respiratoire à l'infection pulmonaire) (Meindl 1987; Poolman et Galvani

2007; Tobacman 2003) ou la fièvre typhoïde (Pier *et al.* 1998; Poolman et Galvani 2007) et le choléra (réponse intestinale aux diarrhées) (Cuthbert *et al.* 1995; Hogenauer *et al.* 2000; Poolman et Galvani 2007). L'origine des mutations reste à ce jour indéterminée, néanmoins l'hypothèse la plus probable est la protection de l'espèce face à un phénotype gastro-intestinal délétère.

## 2. Gène et protéine CFTR

### a. Gène *CFTR*

Le gène *CFTR* est localisé dans la région q31.2 du bras long du chromosome 7. Il est composé d'environ 250 000 paires de bases et possède 27 exons. Ce gène est à l'origine de la formation d'un ARNm (acide ribonucléique messenger) de 6 132 nucléotides (Figure 1) (Kerem *et al.* 1989, Ellsworth *et al.* 2000).



**Figure 1** | Du chromosome 7 à l'ARN messenger *CFTR*.

De haut en bas : localisation du gène *CFTR* (rouge) sur le chromosome 7 humain, représentation des exons du gène *CFTR* (rectangles gris) et ARN messenger *CFTR* (Adapté de Zielenski *et al.* 1991)

### b. Protéine *CFTR*

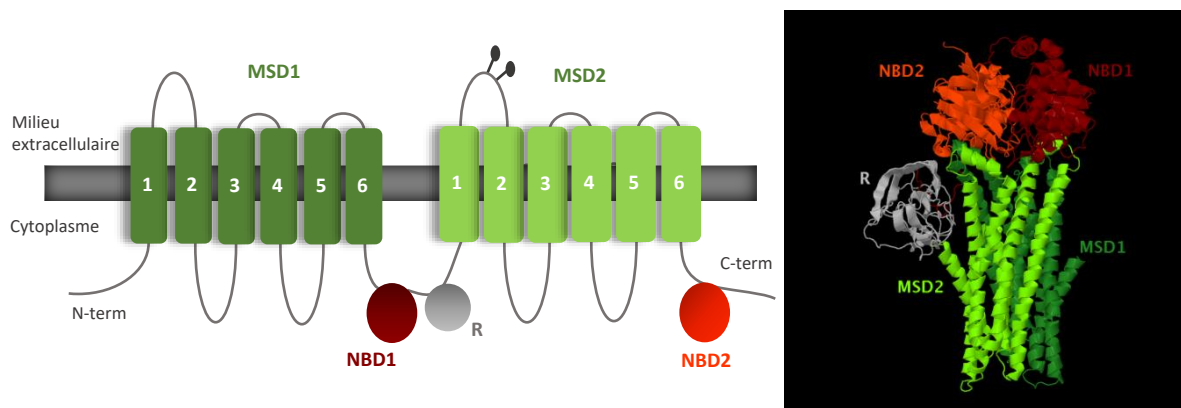
Le gène *CFTR* code pour protéine du même nom, d'un poids moléculaire de 168 kDa (kiloDaltons) et est constituée de 1 480 acides aminés. La protéine *CFTR* appartient à la famille des transporteurs ABC (*ATP-Binding Cassette*) et en est le 7<sup>ème</sup> membre de la sous famille C, donc également désignée *ABCC7* (*ATP-Binding Cassette sub-family C member 7*).

Les transporteurs de la famille ABC forment une large famille de protéines membranaires représentée dans les différents règnes du vivant. Ces protéines se lient et hydrolysent l'ATP (adénosine-5'-triphosphate) pour effectuer le transport, au travers de la membrane cytoplasmique, d'un substrat (ion, acide aminé, peptide, protéines, lipides, toxines...) contre son gradient de concentration. Ainsi, ces transporteurs permettent de réguler la balance électrolytique et hydrique des membranes plasmiques et intracellulaires.

### i. Structure

La protéine transmembranaire CFTR est constituée de quatre domaines caractéristiques de la structure des transporteurs ABC : deux domaines transmembranaires (MSD1 et MSD2 – *Membrane-Spanning Domain* ou également appelé TMD - *TransMembrane Domain*) ; deux domaines intracellulaires NBD (*Nucleotide Binding Domain*), capables de se lier à l'ATP, et nommés NBD1 et NBD2 (Figure 2).

Elle comporte également un domaine cytoplasmique de régulation (R). Il est spécifique de CFTR et relie les deux séquences répétées TMD-NBD. Ce domaine contient de nombreux résidus chargés et est le lieu de phosphorylations permettant l'ouverture et la fermeture du canal (Figure 2).



**Figure 2** | Structure de la protéine CFTR.

**A)** Schéma de l'organisation transmembranaire des différents domaines de la protéine CFTR (Adapté de Kim et Skach 2012). **B)** Organisation structurale de la protéine CFTR (librairiedemolecules.education.fr)

### ii. Fonctions

#### *Canal à ions chlorures*

La fonction de canal chlorure de la protéine CFTR a été supposée dès la caractérisation du gène (Riordan *et al.* 1989) puis confirmée par Anderson et ses collègues (Anderson *et al.* 1991). Ils

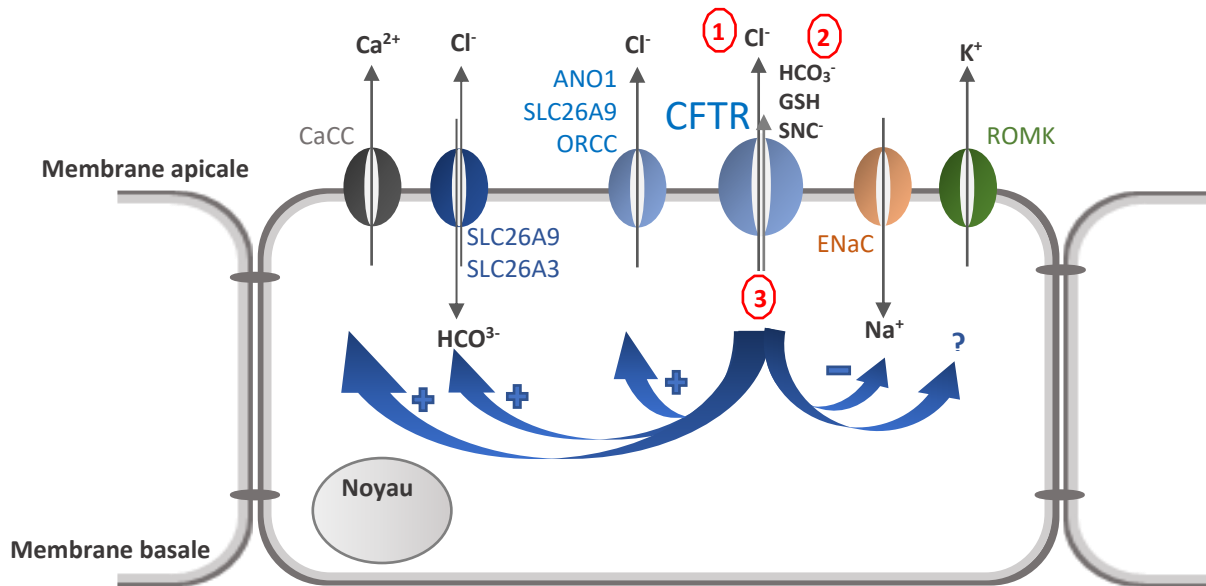
montrent que le canal CFTR est sensible à l'AMPc (*Adenosine MonoPhosphate cyclique*) et qu'il se distingue des autres canaux chlorures épithéliaux qui sont plus perméables aux ions iodures (I<sup>-</sup>) qu'aux ions Cl<sup>-</sup>. Le rôle principal de CFTR est donc de permettre le passage des ions Cl<sup>-</sup>, de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule au niveau du pôle apical (Figure 3).

### ***Transporteurs***

En plus des ions Cl<sup>-</sup>, CFTR est capable de transporter des anions polyatomiques tels que le nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), le bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), l'éthanoate (CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) et le méthanoate (HCCO<sup>-</sup>) (Linsdell *et al.* 1997). CFTR est également un transporteur de glutathion réduit (GSH) (Linsdell et Hanrahan 1998) et d'ions thiocyanates (SCN<sup>-</sup>) (Tabcharani *et al.* 1993), ce qui confère au canal un rôle de protecteur dans la réponse inflammatoire contre le stress oxydatif et la lutte microbienne (Figure 3).

### ***Régulateur d'autres canaux***

La canal CFTR est un régulateur de l'activité d'autres canaux ioniques. CFTR est un inhibiteur du canal ENaC (*Epithelial Na<sup>+</sup> Channel*) (Gentzsch *et al.* 2010; Kunzelmann *et al.* 1995; Mall *et al.* 1998), dont la fonction est la réabsorption de sodium (Na<sup>+</sup>). Il a également été montré que CFTR pouvait réguler le canal potassique ROMK (*Renal Outer Medullary Potassium*) (Loussouarn *et al.* 1996; McNicholas *et al.* 1996), la canal calcique CaCC (*Calcium (Ca<sup>2+</sup>)-activated Chloride Channel*) (Kunzelmann *et al.* 1997; Seidler *et al.* 1997), d'autres canaux Cl<sup>-</sup> tels que ANO1 (anoctamine 1) (Ruffin *et al.* 2013), SLC26A9 (*solute carrier 26A9*) (Bertrand *et al.* 2009) et ORCC (*Outwardly Rectifying Chloride Channel*) et enfin des échangeurs HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Cl<sup>-</sup> comme SLC26A3 et SLC26A6 (Ko *et al.* 2004; A. K. Singh *et al.* 2010) (Figure 3).



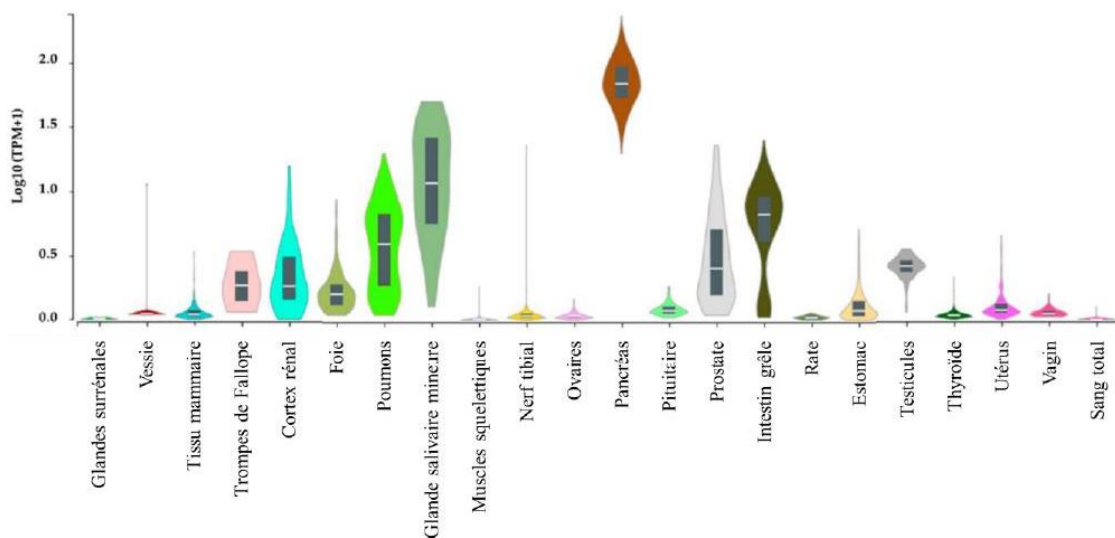
**Figure 3** | Fonction de la protéine CFTR.

**1)** CFTR est un canal  $\text{Cl}^-$  **2)** qui peut également laisser passer d'autres ions. **3)** CFTR régule d'autres canaux positivement ou négativement.

### iii. Localisation

La protéine CFTR est exprimée au niveau de la membrane apicale des cellules épithéliales des organes à glandes exocrines tels que le pancréas, les glandes salivaires, les poumons, le foie, les intestins, la peau et les appareils génitaux (Crawford *et al.* 1991).

La protéine CFTR est différemment exprimée selon les tissus : alors qu'elle est fortement exprimée dans l'épithélium des glandes sudoripares et pancréatique, elle est plus faiblement exprimée au niveau pulmonaire (Kreda *et al.* 2005) (Figure 4).

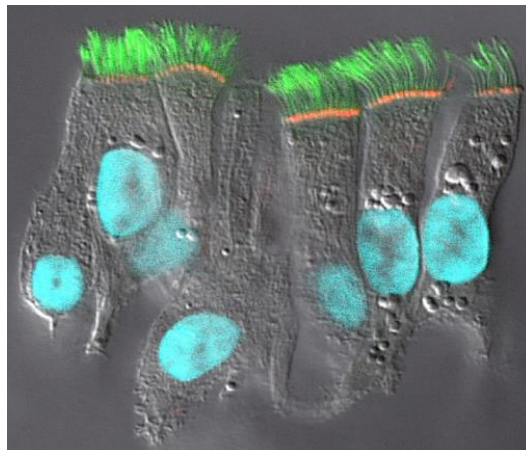


**Figure 4** | Expression globale de la protéine CFTR chez l'homme.

Adapté de Ideozu *et al.* 2019

Au sein d'un même tissu, CFTR n'est exprimée que par certaines cellules. Au niveau pulmonaire, il a longtemps été considéré que la protéine CFTR était principalement exprimée dans les cellules ciliées (Figure 5). Cependant, de multiples autres types de cellules épithéliales des voies respiratoires et de l'épithélium sous-muqueux expriment la protéine ; notamment les cellules club, sécrétoires, basales, les cellules de la glande sous-muqueuse et les cellules alvéolaires (Engelhardt *et al.* 1994; Goldfarbmuren *et al.* 2020; Jacquot *et al.* 1993; Montoro *et al.* 2018; Okuda *et al.* 2021; Plasschaert *et al.* 2018; Regnier *et al.* 2008).

La découverte récente des ionocytes pulmonaires a révélé que ce type cellulaire exprime très fortement la protéine CFTR, bien plus que tout autre type cellulaire de l'épithélium respiratoire (Montoro *et al.* 2018; Plasschaert *et al.* 2018; Shah *et al.* 2021). Cependant, la proportion de ce type cellulaire dans l'épithélium des voies aériennes par rapport aux autres est très faible ; et il a été montré que la fonction CFTR serait majoritairement liée aux cellules sécrétrices (Okuda *et al.* 2021).

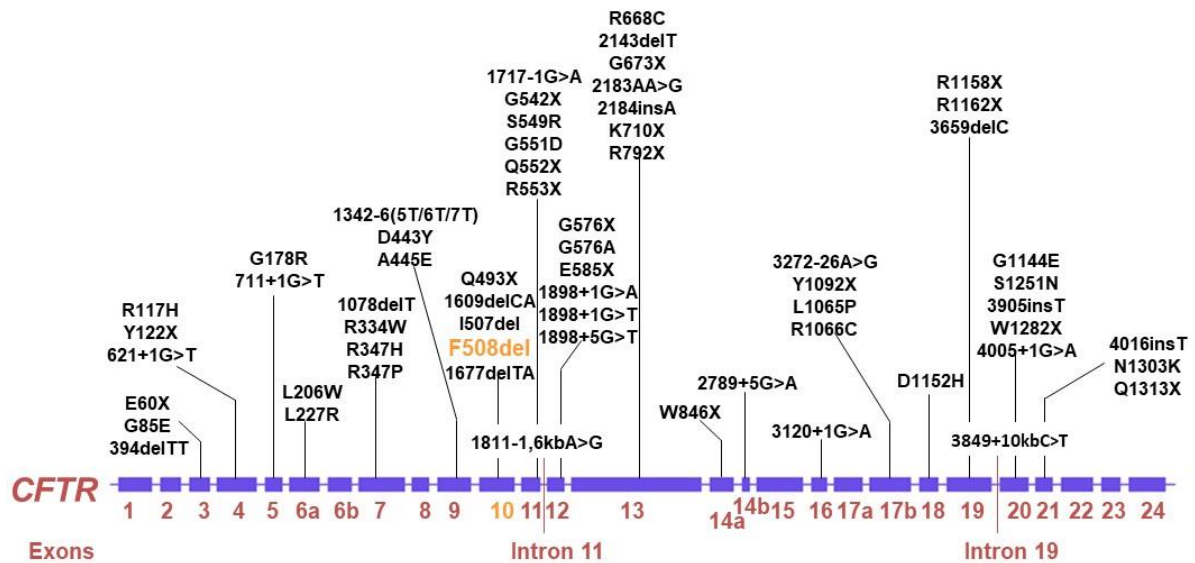


**Figure 5** | Immunomarquage de la protéine CFTR. CFTR est exprimée à la membrane apicale de cellules ciliées bronchique (CFTR en rouge, noyaux en bleu-DAPI et cils en vert-tubuline). Adapté de Kreda *et al.* 2005

### c. Mutations de *CFTR*

À ce jour, 2 106 mutations du gène *CFTR* sont recensées dans la base de données *Cystic Fibrosis Mutation Database* (CFTR1 database : <http://genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>) (figure 10) et pour certaines, leurs caractéristiques sont disponibles dans la base de données *Clinical and Functional Translation of CFTR* (CFTR2 database : <https://cftr2.org/>). Une base de données spécifique aux patients français est également disponible (Claustres *et al.* 2017).

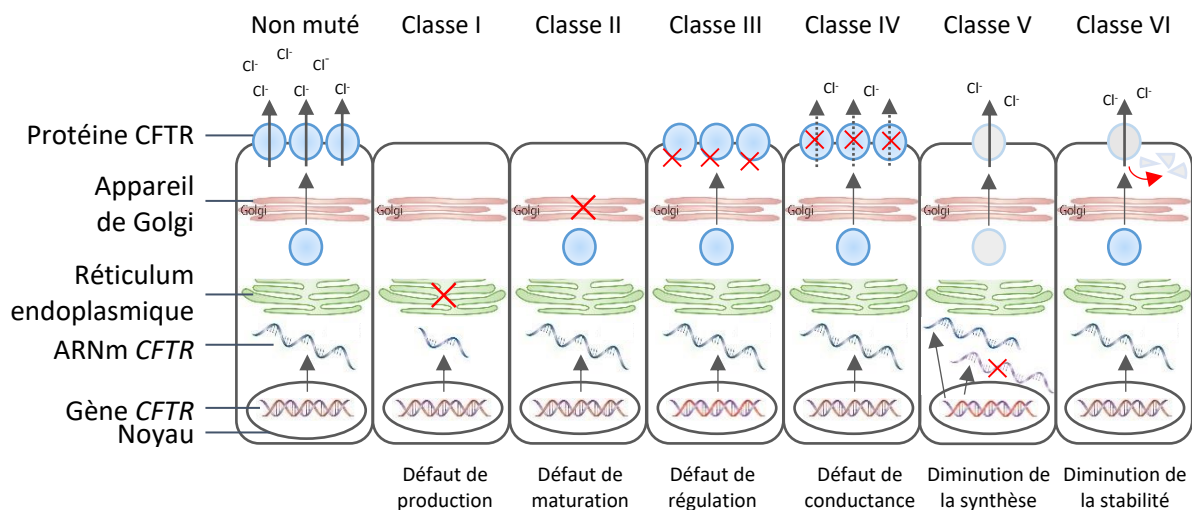
Ces mutations sont de mécanismes et formes divers (faux sens, insertions, délétions, etc..) et situées tout le long du gène (Figure 6).



**Figure 6** | Localisation des principales mutations le long du gène *CFTR*. Schéma adapté de Bickmann *et al.* 2009

### i. Classification fonctionnelle usuelle

Bien que les mutations aient des conséquences différentes sur la protéine, elles ont pu être regroupées selon des classes afin de faciliter la compréhension de la pathologie. Cinq classes de mutations reposant sur les conséquences fonctionnelles sur la protéine CFTR ont été établies : des mutations interférant sur la production, la maturation, la régulation, la conductance ou la synthèse de la protéine (Welsh et Smith 1993; Zielenski et Tsui 1995). Une sixième classe caractérisée par la présence d'une protéine CFTR instable à la membrane a ensuite été proposée (Haardt *et al.* 1999) (Figure 7).



**Figure 7** | Classification des mutations du gène *CFTR* selon leurs conséquences sur la fonction et l'expression de la protéine CFTR.

Schéma adapté de Boyle et De Boeck 2013

Les mutations de classe I conduisent à une absence de production de la protéine, conséquence principale des mutations non-sens (aboutissant à l'apparition d'un codon STOP prématuré), et de certaines mutations d'épissage ou de délétions.

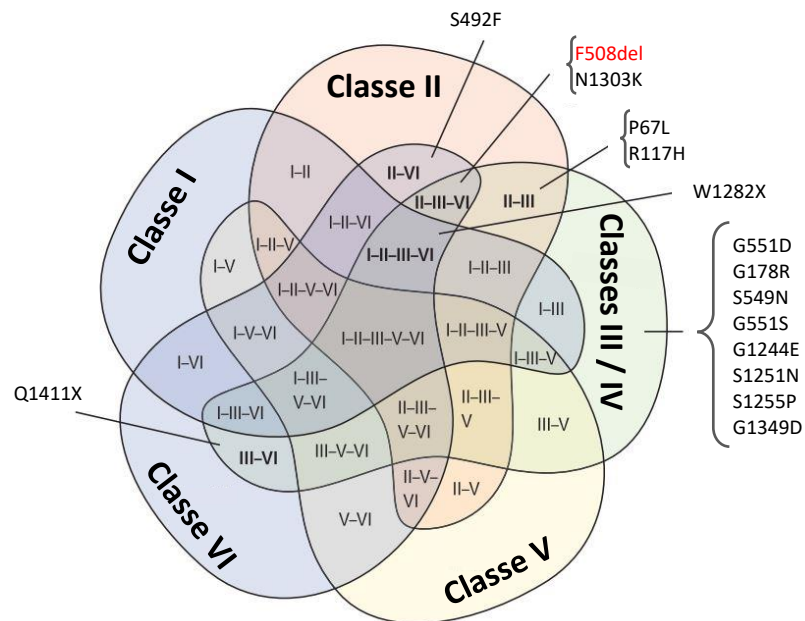
Les mutations de classe II provoquent un défaut de maturation cellulaire de la protéine par un repliement anormal conduisant à l'accumulation de la protéine mutante dans le réticulum endoplasmique. La mutation F508del, la plus fréquente chez les patients CF appartient à cette classe. En France, cette mutation est retrouvée chez plus de 80 % des patients, 41 % à l'état homozygote et 42,2 % à l'état hétérozygote (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

Les mutations de classe III, dites «gating» permettent une protéine correctement synthétisée et localisée à la membrane plasmique, mais dont les domaines NBD1 et 2 sont affectés. La régulation des efflux  $Cl^-$  est altérée en raison d'une plus faible probabilité d'ouverture du canal.

Une fonction résiduelle de CFTR, exprimée à la membrane, est préservée en partie pour les mutations de classes IV à VI. Les mutations de classe IV provoquent une altération de la conductance du canal CFTR : le flux d'ions et la sélectivité du canal sont altérés. Les mutations de classes V et IV induisent une diminution du nombre de canaux à la membrane, due à l'instabilité de l'ARNm (classe V) ou à l'instabilité des canaux à la membrane (classe VI).

La sévérité de la maladie peut être génétiquement influencée par les classes de mutations : les patients porteurs des mutations de classes IV à VI présentent un phénotype moins sévère. Cette

classification a néanmoins des limites. En effet, toutes les mutations ne sont pas caractérisées à ce jour et certaines présentent des conséquences fonctionnelles pléiotropiques. De nombreuses mutations appartiennent donc à plusieurs classes (Figure 8). Cette classification usuelle pourrait donc être subdivisée en 31 classes avec 26 combinaisons possibles (Veit *et al.* 2016).



**Figure 8** | Diagramme de Venn des combinaisons de classes de mutations du gène *CFTR*. Schéma adapté de Veit *et al.* 2016

Par exemple, la mutation F508del code pour une protéine non mature due à une instabilité du domaine NBD1 et est donc en classe II (S. H. Cheng *et al.* 1990), elle affecte aussi la régulation des efflux Cl<sup>-</sup> (classe III) (Dalemans *et al.* 1991) et le temps de présence à la membrane plasmique (classe VI) (Lukacs *et al.* 1993).

## ii. Classification fonctionnelle simplifiée

Récemment, et notamment en raison de l'avènement des nouvelles thérapies de la mucoviscidose, une classification simplifiée a émergé. Elle repose sur la fonctionnalité du canal CFTR qui est soit «*minimale*» ou «*résiduelle*».

Une mutation est dite à fonction *minimale* lorsque la quantité de canaux positionnés à la surface de la cellule est très faible, voire proche de zéro. Une mutation est dite à fonction *résiduelle*

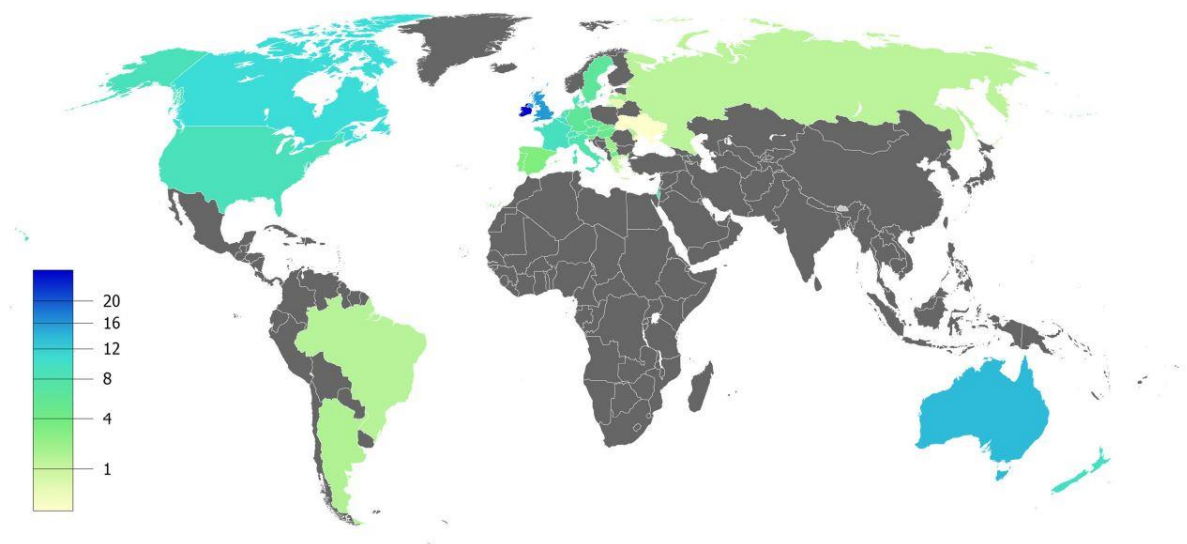
lorsque le canal est présent à la surface de la membrane des cellules, mais partiellement fonctionnel ou en quantité insuffisante.

### 3. Épidémiologie

#### a. Une maladie caucasienne

La mucoviscidose est la maladie génétique rare la plus fréquente dans les populations d'origine caucasienne. On estime qu'il y a entre 70 000 et 100 000 personnes atteintes dans le monde. Il est difficile d'avancer un chiffre précis, la majorité des pays comptant des patients CF ne disposent pas de registres ou de données collectées auprès des établissements de santé. De plus, dans les pays où les soins de santé ne sont pas développés, des personnes atteintes de mucoviscidose meurent et/ou sont traités pour des symptômes avant ou sans jamais être diagnostiquées.

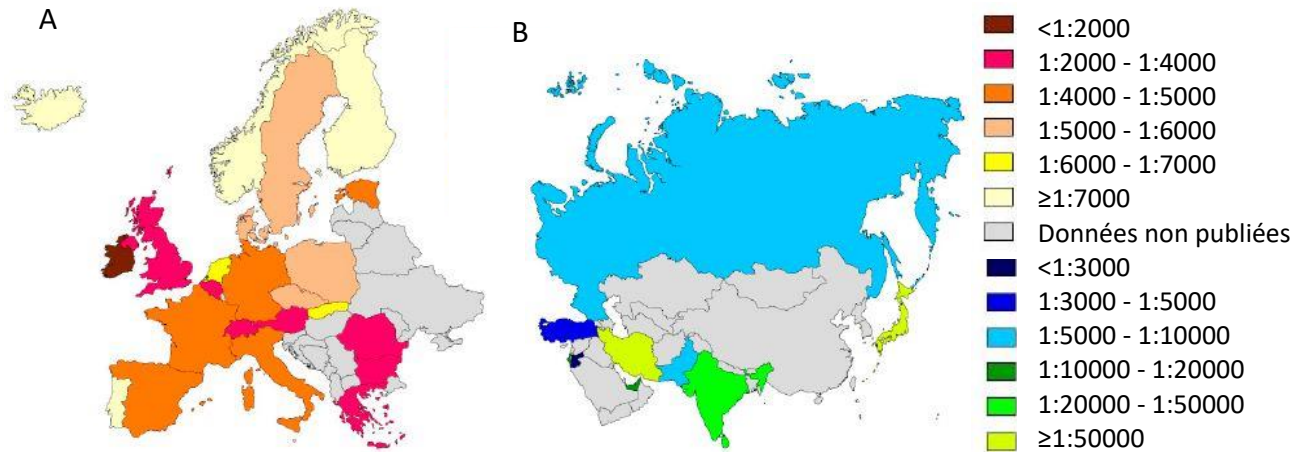
Il est observé une disparité des prévalences et des incidences à travers le monde (Figure 9). En 2019, selon les rapports des registres, 31 199 personnes ont été suivies pour mucoviscidose aux États-Unis et 4 344 au Canada (Cystic Fibrosis Canada 2020; Cystic Fibrosis Foundation 2020). En Europe, 49 886 patients ont consultés en 2019 (Zolin *et al.* 2020) et la prévalence est estimée à 7,37 cas pour 100 000 habitants (P. M. Farrell 2008).



**Figure 9** | Prévalence de la mucoviscidose pour 100 000 habitants dans le monde. Estimations réalisées à partir des rapports des registres de 2015 (États-Unis) et de 2016 (Europe, Canada, Brésil et Australie). D'après Lopes-Pacheco 2016

L'incidence de la mucoviscidose est très variable selon les origines ethniques. Alors qu'elle est estimée à 1 nouveau-né sur 3 500 naissances dans les populations d'origine européenne (Southern *et al.* 2007), l'incidence est bien plus faible dans les populations d'origine asiatique

(1/350 000 au Japon) et noires américaines/africaines (1/14 000 à 1/17 033) (Kosorok *et al.* 1996; Scotet, Gutierrez, *et al.* 2020; Yamashiro *et al.* 1997) (Figure 10). L'Irlande, avec 1 cas pour 1353 naissances a la plus forte incidence au monde (P. Farrell *et al.* 2007).



**Figure 10** | Incidence de la mucoviscidose.  
A) En Europe B) En Asie, d'après Scotet *et al.* 2020

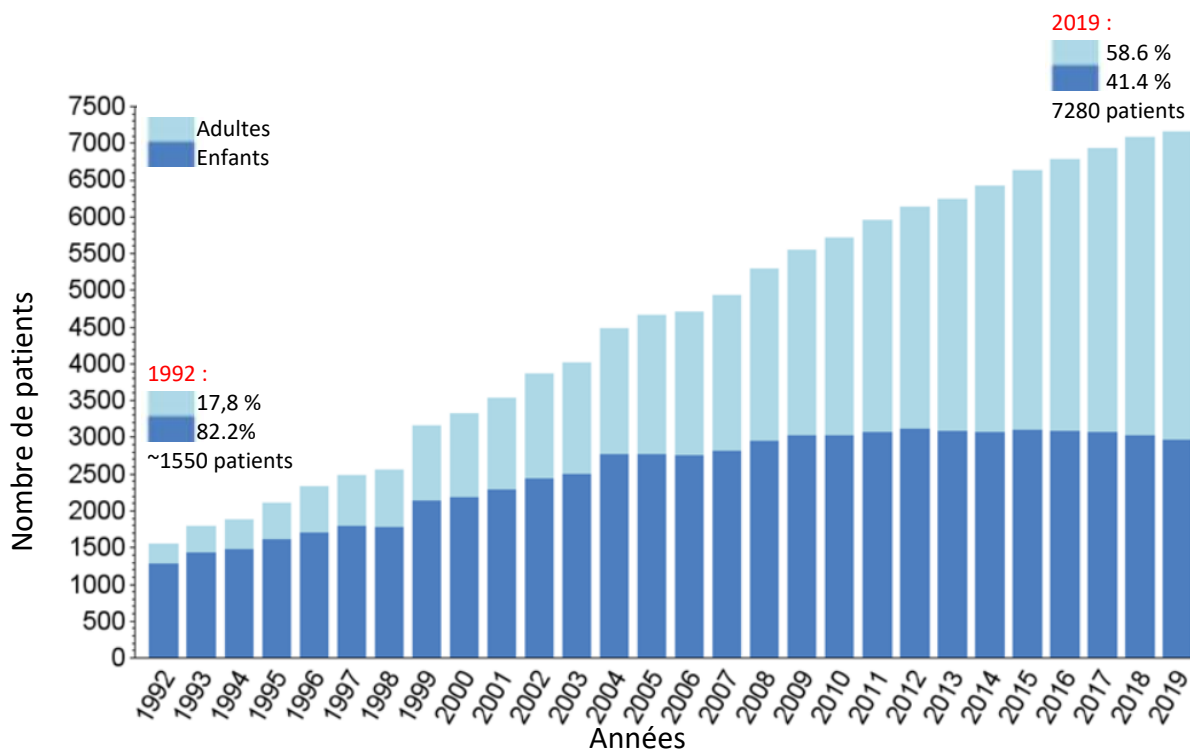
La fréquence des porteurs sains est donc aussi très variable. Dans les pays occidentaux elle est estimée à 4 % de la population d'origine européenne (Girodon-Boulandet et Costa 2005), soit 1 personne sur 25. Elle est moins fréquente dans d'autres ethnies, environ un hispanique sur 46, un africain sur 65 et un asiatique sur 90 sont porteurs d'une seule mutation du gène *CFTR* (Hamosh *et al.* 1998; Rosenstein et Cutting 1998).

## b. La mucoviscidose en France

En France, pour évaluer l'état de santé et les caractéristiques des patients atteints de mucoviscidose le registre français de la mucoviscidose recueille des données précises des patients suivis en métropole et à l'île de la Réunion, et les compile dans un rapport annuel (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

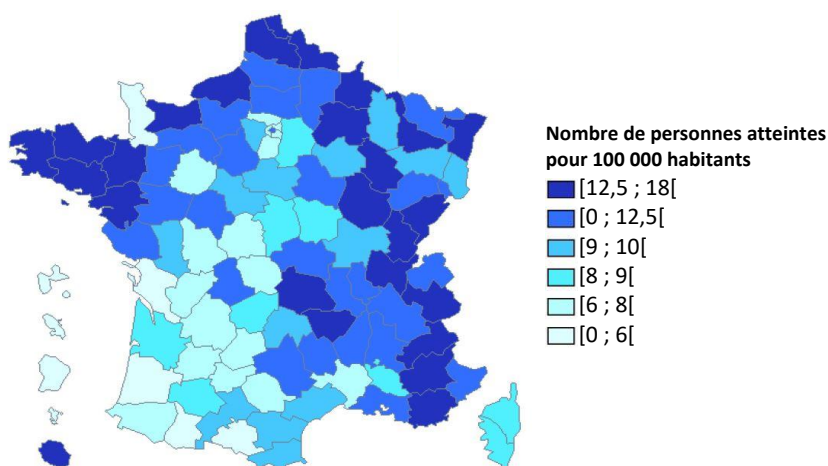
### i. Démographie

En 2019, 7280 patients ont été recensés en France 47,8 % sont des femmes (3425 patientes). L'âge médian est de 21,3 ans et l'âge moyen a augmenté de 6 mois comparativement à 2018 (23,4 ans). Les adultes représentent 58,6 % et 2967 enfants ont été suivis. Depuis deux décennies, le nombre de patients et le pourcentage d'adultes ne cessent d'augmenter, respectivement évalués à +1,3 %, et +2,1 % en une année (Figure 11).



**Figure 11** | Évolution du nombre de patients atteints de mucoviscidose et du pourcentage d’adulte. D’après Vaincre la Mucoviscidose 2021.

En 2019, 109 nouveaux nés atteints de mucoviscidose ont été recensés et la Haute Autorité de Santé, dans son rapport sur le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose, estime la prévalence à la naissance à 1/4136 (HAS 2009; Vaincre la Mucoviscidose 2021). Une forte disparité régionale de l’incidence à la naissance est observée : la maladie concerne ainsi 1 enfant sur 2967 en Bretagne contre 1/5380 en Aquitaine (HAS 2009). La prévalence de la mucoviscidose suit cette même tendance de variabilité inter-régionale (Figure 12).

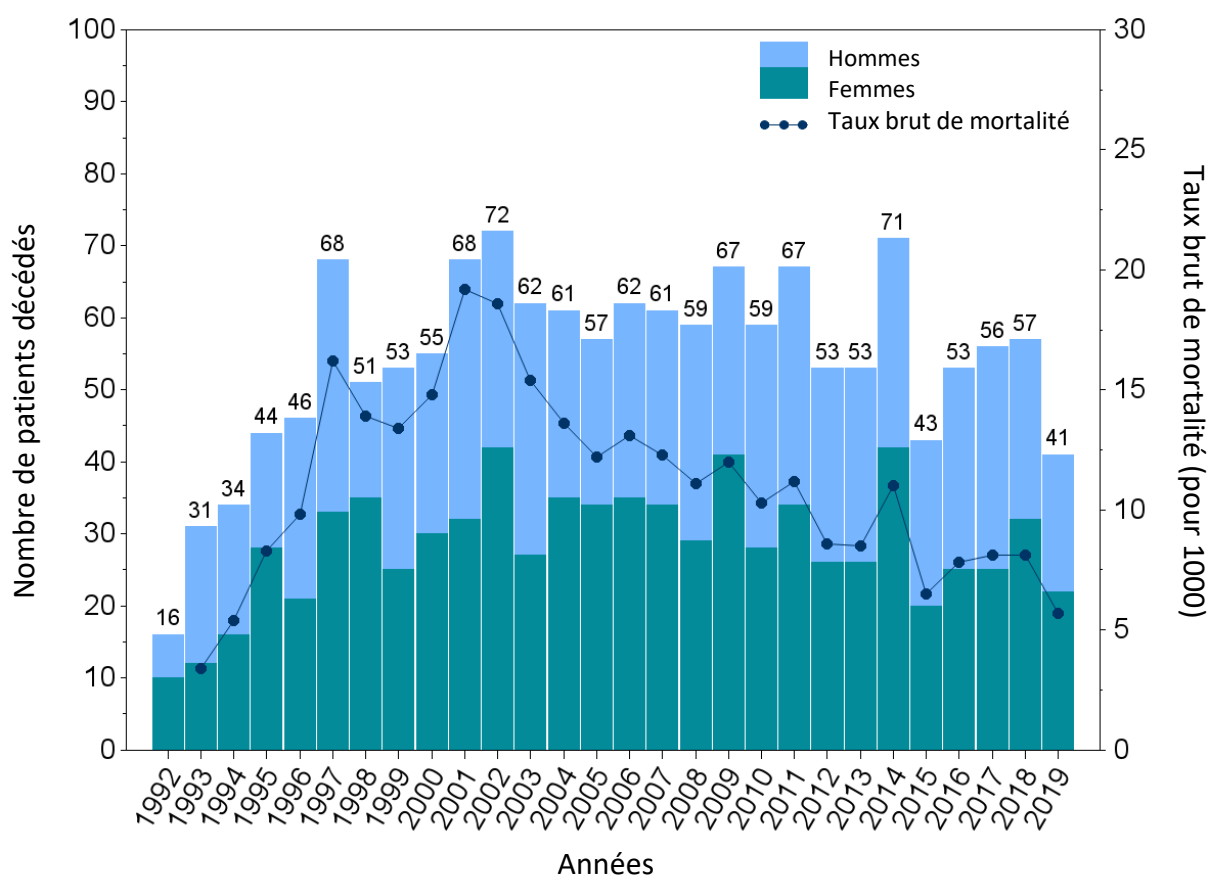


**Figure 12** | Prévalence de la mucoviscidose en France par département. D’après Vaincre la Mucoviscidose 2021.

Même si l'incidence de la mucoviscidose depuis les années 1970 tends à diminuer (Scotet *et al.* 2012), des prévisions réalisées en 2015 estimaient une augmentation en Europe de 50 % du nombre de patients entre 2010 et 2025, correspondant à 20 % d'enfants et 75 % d'adultes en plus (Burgel *et al.* 2015). Ces prévisions pour la période 2010-2025 ont été ajustées et précisées pour la France, avec une augmentation du nombre de patients CF estimée à 37,3 %, dont 3,5 % d'enfants et d'adulte 75,2 % d'adultes supplémentaires (Burgel *et al.* 2017).

## ii. Mortalité

Avec 41 patients décédés recensés en 2019, l'âge moyen au décès est de 34,7 ans. Il est constaté un gain d'une année de vie par rapport à 2018 et une diminution du taux brut de mortalité (5,7 /1000) depuis les années 2000 (Figure 13).



**Figure 13** | Taux brut de mortalité et nombre de décès de patients atteints de mucoviscidose. D'après Vaincre la Mucoviscidose 2021.

## II. Manifestations cliniques de la mucoviscidose

### 1. Manifestations extra-pulmonaires

Du fait de la large distribution d'expression de CFTR dans l'organisme, la mucoviscidose est une maladie multi-organe avec des manifestations cliniques hépatobiliaires, gastro-intestinales, pancréatiques, pulmonaires, osseuses et génitales. L'atteinte pulmonaire est cependant prédominante, c'est la principale cause de morbi-mortalité chez les patients.

#### a. Manifestations digestives

##### i. Atteinte gastro-intestinale

Le registre de la mucoviscidose estime que 13,8 % des nouveaux nés CF issus du dépistage néonatal et nés en 2019, présentaient un iléus méconial : une obstruction de l'intestin grêle provoquée par un contenu intestinal (le méconium) trop épais et visqueux. Il se traduit par une absence d'évacuation des premières selles, il peut se compliquer d'une torsion intestinale et/ou d'une perforation avec péritonite, nécessitant alors une intervention chirurgicale immédiate.

L'atteinte gastro-intestinale ne se limite pas à la période néonatale. Les patients présentent des troubles de la motilité gastrique intestinale pouvant entraîner constipation, reflux gastro-œsophagiens, prolapsus rectal et syndrome d'obstruction intestinale distale (SOID). Les anomalies du mucus intestinal peuvent provoquer une malabsorption des nutriments (Figure 14). Bien plus rares, des pathologies digestives ont été décrites avec une prévalence accrue au cours de la mucoviscidose telles que la maladie cœliaque et la maladie de Crohn (Gelfond et Borowitz 2013).

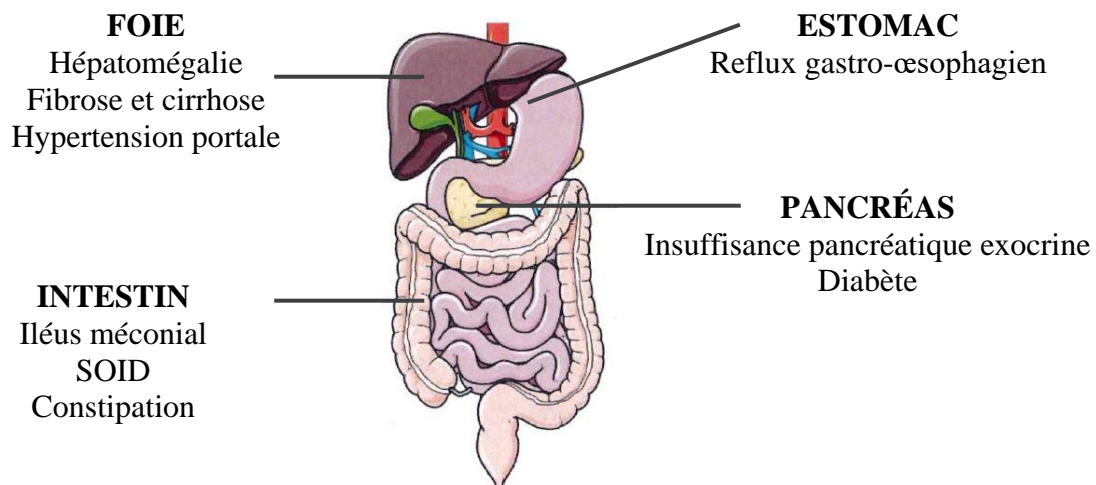


Figure 14 | Principales manifestations digestives de la mucoviscidose.

## ii. Atteinte pancréatique

Une insuffisance pancréatique exocrine est observée chez la majorité des patients CF (79,7 % des personnes suivis en 2019, Vaincre la Mucoviscidose 2021) et se développe dès la naissance. Elle est due à l'accumulation de sécrétions trop épaisses au niveau des canaux intra-pancréatiques, provoquant l'obstruction de ceux-ci et aboutissant à un défaut de sécrétion des enzymes pancréatiques. L'insuffisance pancréatique exocrine a pour conséquences une malabsorption des graisses et des protéines (Dodge et Turck 2006), induisant des selles graisseuses (stéatorrhée) et des carences en vitamines liposolubles (A, D, E, K) et en acides gras essentiels (Ledder *et al.* 2014) ; engendrant un retard de croissance staturo-pondéral.

Consécutivement, le pancréas devient fibrotique avec une infiltration de lipides et des dépôts amyloïdes, s'autolyse en raison des enzymes retenues dans ses canaux, ce qui va progressivement conduire à une destruction cellulaire des îlots de Langerhans. La manifestation pancréatique est alors endocrine, il s'agit du diabète de la mucoviscidose appelé *cystic fibrosis-related diabetes* (CFRD) (Figure 14).

Ce diabète est dû à une insuffisance de sécrétion en insuline ainsi qu'à une résistance périphérique en insuline, comme le diabète de type 2 (Frost *et al.* 2020). Il se manifeste en deux étapes : une période dite d'intolérance au glucose (la glycémie est anormale), puis l'apparition du diabète à proprement dit. La CFRD a également des caractéristiques du diabète de type 1, notamment l'insulinodépendance (Frost *et al.* 2020). En France, 20,1 % des patients présentent un diabète, dont 87 % sont traités par insuline (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

## iii. Atteinte hépatobiliaire

À l'âge de 25 ans, 32,2 % des patients développent une atteinte hépatobiliaire que l'on nomme *cystic fibrosis liver disease* (CFLD) (Boelle, Debray, Guillot, Clement, *et al.* 2019). Il s'agit de la sixième cause de mortalité chez les patients et est responsable de 3,4 % des décès des patients CF en Europe (Zolin *et al.* 2020). La CFLD est la conséquence de l'obstruction des canalicules biliaires intra-hépatiques du fait d'une bile trop épaisse pour s'écouler correctement. La CFLD débute fréquemment par une hépatomégalie, une élévation des enzymes hépatiques et une cholestase. La rétention des acides biliaires cytotoxiques et la diminution du flux biliaire peuvent induire des lésions cellulaires. Ceci provoque une inflammation et un dépôt de collagène au niveau des canaux hépatiques, amenant à la fibrose avec le développement d'une cirrhose focale (Debray *et al.* 2017). L'atteinte sévère se caractérise par une cirrhose multilobulaire avec une hypertension portale, ceci concerne 3,6 % des patients en France

(Vaincre la Mucoviscidose 2021). Ce stade de la CFLD peut conduire à une insuffisance hépatique sévère, nécessitant alors une transplantation hépatique (Figure 14).

### **b. Manifestations génitales**

Les hommes atteints de mucoviscidose sont infertiles à 95 %. L'atteinte est due à une atrésie bilatérale congénitale des canaux déférents et une absence concomitante des vésicules séminales entraînant une azoospermie (P. Y. Wong 1998). Chez les femmes, l'atteinte est due à une hyperviscosité de la glaire cervicale et se manifeste par une hypofertilité (Kotloff *et al.* 1992).

La paternité et les grossesses ne sont plus rares chez les porteurs de mucoviscidose. Le taux de conception chez les femmes est d'environ 30 pour 1000 avec 50 débuts de grossesses en 2019 ; quant aux hommes, il y a eu 36 paternité, dont 82 % ont nécessité une aide médicale à la procréation (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

### **c. Manifestations rénales**

Bien que rares, des manifestations cliniques rénales sont présentes dans la mucoviscidose. L'altération de la fonction CFTR a pour conséquence un défaut de transport des protéines de bas poids moléculaire dans le tube proximal, entraînant une protéinurie, une hyponatrémie, une hypokaliémie, une augmentation de l'excrétion d'aminoglycoside rénal et une diminution du volume extracellulaire profond (Nazareth et Walshaw 2013). L'atteinte rénale peut également être une des complications du diabète de la mucoviscidose.

### **d. Atteinte des glandes sudoripares**

Au niveau des glandes sudoripares, les désordres hydroélectrolytiques se caractérisent par une modification ionique de la sueur. Ils peuvent être responsables d'un syndrome de perte de sel avec une déshydratation aiguë lors de fortes chaleurs ou d'efforts physiques importants.

### **e. Manifestations oto-rhino-laryngologiques**

L'inflammation chronique des voies aériennes supérieures favorise le développement de la polypose naso-sinusienne. Par ailleurs, il a été montré que la protéine CFTR est absente ou sous-exprimée dans les polypes de patients atteints de mucoviscidose (Dupuit *et al.* 1995). L'apparition de ces formations charnues de la muqueuse se manifeste par une obstruction nasale, une épistaxis et contribuent à l'installation de sinusites chroniques (Weber *et al.* 2017).

L'atteinte des sinus concernerait 40 % des patients et 1,3 % des patients ont subi une intervention chirurgicale pour des polypes nasaux (Cystic Fibrosis Foundation 2020).

#### **f. Manifestations osseuses**

Les manifestations osseuses, désignées par *cystic fibrosis related bone disease* (CFBD), regroupent des cas d'ostéopénie et d'ostéoporose, dont la prévalence augmente avec l'âge des patients. Au niveau physiopathologique, plusieurs mécanismes sont supposés impliqués dans la CFBD. En raison de l'expression de la protéine CFTR au niveau des ostéoblastes et des ostéoclastes, le déficit fonctionnel de CFTR aurait un impact direct sur la CFBD (Le Heron *et al.* 2010; Shead *et al.* 2007). Les fragilisations osseuses de la mucoviscidose sont également associées à la malabsorption, aux déficits protéino-calorique et en vitamines (D et K) et à l'inflammation chronique (Ferguson et Chang 2014; Shead *et al.* 2010). La CFBD n'est pas rare, le registre américain de la mucoviscidose estime qu'à l'âge de 25 ans, 25 % des patients en sont atteints et 18 % des adultes présentent une ostéopénie et 7 % une ostéoporose (Cystic Fibrosis Foundation 2020).

#### **g. Manifestations nutritionnelles**

Il est observé des troubles nutritionnels chez les patients atteints de mucoviscidose. Plusieurs facteurs, souvent intriqués, sont responsables d'un déséquilibre de la balance énergétique, menant à la dénutrition des patients. Chez l'enfant, la carence d'apport par malabsorption, due à l'insuffisance pancréatique exocrine, peut être associée à un retard de croissance pondérale. Chez l'adolescent et l'adulte, l'augmentation du travail ventilatoire en raison des phénomènes inflammatoires et infectieux bronchiques peuvent induire une augmentation des dépenses énergétiques et impacter l'équilibre pondéral.

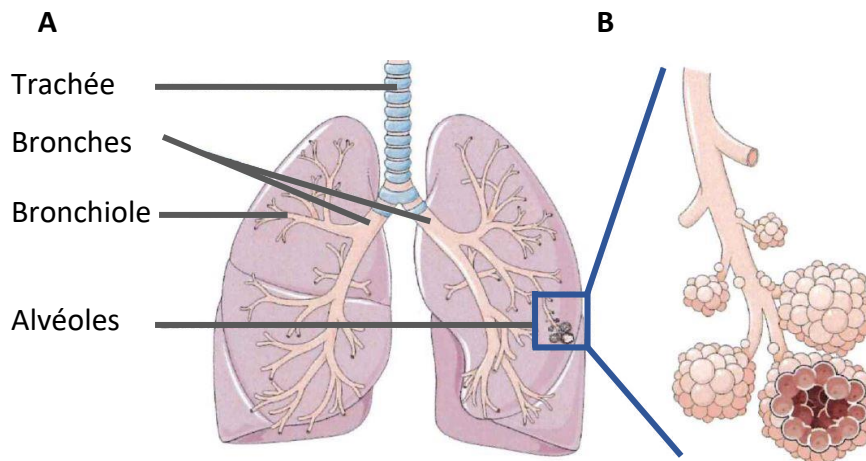
L'amélioration de la prise en charge et de la surveillance des patients CF ont permis d'améliorer le statut nutritionnel. La prévalence des enfants CF dénutris est estimée à 7 % et 12 % des enfants seraient à risque (Hanna et Weiner 2015). En France, 20 % des femmes et 15 % des hommes de plus de 20 ans et atteints de mucoviscidose ont une dénutrition, c'est-à-dire qu'ils présentaient un indice masse corporel inférieur à 18,5 kg/m<sup>2</sup> (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

## 2. Manifestations pulmonaires

L'atteinte pulmonaire est la première cause de morbidité et mortalité des patients atteints de mucoviscidose. Les manifestations sont notamment caractérisées par une bronchectasie et des obstructions des voies respiratoires par un mucus visqueux, et ce dès la naissance. Les patients présentent également une toux chronique et des infections récurrentes dues à la présence de pathogènes opportunistes tels que *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Afin de comprendre le développement de ces atteintes, il est nécessaire de décrire l'organisation anatomique et histologique du poumon.

### a. Physiologie pulmonaire

L'appareil respiratoire est composé de deux parties : les voies aériennes supérieures constituées des cavités buccales et nasales, du pharynx et du larynx ; et les voies aériennes inférieures comprenant la trachée, les bronches, les bronchioles et se terminant par les alvéoles. L'appareil respiratoire a pour fonction la conduction et le conditionnement (réchauffer, humidifier, épurer) de l'air jusqu'aux alvéoles, où s'effectuent les échanges gazeux au niveau de la barrière alvéolo-capillaire (Figure 15).

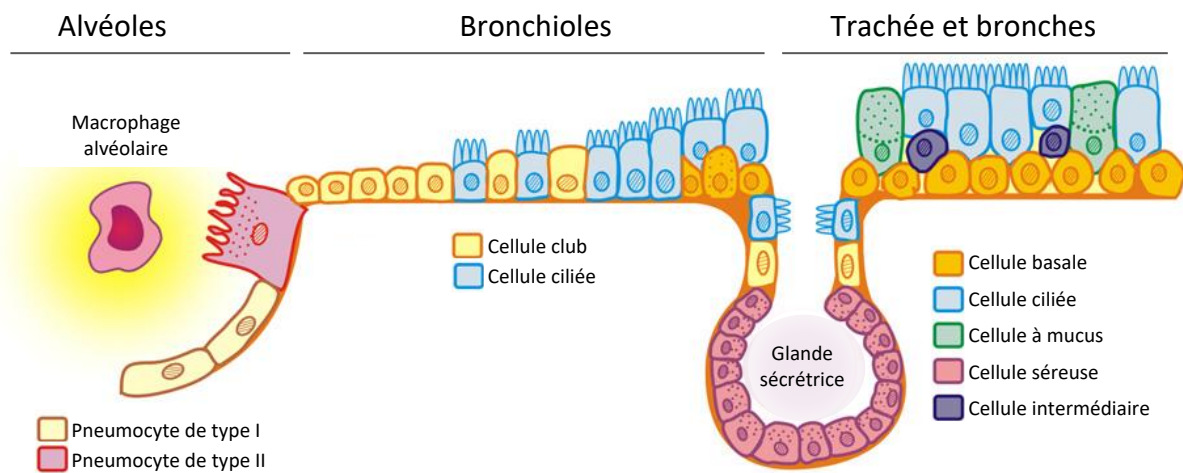


**Figure 15** | Schéma de l'appareil respiratoire.

**A)** Représentation des voies aériennes inférieures **B)** avec zoom sur des alvéoles.

## b. Épithélium des voies aériennes

L'épithélium des voies aériennes inférieures est complexe : sa composition et son organisation évoluent selon la localisation. L'épithélium tapissant la trachée et les bronches est pseudo-stratifié, tandis que l'épithélium des bronchioles terminales devient cuboïde simple, et au niveau des alvéoles il s'organise sous forme d'épithélium simple (Figure 16).



**Figure 16** | Représentation des populations cellulaires de l'épithélium des voies aériennes inférieures. Adaptée de Antunes *et al.* 2013.

Le rôle principal de l'épithélium des voies aériennes est d'assurer la protection de la muqueuse respiratoire. Une récente revue a décrit les différents types cellulaires composant l'épithélium (J. D. Davis et Wypych 2021), dont chacun assure une ou plusieurs fonctions spécifiques (Figure 16).

- Au niveau de la lame basale, les cellules basales participent aux processus de régénération et de réparation de l'épithélium (Wansleben *et al.* 2013). Les cellules basales sont les principales cellules souches des voies respiratoires et possèdent la capacité à se différencier, notamment en cellules ciliées, en cellules neuroendocrines pulmonaires et en ionocytes pulmonaires (Montoro *et al.* 2018). Au moins deux sous-populations seraient présentes dans les cellules basales ; l'une permettant la différenciation luminale et l'autre serait composée de cellules progénitrices de cellules souches (Travaglini *et al.* 2020; Watson *et al.* 2015).
- Les cellules ciliées constituent le principal type cellulaire de l'épithélium bronchique, elles représentent entre 44 % et 56 % des cellules (Okuda *et al.* 2021). Sur le plan transcriptionnel, deux sous-ensembles distincts ont été identifiés entre les parties distales et proximales du tractus respiratoires (Travaglini *et al.* 2020). Au niveau du pôle apical, elles

possèdent de 200 à 300 cils qui battent de façon synchrone et régulière (Bustamante-Marin et Ostrowski 2017; Rhodin 1966).

- Les cellules à mucus (ou cellules caliciformes) interviennent dans la production de mucus et plus particulièrement des mucines : les protéines qui le constituent (Hovenberg *et al.* 1996; Whitsett 2018). Le mucus est également composé d'électrolytes, de métabolites, de fluides et de produits antimicrobiens. La lignée des cellules caliciformes a été divisée en deux sous-ensembles fonctionnels : les cellules gobelet-1 produisant principalement du mucus et les cellules gobelet-2 sécrétant une protéine capable de se lier et d'agréger les bactéries Gram-positives (Bergstrom *et al.* 2016; Montoro *et al.* 2018). Diverses pathologies pulmonaires, dont la mucoviscidose sont caractérisées par une dérégulation de la production de mucus par les cellules caliciformes (Vieira Braga *et al.* 2019; Whitsett 2018).
- Au sein des glandes sécrétrices sont présentes les cellules séreuses. Elles participent à la production de mucus et sécrètent des protéines de défense telles que des peptides antimicrobiens et des anti-protéases (Basbaum *et al.* 1990). Leur fonction est d'établir un équilibre hydrique au niveau de la lumière des voies aériennes pour contribuer à un mouvement ciliaire harmonieux.
- Au niveau des bronchioles, l'épithélium est principalement constitué de cellules club. Elles produisent des protéines du surfactant et sécrètent aussi des protéines qui leur sont spécifiques, à fonction anti-inflammatoire (A. P. Wong *et al.* 2009). Elles peuvent contribuer à la réparation de l'épithélium et se différencier en cellules basales lorsque celles-ci sont lésées ou dégradées (Basil *et al.* 2020).
- Les pneumocytes sont présents uniquement au niveau alvéolaire. Les pneumocyte de type I sont très aplatis ce qui leur confère la fonction d'optimisation des échanges gazeux. Les pneumocytes de type II, cellules cuboïdes, synthétisent le surfactant pulmonaire et possèdent des microvillosités apicales (Castranova *et al.* 1988). Le surfactant a pour rôle d'éviter le collapsus des alvéoles en diminuant la tension de surface.

Non représentées sur la Figure 16, il est retrouvé d'autres populations cellulaires dans l'épithélium des voies aériennes :

- En très faible quantité (0,5 % des cellules de l'épithélium respiratoire), des cellules neuroendocrines sont présentes au niveau de la lame basale (Boers *et al.* 1996; Travaglini *et al.* 2020). Elles produisent des peptides et des neuropeptides permettant notamment de stimuler les réponses immunitaires, faisant ainsi le lien entre le système immunitaire et le

système nerveux (Branchfield *et al.* 2016). Elles ont la capacité de réguler la sécrétion de mucus et le tonus musculaire, de détecter l'hypoxie et de répondre aux variations du taux de dioxyde de carbone (Cutz *et al.* 2013; Garg *et al.* 2019). Par ailleurs, les cellules neuroendocrines peuvent adopter différents statuts cellulaires en cas de lésions épithéliales, pour contribuer à la réparation tissulaire (Ouadah *et al.* 2019). Il est observé une augmentation du nombre de cellules neuroendocrines dans certaines pathologies pulmonaires telle que le mucoviscidose (X. Gu *et al.* 2014).

- Les cellules *tuft* (ou cellule à touffe) sont retrouvées au niveau des voies respiratoires et possèderaient des fonctions neuronales, chimiosensorielles et immunologiques (Bezencon *et al.* 2008). Ces cellules sont également présentes dans d'autres organes, en particulier l'intestin et le conduit auditif, où elles sont localisées à proximité des fibres nerveuses. Ceci suggère que les cellules à touffe auraient une fonction de médiateur potentiel de la communication immuno-neuronale (Morroni *et al.* 2007; O'Leary *et al.* 2019). Ces cellules pourraient faire fonction de progéniteurs pour les cellules neuroendocrines et les ionocytes pulmonaires (Goldfarbmuren *et al.* 2020) et permettraient de modérer l'inflammation allergique des voies respiratoires (Sharma *et al.* 2017).
- Les ionocytes pulmonaires ont été identifiés récemment grâce à l'utilisation d'une technologie récente : le séquençage d'ARN sur cellule unique (Montoro *et al.* 2018; Plasschaert *et al.* 2018). Elles seraient produites à partir de précurseurs de cellule à touffe et basale. Elles tirent leur nom de leur ressemblance avec les cellules éponymes (présentes dans la peau de poisson-zèbre et de larve de xénope) et qui permettent les efflux chlorure entre la circulation sanguine et le milieu marin. En effet, les ionocytes pulmonaires expriment des niveaux élevés de CFTR (Montoro *et al.* 2018; Plasschaert *et al.* 2018), plus que tout autre type de cellule épithéliale des voies respiratoires (Shah *et al.* 2021). Les ionocytes, qui ont donc une activité de transport ionique, contribueraient à l'homéostasie et à la physiologie du mucus des voies aériennes (Montoro *et al.* 2018; Shah *et al.* 2021). Toutefois, les ionocytes pulmonaires ne représenteraient qu'une faible proportion (2 %) des cellules épithéliales des voies aériennes (Goldfarbmuren *et al.* 2020; Okuda *et al.* 2021).
- Les cellules *Hillock* ont été décrites récemment par Montero et ses collègues comme une variété de cellules club. Elles exprimeraient des marqueurs associés à l'immuno-modulation et l'adhésion cellulaire (Montoro *et al.* 2018).
- Les cellules micro-plies (ou *microfold cells*) des voies respiratoires auraient un rôle dans l'initiation de la réponse immunitaire avec un rôle assez vaste dans l'infection bactérienne.

Les cellules micro-pliées seraient impliquée dans la réponse aux bactéries *Salmonella typhimurium* et *Streptococcus* (D. Y. Kim *et al.* 2011) ; tout en étant également la cible de *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch responsable de la tuberculose), qui détourne les cellules micro-pliées afin de faciliter sa propagation (Nair *et al.* 2016).

L'épithélium de la trachée aux bronchioles est recouvert d'un liquide de surface (LSA pour liquide de surface des voies aériennes) constitué de deux couches : en dessous le liquide périciliaire et le mucus au-dessus. Le liquide de surface protège l'épithélium de la déshydratation et piège les particules inhalées qu'elles soient organiques ou inorganiques. Ces éléments sont ensuite évacués par les battements synchronisés des cils des cellules ciliées, en les remontant vers l'appareil digestif : c'est la clairance mucociliaire.

### **c. Physiopathologie pulmonaire de la mucoviscidose**

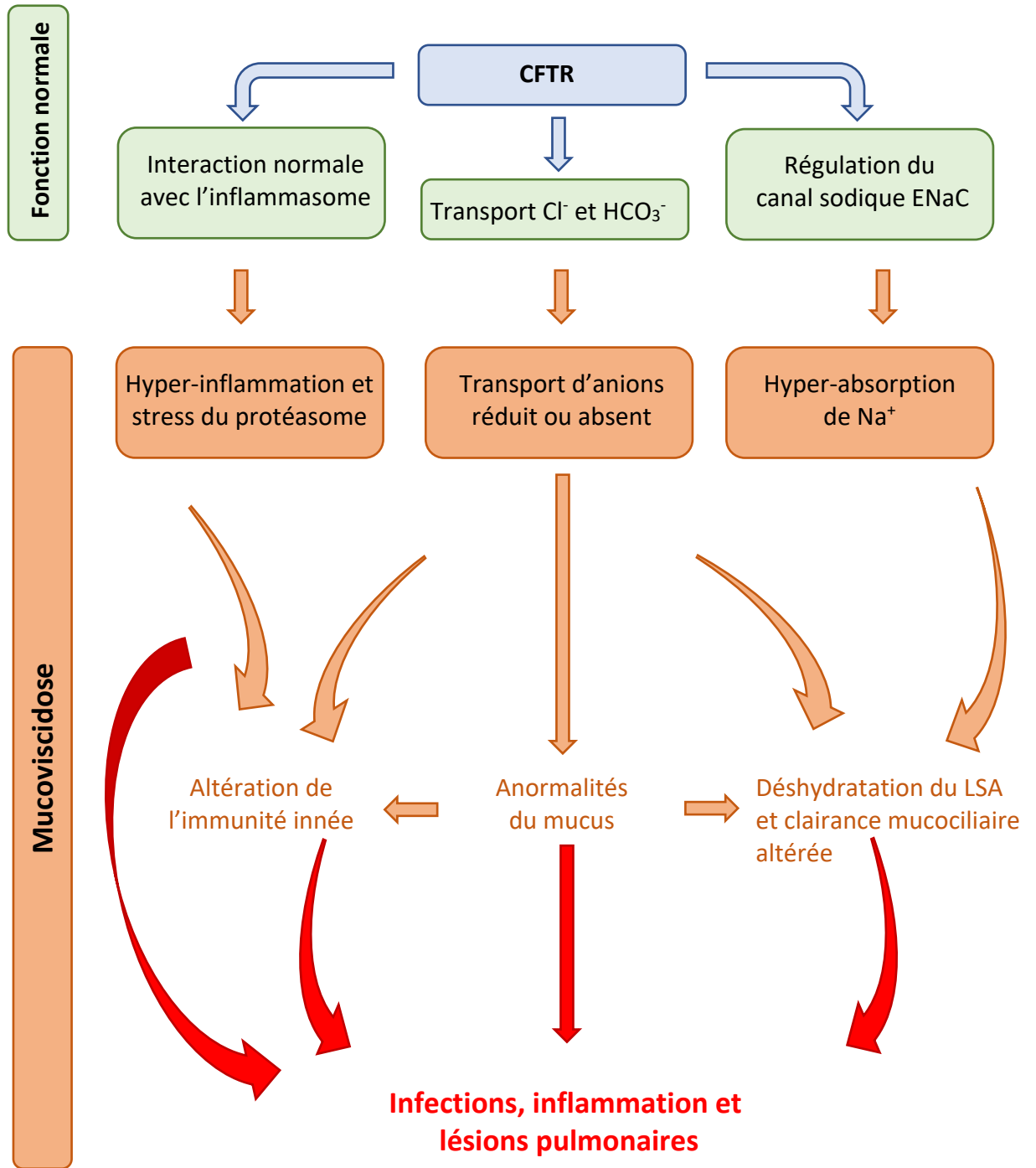
#### *i. Dysfonction de la protéine CFTR*

L'atteinte pulmonaire de la mucoviscidose est consécutive à des processus physiopathologiques successifs, intriqués et évolutifs tout au long de la vie des patients. Dans la physiopathologie de l'atteinte pulmonaire, l'implication de la protéine CFTR résulte principalement de sa fonction de transport des ions (chlorure et du bicarbonate), de sa fonction de régulateur d'autres canaux (ENaC notamment) et de ses interactions avec les voies cellulaires liées à l'inflammation (inflammasome) (Figure 17) (Elborn 2016; Shteinberg *et al.* 2021; Stoltz *et al.* 2015).

L'absence ou la dysfonction de la protéine CFTR entraîne au niveau de l'épithélium un déséquilibre ionique du liquide de surface des voies aériennes. Les ions  $\text{Cl}^-$  sont anormalement retenus dans la cellule et les ions  $\text{Na}^+$  sont hyperabsorbés, conduisant à la déshydratation du liquide de surface des voies aériennes (LSA).

L'altération du transport de bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) par CFTR va entraîner une modification du pH du LSA, qui a un rôle important dans l'élimination des bactéries. Cette acidification du LSA entraînerait la diminution de la fonction des peptides antimicrobiens, conduisant alors à une altération de l'immunité innée (Elborn 2016; Keiser *et al.* 2015; Shteinberg *et al.* 2021).

Le bicarbonate est aussi impliqué dans la rhéologie du mucus. En effet, un défaut de bicarbonate provoquerait un dérèglement de l'attachement et du détachement du mucus, aboutissant alors à son hyperviscosité (Elborn 2016; Hoegger *et al.* 2014).



**Figure 17** | Impact du dysfonctionnement de la protéine CFTR sur la physiologie pulmonaire.  
 Abréviations : Cl<sup>-</sup> ion chlorure; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> bicarbonate ; Na<sup>+</sup> : ion sodium ; ENaC : *Epithelial Na<sup>+</sup> Channel*  
 LSA : liquide de surface des voies aériennes respiratoires. Adapté de Elborn 2016.

Très précocement (au cours des 3 premières années de vie), la déshydratation du LSA va altérer la clairance mucociliaire, ce qui entraînerait alors des processus d'obstruction, de bronchectasie (dilatation des bronches due à l'obstruction), d'inflammation et des épisodes récurrents d'infections (Elborn 2016; K. A. Ramsey *et al.* 2014; Rosenow *et al.* 2015; Sly *et al.* 2013).

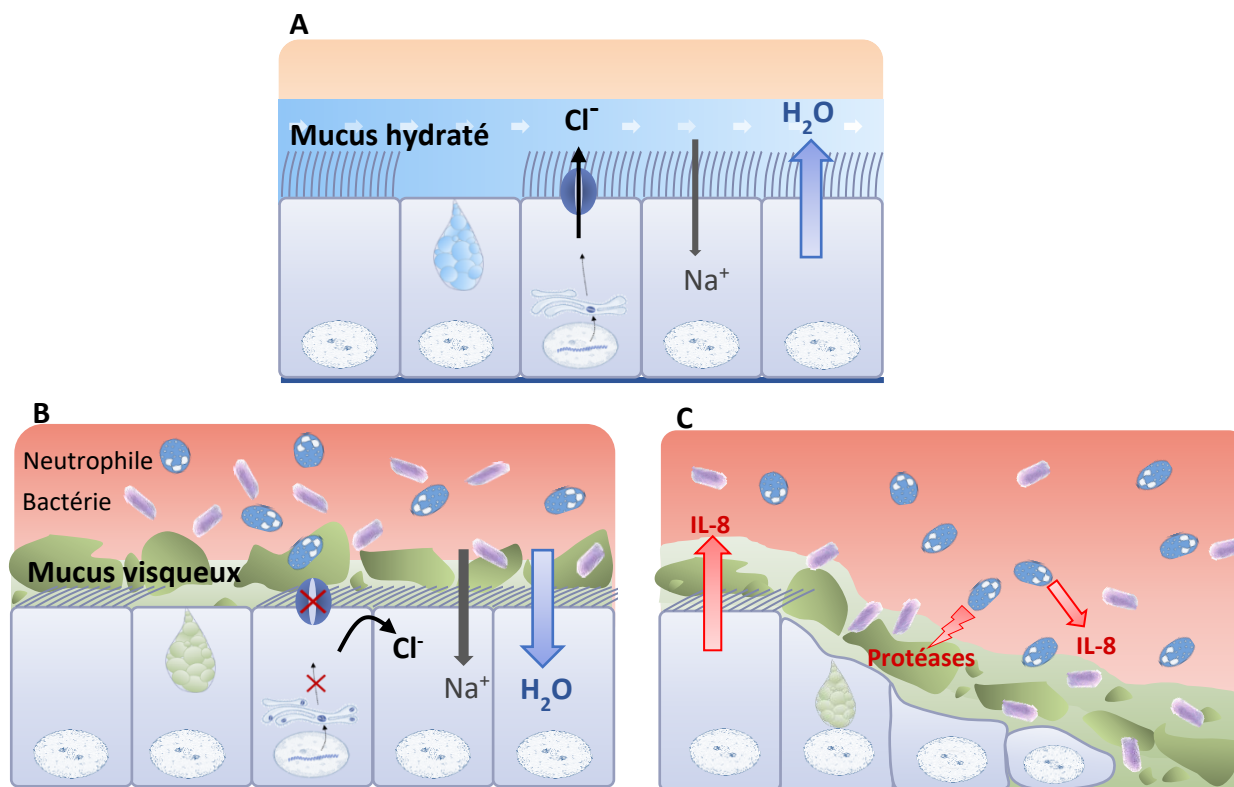
Au niveau intracellulaire, le dysfonctionnement de CFTR entraîne des anomalies de signalisation et des processus aberrants qui conduisent à une augmentation de la transcription de médiateurs inflammatoires. L'accumulation de CFTR anormalement replié dans le réticulum endoplasmique entraîne des réponses protéiques qui déclenchent un "stress cellulaire" et l'apoptose (processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal). Les cellules épithéliales et la fonction immunitaire innée du poumon sont ainsi dérégulées, avec pour résultat une inflammation des voies respiratoires majorée et inefficace (Cantin *et al.* 2015; Cohen-Cymerknoh *et al.* 2013; Elborn 2016; Stoltz *et al.* 2015).

La dysfonction de CFTR dérégulerait également le fonctionnement de cellules non épithéliales : les cellules myéloïdes. En effet, des monocytes et des macrophages isolés chez des patients CF ont montré une diminution de leur capacité à éliminer les bactéries (Del Porto *et al.* 2011; Stoltz *et al.* 2015; Van de Weert-van Leeuwen *et al.* 2013). Enfin, l'hypersécrétion de mucus observée dans les voies respiratoires des patients CF serait en partie due à la production d'exo-produits bactériens qui induisent la production de mucines (Rose et Voynow 2006).

#### *i. Inflammation et infection*

Le mucus des patients CF est trop épais et visqueux pour être évacué correctement, ce qui induit une obstruction des voies aériennes. La clairance mucociliaire est réduite, le mucus stagne et devient un lieu opportun de colonisation pour divers pathogènes qui ne peuvent être évacués (Figure 18B).

L'épithélium pulmonaire lutte contre l'infection en provoquant une réponse inflammatoire. Chez les patients CF, l'inflammation est caractérisée par un recrutement excessif de polynucléaires neutrophiles. Cependant, ces neutrophiles recrutés ne combattent pas suffisamment efficacement l'infection, ce qui entraîne un défaut d'élimination de ces pathogènes au niveau des voies aériennes.



**Figure 18** | Schéma comparant l'épithélium pulmonaire sain (non-CF) à celui des patients atteints de mucoviscidose (CF).

**A)** Épithélium pulmonaire non-CF : CFTR assure la sortie des ions Cl<sup>-</sup>. L'hydratation du liquide de surface est optimale pour permettre la clairance mucociliaire. **B)** Épithélium pulmonaire CF : la dysfonction de CFTR entraîne une diminution des ions Cl<sup>-</sup> et une augmentation de l'entrée des ions Na<sup>+</sup>. Le liquide de surface des voies aériennes se déshydrate conduisant à un épaissement du mucus. **C)** Des cycles d'infections et d'inflammation se mettent en place avec une hypersécrétion d'IL-8 et de protéases. Ces cycles induisent une dégradation de l'épithélium pulmonaire. Adaptée de Sonnevile *et al.* 2015.

De plus, ces neutrophiles sécrètent des taux élevés de protéases qui endommagent l'épithélium pulmonaire. Les anti-protéases, dont le rôle est de palier à cet effet délétère, ne peuvent être sécrétées en quantité suffisante, submergées par les protéases produites de manière excessive (McElvaney 2016) (Figure 18C).

L'inflammation dans la mucoviscidose se distingue également par une production accrue d'interleukine 8 (IL-8) par les cellules épithéliales bronchiques (Tabary *et al.* 1998). La surproduction d'IL-8, une cytokine chémoattractante, induit une infiltration excessive de neutrophiles. (Figure 18C).

Plusieurs microorganismes pathogènes présents dans les voies aériennes des patients CF, tels que *P. aeruginosa* ont la capacité de produire des élastases (protéases), majorant le déséquilibre protéases-antiprotéases. *P. aeruginosa* perturberait ainsi la réponse immunitaire physiologique et contribuerait au développement de l'atteinte pulmonaire.

L'épithélium pulmonaire est alors progressivement dégradé par les pathogènes stagnants, ainsi que par l'inflammation peu contrôlée dans ce contexte, qui elle-même est intensifiée par l'infection. Se mettent alors en place des cycles d'inflammation et d'infections, dus aux infections répétées des voies aériennes des patients ainsi qu'à l'incapacité de la réponse inflammatoire à y pallier. Ces cycles conduisent ensuite à une dégradation progressive du tissu pulmonaire, induisant une insuffisance respiratoire, qui devient chronique et peut atteindre le stade terminal.

#### **d. Atteinte pulmonaire**

##### *i. Symptomatologie*

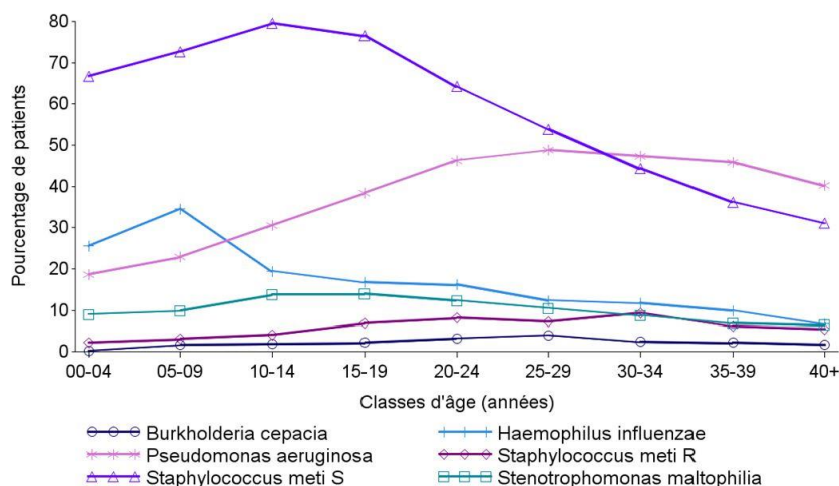
La symptomatologie de l'atteinte pulmonaire chez le jeune enfant est peu spécifique. Elle est caractérisée par des bronchites récidivantes et une toux persistante. Chez l'enfant plus âgé, la toux est grasse et chronique, les expectorations muco-purulentes, et peuvent apparaître des signes d'insuffisance respiratoire chronique tels qu'une cyanose et un hippocratisme digital.

L'atteinte respiratoire est caractérisée par des épisodes récurrents d'exacerbations respiratoires, complications aiguës les plus fréquentes chez les patients CF. Ces exacerbations consistent en une détérioration de l'état respiratoire et se manifestent par la survenue d'une toux ou sa recrudescence, des changements de l'aspect des expectorations (quantité et purulence) avec encombrement bronchique, une baisse du volume expiré maximal en une seconde (VEMS), une majoration de la dyspnée pouvant être associée à une diminution de la tolérance à l'effort et à des signes généraux (fièvre, asthénie, baisse de l'appétit, perte de poids, anorexie) (Rosenfeld *et al.* 2001).

##### *ii. Infections des voies aériennes respiratoires*

###### ***Infections bactériennes***

Avant que les pathogènes ne se développent au sein du mucus et lorsque la fonction pulmonaire est encore préservée, diverses communautés bactériennes n'entraînant pas d'infection sont prépondérantes dans le poumon (Coburn *et al.* 2015; Frayman *et al.* 2017; Pittman, Wylie, *et al.* 2017). Ensuite, les bactéries cliniquement importantes infectent les patients. Le schéma très fréquemment retrouvé est, dans un premier temps, des infection par *Haemophilus influenzae* et *Staphylococcus aureus* pendant la jeune enfance, puis par *P. aeruginosa* (Figure 19).



**Figure 19** | Prévalence des bactéries cliniquement importantes en fonction de l'âge des patients atteints de mucoviscidose. D'après Vaincre la Mucoviscidose 2021.

### ***Infections virales***

Les virus colonisent également le mucus des patients CF. Le virus respiratoire syncytial (VRS) est le plus fréquemment rencontré, suivi des virus influenza A et B. Avec une prévalence plus basse, les virus parainfluenza et les adénovirus sont également observés chez les patients. Les infections virales jouent un rôle dans la détérioration de la fonction respiratoire et favoriseraient l'adhésion des bactéries aux tissus des voies respiratoires (Lipuma 2010; van Ewijk *et al.* 2005).

### ***Infections fongiques***

La dégradation de l'épithélium pulmonaire facilite l'adhésion des spores fongiques inhalées, et les modifications physico-chimiques du mucus en font un environnement propice pour la croissance de ces micro-organismes. Bien qu'une diversité fongique soit présente dans les voies aériennes des patients CF, *Aspergillus fumigatus* est le champignon filamenteux le plus fréquent (21,9 % des patients, Vaincre la Mucoviscidose 2021), suivi des espèces du genre *Scedosporium* et à un moindre degré *Aspergillus terreus*. Des levures sont aussi présentes, avec au premier rang d'entre elles *Candida albicans*.

#### ***iii. Pathologies respiratoires associées***

### ***Hémoptysie***

Des épisodes d'hémoptysie, correspondant à l'expectoration de sang provenant des voies aériennes sous glottique au décours d'un effort de toux, sont rapportés chez 5,7 % des patients

CF en France en 2019 (Vaincre la Mucoviscidose 2021). Leur incidence augmente avec la sévérité de l'atteinte respiratoire et avec l'âge des patients (Flume *et al.* 2010). Au niveau physiopathologie, l'hémoptysie est associée à l'hypertrophie des artères bronchiques. Elle est provoquée par l'hypersécrétion de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire par les cellules épithéliales bronchiques en réponse à l'infection bactérienne, notamment à *P. aeruginosa* (C. Martin *et al.* 2011).

Les hémoptysies de faible abondance sont souvent des évènements bénins. L'évolution est néanmoins imprévisible et la survenue d'une hémoptysie massive est redoutée. L'incidence annuelle moyenne des hémoptysies massives est estimée à 0,87 % et surviendrait chez 4,1 % des patients (Flume, Yankaskas, *et al.* 2005). Leur gravité réside dans le fait qu'elles peuvent conduire à une inondation des alvéoles pulmonaires, l'asphyxie et au décès du patient.

### ***Pneumothorax***

En France, l'incidence annuelle du pneumothorax est de 0,5 % chez les patients CF (Vaincre la Mucoviscidose 2021). Il se définit par la présence d'air entre les deux couches de la plèvre (membrane qui recouvre les poumons et tapissant également l'intérieur de la paroi thoracique), entraînant un collapsus pulmonaire partiel ou complet. Cette complication respiratoire aiguë aggrave le pronostic des patients avec une augmentation de la morbidité et du taux de mortalité à deux ans (Flume, Strange, *et al.* 2005).

### ***Aspergillose broncho-pulmonaire allergique***

La particularité des infections respiratoires à *Aspergillus* est que 8,7 % (Vaincre la Mucoviscidose 2021) des patients vont développer une hypersensibilité et développer une réponse allergique aux spores : c'est l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA). L'ABPA est caractérisée par un asthme mal contrôlé et des infiltrats pulmonaires récidivants. Au niveau pulmonaire, l'ABPA se manifeste par une hyperactivité bronchique, une toux productive et peut se compliquer par une hémoptysie.

## **e. Déclin de la fonction respiratoire**

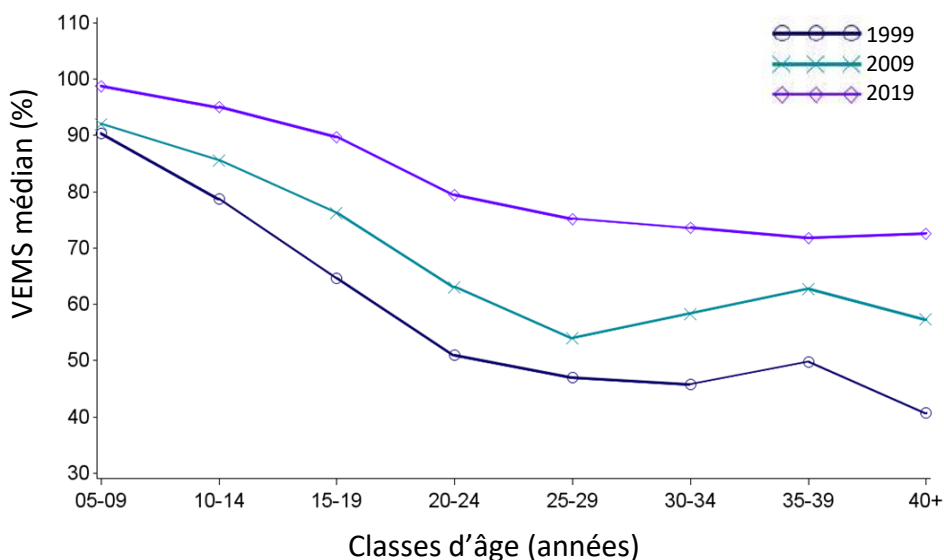
### ***i. Déclin et épreuve fonctionnelle respiratoire***

La fonction respiratoire est mesurée lors d'une exploration fonctionnelle respiratoire (EFR), examen de référence du suivi des patients CF. La fonction respiratoire est principalement quantifiée par le VEMS qui fait partie des mesures des débits respiratoires et reflète le degré d'obstruction.

Le VEMS est limité quantitativement par la physiologie, on ne peut expirer plus que ce qui peut être inspiré par les poumons. Il est mesuré en litres par minute et souvent transformé par des équations de régression en pourcentage prédit (VEMSpp). Au cours de ma thèse, j'ai utilisé la méthode dite «GLI», basée sur les équations de référence de la *Global Lung Initiative* et approuvée par la majorité des sociétés savantes. Les équations de référence ont été établies en 2012 à partir des covariables suivantes : âge, sexe, taille, ethnie et VEMS ; elles sont issues d'une coopération internationale et dites universelles (Quanjer *et al.* 2012).

L'altération du tissu pulmonaire entraîne un déclin progressif de la fonction respiratoire. Longtemps estimé entre -1 % et -3 % par an (Konstan *et al.* 2007; van Horck *et al.* 2018), le déclin de la fonction respiratoire tends à se réduire ces 20 dernières années (Figure 20).

Entre 2019 et 1999, le VEMSpp médian des patients âgés de 6 à 19 ans a augmenté de 16 points de VEMSpp et de 25,9 points chez les plus de 20 ans (Figure 20). En 2019, le VEMSpp moyen chez les 3735 patients de plus de 20 ans était de 73 %, cependant 21,3 % des patients (n = 796) étaient transplantés pulmonaire (Vaincre la Mucoviscidose 2021).



**Figure 20** | Évolution de la fonction respiratoire chez les patients atteints de mucoviscidose en France. Estimations des médianes du volume expiratoire maximal par seconde exprimé en pourcentage prédit (VEMS %) par classe d'âge. Les VEMS (%) collectés étaient le dernier de l'année pour les années 1999 et 2009 et le meilleur de l'année pour 2019. D'après Vaincre la Mucoviscidose 2021.

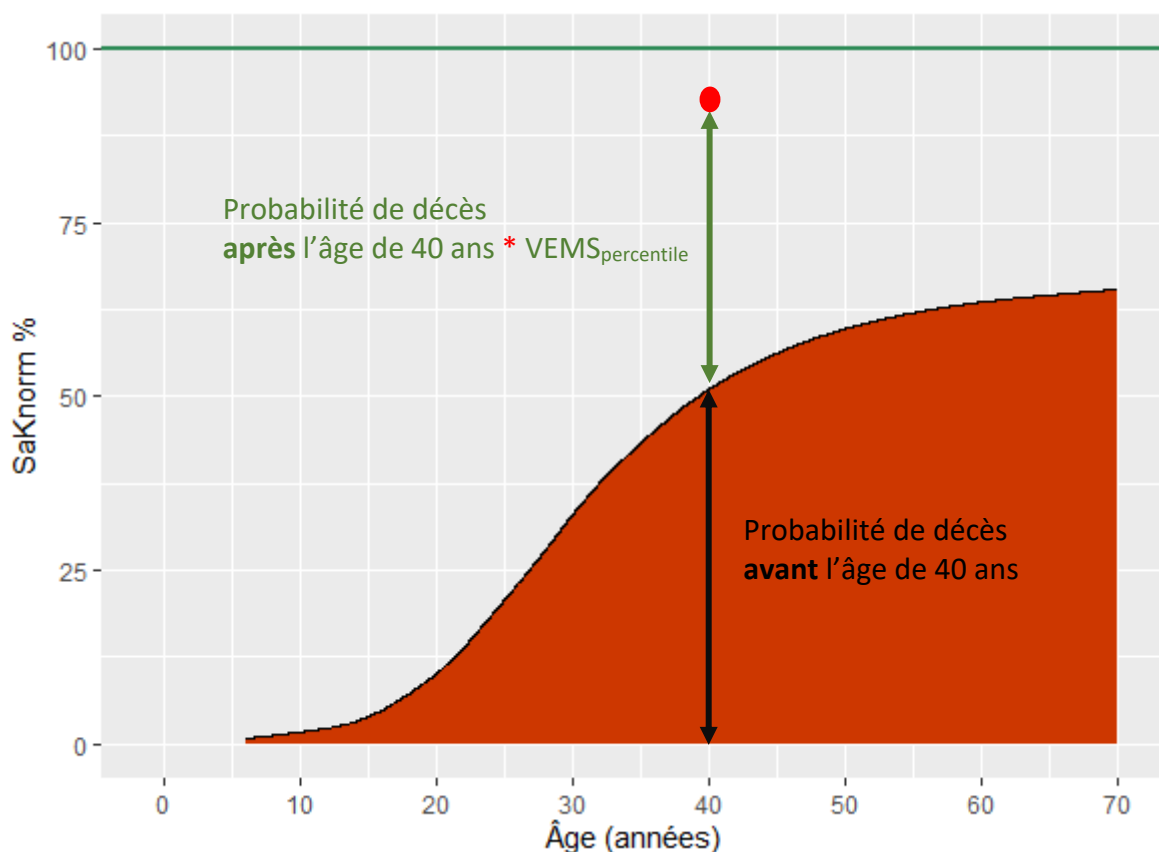
## ii. Sévérité de l'atteinte respiratoire

La sévérité de l'atteinte respiratoire chez les patients atteints de la mucoviscidose peut se mesurer également par les valeurs de SaKnorm Z-value (*Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype*), qui est une transformation du VEMS avec normalisation et

ajustement sur la mortalité dans la population CF (Kulich *et al.* 2005; Taylor *et al.* 2011). Cet indicateur quantitatif permet une comparaison directe des phénotypes pulmonaires entre les patients atteints de mucoviscidose en prenant en compte la progression de la maladie et la survie différentielle. Le SaKnorm se décompose de la manière suivante (Figure 21) :

$$\text{SaKnorm} = P(\text{décès} \leq \hat{\text{âge}}_{\text{patient}}) + P(\text{décès} \geq \hat{\text{âge}}_{\text{patient}}) \times \text{VEMS}_{\text{percentile}}$$

Les probabilités de décès ont été calculées dans la population CF (Kulich *et al.* 2005; Taylor *et al.* 2011). Le  $\text{VEMS}_{\text{percentile}}$  est calculé à partir d'équations de références spécifiques à la mucoviscidose qui permettent un ajustement du VEMS en fonction de la taille, du sexe, et de l'âge du patient (Kulich *et al.* 2005; Taylor *et al.* 2011) (Figure 21).



**Figure 21** | Mesure de la sévérité de l'atteinte respiratoire : calcul du SaKnorm spécifique à la mucoviscidose.

La mesure de SaKnorm d'un patient CF de 40 ans se calcule donc de la manière suivante :

$$\text{SaKnorm}_{40 \text{ ans}} = \text{probabilité de décès avant l'âge de 40 ans} + (\text{probabilité de décès après l'âge de 40 ans} * \text{VEMS}_{\text{percentile}})$$

- Un patient de 40 ans avec un SaKnorm à 100 % (équivalent à un SaKnorm Z-value =0) correspond donc à un  $\text{VEMS}_{\text{percentile}}$  égal à 1.

- Un patient de 40 ans avec un SaKnorm inférieure à 100 % (équivalent à un SaKnorm Z-value  $< 0$ ) correspond donc à n patients ayant un VEMS diminué comparativement aux autres patients CF de son âge (  $VEMS_{\text{percentile}} < 1$ )

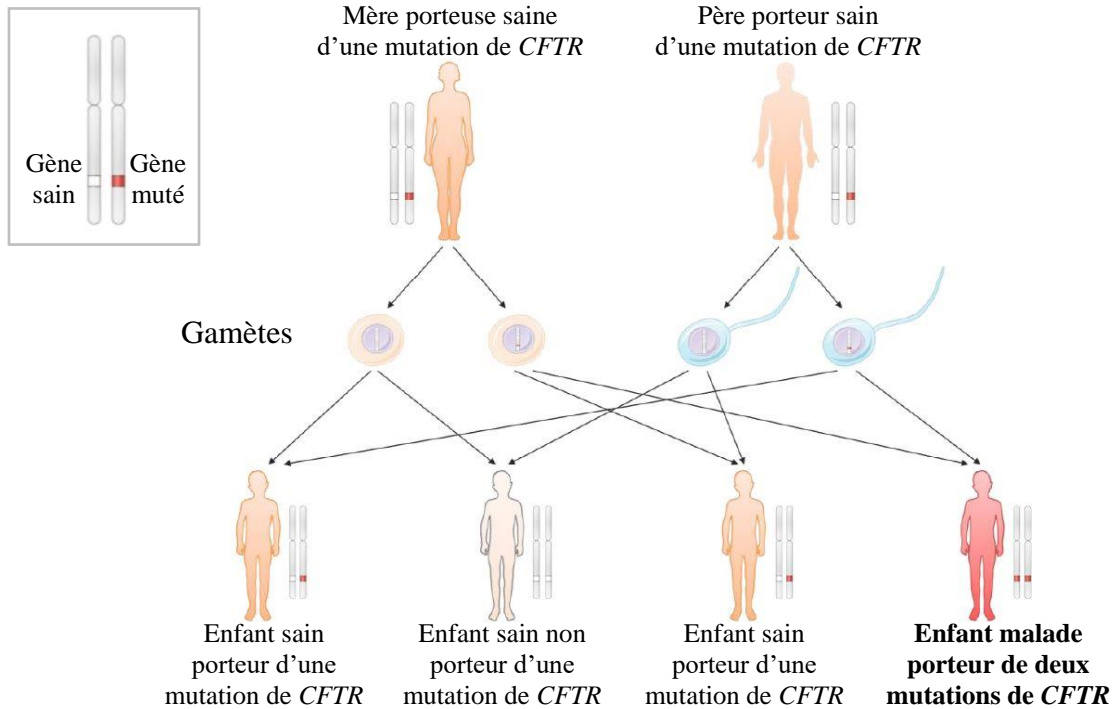
Le SaKnorm Z-value est distribué autour de 0 (entre -3 et 3 généralement). Un patient avec une valeur de SaKnorm Z-value de -1 a une fonction respiratoire plus sévère et correspond approximativement à une diminution de 25 points de VEMSpp pour un patient CF de 18 ans se situant au 50<sup>ème</sup> percentile pour la taille.

### III. Prise en charge de la mucoviscidose

#### 1. Dépistage, diagnostic et suivi des patients

##### a. Dépistage et diagnostic

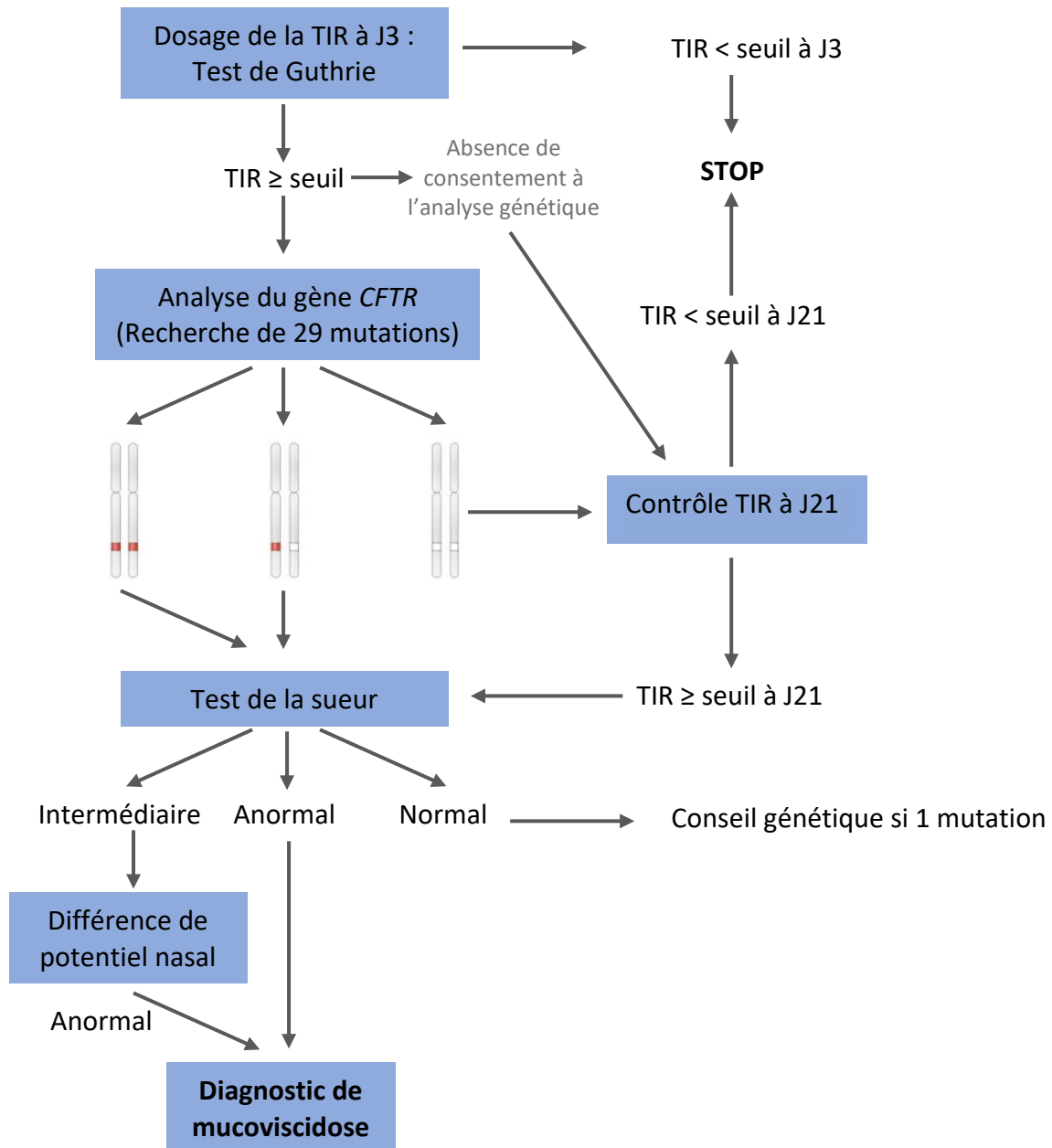
Les mutations du gène *CFTR* sont transmises à la descendance de façon autosomique récessive (Figure 22).



**Figure 22** | Mode de transmission autosomique récessif de la mucoviscidose.

Un premier consensus a établi les critères diagnostiques de la mucoviscidose en 1998 (Rosenstein et Cutting 1998). Le diagnostic repose sur l'association : 1) de signes cliniques évocateurs, d'antécédents de mucoviscidose dans la fratrie, et 2) d'un test de la sueur positif à deux reprises, et/ou 3) de la présence de deux mutations du gène *CFTR*.

Le test de Guthrie, dépistage néonatal systématique mis en place en France depuis plusieurs décennies pour d'autres pathologies, est utilisé depuis 2002 pour le dépistage de la mucoviscidose et suit un protocole bien précis (Figure 23).



**Figure 23** | Dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France.  
TIR : trypsine immuno-réactive, adaptée de Munck et Roussey 2008

### Dépistage : dosage de la TIR et détection des mutations de *CFTR*

La stratégie de dépistage s'effectue en deux temps. Elle repose sur le dosage de la trypsine immuno-réactive (TIR) dans un échantillon de sang prélevé au 3<sup>ème</sup> jour de vie. Un dosage élevé de TIR est le reflet d'une obstruction des voies pancréatiques pendant la vie fœtale et les premiers mois de vie. Le seuil est de 60 µg/L, en cas de résultat supérieur, les 29 mutations de *CFTR* le plus fréquentes sont alors recherchées (Kit ELUCIGENE CF30v2). Les nourrissons

sont ensuite convoqués par un des 47 centres de ressources et de compétences de la mucoviscidose (CRCM) français afin de réaliser le diagnostic par le test de la sueur (Figure 23).

### **Diagnostic : test de la sueur**

La confirmation du diagnostic se fait par un test de la sueur. Les patients atteints de mucoviscidose ont une sueur salée et très riche en ions  $\text{Cl}^-$ . L'altération de la protéine CFTR entraîne une absence ou une diminution de l'absorption des ions  $\text{Cl}^-$  par les cellules des glandes sudoripares. Le test de la sueur consiste en un dosage de la concentration en ions  $\text{Cl}^-$  de la sueur des patients. Deux tests sont réalisés pour confirmer un diagnostic positif. Une concentration supérieure à 60 mmol/L est en faveur d'un diagnostic de mucoviscidose ; et inférieure à 30 mmol/L infirme le diagnostic. Une concentration intermédiaire comprise entre 30 et 60 mmol/L est douteuse et nécessite, si aucune ou une seule mutation du gène *CFTR* a été détectée, une recherche étendue des mutations de *CFTR* et un autre test de la sueur (Figure 23).

### **Autre test**

Il existe un autre test de diagnostic pour les formes atypiques de mucoviscidose pour les patients ayant des tests de la sueur intermédiaires (Figure 23). Il consiste à mesurer la différence de potentiel transépithélial (DDP) entre la peau et la muqueuse nasale (Knowles *et al.*, 1995). La valeur de la DDP est significativement augmentée chez les patients atteints de mucoviscidose. Cet examen est simple et peu invasif, mais les résultats peuvent être difficilement interprétables, en particulier en cas d'inflammation de la muqueuse nasale et/ou de la présence de polypes nasaux (Knowles *et al.* 1995).

## **b. Les CRCM**

### *i. Les CRCM*

Grâce au dépistage néonatal systématique, la prise en charge des patients CF est très précoce. Les nourrissons sont adressés dès leur premier mois de vie vers un centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose (CRCM). Un maillage national est possible grâce aux 47 CRCM présents sur tout le territoire métropolitain (45 centres) et à l'île de la Réunion (2 centres). À ce jour, il existe 17 centres pédiatriques, 14 centres adultes et 16 centres « mixtes », prenant en charge enfants et adultes. Ils ont été institués par circulaire ministérielle en 2001.

La mucoviscidose étant une maladie à large spectre phénotypique, les CRCM sont des réseaux de professionnels ayant pour objectif l'organisation structurée des soins. De nombreux corps professionnels dans différentes disciplines sont regroupés. L'équipe pluridisciplinaire est

composée au minimum des trois compétences suivantes : médicale, infirmière et kinésithérapeute. D'autres professionnels jouent également un rôle très important dans la prise en charge (diététicien(ne), psychologue, assistante sociale), leur temps de présence dans le centre étant adapté au nombre et aux besoins des patients. De plus, le centre collabore avec diverses spécialités médicales, notamment la diabétologie, la gastro-entérologie-nutrition, l'ORL, l'hépatologie et la radiographie, qui sont impliquées dans le suivi clinique des patients. Enfin, un généticien clinicien doit pouvoir assurer le conseil génétique des familles des patients. Les CRCM sont situés en milieu hospitalier afin de bénéficier d'un plateau technique permettant la réalisation des examens fonctionnels, radiographiques et biologiques.

Au-delà de l'hôpital, il est à souligner l'importance du réseau de liaison de ville dans la prise en charge quotidienne des patients, avec la collaboration des professionnels libéraux (médecin traitant, kinésithérapeute, pharmacien, infirmière libérale, ...).

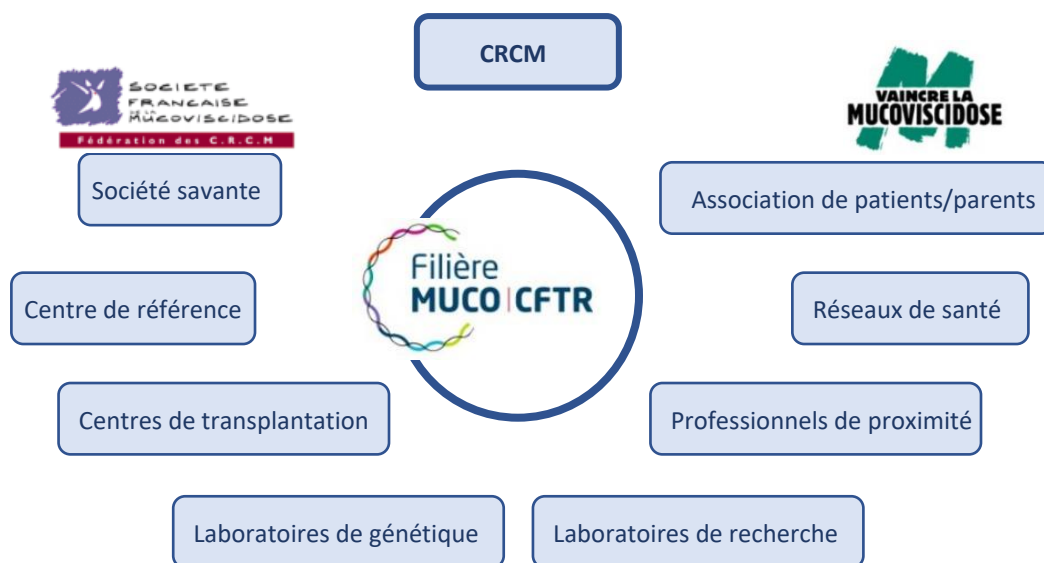
#### *ii. CRCM Mucoviscidose et filière Muco-CFTR*

En 2017, l'ensemble des centres de soins de mucoviscidose ont été relabellisés afin de mieux structurer la prise en charge des patients. Cette nouvelle labellisation a abouti à la création d'un centre unique de référence maladie rare (CRMR) Mucoviscidose, comprenant un centre coordonnateur, 4 centres constitutifs et les 42 autres CRCM. Au-delà de leur fonction de CRCM, les centres coordonnateur et constitutifs apportent une complémentarité d'expertise, de recours, de recherche, d'enseignement et de formation.

La filière Muco-CFTR est un réseau de soins et de recherche dédié à la mucoviscidose, dont les CRCM sont des acteurs. Ce réseau français institutionnalise le partenariat entre association Vaincre La Mucoviscidose (pour la représentation des parents et des patients) et la Société Française de la Mucoviscidose pour représentation des professionnels (Figure 24). De nombreux autres acteurs et partenaires sont impliqués dans la filière Muco-CFTR, notamment les laboratoires de recherche et de génétique (Figure 24).

Le CRMR Mucoviscidose et la filière Muco-CFTR ont quatre grands axes de missions :

- Améliorer la prise en charge des patients CF en impulsant et coordonnant les actions,
- Développer l'enseignement, la formation et l'information,
- Favoriser et valoriser la continuité entre les différents types de recherche (fondamentale, translationnelle et clinique),
- Favoriser les interactions avec les autres pays européens et internationaux.



**Figure 24** | Filière Muco-CFTR : acteurs et partenaires.

### c. Le PNDS

#### i. Référentiels européens et internationaux

À partir des années 1990, plusieurs référentiels nationaux et internationaux ont émergés afin d'établir des consensus pour la prise en charge des patients. Ils étaient fréquemment orientés vers des phénotypes spécifiques, tels que les complications de l'atteinte respiratoire (Schidlow *et al.* 1993), l'atteinte digestive (Société française de pédiatrie 2003) ou la prise en charge thérapeutique de l'infection par *P. aeruginosa* (Doring *et al.* 2000).

En 2005, la société européenne de la mucoviscidose (ECFS pour *European cystic fibrosis society*) a proposé un premier consensus européen. Ce référentiel abordait de nombreux axes de la prise en charge tels que, les infrastructures de soins (définition des centres soins dédiés à la mucoviscidose et les professionnels de santé qui le composent), les modalités de prise en charge (première visite après le diagnostic, fréquence des visites et des examens) ou la prise en charge des complications (nutritionnelle, osseuse, génitale, etc...). Ce référentiel évoquait également l'éducation thérapeutique et la standardisation des bases de données (E. Kerem *et al.* 2005).

Dix ans plus tard, une conférence européenne a été organisée afin de le compléter et d'actualiser ce consensus. Trois groupes de travail ont ensuite élaborés des guides, publiés sous la forme de 3 articles publiés dans une édition spéciale du *Journal of Cystic Fibrosis* (Castellani *et al.* 2014). Les 3 thématiques abordées étaient :

- Les bonnes pratiques cliniques (A. R. Smyth *et al.* 2014),
- La structure et l'organisation des centres de soins dédiés à la mucoviscidose (Conway *et al.* 2014) et,
- La gestion de la qualité des soins (Stern *et al.* 2014).

L'ECFS et les groupes de réflexion et de travail ne cessent de contribuer à l'amélioration des soins et de la prise en charge des patients (J. S. Elborn, S. C. Bell, *et al.* 2016). Une révision du référentiel de 2014 a été réalisée en 2018, en raison de l'évolution rapide des connaissances sur la mucoviscidose et du développement de nouvelles thérapeutiques visant la protéine CFTR (Castellani *et al.* 2018).

Il est à souligner que de nombreux acteurs de la filière Muco-CFTR interagissent avec l'ECFS, notamment dans l'élaboration de ces référentiels ; mais également au travers leur participation au registre européen de la mucoviscidose, le réseau de recherche clinique européen « ECFS-Clinical Trial Network » et au réseau de référence européen des maladies respiratoires « ERN-LUNG ».

#### *ii. Référentiel français : le PNDS*

L'élaboration des référentiels européens a fortement contribué à la mise en place d'un consensus national français. Ainsi, le protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) est un référentiel ayant pour but d'optimiser et d'harmoniser la prise en charge des patients et standardise leur parcours de soin (HAS 2017).

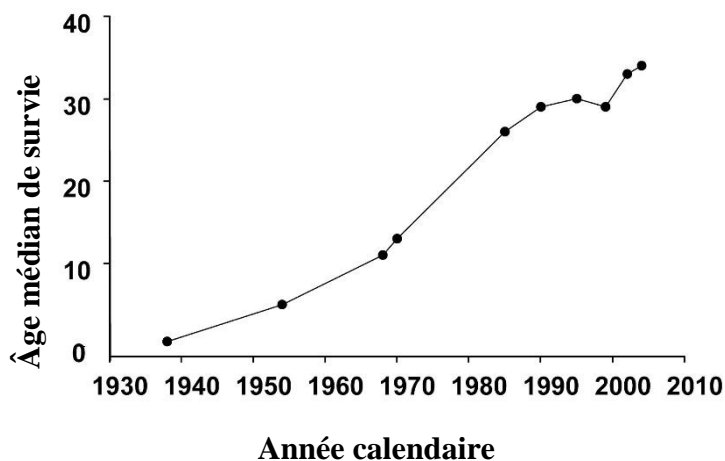
Dans le cas d'une mucoviscidose dépistée à la naissance, le suivi est réalisé au CRCM tous les mois jusqu'à 6 mois, puis tous les 2 mois jusqu'à 1 an et enfin tous les 3 mois après 1 an. Ensuite, le suivi du patient doit comporter à minima une consultation trimestrielle et un bilan annuel complet en hôpital de jour ou hospitalisation de courte durée.

À chaque visite trimestrielle, sont évalués l'état général, nutritionnel (mesures anthropométriques) et respiratoire (avec une spirométrie forcée mesurant le VEMS à partir de l'âge de 5 ans). Une évaluation microbiologique est systématiquement réalisée avec un examen cytobactériologique des crachats (ECBC) pour rechercher des pathogènes respiratoires.

Lors des bilans annuels s'ajoutent des consultations ORL, des examens d'imagerie (radiographie de thorax et/ou scanner thoracique, échographie doppler hépatique et digestive) et un bilan sanguin. Un diabète est recherché à partir de l'âge de 10 ans (ou plus tôt en cas de signes d'appel ou de gravité), le test diagnostique de référence étant l'hyperglycémie provoquée

par voie orale (HGPO). Une ostéodensitométrie est recommandée à partir de 8 ans à une fréquence dépendant des résultats obtenus.

L'espérance de vie à la naissance des patients atteints de mucoviscidose a considérablement augmenté, passant de six mois à la fin des années 1930 à près de 50 ans aujourd'hui (48,4 ans en 2019, Cystic Fibrosis Foundation 2020) (Figure 25). De multiples facteurs sont impliqués, tels que la mise en place des CRCM et du diagnostic précoce, l'amélioration des soins au cours des 80 dernières années et le développement des stratégies thérapeutiques.



**Figure 25** | Évolution de l'âge médian de survie des patients atteints de mucoviscidose depuis 1938. D'après Davis 2006.

## 2. Stratégies thérapeutiques

Jusqu'à récemment, la prise en charge thérapeutique des patients était essentiellement *symptomatique*, mais les efforts de la recherche et du développement dans la mucoviscidose ont permis l'essor de nouvelles stratégies thérapeutiques dites *curatives*.

La mucoviscidose fait partie de la liste des affections longues durée, les patients bénéficient donc d'une prise en charge à 100 % par l'Assurance maladie et le coût de la prise en charge des patients n'a cessé d'augmenter ces deux dernières décennies. Entre 2000 et 2003, le coût annuel aurait augmenté d'environ 38 % suite à la mise en place des référentiels et au changement des pratiques qui en découle ; notamment en raison de l'augmentation de la fréquence des visites des patients au sein des CRCM et de l'utilisation de nouvelles thérapeutiques symptomatiques de l'atteinte respiratoire (Huot *et al.* 2008).

En 2007, l'Assurance Maladie a estimé le coût annuel moyen des montants remboursés à 21 500 euros par patient (L'assurance maladie *et al.* 2007). Le premier poste de dépense était le médicament (37 %), devant l'hospitalisation (34 %), les dispositifs médicaux (11 %) et la kinésithérapie (10 %).

Pour l'année 2017, il a été estimé un coût annuel de la prise en charge à plus de 44 500 euros par patient, soit une augmentation d'environ 215 % comparativement à 2006 (Durieu *et al.* 2021). Cette forte augmentation des coûts serait due essentiellement à l'émergence des nouvelles thérapeutiques dites *curatives*, notamment l'accès au traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor (Durieu *et al.* 2021).

### **a. Prise en charge nutritionnelle et digestive**

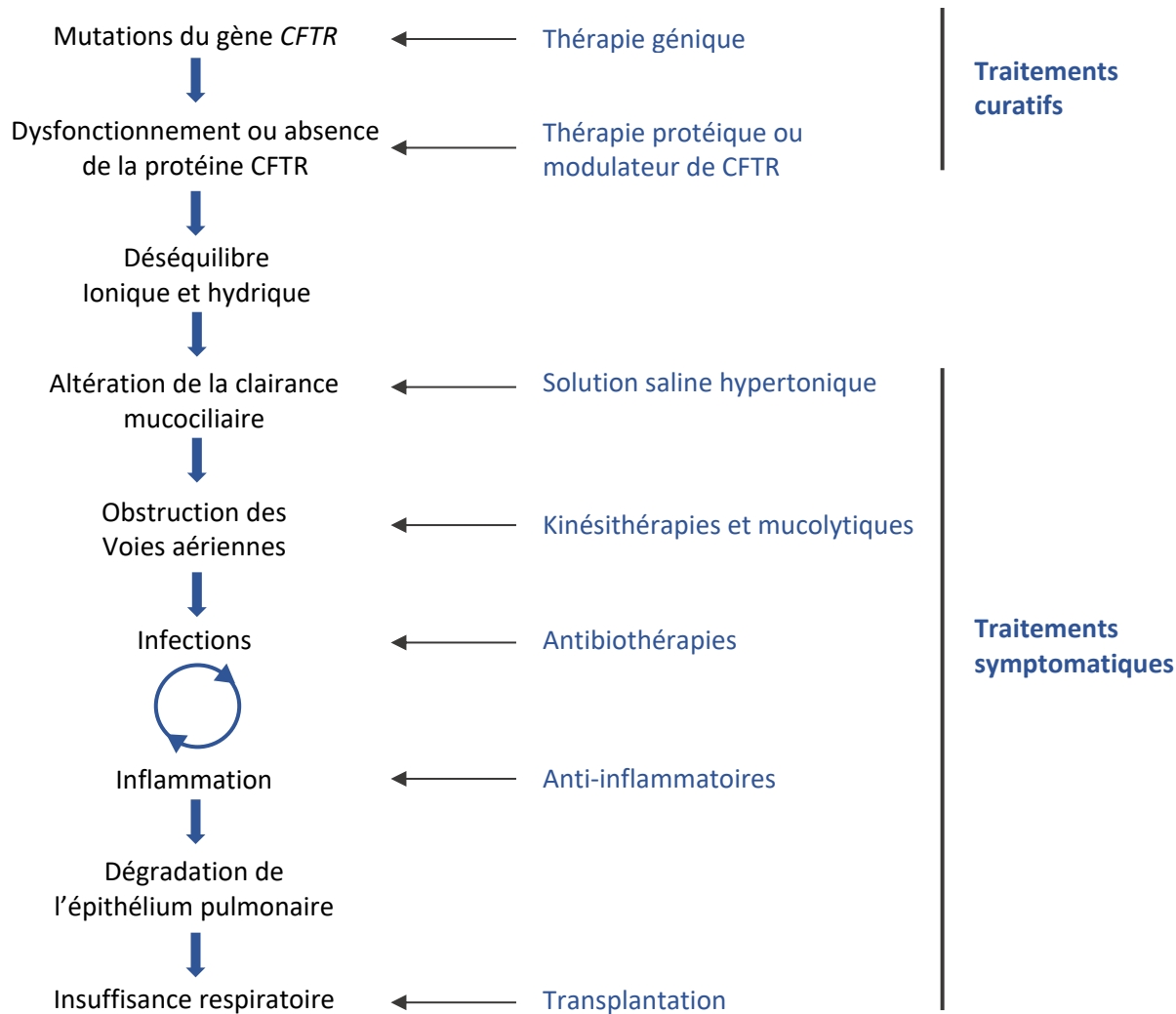
Du fait de la malabsorption et des carences alimentaires, une alimentation hypercalorique est préconisée. L'alimentation est la plupart du temps supplémentée en vitamines liposolubles (A, D, E, K). En cas de dénutrition sévère, une assistance nutritionnelle peut être nécessaire.

Pour l'atteinte pancréatique endocrine, la thérapeutique repose initialement sur le contrôle de l'alimentation (glucides de faible index glycémique) pour pallier à l'intolérance au glucose. Puis, la CFRD étant insulino-insuffisante, le traitement du diabète est l'insulinothérapie.

La fonction hépatique peut être améliorée par l'administration d'acide ursodésoxycholique, bien que son effet reste controversé (Boelle, Debray, Guillot, Clement, *et al.* 2019; K. Cheng *et al.* 2017). En cas d'atteinte sévère, une transplantation hépatique peut être indiquée. En 2019, 3 % (n = 28) des 7280 patients recensés ont bénéficié d'une greffe de foie (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

### **b. Prise en charge de l'atteinte pulmonaire**

Malgré l'amélioration de l'espérance de vie, l'insuffisance respiratoire reste la première cause de décès chez les patients CF en Europe (Zolin *et al.* 2020). Ralentir la progression de l'atteinte pulmonaire reste donc l'axe majeur de la prise en charge de la mucoviscidose. Les nombreuses thérapeutiques visent les différentes composantes de l'atteinte pulmonaire et se classent en trois groupes : traitements de la clairance mucociliaire, les antibiotiques et les anti-inflammatoires (Figure 26).



**Figure 26** | Prise en charge thérapeutique de l'atteinte pulmonaire chez les patients mucoviscidiques.

### *i. Amélioration de la clairance mucociliaire*

L'amélioration de la clairance mucociliaire peut se faire de façon mécanique ou pharmaceutique. Le traitement mécanique consiste en des séances de kinésithérapie à visée respiratoire, pluri-hebdomadaire, ayant pour but d'évacuer le mucus. La kinésithérapie aide également à prévenir les troubles musculo-squelettiques.

Les traitements pharmacologiques contribuant à amélioration de la clairance mucociliaire sont administrés par voie inhalée et sont de deux types : la DNase recombinante humaine (dornase alpha ou Pulmozyme®) et le sérum salé hypertonique (solution de chlorure de sodium à 7% ou Nebusal®). La dornase alpha est un mucolytique, dégradant l'ADN (acide désoxyribonucléique) libéré au niveau des voies aériennes par les cellules apoptotiques comme les neutrophiles. Le sérum salé hypertonique permet d'augmenter l'hydratation des voies aériennes et donc la clairance mucociliaire (Figure 26). En phase de développement clinique, trois molécules sont

en cours d'essais, deux visant la fonction canal sodium et l'autre la fonction canal chlorure afin d'améliorer la clairance mucociliaire (<https://www.cff.org/Trials/Pipeline>).

## *ii. Traitement des infections*

### ***Infections bactériennes***

L'infection bronchique bactérienne survient précocement dans la vie des patients, en général dès les premières semaines de vie. Elle est initialement aiguë, avec la possibilité d'éradiquer les bactéries, puis devient fréquemment chronique, avec la persistance de bactéries malgré des traitements antibiotiques répétés. Les bactéries potentiellement pathogènes sont multiples et sont spontanément ou deviennent résistantes à de multiples antibiotiques. Le dépistage de ces germes est une nécessité reconnue dans la prise en charge des patients. Des examens cytbactériologiques des crachats (ECBC) sont donc réalisés de manière systématique en cas d'infection. La sensibilité aux antibiotiques des germes isolés est testée par la réalisation d'un antibiogramme (TSA pour test de sensibilité aux antibiotiques). Les référentiels recommandent l'utilisation du TSA pour sélectionner une antibiothérapie adéquate et limiter l'apparition de résistances. Cependant, l'utilisation du TSA dans le contexte de la mucoviscidose reste controversée (Cogen *et al.* 2019; VanDevanter *et al.* 2021; Zemanick *et al.* 2020). En effet, l'efficacité clinique des traitements antibiotiques chez les patients CF ne serait que faiblement prédite par le TSA (Somayaji *et al.* 2019). Les antibiotiques peuvent être administrés par voie orale, inhalée ou intra-veineuse (IV) (Figure 26).

## *iii. Traitement de l'inflammation*

L'inflammation des voies aériennes est également précoce et est accentuée par les infections à répétition avec une infiltration massive des polynucléaires neutrophiles. Les traitements anti-inflammatoires comme la corticothérapie par voie inhalée ou voie générale permettent de diminuer le recrutement de ces polynucléaires neutrophiles et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (Figure 26).

Certains antibiotiques possèdent aussi des propriétés anti-inflammatoires tels que les macrolides, et en particulier l'azithromycine. Ce traitement permet une amélioration de la fonction respiratoire et une diminution des exacerbations pulmonaires (Southern 2012). Les propriétés anti-inflammatoires de l'azithromycine semblent être associées à une modulation des efflux chlorures de la protéine CFTR (Saint-Criq *et al.* 2011; Saint-Criq *et al.* 2012).

#### *iv. Traitement des pathologies respiratoires associées*

##### ***Hémoptysie***

La prise en charge est réalisée au cas par cas en fonction de la sévérité de l'hémoptysie. Elle peut comprendre une hospitalisation pour surveillance, la mise en place d'une antibiothérapie, une artériographie bronchique avec une éventuelle embolisation artérielle bronchique.

##### ***Pneumothorax***

Le pneumothorax nécessite le plus souvent une hospitalisation pour surveillance, mise en place d'un traitement antibiotique et maintien d'un drainage bronchique « expert » selon l'importance du décollement pleural. Selon le terrain, l'importance, la tolérance et l'évolution, peut se justifier un drainage simple, voire une symphyse médicale ou chirurgicale vidéo-assistée ou par thoracotomie.

##### ***ABPA***

Le traitement de référence de l'ABPA est la corticothérapie par voie orale avec une durée moyenne d'au moins deux mois. Cependant, il existe des formes corticodépendantes. Des traitements antifongiques sont souvent prescrits, notamment les dérivés azolés tels que l'itraconazole qui est plus utilisé en France. L'omalizumab (anti IgE) a été rapporté de façon observationnelle comme traitement efficace dans des formes non contrôlées par les corticoïdes ou des formes cliniques d'asthme, avec une épargne corticoïde (Nove-Josserand *et al.* 2017; Perisson *et al.* 2017). Les bronchodilatateurs et la corticothérapie inhalée sont parfois nécessaires, en particulier lors des ABPA avec asthme.

#### *v. Traitement de l'insuffisance respiratoire*

Une oxygénothérapie à bas débit peut être prescrite. La supplémentation en oxygène à l'effort prévient la désaturation, apporte un confort respiratoire mais n'améliore pas la performance physique.

La transplantation pulmonaire représente encore la seule issue à l'insuffisance respiratoire grave engageant le pronostic vital. En 2019, 80 patients en ont bénéficié en France (Vaincre la Mucoviscidose 2021). Elle permet d'améliorer la survie et la qualité de vie des patients atteints de mucoviscidose mais ne permet pas de les guérir.

### **c. Prise en charge des autres atteintes**

Dans le cas d'une atteinte osseuse, les patients sont supplémentés en vitamine D et en biphosphonates et sont encouragés à pratiquer une activité physique (Spielberg et Clancy 2016). Cette prise en charge peut être complétée par une kinésithérapie, des anti-inflammatoires non stéroïdiens et / ou des antalgiques afin de réduire la douleur.

Sur le plan ORL, la prise en charge de la sinusite chronique et de la polypose nasale consiste en des lavages (au sérum iso ou hypertonique), des sprays corticoïdes et/ou antibiotiques, et peut nécessiter une intervention chirurgicale.

Pour pallier à l'atteinte génitale et à l'infertilité, les patientes peuvent se voir proposer une stimulation ovarienne et l'ensemble des patients une aide à la procréation médicalement assistée. Il est à noter que la mucoviscidose est une indication au diagnostic pré-implantatoire.

### **d. Nouvelles stratégies thérapeutiques**

L'essor du développement et de la recherche a permis l'émergence de nouvelles thérapies dites *curatives* dont les deux axes d'innovation sont la thérapie génique et la thérapie protéique.

#### *i. Thérapie génique*

La thérapie génique consiste à remplacer le gène *CFTR* muté par un gène *CFTR* sain dans les cellules (Figure 26). Deux types de vecteurs peuvent être utilisés : les vecteurs non viraux (le plus souvent des liposomes) et les vecteurs viraux où le gène est intégré dans le système de réplication d'un virus incompetent. Cependant, les vecteurs viraux peuvent induire une réponse inflammatoire, tandis que les vecteurs non viraux, moins immunogènes, seraient moins efficaces pour le transfert du gène sain (Lee *et al.* 2016). En 2012-2013, un essai clinique de phase IIB a consisté en l'administration par nébulisations de plasmides contenant de l'ADNc *CFTR* couplé à un liposome, tous les 28 jours pendant un an. L'étude conclu à une amélioration modeste de la fonction respiratoire des patients CF (Alton *et al.* 2015). De nouveaux agents de transfection sont visés dans les études actuelles afin de parvenir à des effets cliniques plus bénéfiques.

Les thérapies qui visent non pas l'ADN mais les ARNm consistent à insérer des copies correctes d'ARNm dans les cellules. Ceci est réalisable grâce à des oligonucléotides, de courtes séquences d'ARN simple ou double brin, généralement longues de 15-40 bases. Ces séquences sont modifiées pour être plus stables et pour augmenter l'absorption dans la cellule. Ce type de

thérapie ne nécessite pas de vecteurs ou d'enveloppe pour leur utilisation et n'altère pas les cellules.

La molécule MRT5005, développée par Translate Bio, est la première thérapie à ARN administrée aux patients CF par nébulisations répétées. Dans son communiqué de mars 2021, Translate bio a annoncé les résultats des deux premières études, l'une de première administration aux patients CF et l'autre de recherche de dose. Il n'a pas été observé une amélioration du VEMSpp chez les 30 patients inclus (<https://investors.translate.bio/news-releases/news-release-details/translate-bio-announces-results-second-interim-data-analysis>).

Cette thérapie est toujours en cours d'essai de phase 1, actuellement chez 40 patients CF porteurs de deux mutations de classes I et/ou II, les résultats sont attendus pour décembre 2021 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03375047>).

## ii. *Thérapie protéique ou modulateurs de CFTR*

Les thérapies qui visent à corriger la protéine s'appellent les modulateurs de CFTR. Les avancées thérapeutiques dans ce domaine sont majeures avec déjà quatre thérapies qui ont obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France à ce jour. Ces thérapies sont de deux classes : *potentiateur* et *correcteur*.

### ***Traitement potentiateur***

Le traitement potentiateur vise à activer les canaux CFTR déficients déjà positionnés à la surface des cellules (mutations dites « *gating* », classe III). Il augmente la probabilité d'ouverture du canal CFTR à la membrane. L'ivacaftor (Kalydeco® ou VX-770) est le premier potentiateur à avoir eu une autorisation de mise sur marché en juillet 2012. Initialement indiqué pour les patients porteurs d'au moins une mutation G551D, l'autorisation a été étendue à d'autres mutations *gating*. Il a été montré que l'ivacaftor améliore significativement l'état de santé des patients avec une amélioration de la fonction respiratoire, se manifestant par une augmentation moyenne du VEMSpp entre 10,4 et 13,5 points à 24 semaines de traitement (Jane C. Davies *et al.* 2013; De Boeck *et al.* 2014; B. W. Ramsey *et al.* 2011). Par ailleurs, ce traitement permet une diminution des exacerbations pulmonaires, une amélioration de l'état nutritionnel et de la qualité de vie des patients, ainsi qu'une forte diminution du taux de chlorures sudoraux. Peu d'effets indésirables graves ont été rapportés, les événements les plus fréquents étant des céphalées, des douleurs abdominales, des infections respiratoires et des troubles du transit. Des études à plus long terme ont pu montrer des effets bénéfiques multisystémiques avec des effets au niveau de la fonction pancréatique exocrine (augmentation

de l'élastase fécale) (Howlett *et al.* 2016; Nichols *et al.* 2020; Rosenfeld *et al.* 2019) et endocrine (augmentation de la sécrétion d'insuline) (Bellin *et al.* 2013; Kelly *et al.* 2019), de l'intestin (normalisation du pH intestinal) (Ooi *et al.* 2018; Rowe *et al.* 2014; Safe *et al.* 2016) et de la fertilité des femmes CF (fluidification de la glaire cervicale) (Heltshe *et al.* 2017).

Suite à ces résultats bénéfiques, l'ivacaftor a été testé chez des patients homozygotes F508del, sans efficacité, suggérant que l'utilisation d'un potentiateur n'est pas suffisante pour ces patients (Flume *et al.* 2012).

L'ivacaftor a été la première innovation thérapeutique majeure dans le traitement de la mucoviscidose, avec un service médical rendu classé important (SMR) et une amélioration du SMR classée II (ASMR important, de niveau III). Il est à ce jour indiqué pour les adultes et enfants de plus de 4 mois. Néanmoins, cette thérapie ciblée ne concerne qu'environ 3000 patients dans le monde avec un coût estimé à 250 000 euros par patient par an.

### ***Traitement correcteur***

Le traitement correcteur augmente la quantité de canaux CFTR membranaires, en empêchant la dégradation de la protéine mutée et permettant ainsi son réadressage à la membrane plasmique. Dans la classe des potentiateurs, trois molécules sont actuellement disponibles : lumacaftor (ou VX-809), tezacaftor (ou VX-661) et elexacaftor (ou VX-445).

Le lumacaftor a été combiné à l'ivacaftor (Orkambi®) et bénéficie d'une AMM depuis début 2016 en France. Il est indiqué pour les adultes et enfants de plus de 2 ans porteurs de deux mutations F508del de *CFTR*.

Le tezacaftor a été combiné à l'ivacaftor (Symkevi®) et bénéficie d'une AMM européenne depuis novembre 2018. En France, ce traitement a obtenu une AMM en mai 2020 et est accessible aux remboursements depuis juillet 2021. Il est destiné aux patients âgés d'au moins 6 ans, homozygotes pour la mutation F508del ou porteurs d'une mutation F508del et d'une des 14 mutations à fonction résiduelle retenues pour ce traitement. Pour les patients homozygotes F508del, l'ASMR a été considérée comme étant mineure (niveau IV, équivalente à celle d'Orkambi®) et pour les patients hétérozygotes pour F508del et porteurs d'une mutation à fonction résiduelle, la HAS a attribué une ASMR de niveau III (modérée, plus élevée que celle d'Orkambi® et égale à celle obtenue par Kalydeco®). Il a été observé un gain de VEMSpp entre 6,3 et 11,4 points à 24 semaines de traitement et selon le type de mutations de *CFTR* (Rowe *et al.* 2017; Taylor-Cousar *et al.* 2017).

Plus récemment, la trithérapie nommée Kafrio® combinant les molécules tezacaftor, ivacaftor et elexacaftor a été approuvée par l'agence américaine des médicaments puis par l'agence européenne en août 2020. En France, il a obtenu une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) en décembre 2019, suivie de l'AMM en novembre 2020 et de l'accès aux remboursements depuis juillet 2021. Ce médicament peut être prescrit aux patients hétérozygotes pour la mutation F508del et porteurs sur le second allèle d'une autre mutation à fonction minimale. Ce traitement est donc indiqué pour environ 90 % des patients mucoviscidosiques. Il a obtenu une ASMR de niveau 2 (importante) par la HAS. Les essais cliniques publiés montrent des bénéfices cliniques impressionnants avec une amélioration en moyenne de 14,3 points du VEMSpp à 24 semaines de traitement (Middleton *et al.* 2019). En France, une étude chez 245 patients avec un VEMSpp inférieur à 40 % et ayant bénéficié d'une ATU, a montré un gain de VEMSpp de 15,1 points et une prise de poids moyenne de 4,2 kg entre 1 et 3 mois post-traitement (Burgel, Durieu, Chiron, Ramel, *et al.* 2021).

La recherche et le développement de nouvelles thérapies *curatives* restent très actifs, avec à ce jour 8 essais pré-cliniques et 7 essais cliniques en cours (<https://www.cff.org/Trials/Pipeline>).

### **3. Traitement lumacaftor/ ivacaftor**

#### **a. Efficacité**

La première étude clinique de la bithérapie protéique lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA), un essai de phase 2 a montré une augmentation moyenne du VEMSpp de 2,1 points et de l'indice de masse corporelle (IMC) de 0,37 kg/m<sup>2</sup> à 24 semaines post-traitement (Wainwright *et al.* 2015). Ces améliorations de la fonction pulmonaire et du statut nutritionnel ont contribué à son approbation par la *Food and Drug Administration* en février. En France, les patients de plus de 12 ans ont pu bénéficier du traitement grâce à une ATU et avant même l'autorisation par l'Agence européenne des médicaments en novembre 2015. L'AMM européenne a été étendue en janvier 2018 aux patients âgés de 6 à 11 ans, puis en janvier 2019 aux patients de 2 ans à 5 ans.

Les bénéfices cliniques du traitement combiné LUMA-IVA ont rapidement été remis en question, notamment au regard de son coût (J. S. Elborn, B. Ramsey, *et al.* 2016; A. M. Jones et Barry 2015). Les études en vie réelle menées sur les 2 premières années de traitement ont démontré une réponse hétérogène de la fonction pulmonaire et de l'état nutritionnel (de -0,4 à +3,67 points pour le gain de VEMSpp et de +0,73 à +0,96 pour le gain d'IMC), cependant certains des résultats n'étaient pas statistiquement significatifs (Aalbers *et al.* 2020; Burgel,

Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021; Burgel *et al.* 2020; J. Stuart Elborn *et al.* 2016; Jennings *et al.* 2017; Konstan *et al.* 2017; Taylor-Cousar *et al.* 2018).

## **b. Tolérance**

Les études en vie réelle études ont mis en évidence une tolérance limitée au traitement, avec des taux d'interruption entre 17,2 % et 28,9 % (Burgel, Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021; Burgel *et al.* 2020; Jennings *et al.* 2017) (5, 7, 9). Les principaux motifs d'interruption sont de cause respiratoire (48 %) tels que l'oppression thoracique, une dyspnée ou un bronchospasme, suivis par la cause gastro-intestinale (11,7 %) (Burgel *et al.* 2020). Les facteurs prédisposants à l'arrêt du traitement étaient la fonction pulmonaire de base, l'âge à l'initiation et le sexe féminin (Aalbers *et al.* 2020; Burgel, Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021; Burgel *et al.* 2020; J. Stuart Elborn *et al.* 2016; Jennings *et al.* 2017; Taylor-Cousar *et al.* 2018).

## **c. Coût**

En raison de son efficacité modeste et son profil de tolérance, la HAS a attribué au traitement LUMA-IVA un SMR important mais un ASMR de niveau 4 (mineur). En novembre 2019, après quatre années de négociations, le comité économique des produits de santé a donné un avis favorable au prix proposé par le laboratoire ayant développé le traitement LUMA-IVA. Ainsi un accord a pu être trouvé et le prix du traitement a été fixé à environ 10 500 euros par mois et par patient.

## IV. Infection à *Pseudomonas aeruginosa*

L'infection respiratoire par *P. aeruginosa* est un facteur de mauvais pronostic chez les patients atteints de mucoviscidose. L'infection chronique par cette bactérie est associée à un VEMS plus faible dans l'enfance (E. Kerem, Corey, Gold, *et al.* 1990), à un déclin plus rapide de la fonction respiratoire en dépit d'un traitement optimal (Kosorok *et al.* 2001; Pamukcu *et al.* 1995), à un taux de mortalité plus élevé et une diminution de la survie des patients (Emerson *et al.* 2002; Henry *et al.* 1992).

### 1. Généralités

*P. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) est une bactérie saprophyte à gram-négatif. Dans l'environnement, cette bactérie ubiquitaire est présente dans les sols, dans les milieu humides (eau, robinets, bouchons) ou à la surface des végétaux. *P. aeruginosa* est très motile grâce à son flagelle monotriche. La variabilité génétique de *P. aeruginosa* est élevée (au moins 10 % de son génome) ce qui lui confère une capacité évolutive constante et une variabilité génétique adaptative à chaque environnement, notamment en présence de l'hôte ou d'agents antimicrobiens (Stover *et al.* 2000).

*P. aeruginosa* est une bactérie connue pour son pouvoir opportuniste pour l'homme, elle devient pathogène lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. *P. aeruginosa* est responsable d'infections communautaires ou nosocomiales, impliquée notamment dans des pneumopathies acquises sous ventilation ou surinfections de plaies. Sa pathogénicité clinique se manifeste également par des infections respiratoires chroniques chez les patients immunodéprimés (VIH, chimiothérapie anti-cancéreuse).

*P. aeruginosa* possède un grand nombre de facteurs de virulence impliqués dans sa pathogénicité. Les facteurs de virulence regroupent aussi bien des toxines qui ont pour rôle d'endommager l'hôte, que des molécules reconnues par le système immunitaire appelées PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*). *P. aeruginosa*, se développe sous forme biofilms, c'est-à-dire que ses cellules sont recouvertes d'une matrice qui forme une barrière physique contre l'entrée d'agents antimicrobiens.

## 2. Physiopathologie

### a. Stades de l'infection

Les patients atteints de mucoviscidose sont infectés par *P. aeruginosa* dès leur plus jeune âge par une souche environnementale qui va s'adapter à l'environnement pulmonaire des patients afin de persister (Folkesson *et al.* 2012). Il y a trois stades de l'infection à *P. aeruginosa* :

- Un stade intermittent au cours duquel différentes souches de *P. aeruginosa* colonisent les voies aériennes de façon récurrente.
- Un stade de transition où *P. aeruginosa* présente encore un phénotype environnemental mais persiste dans les voies aériennes.
- Un stade chronique qui se manifeste par une augmentation croissante de bactéries dans les expectorations et corrélée à un niveau d'inflammation plus élevé.

Il peut exister des variants génotypiques et phénotypiques de *P. aeruginosa* dans les poumons de patients CF qui contribuent aux différents aspects de la progression de la maladie et des exacerbations pulmonaires (Bhagirath *et al.* 2016).

### b. Chronicisation de l'infection

L'infection chronique à *P. aeruginosa* est associée à des modifications phénotypiques et génotypiques et de la bactérie notamment une augmentation de la résistance aux antibiotiques, une diminution de son métabolisme, un taux de croissance plus lent ou un manque de mobilité (Bhagirath *et al.* 2016).

Les infections respiratoires persistantes chez les patients CF sont en partie dues au développement de biofilms par la bactérie (Costerton 2001; P. K. Singh *et al.* 2000). En effet, après avoir colonisé les voies aériennes, la bactérie devient omniprésente par un processus de fixation de ces biofilms. Une fois fixés, ces biofilms confèrent aux bactéries une résistance vis-à-vis des mécanismes de défense immunitaire et permet un relargage régulier des bactéries dans l'organisme (Bjarnsholt *et al.* 2009; Hoiby *et al.* 2010). De plus, ces biofilms sont impliqués dans la transition de *P. aeruginosa* non mucoïde vers une forme mucoïde, résistante à la phagocytose et aux traitements (Baltimore et Mitchell 1980; Marty *et al.* 1998). Enfin, le dysfonctionnement de CFTR observée dans la mucoviscidose favorise la formation de ces biofilms, en partie en augmentant la biodisponibilité du fer dans le liquide de surface des voies aériennes respiratoires (Moreau-Marquis *et al.* 2008).

L'infection chronique à *P. aeruginosa* est un facteur d'augmentation des dommages du tissu des voies aériennes et est associée à une diminution de la fonction respiratoire (Wagner et Iglewski 2008). Il apparaît donc que l'infection chronique par *P. aeruginosa* constitue un point de non-retour dans l'atteinte pulmonaire des patients CF ; une fois établie il est quasiment impossible de l'éradiquer.

### **3. Définitions cliniques de l'infection**

En France, la définition de l'infection à *P. aeruginosa* est issue des recommandations nationales de la prise en charge de la mucoviscidose et de la pratique actuelles en France (HAS 2002, 2017). Le PNDS pour la mucoviscidose a défini trois stades d'infection, dont les conséquences thérapeutiques sont différentes :

- La primo-infection ou primo-colonisation : correspond au premier prélèvement d'expectoration positif au pathogène *P. aeruginosa* au décours d'un ECBC.
- Les infections intermittentes : correspondent à des éradications transitoires, dont la durée est variable mais supérieure à 6 mois consécutifs.
- L'infection ou colonisation chronique : correspond à l'impossibilité d'éradication et se définit sur la présence du germe pendant au moins 6 mois, identifiée par trois prélèvements positifs à au moins 1 mois d'intervalle.

L'*European Cystic Fibrosis Society* a proposé un minimum de 6 prélèvements de crachats sur un an pour évaluer le stade en fonction du pourcentage de colonisation selon les critères de Leeds (Lee *et al.* 2003). Ces critères définissent la colonisation chronique comme au moins 50 % des ECBC positifs dans l'année avec au minimum 4 échantillons prélevés et/ou augmentation significative des anticorps spécifiques. Cette définition est utilisée dans les rapports des données des registres américain, canadien et européen et peut rendre les comparaisons entre patients CF de différentes origines moins exhaustives. En effet, la définition plus ancienne utilisée en France a tendance à surestimer le nombre de patients colonisés chroniques (Pressler *et al.* 2011).

### **4. Traitements**

Le contrôle de l'infection des voies aériennes par *P. aeruginosa* est un enjeu majeur de la prise en charge de l'atteinte respiratoire. Des stratégies d'éradication sont mises en place afin de combattre la bactérie et de retarder la chronicisation de l'infection. La primo-infection doit être systématiquement traitée. Une nouvelle infection après au moins un an d'éradication est prise en charge comme une nouvelle primo-infection. Il s'agit la plupart du temps de germes sensibles à ce stade. Le traitement repose sur : 1) une bi-antibiothérapie IV associant lactamines

et aminosides, dont la durée admise est 14 jours, 2) une mono-antibiothérapie par voie inhalée, deux fois par jour, pendant 28 jours (HAS 2017). La tobramycine inhalée est particulièrement efficace dans cette situation avec taux d'éradication d'environ 90 %. Un ECBC de contrôle est effectué à l'arrêt du traitement. L'échec du traitement inhalé fait proposer de nouveau un traitement par voie IV. La stratégie thérapeutique des infections intermittentes varie selon les symptômes, la charge bactérienne, le retentissement fonctionnel et lésionnel ainsi que l'antibiogramme mais reste quasiment similaire à celle de la primo-infection.

Les infections chroniques relèvent généralement d'un traitement antibiotique par bithérapie de 14 jours ou plus par voie IV. Le choix des molécules est le plus souvent fait selon l'historique d'amélioration clinique lors des antibiothérapies antérieures. Un traitement prolongé par voie inhalée est recommandé chez ces patients pour contenir la charge bactérienne. Le schéma thérapeutique classiquement préconisé est de 28 jours, un mois sur deux, avec la tobramycine, la colistine ou l'aztréonam. La durée dépend de l'observance du patient et de l'efficacité de la thérapie. L'azithromycine (macrolide) est également recommandé puisqu'il est associé à une amélioration de la fonction respiratoire et une diminution des exacerbations pulmonaires, en particulier chez les patients colonisés à *P. aeruginosa* (Southern 2012).

## 5. Épidémiologie

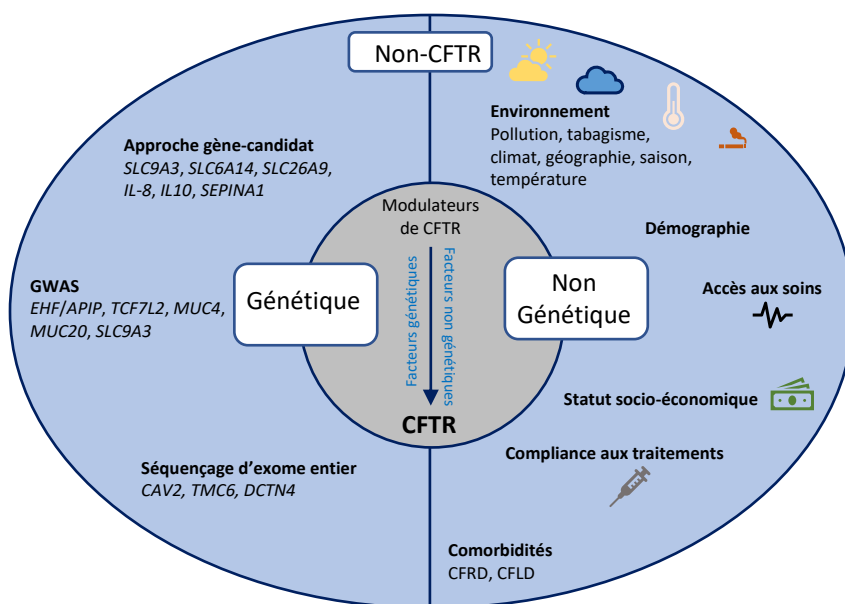
En 2019, le registre français de la mucoviscidose estime que 37,5 % des patients recensés ont eu un ECBC positif à *P. aeruginosa* et la colonisation chronique était présente chez 20 %, notamment chez les plus de 20 ans (29,4 %) (Vaincre la Mucoviscidose 2021). Tous les patients ne développent pas une infection à *P. aeruginosa*, l'âge de la primo-infection varie considérablement d'un patient à l'autre et est estimé entre 1 et 8 ans selon les études (Heltshe *et al.* 2018; Z. Li *et al.* 2005; Maselli *et al.* 2003; Rosenfeld *et al.* 2012).

L'infection respiratoire à *P. aeruginosa* est un facteur prédictif majeur de mortalité chez les patients CF. Il y a plus de 30 ans, le risque de décès à 8 ans a été estimé comme 2,6 fois plus élevé chez les enfants dont les ECBC étaient positifs à *P. aeruginosa* (Emerson *et al.* 2002). Une incertitude demeure quant à l'épidémiologie de l'infection à *P. aeruginosa* chez les patients CF, notamment au regard des facteurs de risque de l'hétérogénéité phénotypique. Le sexe féminin, la mutation F508del ou la survenue d'un l'iléus méconial à la naissance sont des caractéristiques retrouvées comme associées à l'infection, néanmoins ces facteurs sont tous controversés (Green *et al.* 2010; E. Kerem, Corey, Stein, *et al.* 1990; Kosorok *et al.* 1998; Maselli *et al.* 2003; Rosenfeld *et al.* 2012; Wang *et al.* 2001).

## V. Variabilité interindividuelle de la mucoviscidose

Depuis la description de la maladie, de nombreuses observations documentent l'extrême hétérogénéité clinique de la maladie. L'identification du gène *CFTR* et de ses principales mutations a conduit à de nombreuses études pour tenter d'établir des liens entre les caractéristiques génotypiques et les manifestations cliniques (Accurso et Sontag 2003; Acton et Wilmott 2001; Drumm 2001; Salvatore *et al.* 2002; Zielenski 2000). Des associations entre le génotype *CFTR* et le phénotype des patients ont ainsi pu être mises en évidence, en particulier pour l'atteinte pancréatique, plus rarement pour l'atteinte pulmonaire. En dehors de ces exceptions, la plupart des études, y compris celles réalisées chez des jumeaux et dans des fratries, s'accordent à conclure à la faible association, voire à l'absence de relation, entre les mutations de *CFTR* et les phénotypes de la maladie (Mekus *et al.* 2000; Rowntree et Harris 2003; Santis *et al.* 1990). La grande variabilité des profils cliniques des patients CF pourrait aussi s'expliquer par des facteurs démographiques, cliniques ou exogènes (Figure 27). Il a été montré que les facteurs environnementaux contribueraient à 50 % de la variabilité de la fonction respiratoire chez les patients CF (Collaco *et al.* 2010).

Des patients aux mutations de *CFTR* similaires et partageant un même environnement (tel que dans les fratries) peuvent donc avoir des manifestations cliniques très variables (Vanscoy *et al.* 2007), non expliquées par les mutations de *CFTR*, et seulement en partie par des facteurs environnementaux. Ceci suggère donc le rôle de facteurs génétiques, capables d'influencer l'expression phénotypique de la mucoviscidose, mais situés en dehors du locus de *CFTR* : ce sont les gènes dits *modificateurs* (Corvol *et al.* 2006; Drumm *et al.* 2005) (Figure 27).



**Figure 27** | Facteurs de la variabilité interindividuelle des phénotypes de la mucoviscidose

## 1. Corrélation phénotype-génotype liée au gène *CFTR*

### a. Corrélation selon les types de mutations de *CFTR*

Il a été montré que les patients porteurs de mutations de *CFTR* dites « modérées » ou « à fonction résiduelle » (classes IV à VI) ont rarement une atteinte pancréatique (Devoto *et al.* 1989; Ferrari et Cremonesi 1996; E. Kerem, Corey, Kerem, *et al.* 1990). La relation génotype *CFTR*-atteinte pancréatique a été confirmée par des études familiales, des études de fratries et des études de jumeaux monozygotes (MZ) ou dizygotes (DZ) (Corey *et al.* 1989; Santis *et al.* 1990). Les jumeaux DZ et MZ partageant respectivement 50 % et 100 % de leur patrimoine génétique, l'étude des variabilités phénotypiques au sein d'une paire de jumeaux est d'une importance majeure, notamment lorsque qu'ils partagent le même environnement.

La relation entre iléus méconial et mutations de *CFTR* n'a pu être établie. En effet, il est retrouvé chez les patients insuffisants pancréatique, mais sans association avec une mutation de *CFTR* particulière (Rowntree et Harris 2003).

Concernant l'atteinte pulmonaire, de nombreuses études ont cherché à préciser si certaines mutations de *CFTR* étaient associées à la précocité ou à une progression rapide de l'atteinte respiratoire. L'homozygotie F508del a été suggérée comme associée à une atteinte respiratoire sévère (Johansen *et al.* 1991), mais ces résultats sont très controversés (Burke *et al.* 1992; P. W. Campbell, 3rd *et al.* 1991; Santis *et al.* 1990). Quant aux études réalisées chez des jumeaux

et des fratries, elles soulignent la contribution prépondérante de variants génétiques situés en dehors du locus de *CFTR* (Collaco *et al.* 2010; Mekus *et al.* 2000).

### **b. Facteurs génétiques hétéroallélique de *CFTR***

Les facteurs génétiques hétéroalléliques pourraient influencer la variabilité phénotypique des patients CF. Ce sont des variants du gène *CFTR* situés en des sites différents de la mutation princeps pouvant rendre compte en partie des phénotypes différents chez des patients de même génotype. Par exemple, il a été mis en évidence chez un sujet homozygote pour la mutation F508del ayant une forme moyennement sévère de la maladie, une deuxième mutation R553Q dans une copie du *CFTR* (Dork *et al.* 1991). Les auteurs ont émis l'hypothèse que cette mutation permettrait à certains canaux chlorures d'avoir une fonction normale.

## **2. Facteurs sociodémographiques et environnementaux**

Plusieurs études ont mis en évidence la contribution de facteurs démographiques et cliniques dans la variabilité de l'atteinte respiratoire. Ainsi il a été montré que les femmes et les patients avec un mauvais état nutritionnel seraient plus à risque d'une atteinte sévère (Corey *et al.* 1997; Konstan *et al.* 2007) ; les patients avec une CFRD auraient un déclin plus rapide la fonction respiratoire (Schaedel *et al.* 2002) ; la CFLD augmenterait la susceptibilité aux infections (Toledano *et al.* 2019) ; et l'âge de la colonisation chronique à *P. aeruginosa* reculerait dans les cohortes les plus récentes cohortes (Crull *et al.* 2018). Néanmoins, beaucoup de ces facteurs ont été remis en question et restent controversés (Pittman, Noah, *et al.* 2017; van Horck *et al.* 2018) (Figure 27).

Concernant les facteurs environnementaux, l'hétérogénéité des phénotypes pourrait être modulée par le tabagisme passif (Collaco *et al.* 2008; A. Smyth *et al.* 1994), la température (Collaco *et al.* 2011), la pollution atmosphérique de l'air extérieur (Goeminne *et al.* 2013; Goss *et al.* 2004; Psoter *et al.* 2015; Psoter *et al.* 2017a) et de l'air intérieur (Carson *et al.* 2021), la saisonnalité (Psoter *et al.* 2017b), le climat et la géographie (Psoter *et al.* 2016), le statut socioéconomique et l'accès aux soins de santé (Curtis *et al.* 1997; O'Connor *et al.* 2003; Schechter et Margolis 1998; Schechter *et al.* 2001). La contribution des facteurs environnementaux est néanmoins variables selon les phénotypes, de l'ordre de 40 % pour la variabilité de l'obstruction des voies aériennes à 20 % pour le statut nutritionnel (Cutting 2015) (Figure 27).

### 3. Gènes modificateurs

#### a. Polymorphisme génétique

Les gènes modificateurs sont des variants génétiques ou polymorphismes, c'est-à-dire, des variations individuelles dans la séquence d'un gène, non pathologiques en soit, mais pouvant moduler la gravité de la maladie (Mekus *et al.* 2000; Rowntree et Harris 2003).

Le polymorphisme génétique est déterminé par la coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou un locus donné (Gouyon et Henry 1998). Un gène est dit polymorphe s'il existe au moins deux allèles à une fréquence supérieure à 1 % dans la population. On distingue plusieurs types de polymorphismes, parmi lesquels les marqueurs minisatellites et microsatellites, les délétions ou insertions de courtes séquences nucléotidiques, et les polymorphismes de nucléotide unique (SNP pour *Single Nucleotide Polymorphism*).

Les polymorphismes nucléotidiques correspondent à une substitution d'une base purique ou pyrimidique par une autre base. Leur localisation dans la partie codante des gènes leur confère généralement une fonctionnalité biologique (polymorphisme fonctionnel) liée à une modification de la transcription, de la stabilité des ARNm ou de la conformation protéique s'il aboutit à la substitution d'un acide aminé. Les polymorphismes situés en dehors des gènes ont des conséquences génétiques moins évidentes et sont généralement utilisés comme marqueur pour des études de liaison génétique.

Les SNP sont très répandus, leur fréquence étant estimée à un polymorphisme nucléotidique toutes les 300 à 1000 paires de bases (Lander *et al.* 2001), soit plus de 3 millions de SNP dans le génome humain (N. Campbell et Reece 2007). Ces variations sont la plupart du temps silencieuses, mais seraient impliquées dans notre susceptibilité à certaines maladies, leur gravité, ou encore à la réponse aux traitements.

Le développement de deux approches a permis l'identification de ces gènes modificateurs :

- Une approche *à priori* ou *gène-candidat* qui se base sur les connaissances de la physiopathologie connue du trait phénotypique étudié.
- Une approche *sans à priori* réalisée par une analyse de génome entier (GWAS pour *Genome Wide association study* ou WGS pour *Whole Genome Sequencing*) ou de séquençage d'exome (WES pour *Whole Exome Sequencing*). Ces analyses nécessitent d'être menées dans de larges cohortes puis répliquées dans des cohortes indépendantes.

Dans l'optique d'identifier des gènes modificateurs de la mucoviscidose, se sont constitués des consortiums en Amérique du Nord, en France et plus récemment en Europe. Ces collaborations ont abouti à la création du consortium international «*International CF Gene Modifier Consortium*» (<https://www.ecfs.eu/ecfs-working-groups/ecfs-gene-modifier-working-group>).

### **a. Polymorphisme et fonction respiratoire**

La fonction respiratoire est le phénotype le plus étudié dans la recherche de gènes modificateurs de l'atteinte pulmonaire, et de multiples facteurs de variabilité ont été suggérés. Il a été estimé que la sévérité de la fonction respiratoire aurait une héritabilité de plus de 50 %, indépendamment de *CFTR* (Vanscoy *et al.* 2007). L'approche gène-candidat a permis d'identifier quatre principales classes de gènes modificateurs en fonction de leur rôle physiologique : les gènes impliqués dans les mécanismes de réparation tissulaire, dans la défense de l'hôte et l'inflammation, dans le transport ionique à la surface épithéliale et la sécrétion de mucus et dans la réponse aux traitements médicamenteux (Tableau 1). Trois analyses et métaanalyses de GWAS ont été menées pour évaluer les gènes modificateurs associés à la sévérité de la fonction respiratoire (Corvol *et al.* 2015; Y. Gu *et al.* 2009; F. A. Wright *et al.* 2011). Elles ont permis d'identifier 7 régions génomiques d'intérêts (Tableau 1).

### **b. Polymorphisme et infection à *Pseudomonas aeruginosa***

L'héritabilité de l'âge de l'infection chronique à *P. aeruginosa* a été estimée à 85 % (Green *et al.* 2012) et la contribution des gènes modificateurs serait de l'ordre de ~55 %, contre ~23 % pour les mutations de *CFTR* et ~23 % pour les facteurs environnementaux (Cutting 2015). Ces données attestent de l'importance du rôle des facteurs génétiques dans la variabilité du phénotype infectieux chez les patients atteints de mucoviscidose.

Plusieurs gènes ont été suggérés comme associés à l'âge de la primo-infection à *P. aeruginosa*, en particulier *MBL2*, *TGFβ1* et *SLC9A3*. Deux analyses d'exome entier (WES) ont mis en évidence l'implication de variants génétiques dans la colonisation chronique de l'infection à *P. aeruginosa*, situés dans les gènes *DCTN4*, *CAV2* et *TMC6* (Tableau 1) (Emond *et al.* 2015; Emond *et al.* 2012).

### **c. Polymorphisme et atteintes digestives**

#### *i. Iléus méconial*

L'atteinte digestive a également été explorée en vue d'identifier des gènes modificateurs. Ainsi, une étude de GWAS a mis en évidence l'association entre la survenue d'un l'iléus méconial et

les gènes *SLC6A14*, *SLC26A9* et *SLC9A3* (Sun *et al.* 2012). Ces gènes appartiennent à la famille des SLC (*Solute carriers*) qui codent pour des protéines de transport membranaire. Les différents membres de la famille SLC transportent une grande diversité de substances dont des molécules organiques chargées et non chargées mais aussi des ions inorganiques.

#### *ii. Atteinte pancréatique exocrine*

Le diabète de la mucoviscidose serait également modulé par des facteurs génétiques. Une étude initiale gène-candidat a mis en évidence que le gène *TCF7L2*, connu pour être associé au diabète de type 2 dans la population générale, est également associé à la CFRD (Blackman *et al.* 2009). Cette association a été confirmée dans une première étude de GWAS, qui a également identifié le gène *SLC26A9* et des régions génomiques situées à côté des gènes *CDKALI*, *CDKN2A/B* et *IGF2BP2* (Blackman *et al.* 2013). Une méta-analyse de GWAS a récemment confirmé l'implication des gènes *TCF7L2* et *SLC26A9* et identifié le gène *PTMA* (Aksit *et al.* 2020).

Gènes modificateurs Région génomique	Rôle physiologique	Phénotype associé	Approche	Références
<i>NOS1</i>	<i>NOS1</i> code pour une enzyme de la famille des synthétases qui catalyse la production de NO. Le NO est impliqué dans la réparation tissulaire, la broncho-relaxation et l'inflammation.	Déclin de la fonction respiratoire Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Gène-candidat	(Texereau <i>et al.</i> 2004) (Grasemann <i>et al.</i> 2000) (Grasemann <i>et al.</i> 2003)
<i>GSTM13</i> <i>GSTM3</i> <i>TGFβ1</i>	Le glutathion protège des dommages induits par les oxydants.  <i>TGFβ1</i> code pour une cytokine régulatrice de la différenciation et la prolifération cellulaire.	Infection à <i>Aspergillus fumigatus</i> Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Flamant <i>et al.</i> 2004) (Hull et Thomson 1998) (Drumm <i>et al.</i> 2005)
<i>MBL2</i>	<i>MBL2</i> code pour une lectine de reconnaissance du système immunitaire inné et qui s'accumule dans les poumons lors d'inflammation aiguë. En cas de déficience il est observé une susceptibilité accrue aux infections.	Déclin de la fonction respiratoire Sévérité de la fonction respiratoire Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Gène-candidat	(Ruslan Dorfman <i>et al.</i> 2008) (Chalmers <i>et al.</i> 2011) (J. C. Davies <i>et al.</i> 2004) (Haerynck <i>et al.</i> 2012) (A. C. Martin <i>et al.</i> 2005)
<i>CD14</i>	<i>CD14</i> est une protéine fabriquée par le système immunitaire inné. C'est un récepteur de surface cellulaire.	Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Gène-candidat	
<i>EDNRA</i> <i>MIF</i>	Récepteur de surface cellulaire <i>MIF</i> code pour une cytokine impliquée dans la réponse inflammatoire et le système immunitaire	Sévérité de la fonction respiratoire Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat Gène-candidat	(Darrah <i>et al.</i> 2010) (Plant <i>et al.</i> 2005)
<i>IL-8</i>	<i>IL-8</i> est une cytokine impliquée dans le recrutement des neutrophiles dans les poumons des patients CF.	Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Hillian <i>et al.</i> 2008)
<i>IL-10</i>	L'interleukine 10 est une protéine produite par différentes cellules sanguines qui agit en diminuant la réponse immunitaire.	Infection à <i>Aspergillus fumigatus</i>	Gène-candidat	(Brouard <i>et al.</i> 2005)
<i>IL-1B</i>	<i>IL-1B</i> code pour une interleukine ayant un rôle pro-inflammatoire.	Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Levy <i>et al.</i> 2009)
<i>TNF</i>	<i>TNF</i> -alpha est une cytokine pro-inflammatoire	Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Hull et Thomson 1998)
<i>SLC9A3</i>	<i>SLC9A3</i> code pour un canal ionique (ions sodium et hydrogène)	Infection bactérienne Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Gène-candidat	(R. Dorfman <i>et al.</i> 2011)
<i>MUC5A</i> <i>MUC5B</i> <i>ADRB2</i>	Ces gènes codent pour des mucines intervenant dans la clairance mucociliaire.  <i>ADRB2</i> est un récepteur exprimé dans les cellules musculaires lisses des voies aériennes et est impliqué dans la bronchodilatation.	Sévérité de la fonction respiratoire Sévérité de la fonction respiratoire	GWAS Gène-candidat	(Corvol <i>et al.</i> 2015) (Guo <i>et al.</i> 2011)
<i>NR3C1</i>	<i>NR3C1</i> code pour des récepteurs de glucocorticoides. Ils régulent les gènes contrôlant le développement, le métabolisme et la réponse immunitaire.	Déclin de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Corvol <i>et al.</i> 2007)
<i>SLC6A14</i>	La protéine <i>SLC6A14</i> est un transporteur membranaire d'acides aminés neutres à la plus large sélectivité et transportent des deux acides cationiques (lysine et arginine) dans le cytoplasme de différents types de cellules. <i>SLC6A14</i> serait principalement exprimé au niveau du tissu pulmonaire.	Sévérité de la fonction respiratoire Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Gène-candidat	(W. Li <i>et al.</i> 2014) (Pereira <i>et al.</i> 2017)
<i>HMOX1</i>	<i>HMOX1</i> permet le catabolisme de l'hème en biliverdine, monoxyde de carbone et ion fer. La protéine a également un effet protecteur sur divers organes contre différents types de stress et inhibe l'activité pro-inflammatoire des monocytes.	Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Park <i>et al.</i> 2011)
<i>C3</i>	La protéine appartient au système du complément, groupe de protéines faisant partie de l'immunité innée et impliquées dans les mécanismes d'élimination des pathogènes.	Sévérité de la fonction respiratoire	Gène-candidat	(Park <i>et al.</i> 2011)
<i>MUC4/MUC20</i> Région chr3q29 <i>HLA Class II</i> Région chr6p21.3	Ces gènes codent pour des mucines intervenant dans la clairance mucociliaire.  Les antigènes des leucocytes humains ( <i>HLA pour human leukocyte antigen</i> ) sont le complexe majeur d'histocompatibilité chez l'homme. Ce sont des molécules à la surface des cellules qui permettent l'identification par le système immunitaire.	Sévérité de la fonction respiratoire Sévérité de la fonction respiratoire	GWAS GWAS	(Corvol <i>et al.</i> 2015) (Corvol <i>et al.</i> 2015)
<i>AGTR2/SLC6A14</i> Région chrXq22-q23	<i>AGTR2</i> code pour l'angiotensine qui fait partie du système rénine-angiotensine-aldostérone, un système hormonal localisé dans le rein dont le rôle est de réguler la pression artérielle dans l'organisme.	Sévérité de la fonction respiratoire	GWAS	(Corvol <i>et al.</i> 2015)
<i>EHF/APIP</i> Région chr11p12-p13	<i>APIP</i> code pour une protéine interagissant avec <i>APAF-1</i> permettant ainsi d'inhiber l'apoptose. <i>EHF</i> serait un régulateur de la transcription en condition de stress et d'inflammation. <i>EHF</i> code pour une protéine de la sous-famille des facteurs de transcription, caractérisée par une expression spécifique aux épithéliums. Cette protéine serait impliquée dans la différenciation épithéliale et la carcinogenèse.	Sévérité de la fonction respiratoire	GWAS	(F. A. Wright <i>et al.</i> 2011) (Corvol <i>et al.</i> 2015)
Région chr 20q13.2	Les cinq gènes situés dans cette région sont exprimés dans le poumon ou dans les cellules épithéliales bronchiques. Parmi ces gènes, <i>MC3R</i> a été impliqué dans le maintien du poids et la régulation de l'équilibre énergétique. Certains gènes codent pour des protéines impliquées dans l'adhésion cellulaire, la migration et la phagocytose des pathogènes bactériens.	Sévérité de la fonction respiratoire	GWAS	(F. A. Wright <i>et al.</i> 2011)
<i>IFRD1</i> Région chr11p12-p13	Le gène est exprimé principalement dans les neutrophiles, les muscles squelettiques et cardiaques, le cerveau et le pancréas. Il participe au processus de différenciation des cellules musculaires squelettiques.	Sévérité de la fonction respiratoire	GWAS	(Y. Gu <i>et al.</i> 2009)
<i>DCTN4</i>	Le gène <i>DCTN4</i> serait associé aux voies de signalisation du remodelage du cytosquelette, des neurofilaments et de la présentation des antigènes par le HLA classe II.	Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Gène-candidat Analyse d'exome	(Viel <i>et al.</i> 2016) (Emond <i>et al.</i> 2012)
<i>CAV2</i>	La protéine codée par ce gène est un composant majeur de la surface interne des cavéoles (petites invaginations de la membrane plasmique) et est impliquée dans la transduction des signaux, le métabolisme des lipides, le contrôle de la croissance cellulaire et l'apoptose.	Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Analyse d'exome	(Emond <i>et al.</i> 2015)
<i>TMC6</i>	La protéine <i>TMC6</i> est un canal transmembranaire qui avec son homologie <i>TMC8</i> forment un complexe avec le transporteur de zinc <i>SLC30A1</i> , principalement localisés dans le réticulum endoplasmique, mais aussi dans la membrane nucléaire et l'appareil de Golgi.	Infection à <i>P. aeruginosa</i>	Analyse d'exome	(Emond <i>et al.</i> 2015)

**Tableau 1 |** Tableau récapitulatif des principaux gènes modificateurs de l'atteinte pulmonaire chez les patients atteints de mucoviscidose.

### iii. Atteinte hépatique

L'atteinte hépatique a été étudiée exclusivement par une approche gène-candidat. Les études ont exploré le potentiel rôle des gènes *SERPINA1* (Frangolias *et al.* 2003), *ACE* (Arkwright *et al.* 2003), *GSTP1* (Henrion-Caude *et al.* 2002), *MBL2* (Gabolde *et al.* 2001; Tomaiuolo *et al.* 2009), *TGFβ1* (Arkwright *et al.* 2003) et *ABCB4* (Tomaiuolo *et al.* 2009). Seule l'association entre le gène *SERPINA1* et la sévérité de l'atteinte hépatique a été répliquée ; montrant un risque très augmenté pour les patients CF porteurs de l'allèle Z, avec un odds ratio de 5,04 (2,88-8,83 ; P-value =  $1,5 \times 10^{-8}$ ) (Bartlett *et al.* 2009; Boelle, Debray, Guillot, Corvol, *et al.* 2019).

À ce jour aucune analyse GWAS n'a été menée. Néanmoins, une étude a mis en évidence la probable association entre CFRD et 6 nouveaux gènes en utilisant une méthodologie différente pour investiguer la relation fonctionnelle entre les gènes précédemment étudiés, et ce, par une approche de biologie systémique. La méthodologie combinait notamment l'exploitation des bases de données et de la littérature, des données d'analyse d'expression génique, des analyses de réseau avec un processus d'enrichissement des voies de signalisation (mise en correspondance d'objets moléculaires tels que les gènes, les protéines et petites molécules avec des réseaux d'interactions/réactions/reactions moléculaires) et des données d'interaction protéine-protéine (Trouve *et al.* 2017).

### d. Polymorphisme et réponse aux thérapies ciblées

L'hétérogénéité phénotypique de la mucoviscidose s'observe également dans la réponse aux modulateurs de CFTR. Comme introduit, ivacaftor seul (Kalydeco®) est indiqué pour les patients CF porteurs de certaines mutations de *gating* (classe III). Cependant, son efficacité diffère selon les mutations, par exemple, les patients porteurs de la mutation G970R ne s'améliorent pas avec le traitement (Jane C. Davies *et al.* 2013). L'hétérogénéité de la réponse s'observe également chez des patients porteurs de mutations *gating* identiques (McKone *et al.* 2014). En effet, le bénéfice respiratoire est en moyenne de 10,4 à 13,5 points de VEMSpp, cependant un quart des patients ont une amélioration inférieure à 5 points de VEMSpp. Cette variabilité interindividuelle amène à penser qu'il existe aussi des facteurs biologiques et génétiques modulant la réponse au traitement.

Nous avons montré chez des patients français que la variabilité de la réponse respiratoire au traitement était associée au gène *SLC26A9* (Corvol, Mézinèle, *et al.* 2018), confirmant les résultats observés chez les canadiens (Strug *et al.* 2016). Cependant, ces résultats ont récemment été mis en doute dans une étude portant sur des patients CF nord-américains

(Eastman *et al.* 2021). Concernant la réponse au traitement LUMA-IVA, des expériences *ex vivo* avec des cellules épithéliales nasales de patients CF homozygotes pour la mutation F508del, ont montré que le variant *SLC26A9* rs7512462 était associé à la fonction CFTR en réponse au traitement (Kmit *et al.* 2019). À ce jour, ce résultat n'est pas confirmé ni répliqué puisque aucune analyse de phénotype-génotype n'a été publiée.

L'implication du gène *SLC26A9* dans la réponse aux modulateurs de CFTR souligne l'effet pléiotropique des gènes modificateurs et donc de leur complexité. En effet, ce gène est aussi associé à la CFRD et à l'iléus méconial ; de même que d'autres gènes de la famille SLC (*SLC6A14* et *SLC9A3*) ont été associés à plusieurs phénotypes dont la fonction respiratoire et l'infection à *P. aeruginosa*.

### **e. Médecine personnalisée**

Les progrès réalisés dans la compréhension du fonctionnement de *CFTR* ont permis de nouvelles perspectives thérapeutiques. Néanmoins, la variabilité phénotypique observée souligne la nécessité de mieux comprendre les différences entre les sous-groupes de patients CF, et ce, afin d'identifier des indicateurs de pronostic pour une prise en charge optimale des patients.

La connaissance des facteurs génétiques de susceptibilité dans les maladies mendéliennes est un enjeu majeur dans la compréhension et la caractérisation de la variabilité phénotypique interindividuelle des patients. Plus spécifiquement, l'identification de gènes modificateurs et une meilleure connaissance de leurs fonctions dans la mucoviscidose permettraient d'envisager une médecine personnalisée, prédictive, préventive et participative (Corvol *et al.* 2016).

La connaissance génomique permettrait une médecine individualisée par le développement de nouvelles thérapeutiques ou en adaptant plus spécifiquement celles existantes ; ainsi qu'une médecine prédictive et préventive, par l'évaluation des risques de développer des complications, équivalent à une approche proactive de la prise en charge des patients, orientée sur la préservation du capital santé.

# Objectifs

La mucoviscidose est caractérisée un large spectre phénotypique qui présente une importante variabilité interindividuelle, même pour des patients porteurs de mutations de *CFTR* similaires. L'atteinte pulmonaire reste aujourd'hui la première cause de morbi-mortalité chez les patients atteints de la maladie.

Les cycles d'infections et d'inflammation contribuent à la dégradation progressive du tissu des voies aériennes et aboutit à une insuffisance respiratoire. Un des facteurs péjoratifs majeurs de cette atteinte est l'infection des voies aériennes par *P. aeruginosa*. De nombreuses études se sont intéressées à cette infection, néanmoins une grande incertitude demeure quant à son épidémiologie et ses facteurs de risque. De même, l'impact de cette bactérie sur la fonction respiratoire au cours des différents stades de l'infection reste méconnu et non quantifié précisément. En effet, de nombreux résultats restent controversés, soit en raison d'une méthodologie non adaptée ou d'un nombre de patients CF analysés limité ; soit parce que ces études datent de plus de deux décennies et sont désormais dépassées. La standardisation des soins et de la prise en charge des patients dans les centres de ressources et de compétences de la mucoviscidose a amélioré l'accessibilité et la qualité des données, permettant ainsi de nouvelles analyses sur l'infection à *P. aeruginosa*.

La préservation de la fonction respiratoire au cours de la vie des patients est un enjeu majeur de leur prise en charge médicale, que ce soit par une stratégie thérapeutique symptomatique ou curative. L'essor des traitements modulateurs de CFTR ces 5 dernières années est une innovation sans précédent dans la mucoviscidose, permettant la stabilisation et/ou l'amélioration de la fonction respiratoire des patients, voire le report de la transplantation pulmonaire. Grand espoir pour les patients, l'efficacité de ces thérapies reste néanmoins très hétérogène d'un patient à l'autre.

La connaissance des facteurs de la variabilité du phénotype pulmonaire, notamment les gènes modificateurs et la compréhension leurs mécanismes physiopathologiques sont des étapes nécessaires pour parvenir à la mise en place de stratégies thérapeutiques adaptées et donc une médecine individualisée des patients atteints de mucoviscidose.

## I. Objectifs

Les objectifs de ce travail étaient donc de réaliser une description épidémiologique :

- De la variabilité interindividuelle de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose en :
  - 1) Identifiant les facteurs de risque démographiques, cliniques, environnementaux et génétiques (par des approches gène-candidat et d'analyse du génome entier) de la précocité de la primo-infection, de la colonisation chronique, et de la durée entre l'acquisition et la chronicisation de l'infection à *P aeruginosa*,
  - 2) Évaluant et quantifiant précisément l'impact de l'infection à *P. aeruginosa* sur l'évolution de la fonction respiratoire.
- De l'hétérogénéité de la réponse respiratoire et nutritionnelle au cours des 2 premières années de traitement LUMA-IVA ; en identifiant des facteurs de risque, notamment génétiques par une approche gène-candidat.

Ce travail a pu être réalisé grâce aux données phénotypiques et génétiques issues de l'étude « Recherche des gènes modificateurs dans la mucoviscidose ».

Il s'agit d'une cohorte nationale initiée en 2006, incluant à ce jour plus de 4950 patients, soit plus de 70 % de la couverture nationale. L'ensemble des CRCM font partie des centres investigateurs de l'étude auxquels s'ajoutent des hôpitaux « centres relais » habilités à prendre en charge cette pathologie.

## II. Sources des données

### 1. Données phénotypiques

#### a. Typologie des données

Depuis 2006, les données sources phénotypiques sont recueillies et implémentées dans une base de données cliniques, nommée « Muconat ». Cette base de données Muconat est constituée d'un grand nombre de données cliniques : données de diagnostic, de fonction respiratoire, d'atteinte hépatique et pancréatique, d'analyses microbiologiques, de traitements modulateurs de CFTR ; ainsi que de certains paramètres démographiques tels que l'origine ethnique et l'environnement

du patient. Les données de microbiologie recueillies pour la cohorte concernent les infections bactériologiques et mycologiques les plus couramment retrouvées chez les patients atteints de mucoviscidose. Plus spécifiquement, il s'agit des antécédents de primo-infection et de colonisation chronique à *P. aeruginosa*, *Staphylocoque aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Scedosporium apiospermum*, *Alcaligenes xylooxidans*, *Aspergillus fumigatus* et mycobactéries atypiques.

Le détail et l'architecture des principales données utilisées dans ce travail de thèse sont décrits en Annexe I.

### **b. Modes de recueil**

Depuis 2006, le recueil est réalisé annuellement par les attachés de recherche clinique en charge de l'étude « Recherche des gènes modificateurs dans la mucoviscidose ». Ce recueil est effectué soit directement à partir des dossiers médicaux papiers (saisie manuelle), soit par extraction informatique des dossiers médicaux informatisés dédiés à la mucoviscidose (Mucodoméos et eMuco) au cours d'une visite dans le centre ou via l'importation d'extractions informatiques réalisées par le centre. Le recueil des données est rétrospectif pour les données antérieures à 2006 et prospectif depuis la mise en place de l'étude en 2006.

### **c. Périodes d'analyse**

Les données phénotypiques utilisées au cours de ce travail de thèse ont été clôturées :

- Au 31 décembre 2019 pour l'étude de la variabilité interindividuelle de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa*,
- Au 31 janvier 2021 pour l'étude de l'hétérogénéité de la réponse au traitement LUMA-IVA.

## **2. Données génétiques**

Concernant les données génétiques, à l'inclusion des patients, un prélèvement sanguin est réalisé puis envoyé au Généthon pour extraction de l'ADN et son contrôle qualité. Les échantillons ont été analysés en 2 étapes :

- Par une approche exploratrice *sans à priori*. En 2012 et 2019, 2465 échantillons de patients ont été analysés par génotypage de génome entier (Puces Illumina 660W et *Infinium Global Screening-24 v 2.0*).

- Par une approche *avec à priori*. En 2016 et 2018, 4687 patients ont été génotypés pour une liste de 170 SNP sélectionnés sur des critères de suggestivité et de significativité aux analyses GWAS d'une part, et en y associant des SNP suggérés comme modificateurs de la mucoviscidose dans la littérature d'autre part.

### **3. Autres sources de données et interfaçage**

Les données utilisées au cours de ce travail sont exclusivement issues de l'étude « Recherche des gènes modificateurs dans la mucoviscidose ». Aucun interfaçage n'a été réalisé avec d'autres sources de données ; que ce soient les données du registre français de la mucoviscidose (<https://www.vaincrelamuco.org/registredelamuco>) ou les données de la cohorte nationale dite « Cohorte Orkambi » évaluant le traitement LUMA-IVA en vie réelle (Burgel, Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021; Burgel *et al.* 2020).

# Partie 1 : Infection à *Pseudomonas aeruginosa*

## I. État de l'art

L'analyse de la variabilité interindividuelle de l'infection à *P. aeruginosa* repose sur les facteurs de risque de la précocité, et donc de l'âge, de la survenue de l'infection. Cependant, l'infection est un évènement qui survient au cours du temps et un patient CF non-infecté peut le devenir ultérieurement. Il est donc nécessaire de prendre en compte les patients ne présentant pas d'infection, et ce par une méthodologie d'analyse de données de durée de survie (Berkson et Gage 1950; E. L. Kaplan et Meier 1958).

L'existence d'observations censurées est une des caractéristiques des données de survie : cela survient lorsque l'évènement d'intérêt n'est pas observé en raison soit de la survenue de l'évènement avant le début du suivi du patient (censure à gauche), soit de l'arrêt du suivi avant la survenue de l'évènement (censure à droite). La durée de survie peut également être censurée en raison d'une imprécision sur la date précise de l'évènement, dont on sait qu'il s'est produit entre deux dates : c'est la censure par intervalle. L'analyse des données de survie repose généralement sur l'hypothèse d'indépendance entre durée de survie et date de censure.

Les études portant sur l'analyse des facteurs de risque cliniques et démographiques de l'infection à *P. aeruginosa* sont largement représentées. Néanmoins, nombreuses sont celles incluant un faible nombre de patients (Baussano *et al.* 2006; Kosorok *et al.* 1998; Levy *et al.* 2008; Maselli *et al.* 2003) et n'analysant qu'un seul facteur de risque (De Braekeleer *et al.* 1998; Johansen *et al.* 1991; Kubesch *et al.* 1993). Parmi les 7 études réalisées dans de larges cohortes (incluant plus de 400 patients CF), 3 études concernaient des patients suivis il y a environ 20 ans (Tableau 12 en Annexe II) (E. Kerem, Corey, Stein, *et al.* 1990; Merlo *et al.* 2007; Wang *et al.* 2001). L'amélioration des soins et de la prise en charge des patients laissent à penser que l'épidémiologie de l'infection à *P. aeruginosa* a pu évoluer au cours de ces deux dernières décennies. Les 4 études plus récentes ont analysé des patients avec une fonction pancréatique conservée (PS pour *pancreatic sufficient*) ou une déficiente (PI pour *pancreatic insufficient*) (Crull *et al.* 2016; Green *et al.* 2010; Heltshe *et al.* 2018; Rosenfeld *et al.* 2012).

Ces études concluent que les mutations *CFTR* et le statut pancréatique sont des facteurs de variabilité de la survenue de l'infection à *P. aeruginosa* (Tableau 12 en Annexe II) (Crull *et al.* 2016; Green *et al.* 2010; Heltshe *et al.* 2018; Rosenfeld *et al.* 2012). Il est considéré que la différence phénotypique majeure entre les patients PI et PS (dont la sévérité des différentes atteintes est nettement moindre) ne permet pas la comparabilité entre ces deux caractères de comorbidité (Corvol *et al.* 2016).

Les études des facteurs de risque génétiques de l'infection à *P. aeruginosa* et non corrélés aux mutations de *CFTR* ont été exclusivement réalisées par des approches gène-candidat et d'analyse d'exome. Nous avons donc orienté nos travaux de recherche vers l'analyse des gènes suggérés comme modificateurs de l'infection, appartenant à la famille des *SLC* (*SLC9A3* et *SLC6A14*), ou ayant un rôle dans l'inflammation (*TNF* et *MBL2*) et étudiés par une analyse d'exome (*DCTN4*, *TMC6* et *CAV2*).

Les études s'accordent à dire que le variant *SCL6A14* rs3788766 serait associé à la survenue de la primo-infection (premier prélèvement d'expectoration positif au pathogène *P. aeruginosa* au décours d'un ECBC ou *Pa-IA*) (W. Li *et al.* 2014; Pereira *et al.* 2017), de même que le SNP *SLC9A3* rs4957061 (R. Dorfman *et al.* 2011; W. Li *et al.* 2014) ; cependant, le rôle de ce dernier a été remis en question dans une cohorte de 188 patients CF Brésiliens (Pereira *et al.* 2017) (Tableau 13 en Annexe III).

Deux SNP du gène *DCTN4* ( rs11954652 et rs35772018) ont été montrés comme associé à la *Pa-IA* et à la colonisation chronique (impossibilité d'éradication du pathogène *P. aeruginosa* et définie par la présence du germe pendant au moins 6 mois, identifiée par trois prélèvements positifs à au moins 1 mois d'intervalle ou *Pa-CC*) dans une analyse d'exome, puis dans une étude de répliation par une approche gène-candidat (Emond *et al.* 2012). Une étude chez 121 patients CF français ne retrouve pas cette association génotypique, cependant l'analyse a été réalisée par regression logistique comparant des patients infectés et non-infectés avec par conséquent des très petits groupes de patients par catégorie (seulement 3 patients des 18 non-infectés étaient porteurs d'au moins un allèle délétère) (Viel *et al.* 2016) (Tableau 13 en Annexe III).

Concernant le gène *MBL2*, il a été exploré dans 5 études gène-candidat. Ce gène est souvent analysé, non pas par des associations génotypiques, mais en fonction du niveau de production de la protéine MBL produite par *MBL2*. En effet, de faibles taux de MBL seraient associés à une susceptibilité plus importantes aux infections bactériennes chez les patients

immunodéprimés (Horiuchi *et al.* 2005). Dans la population de patients CF, les études ne s'accordent pas sur son éventuelle implication dans la survenue de la *Pa*-IA (J. C. Davies *et al.* 2004; McDougal *et al.* 2010; Tarova *et al.* 2011) et de la *Pa*-CC (Haerynck *et al.* 2012; Trevisiol *et al.* 2005) (Tableau 13 en Annexe III).

Les études de la variabilité de l'infection à *P. aeruginosa* en fonction des gènes modificateurs ont été réalisées dans des populations CF de différentes origines géographiques et parfois sans ajustement sur les ethnies. Ceci peut être un biais important dans les analyses génétiques en raison des effets de structuration de population qui peuvent conduire à de fausses associations. Les effets des gènes modificateurs candidats sur l'infection à *P. aeruginosa* sont difficilement mesurables dans cette littérature. Seul Emond et ses collègues dans leurs deux analyses d'exome estiment des Hazard-ratios, compris entre 0,48 et 1,80 (Emond *et al.* 2015; Emond *et al.* 2012) (Tableau 13 en Annexe III).

La littérature concernant le déclin de la fonction respiratoire et l'impact de l'infection à *P. aeruginosa* est extrêmement variée (Tableau 14 en Annexe IV). Plusieurs de ces études incluent des patients CF suivi il y a entre 30 et 50 ans (Demko *et al.* 1995; E. Kerem, Corey, Gold, *et al.* 1990) et nombreuses sont celles analysant moins de 100 patients (Burggraeve *et al.* 2007; Kosorok *et al.* 2001; Parad *et al.* 1999; Pillarisetti *et al.* 2011; K. A. Ramsey *et al.* 2014).

Seules 4 études ont été menées dans de très large cohortes de plus de 1000 patients.

- Konstan *et al.* ont évalué l'association entre la présence de *P. aeruginosa* dans les ECBC et le déclin de la fonction respiratoire dans trois groupes d'enfants d'âge différents (6-8 ans, 9-12 ans et 13-17 ans). Ils ont observé que le déclin n'était pas associé à l'infection dans le groupe d'adolescent mais l'était chez les enfants plus jeunes ; avec une accélération de la pente de déclin de 0,34 % et de 0,22 % VEMSpp par an chez les 6-8 ans et 9-12 ans respectivement (Tableau 14 en Annexe IV) (Konstan *et al.* 2007).
- Avec leurs collaborateurs, Vandenbranden et Ren ont chacun mené une étude portant sur l'infection à *P. aeruginosa* multirésistant (MARPA pour *Multiple antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa*), chez des patients âgés en moyenne de 18 ans, cette infection arrivant en effet plus tardivement dans la vie des patients CF. Ces études ne s'accordent pas sur le rôle de l'infection à MARPA. La première trouve une association en comparant les infectés aux non-infectés (Odds-Ratio infectés/non-infectés : 0,74, IC 95% : 0,56-0,99) (Vandenbranden *et al.* 2012). La seconde estime par contre que le déclin avant l'infection (-2,22 % de VEMSpp par an) n'est pas significativement différent de celui après (-2,43 % de VEMSpp par an, P-value = 0,45) (Ren *et al.* 2012) (Tableau 14 en Annexe IV).

- Earnest *et al.* ont étudié une cohorte australienne de 3655 patients CF, quelque soient leur statut pancréatique et leurs mutations de *CFTR*. Ils observent que le déclin de la fonction respiratoire n'est pas linéaire en fonction des catégories d'âge des patients. En effet, ils estiment que le déclin annuel moyen varie de -2,2 % à -1,8 % de VEMSpp chez les enfants de 6 à 18 ans, de -1,8 % à -0,5 % entre 19 et 30 ans et de -0,5 % à 0,06 % chez les adultes de plus de 30 ans. Ils n'ont pas évalué l'impact de l'infection sur le déclin, mais observent néanmoins que les patients primo-infectés à *P. aeruginosa* ont une fonction respiratoire moyenne diminuée de 4,7 points de VEMSpp comparativement aux patients non-infectés (P-value <0,001) (Tableau 14 en Annexe IV).

Il est observé une très grande diversité méthodologique parmi les 19 études recensées, portant sur le déclin de la fonction respiratoire et évaluant ou non le rôle de l'infection à *P. aeruginosa* (Tableau 14 en Annexe IV). Dans ces études longitudinales, observationnelles ou cas/contrôle, les patients CF sont parfois catégorisés en fonction de leur âge, du degré de sévérité de leur fonction respiratoire ou du statut infecté/non-infecté, méthodologies qui ne permettent pas toujours de prendre en compte l'évolution au cours du temps de l'infection (Tableau 14 en Annexe IV). Dans cet éventail méthodologique, une étude singulière a évalué le déclin de la fonction respiratoire chez les patients CF en élaborant un modèle mixte joint de regression. Cette méthodologie particulière offre l'avantage d'évaluer des effets intra- et inter-individuels, tout en analysant le déclin de la fonction respiratoire (données longitudinales de VEMSpp) conjointement à des données de durées de survie, grâce à un terme de corrélation (Schluchter *et al.* 2002). L'événement d'intérêt n'est ici pas la survenue de l'infection à *P. aeruginosa* mais l'âge au décès. Les auteurs ont observé une forte corrélation entre la précocité du décès et l'accélération de la pente du déclin de la fonction respiratoire (Tableau 14 en Annexe IV) (Schluchter *et al.* 2002).

Étonnamment, dans cette vaste littérature sur le déclin de la fonction respiratoire, aucune étude ne s'attache à évaluer conjointement l'impact des différents stades de l'infection à *P. aeruginosa*, c'est-à-dire la primo-infection (*Pa-IA*) et la colonisation chronique (*Pa-CC*) ; dont il est reconnu que les mécanismes physiopathologiques engagés ont des conséquences différentes et graduelles sur l'épithélium des voies aériennes respiratoires des patients CF, et supposément sur l'atteinte pulmonaire.

Dans son ensemble, la littérature souligne la complexité de l'atteinte pulmonaire de la mucoviscidose. À ce jour, la temporalité des évènements respiratoires et leurs intrications restent indéterminées. En effet, il est conjointement supposé que, d'une part, la survenue de l'infection à *P. aeruginosa* pourrait témoigner d'une l'atteinte respiratoire sous-jacente antérieure (Crull *et al.* 2016) ; d'autre part, que l'infection à *P. aeruginosa* pourrait elle même être impliquée dans la sévérité de l'atteinte respiratoire (Earnest *et al.* 2020).

## II. Matériel

### 1. Critères d'inclusion

Nous avons inclus dans cette analyse les enfants CF qui présentaient les caractéristiques suivantes :

- Diagnostic confirmé de mucoviscidose,
- Insuffisance pancréatique exocrine clinique (les patients ayant une fonction pancréatique conservée étant reconnus comme ayant une sévérité de la maladie moindre)
- Nés après 2001 (âge entre 0-18 ans),
- D'origine européenne (pour limiter l'effet de structuration de population dans l'analyse des facteurs de risque génétiques).

### 2. Critères de jugement

L'infection à *P. aeruginosa* a été évaluée par l'âge de survenue de la primo-infection (*Pa-IA*), de la colonisation chronique (*Pa-CC*) et par le délai entre *Pa-IA* et *Pa-CC*, selon la définition des stades de l'infection établit par le PNDs (HAS 2017). La fonction respiratoire a été évaluée par la mesure du VEMSpp selon la méthode « GLI » (Quanjer *et al.* 2012).

### 3. Facteurs de risque

Les facteurs de risque démographiques investigués dans cette analyse étaient : le sexe, les cohortes de naissance (catégorisées en 4 classes selon l'année de naissance) et les mutations de *CFTR* (réparties en fonction de la présence ou non de la mutation F508del). Les facteurs de risque cliniques étaient la survenue : d'un iléus méconial à la naissance, de la CFRD et de la CFLD. Nous avons exploré l'exposition hospitalière par l'analyse de la taille des centres établit par le nombre de patients suivis dans les CRCM. Les facteurs de risque génétiques ont été évalué par une approche gène-candidat avec l'analyse de 14 SNP localisés dans ou à proximité

des gènes *SLC9A3*, *TNF*, *CAV2*, *SLC6A14*, *TMC6*, *DCTN4* et *MBL2*. Une brève description de ces gènes analysés est disponible en Annexe V.

### III. Méthodes

#### 1. Analyses des facteurs de risque

Afin d'évaluer si l'âge de survenue de l'infection diffère en fonction du facteur de risque considéré, nous avons utilisé un modèle de régression de Cox. Cette méthodologie permet d'estimer des Hazard-ratio (HR), qui représentent le coefficient multiplicateur du risque instantané de survenue de l'infection à *P. aeruginosa*. Le modèle de régression de Cox a été adapté aux durées de survie censurées par intervalle dans la mesure où les âges de *Pa*-IA et *Pa*-CC étaient parfois connus de manière imprécise (Delord et Génin 2016). Les facteurs de risque changeant au cours du temps (CFRD et CFLD) ont été évalués trimestriellement et analysés par régression de Cox adaptée aux variables dépendantes du temps.

Les durées de survie étaient :

- Soit non censurées ; la durée de survie désignait le temps écoulé entre la naissance du patient et la date de survenue de l'infection.
- Soit censurées à droite lorsque le patient ne présentait pas d'infection ; la durée de survie désignait le temps écoulé entre la naissance du patient et la date la plus récente où des informations ont été recueillies (date des dernières nouvelles ou DDN).
- Soit censurées par intervalle lorsque le patient présentait une infection mais que la date était imprécise ; la durée de survie désignait le temps écoulé entre la naissance du patient et la DDN.

Les facteurs de risque génétiques ont été analysés selon un modèle d'analyse d'association génotypique. Les SNP autosomaux ont été codés additivement en fonction du nombre d'allèles mineurs. L'allèle mineur était déterminé comme celui ayant la plus petite fréquence (MAF) dans la population européenne du projet 1000 Génomes Project Phase 3 (Genomes Project *et al.* 2015). Les SNP ayant une MAF inférieure à 10 % étaient codés selon un modèle dominant de l'allèle mineur. Pour le gène *SLC6A14* situé sur le chromosome X, il a été appliqué la même méthodologie, les hommes étaient donc codés 0 ou 2.

## **2. Analyse de l'impact de l'infection sur la fonction respiratoire**

Afin d'évaluer l'impact de l'infection à *P. aeruginosa* sur la fonction respiratoire, nous avons utilisé un modèle de régression linéaire mixte segmenté. Nous avons estimé les variations du VEMSpp en fonction de l'âge de survenue et du stade de l'infection. Nous avons décrit les trajectoires individuelles de VEMSpp par une régression segmentée avec des changements de pente à l'âge à la *Pa*-IA et à la *Pa*-CC. Ces trajectoires ont été établies à partir de l'ensemble des données longitudinales, c'est-à-dire l'intégralité des mesures de VEMSpp disponibles à partir de l'âge de 5 ans. Nous avons utilisé des intercepts et des pentes aléatoires pour capturer l'hétérogénéité interindividuelle du déclin de la fonction respiratoire et un terme d'erreur pour prendre en compte la corrélation qui résulte des mesures répétées du même patient (R. H. Jones et Boadi-Boateng 1991). Ce modèle permet donc d'estimer un déclin moyen annuel de VEMSpp dans les périodes avant la *Pa*-IA, entre la *Pa*-IA et la *Pa*-CC et après la *Pa*-CC.

## **3. Biais**

### **a. Biais de participation des centres**

Les centres n'ont pas tous inclus l'entièreté des patients suivis en France, soit pour la période avant le début de l'étude « Recherche de gènes modificateurs de la mucoviscidose » (avant 2006), soit pour la période plus récente. Cependant cette décision de non-inclusion n'est sans doute pas reliée au statut relatif à l'infection par *P. aeruginosa*.

### **b. Biais dû à la prise de traitement modulateur et la transplantation pulmonaire**

Les traitements modulateurs de CFTR pouvant améliorer significativement la fonction respiratoire des patients CF, toutes les mesures de VEMSpp des patients sous Ivacaftor et LUMA-IVA ont été exclues de l'analyse.

Les traitements immunosuppresseurs post-transplantation pouvant favoriser le développement d'infections respiratoires, seules les données relatives à l'infection à *P. aeruginosa* avant la transplantation ont été analysées. De même, les mesures de VEMSpp après transplantation ont été exclues de l'analyse de l'impact de l'infection sur la fonction respiratoire.

## IV. Résultats

### 1. Description épidémiologique de l'infection par *P. aeruginosa*

Note étude a montré que parmi les 1231 enfants atteints de mucoviscidose analysés, 68,8 % (n = 847) ont développé une primo-infection à *P. aeruginosa* et 19 % une colonisation chronique (n = 234). L'âge médian de *Pa*-IA était de 5,1 ans (Intervalle de confiance à 95% (IC 95 %) : 3,8-6,2), dont un quart ont développé une *Pa*-CC à l'âge de 14,7 ans (IC 95 % : 12,1-∞) et dans un délai de 6,9 ans (IC 95 % : 4,5-9,1) après la *Pa*-IA. Nous observons un recul de l'âge de la *Pa*-CC dans les cohortes les plus récentes. Cette encourageante régression de l'âge de l'infection chronique pourrait être le reflet de l'amélioration de la prise en charge médicale et thérapeutique, standardisée depuis la création des CRCM.

Dans cette première étude dans une très large cohorte pédiatrique, nous observons que le type de mutation du gène *CFTR*, le sexe et la présence d'iléus méconial à la naissance ne sont pas impliqués dans la variabilité de l'infection à *P. aeruginosa*. L'environnement hospitalier ne semble également pas jouer un rôle puisque la taille des CRCM n'était pas associée à la *Pa*-IA, ni à la *Pa*-CC ni au délai entre ces deux événements.

Cette étude met en évidence que les patients avec une CFRD ont un risque augmenté de *Pa*-IA (HR : 2,35 ; IC 95 % : 0,81-6,81) et de *Pa*-CC (HR : 1,70 ; IC 95 % : 0,56-5,15). Les enfants avec une atteinte hépatique sont plus à risque de *Pa*-IA (HR : 1,30 ; IC 95 % : 0,98-1,73) mais pas de la *Pa*-CC.

Deux SNP étaient associés à la *Pa*-IA et à la *Pa*-CC, il s'agit des variants rs35772018 et rs361525 situés sur les gènes *DCTN4* et *TNF* respectivement. Deux SNP étaient associés à l'âge de survenue de la *Pa*-CC et au délai entre *Pa*-IA et *Pa*-CC. Il s'agit des SNP rs57221529 et rs4957048 situés sur le gène *SLC9A3*. Le variant rs8940 du gène *CAV2* était associé au délai entre la primo-infection et l'infection chronique. Nous ne répliquons pas dans cette analyse l'association entre les gènes *SLC6A14*, *MBL2* et *TMC6* et l'infection à *P. aeruginosa*.

### 2. Impact de l'infection à *P. aeruginosa* sur le déclin de la fonction respiratoire

Des données de fonction respiratoire (VEMSpp mesuré après l'âge de 5 ans) étaient disponibles pour 980 enfants. Cette étude montre que l'infection à *Pa* est un déterminant important de la sévérité de l'atteinte respiratoire avec un impact sur la fonction respiratoire à chaque stade de l'infection. En effet, le déclin annuel de VEMSpp a été estimé à -0,38 % (IC 95 % : -0,59 ; -

0,18) avant la *Pa*-IA avec une accélération à -0,92 % après la *Pa*-IA (IC 95 % : -1,14 ; -0,71 ; P-value <0,0001), et à -1,51 % après la *Pa*-CC (IC 95 % : -1,86 ; -1,16 ; P-value = 0,0021).

### **3. Article**

L'ensemble des résultats de cette première partie a donné lieu à une publication dans *Journal of Cystic Fibrosis* en octobre 2021 (Mesinele *et al.* 2021). Les données complémentaires de l'article sont présentes en Annexe VI.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Cystic Fibrosis

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

## Original Article

Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* airway infection and lung function decline in children with cystic fibrosis <sup>☆</sup>Julie Mésinè<sup>a,b</sup>, Manon Ruffin<sup>a</sup>, Astrid Kemgang<sup>a</sup>, Loïc Guillot<sup>a</sup>, Pierre-Yves Boëlle<sup>b,1,\*</sup>, Harriet Corvol<sup>a,c,1,\*</sup><sup>a</sup>Sorbonne Université, INSERM UMR S\_938, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), Paris, France<sup>b</sup>Sorbonne Université, Inserm, Institut Pierre Louis d'épidémiologie et de Santé Publique, IPLESP, APHP, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France<sup>c</sup>AP-HP, Hôpital Trousseau, Service de Pneumologie Pédiatrique, Paris, France

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 19 February 2021

Revised 31 August 2021

Accepted 22 September 2021

Available online xxx

## Keywords:

*Pseudomonas aeruginosa*

Lung function

Risk factors

Genetic modifiers

Children

Cystic fibrosis

## ABSTRACT

**Background** Cystic fibrosis (CF) lung disease is characterised by recurrent *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) infections, leading to structural lung damage and decreased survival. The epidemiology of Pa infection and its impact on lung function in people with CF (pwCF), especially in recent birth cohorts, remain uncertain.

**Methods** We included 1,231 French pwCF under 18 years of age. Age at initial acquisition (Pa-IA), chronic colonisation (Pa-CC), and duration from Pa-IA to Pa-CC were estimated using the Kaplan–Meier method. Demographic, clinical, and genetic characteristics were analysed as risk factors for Pa infection using Cox regression models. Lung function decline was assessed by modelling percent-predicted forced expiratory volume in 1 s (ppFEV1) before Pa infection, after Pa-IA, and after Pa-CC.

**Results** Among the 1,231 pwCF, 50% had Pa-IA by the age of 5.1 years [95% confidence interval (CI) 3.8–6.2] and 25% had Pa-CC by the age of 14.7 years (95% CI 12.1 to ∞). We observed that CF-related diabetes and liver disease were risk factors for Pa, while gender, *CFTR* variants, and CF centre size were not. Genetic variants of *TNF*, *DCTN4*, *SLC9A3*, and *CAV2* were confirmed to be associated with Pa. The annual rate of ppFEV1 decline before Pa was –0.38% predicted/year (95% CI –0.59 to –0.18), which decreased significantly after Pa-IA to –0.93% predicted/year (95% CI –1.14 to –0.71) and after Pa-CC to –1.51% predicted/year (95% CI –1.86 to –1.16).

**Conclusions** We identified and replicated several risk factors associated with Pa infection and showed its deleterious impact on lung function in young pwCF. This large-scale study confirmed that Pa airway infection is a major determinant of lung disease severity.

© 2021 European Cystic Fibrosis Society. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

People with cystic fibrosis (pwCF) experience a decrease in lung function over the course of the disease, which is worsened by pulmonary exacerbations [1]. End-stage lung disease is caused by structural lung damage due to the inflammation associated with recurrent bacterial infections [2]. *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) is one of the most commonly isolated pathogens in the airways of pwCF. Clinicians closely monitor the occurrence of Pa-positive airway cultures, as they may change the lung disease course and requirements for therapeutic care. After Pa initial acquisition (Pa-IA)

and despite effective eradication therapies (inhaled, oral, and/or intravenous antibiotics with success rates ranging from 25% to 100%) [3], persistent infection may occur. This leads to chronic Pa colonisation (Pa-CC), which is extremely difficult, if not impossible, to eradicate [4]. Cystic fibrosis (CF) registries report that 28.5% and 25.1% of pwCF under 18 years of age had positive airway cultures for Pa in France and in the US, respectively, while 9.5% and 14% were chronically colonised in France and Europe, respectively [5–7]. The prevalence of Pa infection has decreased over the years but remains substantial [6,8]. Describing the natural history of Pa colonisation and the identification of risk factors may help identify pwCF at most risk of Pa-IA and Pa-CC for monitoring and therapeutic care adjustment.

Considerable uncertainty remains regarding the epidemiology of Pa infections in pwCF. For example, the reported mean age of Pa-IA ranges between 1 and 8 years [9–12], and results regarding potential risk factors such as sex, *CFTR* genotype, and meco-

\* On behalf of the French CF Modifier Gene Study Investigators

\* Corresponding author at: AP-HP, Hôpital Trousseau, Pediatric Pulmonary Department, 26 Avenue du Docteur Arnold Netter, 75012 Paris, France

E-mail address: [harriet.corvol@aphp.fr](mailto:harriet.corvol@aphp.fr) (H. Corvol).<sup>1</sup> Equally contributed<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.09.017>

1569–1993/© 2021 European Cystic Fibrosis Society. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Please cite this article as: J. Mésinè, M. Ruffin, A. Kemgang et al., Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* airway infection and lung function decline in children with cystic fibrosis, Journal of Cystic Fibrosis, <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.09.017>

nium ileus vary among studies [11–16]. Almost 50% of the phenotypic variability of Pa acquisition could be due to genetic modifiers [17] and several studies have identified specific variants as risk factors for Pa-IA and Pa-CC [18–23]. Pa infection has also been extensively studied in pwCF to assess whether it could be associated with a steeper decline in lung function but without consistent results [24–27].

Comparison of results regarding the epidemiology of Pa-IA and Pa-CC, their risk factors, and their potential association with lung function decline have been difficult because definitions and statistical methods were not the same in the studied CF cohorts [9,11–16,24,25]. Moreover, some of these studies involved a limited number of pwCF or a short follow-up duration or are now quite outdated [9,11,13,15,16]. Indeed, in the last decade, standardisation of therapeutic guidelines and organisation of CF care in specialised centres have improved CF data accessibility and quality, allowing new analyses of Pa airway infections.

In the present study, we analysed a large French cohort of children with CF to identify risk factors and genetic modifiers for Pa-IA, Pa-CC, and progression from Pa-IA to Pa-CC. We modelled longitudinal lung function data and age at Pa-IA and Pa-CC to precisely estimate the impact of these events on lung function decline.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study design and patients

The “French CF modifier gene study” is a nationwide observational study of pwCF in France with prospective data collection from participants. Here we aimed to evaluate the epidemiology of Pa infection in pwCF. As of 31 December 2019, 4,961 pwCF, attending one of the 47 French CF centres, were included in this national cohort (corresponding to ~70% of all French pwCF) [6]. The study was approved by the French ethical committees (Comité de protection des personnes n°2004/15 and Commission Nationale de L’informatique et des Libertés n°04.404). Written informed consent was obtained from each patient and/or guardian.

Following the adoption of neonatal CF screening in 2001 in France, CF care has been reorganised with the designation of 47 regional expert CF centres, the publication of national recommendations [28,29] and the standardised prospective collection of longitudinal data. Data from the participating CF centres were collected from electronic or paper medical records and input into a national database for this analysis. All pwCF born between 1 January 2001 and 31 December 2019 were included (age range: 0 to 18 years old,  $n = 1,720$ ). According to the French CF registry, 79.5% of pwCF in this age range consulted at least four times per year in 2018 [2], in agreement with national and international CF care recommendations [29,30].

We excluded pancreatic-sufficient pwCF ( $n = 242$ , see Supplementary Information for pancreatic status definition) [31], pwCF with non-European ancestry to homogenise genetic background ( $n = 217$ ), and pwCF for whom phenotypic data were not available due to their recent inclusion ( $n = 31$ ). Finally, 1,231 young pwCF were included in the analyses.

Sex, *CFTR* genotype, meconium ileus, CF-related diabetes (CFRD), and CF-related liver disease (CFLD) were analysed (see Supplementary Information for CFRD and CFLD definitions).

We ranked the CF centres according to the number of pwCF followed-up based on the French national CF registry [6]. We defined small CF centres as those following less than 125 pwCF (the median number of patients at a reference centre) and large CF centres as those following 126–182 pwCF. Among the 47 CF centres, 25 were small.

### 2.2. Pa-IA, Pa-CC, and time from Pa-IA to Pa-CC

Microbiological analyses of sputum samples were conducted quarterly in expert laboratories affiliated with CF centres in all pwCF, according to French CF care recommendations [29]. Physicians determined the date of Pa-IA as the date of the first Pa isolation and the date of Pa-CC according to the standardised definition: at least three positive samples at least 1 month apart over a 6-month period [29]. Age at Pa-CC was the age at the third isolation. The duration between Pa-IA and Pa-CC was also analysed.

### 2.3. Lung function

According to CF care recommendations, lung function testing including spirometry should be performed at every centre visit in pwCF old enough to cooperate (usually  $\geq 5$  years old) [29,30]. Measurements of the forced expiratory volume in one second ( $FEV_1$ ) were collected at each visit and expressed as percent-predicted values (ppFEV<sub>1</sub>) using the Global Lung Function Initiative equations [32]. Measurements of ppFEV<sub>1</sub> of pwCF undergoing CFTR modulator therapy, such as ivacaftor and lumacaftor-ivacaftor, were excluded. For pwCF undergoing lung transplantation ( $n = 8$ ), measurements of ppFEV<sub>1</sub> after transplantation were excluded.

### 2.4. Genotyping

We conducted a replication study of gene variants that had already been shown to be associated with Pa-IA and/or Pa-CC in pwCF [18–23]. Using Kompetitive Allele Specific PCR (LGC Group, Teddington, United Kingdom), we genotyped 14 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in or near the following genes: *SLC9A3* (rs57221529, rs4957048), *TNF* (rs1800629, rs361525), *CAV2* (rs8940), *TMC6* (rs34712518, rs2748427, rs12449858), *SLC6A14* (rs3788766), *DCTN4* (rs11954652, rs35772018), and *MBL2* (rs5030737, rs7096206, rs11003125).

### 2.5. Statistical analysis

Descriptive statistics are reported as mean  $\pm$  standard deviation or percentages and 95% confidence intervals (95% CIs), as appropriate. The ages at Pa-IA and Pa-CC were computed for each person with CF. Those for whom infection or colonisation date was not reported were censored at their age at the last visit. When Pa-IA or Pa-CC was reported with no age, we considered that it was interval-censored between birth and the age at which it was first mentioned. According to the censoring rules (see Supplementary Information for censoring), 38 (3%) pwCF were interval-censored for Pa-IA analysis and 14 (1%) pwCF for Pa-CC and duration from Pa-IA to Pa-CC analysis. We used Cox proportional hazards regression models adapted to interval-censored data to compute hazard ratios (HRs) [33]. Cumulative incidence curves, median and quartile ages at Pa-IA, Pa-CC, and time between infection and colonisation were estimated using the Kaplan-Meier method for interval-censored data.

Covariables changing over time (CFRD and CFLD) were computed by quarter and used in a time-varying Cox analysis.

For the replication genetic association study, we applied additive SNP coding when the SNP minor allele frequency (MAF) was higher than 0.1 and dominant coding otherwise. Reference alleles were determined as those with the highest frequencies in the European population (<http://www.ensembl.org>). Fisher’s exact test was used to test conformance of the allele frequencies with the Hardy-Weinberg equilibrium, and linkage disequilibrium between genetic variants was assessed by computing  $R^2$  and  $D'$ .

We used linear mixed model regression to compute the change in ppFEV<sub>1</sub> according to age and Pa infection status. For each pwCF,

**Table 1**  
Baseline characteristics of the young people with cystic fibrosis.

	All young pwCF n = 1,231	Young pwCF with <i>P. aeruginosa</i> initial acquisition n = 847
Males, % (n)	52% (645)	51% (433)
CFTR genotypes, % (n)		
F508del homozygotes	56% (687)	56% (477)
F508del heterozygotes	36% (449)	36% (308)
Others	8% (95)	7% (62)
Meconium ileus, % (n)	20% (242)	19% (159)
Current age* (years), mean ± SD	12.9 ± 4.0	13.6 ± 3.6
Year of birth		
2001–2003	26% (318)	31% (265)
2004–2006	27% (328)	28% (240)
2007–2009	25% (304)	23% (199)
>2009	23% (281)	17% (143)
Age at CF diagnosis (years), mean ± SD	0.3 ± 1.0	0.3 ± 1.0
Follow-up time† (years), mean ± SD	11.1 ± 4.2	12.0 ± 3.9
Death, % (n)	0.4% (5)	0.2% (2)
Lung transplant, % (n)	0.6% (8)	0.8% (7)
Number of ppFEV <sub>1</sub> ‡ measurements per year, mean (95% CI)	3.45 (3.35–3.54)	3.49 (3.37–3.60)

\*At December 31, 2019; †Time between the birth date and the date of last news; ‡Forced expiratory volume in one second (FEV1) measurements were expressed as percent-predicted values (ppFEV1) using the Global Lung Function Initiative equations [32], number of measurements was computed in the 1100 pwCF aged over 5 years of the lung function decline analysis  
Abbreviations: pwCF: people with cystic fibrosis; CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

all longitudinal ppFEV<sub>1</sub> data were included in the model. We described individual trajectories of ppFEV<sub>1</sub> by a segmented regression with changes in slope at the age at Pa-IA and Pa-CC and estimated the average change per year in the periods before Pa-IA, between Pa-IA and Pa-CC, and after Pa-CC. More precisely, the model was: ppFEV<sub>1</sub> (a) = b<sub>0</sub> + b<sub>1</sub> age + b<sub>2</sub> (age – age<sub>IA</sub>)<sub>+</sub> + b<sub>3</sub> (age – age<sub>CC</sub>)<sub>+</sub> + ε; where b<sub>1</sub> was the slope corresponding to the natural decline of ppFEV<sub>1</sub> with age, b<sub>2</sub> and b<sub>3</sub> were the additional slopes after Pa-IA and after Pa-CC, ( )<sub>+</sub> was the positive part function, and ε was a normally distributed error. We used random intercepts and slopes to capture the heterogeneity in decline in ppFEV<sub>1</sub> and a first-order autoregressive error to capture residual serial correlation that arises from repeated measurements of the same patient [34].

All analyses were carried out using the R software (version 4.1.0, <http://www.R-project.org/>) using packages “lme4” [35], “nlme” [36], “survival” [37], and “MIICD”.

### 3. Results

#### 3.1. Study population and age at Pa infection

As of 31 December 2019, the mean age of the 1,231 pwCF was 12.9 years (± 4.0 years) with an average follow-up time of 11.1 years (± 4.2 years) (Table 1). Among the 1,231 pwCF analysed, five died and eight had a lung transplant during the study period. Pa-IA occurred in 847 children (68.8%) at a median age of 5.1 years (95% CI 3.8 to 6.2) (Figure 1A and Table S1). By the age of 14.7 years (95% CI 12.1 to ∞), 25% of all pwCF had progressed to Pa-CC (Figure 1A and Table S1). Among the 847 patients with Pa-IA, 25% developed Pa-CC within 6.9 years (95% CI 4.5 to 9.1) following Pa-IA (Figure 1B and Table S1).

#### 3.2. Risk factors for Pa-IA and Pa-CC

Clinical and demographic risk factors associated with Pa-IA, Pa-CC, and time between these events are shown in Table 2, and median and quartile ages are detailed in Table S1. Age at Pa-CC increased in pwCF born after 2003 and in the most recent CF cohorts, whereas this was not the case for Pa-IA (Figure S1). Moreover, pwCF born later had a lower risk of Pa-CC than those born between 2001 and 2003, as detailed in Table 2. pwCF with CFRD

had an increased risk of Pa-IA (HR: 2.35, 95% CI: 0.81–6.81) and Pa-CC (HR: 1.70, 95% CI: 0.56–5.15) (Table 2 and Table S1).

Young pwCF with CFLD had an increased risk of Pa-IA (HR 1.30; 95% CI: 0.98–1.73). The risk was unchanged for Pa-CC (HR 1.01; 95% CI: 0.67–1.53) (Table 2). Neither sex, CFTR variants, meconium ileus at birth, or the size of the CF centres was associated with age at Pa-IA or Pa-CC or time in between Pa-IA and Pa-CC (Table 2).

#### 3.3. Genetic analysis

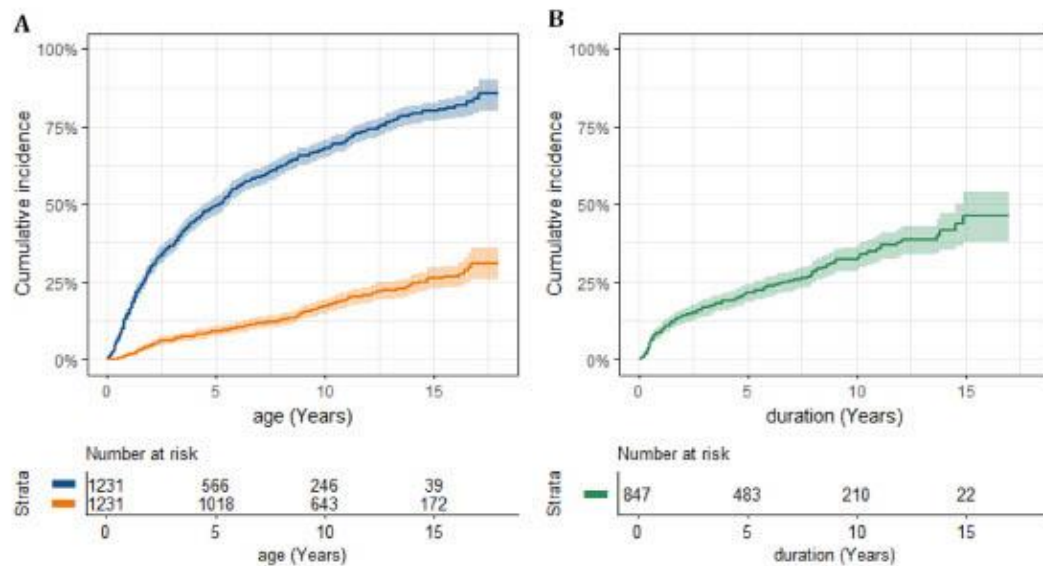
The results of the SNP replication study are described in Table 3 and illustrated in Figures S2 to S6, and the median and quartile ages are detailed in Table S2. Briefly, two SNPs located in *DCTN4* and *TNF* (rs35772018 and rs361525, respectively) were associated with both Pa-IA and Pa-CC (HRs detailed in Table 3; illustrations in Figures S2 and S3).

Two *SLC9A3* SNPs, rs57221529 and rs4957048, were associated with Pa-CC and the time between Pa-IA and Pa-CC (HRs detailed in Table 3; illustrations in Figures S4 and S5). They were not in strong linkage disequilibrium (R<sup>2</sup> = 0.76, D' = 0.90).

*CAV2* rs8940 was associated with the duration between Pa-IA and Pa-CC (HRs detailed in Table 3 and Figure S6). *CAV2* rs8940 MAF was higher in our cohort than in the European population (0.30 vs. 0.16, respectively), with an overrepresentation of the homozygotes for the rare allele (Table S3). We found no association between variants of *SLC6A14*, *TMC6*, and *MBL2* and age at Pa-IA, Pa-CC, or time in between Pa-IA and Pa-CC (Table 3).

#### 3.4. Impact of Pa infection on lung function

Among the 1,231 pwCF included, 1,100 had data of ppFEV<sub>1</sub> available after the age of 5 years with an average number of measurements of ppFEV<sub>1</sub> of 3.45 (95% CI 3.35 to 3.54)/year (Table 1). The average annual rate of change in ppFEV<sub>1</sub> was -0.38%/year (95% CI: -0.59 to -0.18) in pwCF unaffected by Pa or before initial infection. The decrease was faster after Pa-IA and after Pa-CC (Table 4), with an annual rate of change of -0.92%/year (95% CI: -1.14 to -0.71) after Pa-IA and of -1.51%/year (95% CI: -1.86 to -1.16) after Pa-CC.



**Fig. 1.** (A) Cumulative incidence of *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) initial acquisition (blue) and chronic colonisation (orange) according to age in 1,231 young people with cystic fibrosis (pwCF) born after 2000, with 95% CIs, (B) Cumulative incidence of Pa chronic colonisation according to duration after initial acquisition in 847 young pwCF, with 95% CI.

**Table 2**

Analyses of clinical and demographical characteristics as risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition, chronic colonisation, and duration from initial acquisition to chronic colonisation in 1,231 young people with cystic fibrosis.

	Initial acquisition HR (95% CI)*	Chronic colonisation HR (95% CI)*	Duration from initial acquisition to chronic colonisation HR (95% CI)*
<b>Sex</b>			
Female	Reference	Reference	Reference
Male	0.95 (0.83–1.09)	0.85 (0.66–1.10)	0.85 (0.66–1.10)
<b>Year of birth</b>			
2001–2003	Reference	Reference	Reference
2004–2006	0.90 (0.75–1.07)	0.71 (0.51–0.98)	0.78 (0.57–1.07)
2007–2009	0.92 (0.76–1.11)	0.72 (0.50–1.04)	0.82 (0.57–1.16)
>2009	1.00 (0.81–1.24)	0.66 (0.40–1.07)	0.75 (0.47–1.21)
<b>CFTR genotype</b>			
F508del homozygotes	Reference	Reference	Reference
F508del heterozygotes	0.97 (0.84–1.12)	1.01 (0.76–1.33)	1.00 (0.76–1.32)
Others	0.98 (0.75–1.28)	1.35 (0.86–2.12)	1.36 (0.87–2.14)
<b>Meconium ileus</b>			
Absence	Reference	Reference	Reference
Presence	1.06 (0.88–1.28)	0.80 (0.54–1.18)	0.79 (0.53–1.18)
<b>CFRD</b>			
Absence	Reference	Reference	Reference
Presence	2.35 (0.81–6.81)	1.70 (0.56–5.15)	1.33 (0.47–3.79)
<b>CFLD</b>			
Absence	Reference	Reference	Reference
Presence	1.30 (0.98–1.73)	1.01 (0.67–1.53)	0.84 (0.56–1.24)
<b>Size of CF care centre (n)</b>			
Small ( $\leq 125$ )	Reference	Reference	Reference
Large (126–282)	1.01 (0.88–1.15)	1.04 (0.81–1.35)	1.04 (0.81–1.35)

\*HRs of sex, year of birth, CFTR genotype, meconium ileus, and size of CF care centre were computed by Cox proportional hazards regression models adapted for interval-censored data; HRs of CFRD and CFLD were computed by Cox proportional hazards regression models adapted for time-varying covariables

Abbreviations: HR: hazard ratio; CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CFRD: cystic fibrosis related diabetes; CFLD: cystic fibrosis related liver disease

#### 4. Discussion

Over the past three decades, numerous studies have focused on Pa infection in pwCF, with varying results [9–16,24–27,38]. Large studies were scarce and often focus on specific risk factors [14,16]. Here, we provided a description of the course of Pa-IA and Pa-CC and studied several risk factors simultaneously. We replicated the association of several genetic modifiers (*TNF*, *DCIN4*, *SLC3A3*, and

*CAV2*) with Pa-IA and/or Pa-CC. We also determined lung function decline before and after Pa-IA and Pa-CC.

The “French CF modifier gene study” includes more than 93% of all French pwCF born after 2001, limiting selection bias [39]. We found that Pa infection occurred early in childhood, with the median age of patients being 5.1 years at Pa-IA. One-quarter of the pwCF were chronically colonised with Pa by the age of 14.7 years, within 6.3 years after Pa-IA. These results suggest that pwCF in

Table 3

Association analyses between modifier genes and *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition, chronic colonisation, and duration from initial acquisition to chronic colonisation in 1,231 young people with cystic fibrosis.

Gene	Alleles*	Initial acquisition HR (95% CI)**	Chronic colonisation HR (95% CI)**	Duration from initial acquisition to chronic colonisation HR (95% CI)**
<i>CAV2</i>				
rs8940	C/G	1.07 (0.97–1.19)	0.83 (0.68–1.02)	0.79 (0.65–0.96)
<i>SLC9A3</i>				
rs57221529	A/G	1.06 (0.94–1.19)	1.27 (1.03–1.56)	1.27 (1.03–1.56)
rs4957048	A/G	1.10 (0.98–1.24)	1.41 (1.14–1.75)	1.39 (1.12–1.72)
<i>TMC6</i>				
rs34712518†	C/T	1.03 (0.83–1.28)	1.06 (0.71–1.60)	1.06 (0.70–1.59)
rs2748427	A/G	1.08 (0.97–1.21)	0.97 (0.78–1.21)	0.91 (0.73–1.13)
rs12449858†	A/G	0.90 (0.75–1.08)	0.69 (0.47–1.02)	0.73 (0.49–1.08)
<i>SLC6A14</i>				
rs3788766	A/G	1.02 (0.94–1.11)	0.98 (0.84–1.15)	0.96 (0.82–1.12)
<i>DCIN4</i>				
rs11954652†	C/G	1.23 (0.99–1.52)	1.26 (0.85–1.87)	1.11 (0.75–1.64)
rs35772018†	C/T	1.42 (1.03–1.96)	1.81 (1.07–3.07)	1.45 (0.86–2.46)
<i>MBL2</i>				
rs5030737†	A/G	0.83 (0.67–1.02)	0.96 (0.66–1.42)	1.16 (0.79–1.71)
rs7096206	C/G	0.95 (0.84–1.07)	0.94 (0.75–1.18)	0.94 (0.75–1.18)
rs11003125	C/G	0.94 (0.85–1.04)	0.95 (0.79–1.15)	1.02 (0.84–1.23)
<i>TNF</i>				
rs1800629	A/G	0.95 (0.82–1.09)	0.89 (0.67–1.18)	0.93 (0.69–1.24)
rs361525†	A/G	1.31 (1.04–1.65)	1.53 (1.04–2.27)	1.28 (0.87–1.89)

\*Minor allele in European Population are in bold; \*\*HRs were computed by Cox regression adapted for interval-censored data, †Dominant model.

Abbreviation; HR: hazard ratio.

Table 4

Lung function decline in people with cystic fibrosis according to *Pseudomonas aeruginosa* infection status.

Parameter	Estimate (95% CI)	P-value**
ppFEV1* change rate without Pa / before Pa-IA (%/ year)	-0.38 (-0.59; -0.18)	0.0002
Additional change rate after Pa-IA (%/ year)	-0.54 (-0.78; -0.31)	<0.0001
Additional change rate after Pa-CC (%/year)	-0.59 (-0.96; -0.21)	0.0021

\*Forced expiratory volume in one second (FEV1) measurements were expressed as percent-predicted values (ppFEV1) using the Global Lung Function Initiative equations [32], allowing adjustment of the model on age, sex, and height.

\*\* For comparison to 0.

Abbreviations; Pa-IA: *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition, Pa-CC: *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation

France seem to be at a lesser risk of Pa infection than those in the US, as Heltshe et al. reported a median patient age at Pa-IA of less than 3 years and found that 20% of the pwCF had developed chronic infection by the age of 10 years [10]. These differences in age estimates in our cohort could be due to differences in sampling methods and the definition of Pa-related events. For example, the French national guidelines recommend collecting sputum, aided by inhalation of aerosolised hypertonic saline in young patients, rather than oropharyngeal swabs [29]. Our definition of Pa-CC (i.e. at least three positive samples at least 1 month apart over a 6-month period) could lead to larger estimates compared to the Leeds Criteria for Pa-CC [40,41]. We however did not have access to the raw data to compute the Leeds criteria. Including these definitions in French recommendations would make it easier for future comparisons. We finally acknowledge that deviations from the recommended "sample every quarter to screen for Pa infection and colonisation" would bias the ages at Pa-IA and Pa-CC upwards, although skipping a few samples should have limited consequences.

We observed that Pa-CC occurred later in the most recent birth cohorts, similar to that in American children [8]. This may reflect improvements in the standardisation of therapeutic care, especially since the establishment of specialised CF care centres. As of 31 December 2019, the follow-up of the pwCF is still underway; therefore, more pwCF will acquire Pa-IA and/or Pa-CC later in their life, modifying the age estimates.

Minimal function *CFTR* variants have been associated with the precocity of Pa infection [14]. As most pancreatic-insufficient pwCF have minimal function *CFTR*, the absence of association between *CFTR* F508del variant and Pa-IA or Pa-CC that we reported may be expected when analysing only pancreatic-insufficient pwCF. We found that attending large CF centres did not change the risk of Pa-IA and Pa-CC and neither did gender or meconium ileus. Although statistical significance was not achieved, we found that pwCF with CFRD and/or CFLD had an increased risk of Pa-IA and/or Pa-CC. Interestingly, several studies reported an association between Pa infection and CFRD [42–44]. Precisely dissecting the direction of this association could be the object of future studies. Concerning CFLD, the association with Pa infection has been little studied; only one study suggested that cirrhosis may increase susceptibility to infection [45]. Besides, other variables such as socioeconomic status may change the exposure and course of Pa infection in pwCF. Although the French social security system guarantees 100% coverage of healthcare expenses for pwCF, differences in conditions of life and socioeconomic status would be interesting to study in this respect. Also, we could not assess treatment regimens after Pa-IA which can delay the age at Pa-CC.

We replicated the association of several variants located in genes other than *CFTR* with Pa infection. *CAV2* rs8940 was associated with the duration between Pa-IA and Pa-CC, with a protective effect of the minor allele. A similar trend has been previously reported for Pa-CC [21]. Genetic linkage between *CAV2* and

CFTR might explain this association, as the loci are at a distance of only 1 Mb. However, the association between *CAV2* and Pa-IA was found to be independent of the *CFTR* variants [21]. We replicated the influence of *SLC9A3* (rs4957061) on susceptibility to Pa-IA, as previously shown in children with CF [19]. We found genetic variants in *SLC9A3* (rs4957048 and rs57221529) involved in Pa-CC and the duration from Pa-IA to Pa-CC. These SNPs have also been described as modifiers of lung function in CF [46] and are located in a solute carrier gene involved in sodium transport. Solute carriers might play an important role in CF pathophysiology by counteracting or worsening the impact of *CFTR* defects on ion and fluid transport across the epithelia, thereby playing a role in Pa infection. We did not find an association between *SLC6A14* or *MBL2* and Pa infection. The genetic background of pwCF was homogeneous, with both parents with European ancestry. Therefore, population substructure is unlikely to explain the reported associations. Overall, candidate variants were only present in a small proportion of the pwCF (MAF, 0.02–0.30), with fewer contributions to the variability in age at Pa infection (HRs from 0.79 to 1.81) and with limited statistical power (see Supplementary Analysis). This was at odds with a twin study in which genetic modifiers explained almost 50% of the variance in Pa acquisition [17]. Whole-genome analyses, rather than candidate variant approaches, may help reconcile these results.

Finally, we found that the decrease in lung function changed with the Pa status. The mean annual decrease in ppFEV<sub>1</sub> prior to Pa-IA was 0.38%/year, which increased to 0.93% after Pa-IA, and up to 1.50%/year in those with Pa-CC. No impact of Pa-CC was found in an analysis of lung disease progression in a cohort of Dutch children with CF (*n* = 545, age: 11.9 ± 3.8 years) [26]. Conversely, Pittman et al. compared severe and mild lung phenotypes and found that younger age at Pa-IA and Pa-CC was associated with lung disease severity [24]. Other studies concur with the relationship between Pa infection and lung function [25,27]. However, the comparison of the results remains difficult because the analysis methods are different. Here, we used longitudinal measurements of ppFEV<sub>1</sub> of 1100 pwCF, where each person with CF is his or her own control. The linear mixed model allowed the estimation of the impact of Pa-IA and Pa-CC on lung function. However, we acknowledge that this analysis could only inform the impact of Pa-IA and Pa-CC that occurred after the first measurement of ppFEV<sub>1</sub>, typically between 5 and 6 years of age. Consequently, the estimation of the slope of decline in ppFEV<sub>1</sub> before Pa infection was based on pwCF older than 5 years and with a later age at Pa-IA. In a recent cohort analysis, the authors modelled ppFEV<sub>1</sub> with age using cubic splines [47]. They showed that over the age range of 0–18 years, the decrease in ppFEV<sub>1</sub> was almost linear, supporting our choice in modelling. The acceleration in decline after the establishment of Pa-CC underlines the need to delay the progression from Pa-IA to Pa-CC. As Pa infection is a major determinant of lung disease severity in pwCF, preservation of lung function requires intensive monitoring of airway infections from an early stage.

We collected data from paper and electronic patient records. We acknowledge that some information may be missing from these sources, especially in older pwCF. If information was missing in those, though, it would preferentially lead to estimate an older age at infection or colonisation, contrary to observation. This suggests that missing information might not have biased the analysis in this respect. Few pwCF had too little information to date precisely Pa-IA or Pa-CC; it was 38 pwCF for Pa-IA and 14 for Pa-CC. A sensitivity analysis excluding these pwCF showed that the median ages at Pa-IA or Pa-CC increased by 4–8 months (see Supplementary Analysis).

In conclusion, our study on a large cohort of young pwCF made it possible to determine the clinical and demographic risk factors for Pa airway infection. We replicated genetic modifiers for early

Pa-IA, Pa-CC, and short durations between both events. Our results contribute to explaining the variability and implications of Pa infection on CF lung function. A thorough understanding and characterisation of the interindividual variability of Pa infection will allow the identification of pwCF at risk of developing early Pa-IA and/or Pa-CC. This is a fundamental step towards predictive and preventive medicine, based on the evaluation of the risks of developing complications and oriented toward the preservation of the pwCF health capital.

#### Acknowledgements

We would like to thank the pwCF, care providers and clinic coordinators at CF Centres, as well as the Principal Investigators in the several contributing French CF Centres:

M. ABELY, American Memorial Hospital, Reims / C. BAILLY PICCINI, CHU de Nice, Nice / C. BELLEGUIC, Hôpital Pontchaillou, Rennes / K. BESSACI, American Memorial Hospital, Reims / T. BIHOUEE, Hôpital Mère-Enfant, Nantes / Y. BILLON, Hôpital de Brabois, Vandoeuvre les Nancy / F. BRÉMONT, Hôpital des Enfants de Toulouse, Toulouse / J. BROUARD, Centre Hospitalier Universitaire de Caen, Caen / S. BUI, Hôpital Des Enfants Groupe Pellegrin, Bordeaux / P.R. BURGEL, Hôpital Cochin, Paris / B. CAMARA, Hôpital de la Tronche, Grenoble / M.C. HERAUD, Centre Hospitalier Estaing, Clermont-Ferrand / R. CHIRON, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier / E. COIRIER-DUET, Hôpital André Mignot, Le Chesnay / L. COSSON, Hôpital Clocheville, Tours / M.L. DALPHIN, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon / I. DANER BOUCHER, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Nantes / V. DAVID, Hôpital Mère-Enfant, Nantes / E. DENEUVILLE, Hôpital Sud Annexe Pédiatrique, Rennes / P. DOMBLIDES, Hôpital Haut Lévêque, Pessac / S. DOMINIQUE, Centre Hospitalier Universitaire Charles Nicolle, Rouen / J.C. DUBUS, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille / N. DUFEU, Hôpital Nord, Marseille / I. DURIEU, UCBL1, Groupe Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite / S. DURY, Hôpital Maison Blanche, Reims / R. EPAUD, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil / FANTON, A., Hôpital d'Enfants du Bocage, Dijon / M. FAYON, Hôpital Des Enfants Groupe Pellegrin, Bordeaux / P.FOUCAUD, Hôpital André Mignot, Le Chesnay / M. GERARDIN, Hôpital Robert Debré, Paris / J.L. GINIES, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers / D. GRENET, Hôpital Foch, Suresnes / D. HUBERT, Hôpital Cochin, Paris / F. HUET, Hôpital d'Enfants du Bocage, Dijon / R. KESSLER, Hôpital Civil, Strasbourg / J. LANGUEPIN, Centre Hospitalier, Limoges / M. LAURENS, Centre Hospitalier Universitaire de Caen, Caen / M. LE BOURGEOIS, Necker Hôpital d'Enfants Malades, Paris / P. LE ROUX, Hôpital Jacques Monod, Montivilliers / S. LEROY, CHU de Nice, Nice / C. LLERENA, Hôpital de la Tronche, Grenoble / J. MACEY, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux / J. MANKIKIAN, Hôpital Clocheville, Tours / C. MARGUET, Centre Hospitalier Universitaire Charles Nicolle, Rouen / L. MELY, Hôpital Renée Sabran, Giens / M. MITTAIN, Hôpital des Enfants de Toulouse, Toulouse / A. MUNCK, Hôpital Robert Debré, Paris / M. MURRIS-ESPIN, Hôpital Larrey, Toulouse / R. NOVE JOSSERAND, Groupe Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite / C. PERISSON, Groupe Hospitalier Sud Réunion, Saint-Pierre de la Réunion / I. PIN, Hôpital de la Tronche, Grenoble / A. PREVOTAT, Hôpital Calmette, Lille / S. RAMEL, Centre de Perharidy, Roscoff / C. RAMES, Hôpital Nord, Amiens / G. RAULT, Centre de Perharidy, Roscoff / P. REIX, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron / N. REMUS, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil / M. REYNAUD-GAUBERT, Hôpital Nord, Marseille / B. RICHAUD-THIRIEZ, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon / J.L. RITTIE, Hôpital d'Enfants, Saint-Denis de la Réunion / M. SCALBERT-DUJARDIN, Centre Hospitalier de Dunkerque, Dunkerque / I. SERMET-GAUDELUS, Necker Hôpital d'Enfants Malades, Paris / N. STREMLER, Hôpital d'Enfants de

la Timone, Marseille / V. STORNI, Centre Hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes / A. TATOPOULOS, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre les Nancy / F. TROUSSIER, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers / P. VIGNERON, Centre Hospitalier Bretagne Sud, Lorient / L. WEISS, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg / N. WIZLA, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille / K. CAMPBELL, Centre Hospitalier Universitaire de Caen, Caen.

## Funding

This work was supported by the Fondation pour la Recherche Médicale (grant number "PMJ201810007620 " to Julie Mésinè), Vaincre la Mucoviscidose, Blanche pour Vaincre la Mucoviscidose, Agir et Informer Contre la Mucoviscidose, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale.

## Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.jcf.2021.09.017.

## References

- [1] Bell SC, Mall MA, Gutierrez H, Macek M, Madge S, Davies JC, et al. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med* 2020;8(1):65–124.
- [2] Cohen TS, Prince A. Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nat Med* 2012;18(4):509–19.
- [3] Proesmans M, Vermeulen F, Boulanger L, Verhaegen J, De Boeck K. Comparison of two treatment regimens for eradication of *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2013;12(1):29–34.
- [4] Smith EE, Buckley DG, Wu Z, Saenphimmachak C, Hoffman LR, D'Argenio DA, et al. Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(22):8487–92.
- [5] Foundation CF. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry- 2019 Annual Data Report, Bethesda, Maryland 2020.
- [6] Dehillotte C, Lemonnier L. Registre français de la mucoviscidose - Bilan des données 2018. Vaincre la Mucoviscidose 2020.
- [7] Zolin A OA, Naehrlich L, Jung A, van Rens J et al. ECFS Annual Report 2018, 2020.
- [8] Crull MR, Somayaji R, Ramos KJ, Caldwell E, Mayer-Hamblett N, Aitken ML, et al. Changing Rates of Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Cystic Fibrosis: A Population-Based Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2018;67(7):1089–95.
- [9] Li Z, Kosorok MR, Farrell PM, Laxova A, West SE, Green CG, et al. Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. *JAMA* 2005;293(5):581–8.
- [10] Heltshe SL, Khan U, Beckett V, Baines A, Emerson J, Sanders DB, et al. Longitudinal development of initial, chronic and mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection in young children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2018;17(3):341–7.
- [11] Maselli JH, Sontag MK, Norris JM, MacKenzie T, Wagener JS, Accurso FJ. Risk factors for initial acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis identified by newborn screening. *Pediatr Pulmonol* 2003;35:257–62.
- [12] Rosenfeld M, Emerson J, McNamara S, Thompson V, Ramsey BW, Morgan W, et al. Risk factors for age at initial *Pseudomonas* acquisition in the cystic fibrosis epic observational cohort. *J Cyst Fibros* 2012;11(5):446–53.
- [13] Kerem E, Corey M, Stein R, Gold R, Levison H. Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients. *Pediatr Infect Dis J* 1990;9(7):494–8.
- [14] Green DM, McDougal KE, Blackman SM, Sosnay PR, Henderson LB, Naughton KM, et al. Mutations that permit residual CFTR function delay acquisition of multiple respiratory pathogens in CF patients. *Respir Res* 2010;11:140.
- [15] Kosorok MR, Jalaluddin M, Farrell PM, Shen G, Colby CE, Laxova A, et al. Comprehensive analysis of risk factors for acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1998;26:81–8.
- [16] Wang SS, FitzSimmons SC, O'Leary LA, Rock MJ, Gwinn ML, Khoury MJ. Early diagnosis of cystic fibrosis in the newborn period and risk of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in the first 10 years of life: A registry-based longitudinal study. *Pediatrics* 2001;107(2):274–9.
- [17] Cutting GR. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet* 2015;16(1):45–56.
- [18] Li W, Soave D, Miller MR, Keenan K, Lin F, Gong J, et al. Unraveling the complex genetic model for cystic fibrosis: pleiotropic effects of modifier genes on early cystic fibrosis-related morbidities. *Hum Genet* 2014;133(2):151–61.
- [19] Dorfman R, Taylor C, Lin F, Sun L, Sandford A, Pare P, et al. Modulatory effect of the SLC9A3 gene on susceptibility to infections and pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2011;46(4):385–92.
- [20] Coutinho CA, Marson RA, Marcelino AR, Bonadia LC, Carlin MP, Ribeiro AF, et al. TNF-alpha polymorphisms as a potential modifier gene in the cystic fibrosis. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2014;5(2):87–99.
- [21] Emond MJ, Louie T, Emerson J, Chong JX, Mathias RA, Knowles MR, et al. Exome Sequencing of Phenotypic Extremes Identifies CAV2 and TMC6 as Interacting Modifiers of Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Cystic Fibrosis. *PLoS Genet* 2015;11(6):e1005273.
- [22] Haerynck F, Van Steen K, Cattaert T, Loys B, Van Daele S, Schelstraete P, et al. Polymorphisms in the lectin pathway genes as a possible cause of early chronic *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients. *Hum Immunol* 2012;73(11):1175–83.
- [23] Emond MJ, Louie T, Emerson J, Zhao W, Mathias RA, Knowles MR, et al. Exome sequencing of extreme phenotypes identifies DCTN4 as a modifier of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Nat Genet* 2012;44(8):886–9.
- [24] Pittman JE, Calloway EH, Kiser M, Yeatts J, Davis SD, Drumm ML, et al. Age of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition and subsequent severity of cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol* 2011;46(5):497–504.
- [25] Konstan MW, Morgan WJ, Butler SM, Pasta DJ, Craib ML, Silva SJ, et al. Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2007;151(2):134–9. e1.
- [26] van Horck M, van de Kant K, Winkens B, Wesseling G, Guldans V, Hendriks H, et al. Risk factors for lung disease progression in children with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2018;51(6).
- [27] Pittman JE, Noah H, Calloway HE, Davis SD, Leigh MW, Drumm M, et al. Early childhood lung function is a stronger predictor of adolescent lung function in cystic fibrosis than early *Pseudomonas aeruginosa* infection. *PLoS One* 2017;12(5):e0177215.
- [28] HAS. Conférence de consensus- Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose, 2002.
- [29] HAS. Mucoviscidose: Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Guide - Affection de longue durée, 2017.
- [30] Castellani C, Duff AJA, Bell SC, Hejerman HGM, Munk A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros* 2018;17(2):153–78.
- [31] Corvol H, Thompson KE, Tabary O, le Rouzic P, Guillot L. Translating the genetics of cystic fibrosis to personalized medicine. *Transl Res* 2016;168:40–9.
- [32] Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3–95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J* 2012;40(6):1324–43.
- [33] Pan W. Extending the Iterative Convex Minorant Algorithm to the Cox Model for Interval-Censored Data. *J Comput Graph Stat* 1999;8:109–20.
- [34] Jones RH, Boadi-Boateng F. Unequally spaced longitudinal data with AR(1) serial correlation. *Biometrics* 1991;47(1):161–75.
- [35] Bates D MM, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw* 2015;67:1–48.
- [36] Pinheiro J, BD, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team. Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, 2021.
- [37] Therneau TM. A Package for Survival Analysis in R, 2021.
- [38] Rosenfeld M, Ramsey BW, Gibson RL. *Pseudomonas* acquisition in young patients with cystic fibrosis: pathophysiology, diagnosis, and management. *Curr Opin Pulm Med* 2003;9(6):492–7.
- [39] Boelle PY, Debray D, Guillot L, Clement A, Corvol H, French CFMGS, Cystic Fibrosis Liver Disease: Outcomes and Risk Factors in a Large Cohort of French Patients. *Hepatology* 2019;69(4):1648–56.
- [40] Lee TW, Brownlee KG, Conway SP, Denton M, Littlewood JM. Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2003;2(1):29–34.
- [41] Pressler T, Bohmova C, Conway S, Dumcius S, Hjelte L, Hoiby N, et al. Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition: EuroCareCF Working Group report. *J Cyst Fibros* 2011;10:S75–8 Suppl 2.
- [42] Merlo CA, Boyle MP, Diener-West M, Marshall BC, Goss CH, Lechtzin N. Incidence and risk factors for multiple antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Chest* 2007;132(2):562–8.
- [43] Marshall BC, Butler SM, Stoddard M, Moran AM, Liou TG, Morgan WJ. Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr* 2005;146(5):681–7.
- [44] Limoli DH, Yang J, Khansaheb MK, Helfman B, Peng L, Stecenko AA, et al. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* co-infection is associated with cystic fibrosis-related diabetes and poor clinical outcomes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016;35(6):947–53.
- [45] Toledano MB, Mukherjee SK, Howell J, Westaby D, Khan SA, Bilton D, et al. The emerging burden of liver disease in cystic fibrosis patients: A UK nationwide study. *PLoS One* 2019;14(4):e0212779.
- [46] Corvol H, Blackman SM, Boelle PY, Gallins BJ, Pace RG, Stonebraker JR, et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. *Nat Commun* 2015;6:8382.
- [47] Earnest A, Salimi F, Wainwright CE, Bell SC, Ruseckaite R, Ranger T, et al. Lung function over the life course of paediatric and adult patients with cystic fibrosis from a large multi-centre registry. *Sci Rep* 2020;10(1):17421.

## V. Résultats complémentaires

### 1. Facteur de risque nutritionnel

#### a. Contexte, matériel et méthode

Le poids des patients CF ayant été associé à la *Pa*-IA (Maselli *et al.* 2003) puis ce résultat controversé (Rosenfeld *et al.* 2012), nous avons évalué le statut nutritionnel comme facteur de risque potentiel de la précocité de l'infection à *P. aeruginosa*.

Pour cette analyse, nous avons repris la même conception d'étude que celle de l'article. Elle portait donc sur les 1231 enfants atteints de mucoviscidose et répondants aux critères d'inclusion (CF, insuffisance pancréatique, nés après 2001 et d'origine européenne). Le statut nutritionnel a été considéré comme une variable dépendante du temps et défini en fonction de l'IMC, transformé en Z-score selon les normes de croissance de l'enfant définies par l'organisation mondiale de la santé (OMS) (de Onis *et al.* 2007). Nous avons estimé la moyenne trimestrielle de l'IMC Z-score, et les patients ont été classés comme étant soit dénutris, lorsque l'IMC Z-score était inférieur à la médiane (IMC Z-score  $\leq -0,295$ ), soit normaux.

#### b. Résultats

Le statut nutritionnel n'était pas associé à l'âge à la *Pa*-IA, ni la *Pa*-CC ni au délai entre les deux (Tableau 2). Ces résultats peuvent être le reflet de l'amélioration de la prise en charge nutritionnelle des patients CF, notamment depuis la standardisation des soins et la mise en place des CRCM. Cependant, ces résultats pourraient être dus à des données manquantes. Seuls 588 enfants CF ont été inclus dans l'analyse de la *Pa*-IA. En effet, peu de mesures de poids ont été collectées avant l'âge de 5 ans ; pouvant conduire à un biais important de censure à gauche.

**Tableau 2** | Analyse du statut nutritionnel comme facteur de risque de l'infection à *P. aeruginosa*. Résultats des régressions de Cox évaluant l'âge de survenue de la primo-infection, de l'infection chronique à *P. aeruginosa* et du délai entre primo-infection et infection chronique en fonction du statut nutritionnel, chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose.

	Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> HR (IC 95 %) *	Colonisation chronique à <i>P. aeruginosa</i> HR (IC 95 %) *	Temps entre primo-infection et colonisation chronique HR (IC 95 %) *
<b>Statut nutritionnel</b>			
Dénutrition	Référence	Référence	Référence
Normal	0,87 (0,64-1,18)	0,96 (0,61-1,50)	1,31 (0,83-2,07)

\*Hazard-ratio calculés par régression de Cox adaptée aux variables dépendantes du temps.

## 2. Étude des co-infections bactériennes et fongiques respiratoires

### a. Contexte

Les co-infections bactériennes ont été suggérées comme facteurs prédisposant à un âge plus précoce d'infection à *P. aeruginosa*. En particulier, la présence de *Staphylocoque aureus* dans les voies aériennes respiratoires des enfants CF, et les thérapies d'éradication de cette bactérie seraient un accélérateur de la survenue de la *Pa*-IA (Maselli *et al.* 2003; Stutman *et al.* 2002; West *et al.* 2002). Afin d'évaluer le rôle des co-infections bactériennes et fongiques dans l'acquisition et la chronicisation de l'infection à *P. aeruginosa*, nous avons analysé la présence d'une primo-infection ou d'une colonisation chronique à *Aspergillus*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylocoque aureus* sensible ou résistant à la méticilline et *Alcaligenes xylosoxidans* comme facteurs de risque ; ainsi que la survenue d'une aspergillose broncho-pulmonaire allergique.

### b. Matériel et méthode

Les données de co-infection ont été considérées comme des variables dépendantes du temps, nous avons donc adapté le modèle de regression de Cox à cette caractéristique. Les durées de survie des événements *Pa*-IA et de la *Pa*-CC ont été segmentée par trimestre. Nous avons défini une co-infection (primo-infection ou colonisation chronique) comme présente lorsque l'âge de survenue de la co-infection était antérieur à l'âge de survenue de l'infection à *P. aeruginosa* (*Pa*-IA ou *Pa*-CC) ou l'âge au moment de la censure à droite pour les enfants CF sans événement.

Les âges de survenue des primo-infections ou colonisations chroniques des co-infections ont été estimés par la méthode de Kaplan-Meier adaptée aux données censurées par intervalle. Ces données sont disponibles en Annexe VII, ainsi que les courbes d'incidence cumulée en Annexe VIII.

### c. Résultats

L'ensemble des co-infections bactériennes et fongiques analysées sont associées à une survenue plus précoce d'infection à *P. aeruginosa* (Tableau 3). Chez les 1231 enfants analysés, la bactérie *Staphylocoque aureus* sensible à la méticilline (SAMS) est la plus fréquemment retrouvée, 513 et 251 enfants étaient respectivement primo-infectés et colonisés chroniques à cette bactérie au moment de leur primo-infection à *P. aeruginosa*. Chez les enfant colonisés

chroniques à SAMS, le risque d'une survenue de *Pa*-IA était augmenté de 54 % (HR : 1,54 ; IC 95% : 1,32-1,80) et celui de *Pa*-CC de 66 % (HR : 1,66 ; IC 95% : 1,24-2,21) (Tableau 3).

**Tableau 3** | Analyse des co-infections bactériennes et fongiques respiratoires comme facteur de risque de l'infection à *P. aeruginosa*.

Résultats des régressions de Cox évaluant l'âge de survenue de la primo-infection et de la colonisation chronique à *P. aeruginosa* des co-infections à *Aspergillus*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylocoque aureus* sensible ou résistant à la méticilline et *Alcaligenes xylosoxidans* ; et de la survenue d'une aspergillose broncho-pulmonaire allergique.

	Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i>		Colonisation chronique à <i>P. aeruginosa</i>	
	HR (IC 95 %) *	P-value	HR (IC 95 %) *	P-value
<b>Aspergillose broncho-pulmonaire allergique</b>	1,59 (0,57-4,49)	0,3785	2,54 (1,49-4,35)	0,0007
<b><i>Aspergillus</i></b>				
Primo-infection	1,24 (0,88-1,73)	0,2155	1,66 (1,14-2,40)	0,0078
Colonisation chronique	6,40 (3,76-10,9)	<0,0001	1,79 (0,55-5,85)	0,3340
<b><i>Haemophilus influenzae</i></b>				
Primo-infection	1,39 (1,19-1,62)	<0,0001	1,05 (0,79-1,39)	0,7415
Colonisation chronique	1,44 (1,10-1,88)	0,0081	1,44 (0,96-2,16)	0,0764
<b><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></b>				
Primo-infection	1,74 (1,41-2,13)	<0,0001	1,72 (1,27-2,33)	0,0005
Colonisation chronique	1,70 (1,02-2,84)	0,0423	3,17 (2,03-4,94)	<0,0001
<b><i>Staphylocoque aureus</i> sensible à la méticilline</b>				
Primo-infection	1,68 (1,45-1,95)	<0,0001	1,30 (0,96-1,76)	0,0864
Colonisation chronique	1,54 (1,32-1,80)	<0,0001	1,66 (1,24-2,21)	0,0007
<b><i>Staphylocoque aureus</i> méticilline résistant</b>				
Primo-infection	1,54 (1,18-2,02)	0,0015	2,02 (1,42-2,89)	0,0001
Colonisation chronique	1,54 (0,90-2,64)	0,1143	1,80 (0,95-3,42)	0,0729
<b><i>Alcaligenes xylosoxidans</i></b>				
Primo-infection	1,96 (1,11-3,47)	0,0204	1,47 (0,78-2,79)	0,2369
Colonisation chronique	1,74 (0,47-6,35)	0,4047	1,76 (0,59-5,27)	0,3100

\*Hazard-ratio calculés par régression de Cox adaptée aux variables dépendantes du temps

### 3. Facteurs de risque géographiques

#### a. Contexte, matériel et méthode

La disparité spatiale de l'infection à *P. aeruginosa* a été explorée, notamment aux États-Unis, où il est observé des différences dans la survenue de la *Pa*-IA en fonction des coordonnées du lieu de résidence des patients (longitude et latitude) et des états (Psoter *et al.* 2016; Psoter *et al.* 2014) ; mais également en Australie (Carson *et al.* 2021). Bien que la prise en charge médicale des patients CF dans les CRCM soit homogène, nous avons étudié la variabilité géographique. Nous avons observé une différence géographique de la survenue de l'infection à *P. aeruginosa*.

Nous avons utilisé la population et la méthodologie employées dans l'article, à savoir un modèle de régression de Cox adapté aux durées de survie censurées par intervalle. Les facteurs étudiés étaient le gradient Nord/Sud, le gradient Est/ouest et les régions. Les régions étaient déterminées selon leurs index téléphoniques. Les deux centres situés à l'île de la Réunion ont été codés Sud, Ouest et leur index téléphonique était le 2.

## b. Résultats

Chez les 1231 enfants CF, nous avons observé une précocité de la *Pa*-IA à l'Est de la France avec un âge médian de 4,4 ans (IC 95% : 3,7-5,3) comparativement à l'Ouest où l'âge médian était de 5,6 ans (IC 95% : 5,1-6,3) ; correspondant à un risque augmenté de 16 % (HR = 1,16 ; IC 95% : 1,01-1,32) (Tableau 4 et Figure 28A).

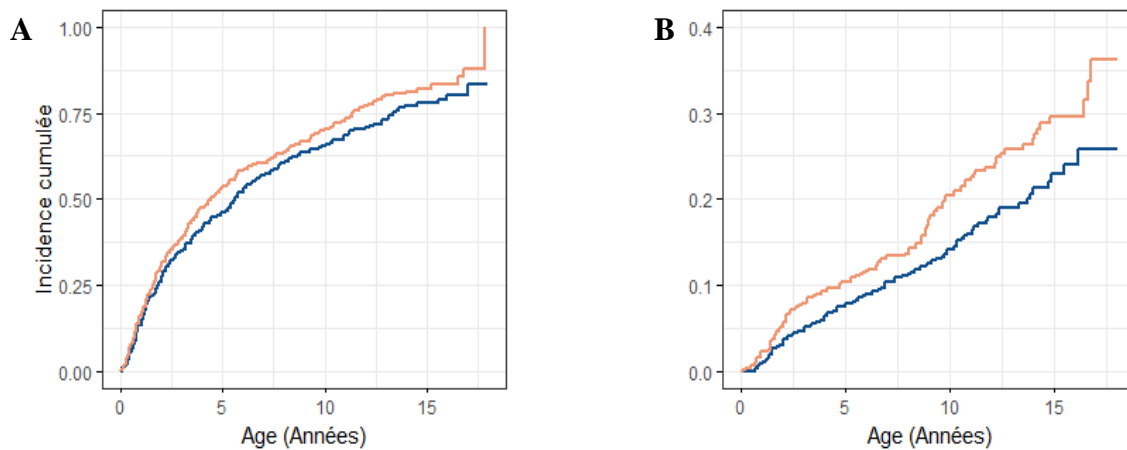
Concernant la *Pa*-CC, nous avons observé une différence de 3,8 ans dans l'âge quartile de la *Pa*-CC, entre l'Est (12,3 ans ; IC 95% : 10,2-14,3) et l'Ouest (16,1 ans ; IC 95% : 12,3-∞) ; soit une augmentation du risque de 39 % à l'Est (HR = 1,39 ; ; IC 95% : 1,07- 1,80) (Tableau 4 et Figure 28B).

Aucune différence n'a été observée entre les régions ou en fonction du gradient Nord/Sud en ce qui concernait la *Pa*-IA, la *Pa*-CC et de délai entre ces deux événements.

**Tableau 4** | Analyse des facteurs de risque géographiques de l'infection à *P. aeruginosa*. Résultats des régressions de Cox évaluant l'âge de survenue de la primo-infection, de l'infection chronique à *P. aeruginosa* et du délai entre primo-infection et infection chronique à *P. aeruginosa* en fonction des facteurs de risque géographiques chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose.

	Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i>			Infection chronique à <i>P. aeruginosa</i>			Temps entre primo-infection et infection chronique à <i>P. aeruginosa</i>		
	Patients à risque % (n)	Nombre d'événements	Hazard-ratio (95% IC) *	Patients à risque % (n)	Nombre d'événements	Hazard-ratio (95% IC) *	Patients à risque % (n)	Nombre d'événements	Hazard-ratio (95% IC) *
<b>Index téléphonique</b>									
01	10% (121)	88	Référence	10% (121)	24	Référence	10% (88)	24	Référence
02	29% (351)	212	0,84 (0,65-1,08)	29% (351)	57	0,97 (0,60-1,56)	25% (212)	57	1,14 (0,71-1,84)
03	34% (413)	299	1,17 (0,92-1,48)	34% (413)	79	1,15 (0,73-1,82)	35% (299)	79	1,06 (0,67-1,67)
04	20% (244)	171	1,08 (0,84-1,40)	20% (244)	60	1,42 (0,88-2,28)	20% (171)	60	1,35 (0,84-2,17)
05	8% (102)	77	1,06 (0,78-1,44)	8% (102)	14	0,73 (0,38-1,42)	9% (77)	14	0,69 (0,36-1,33)
<b>Gradient Nord/sud</b>									
Nord	71% (868)	587	Référence	71% (868)	156	Référence	69% (587)	156	Référence
Sud	29% (363)	260	1,08 (0,93-1,25)	29% (363)	78	1,16 (0,88-1,52)	31% (260)	78	1,07 (0,82-1,41)
<b>Gradient Est/ouest</b>									
Ouest	51% (626)	421	Référence	51% (626)	103	Référence	50% (421)	103	Référence
Est	49% (605)	426	1,16 (1,01-1,32)	49% (605)	131	1,39 (1,07-1,8)	50% (426)	131	1,27 (0,98-1,65)

\*Hazard-ratio calculés par régression de Cox adaptée aux données censurées par intervalle.



**Figure 28** | Incidences cumulées de l’infection à *P. aeruginosa* en fonction du gradient Est/Ouest. **A)** Incidence cumulée de la primo-infection à *P. aeruginosa* en fonction de la région Est (rose) et de la région Ouest (bleu). **B)** Incidence cumulée de l’infection chronique à *P. aeruginosa* en fonction de la région Est (rose) et de la région Ouest (bleu). Estimation selon la méthode de Kaplan-Meier.

## 4. Facteurs de risque climatiques et saisonnalité

### a. Contexte

La littérature suggère que les différences géographiques de survenue de l’infection à *P. aeruginosa* pourraient être dues à la biodiversité régionale des isolats de *P. aeruginosa* dans les sols. De plus, les caractéristiques environnementales locales modifieraient les propriétés d’adhésion et de formation de biofilm de la bactérie. Ainsi, il a été mis en évidence un caractère saisonnier, avec une fréquence plus élevée en automne et en hiver, de la primo-infection à *P. aeruginosa* et de diverses infections bactériennes typiques de la mucoviscidose (Johansen et Hoiby 1992; Psoter *et al.* 2013; Psoter *et al.* 2017b). Enfin, ces facteurs saisonniers seraient en partie modulés par des différences climatiques, notamment la température et l’humidité (Collaco *et al.* 2011; Collaco *et al.* 2016; Psoter *et al.* 2016; Warriar *et al.* 2019). Afin de déterminer l’origine de la variabilité géographique observée dans la cohorte, nous avons évalué l’influence de ces facteurs environnementaux exogènes sur la primo-infection à *P. aeruginosa*.

### b. Matériel et méthode

Pour cette analyse, nous avons repris la même conception d’étude que celle de l’article. Elle a donc porté sur les 1231 enfants atteints de mucoviscidose et répondants aux critères d’inclusion précédents (insuffisance pancréatique, nés après 2001 et d’origine européenne).

Les données climatiques sont issues de l’ECA&D (*European climate assesment and datasets*, <https://www.ecad.eu/download/ensembles/download.php>). Cet observatoire européen met à disposition les données journalières de température, de précipitations, du taux d’humidité

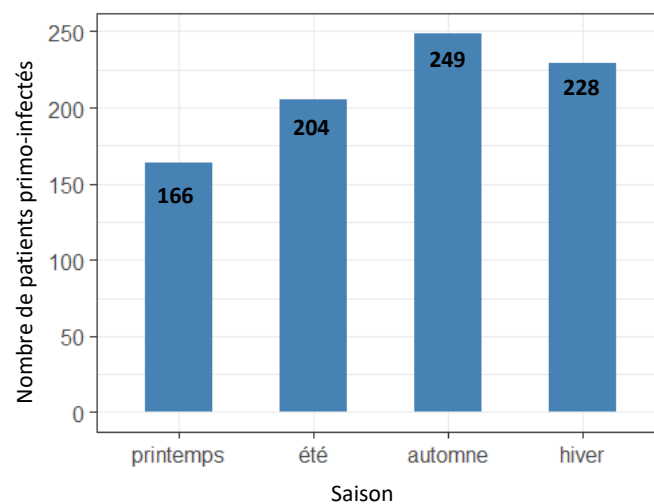
relative et d'irradiation solaire avec une précision de l'ordre du km<sup>2</sup>. Nous avons utilisé les données du jeu « *E-OBS version 23.1<sup>e</sup>* » pour la période du 1<sup>er</sup> janvier 2001 au 31 décembre 2019. Les patients ont été localisés en fonction de leur code postal de résidence et lorsque celui-ci n'était pas disponible, ils étaient localisés par le code postal du CRCM de suivi. Les données des patients résidants à l'île de la Réunion ont été exclus en raison de l'indisponibilité des données climatiques (15 enfants).

Les saisons ont été définies de la façon suivante : printemps (du 21 mars au 20 juin), été (du 21 juin au 20 septembre), automne (du 21 septembre au 20 décembre) et hiver (du 21 décembre au 20 mars). Le printemps a été déterminé comme saison de référence.

Nous avons utilisé des modèles de régression de Cox adaptés aux variables dépendantes du temps. Les durées de survie ont été segmentées en intervalle journalier. Nous avons analysé les données journalières et annualisées pour les variables climatiques.

### c. Résultats

Parmi les 1231 enfants analysés, nous avons observé que le nombre d'enfants primo-infectés à *P. aeruginosa* varie en fonction des saisons (Figure 29).



**Figure 29** | Nombre d'enfants primo-infectés à *P. aeruginosa* en fonction des saisons.

Le printemps est la saison où le risque de survenue de *Pa*-IA est le plus faible. En effet, nous avons observé une augmentation significative du risque de 23 % en été (HR : 1,23 ; IC 95% : 1,00-1,51), de 53 % en automne (HR : 1,33 ; IC 95% : 1,25-1,86) et de 42 % en hiver (HR : 1,42 ; IC 95% : 1,16-1,74) (Tableau 5).

**Tableau 5** | Analyse des facteurs de risque climatiques et saisonniers de l'infection à *P. aeruginosa*. Résultats des régressions de Cox évaluant l'âge de survenue de la primo-infection à *P. aeruginosa* en fonction des saisons, température, précipitations, du taux d'humidité relative et de l'irradiation solaire, chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose.

	Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> HR (IC 95% )*	P-value
<b>Saison</b>		
Printemps	Référence	Référence
Été	1,23 (1,00-1,51)	0,0495
Automne	1,53 (1,25-1,86)	<0,0001
Hiver	1,42 (1,16-1,74)	0,0006
<b>Température (Celsius)</b>		
Moyenne par jour	1,00 (0,99-1,01)	0,5675
Moyenne par an	1,03 (0,98-1,08)	0,2422
<b>Précipitations (mm)</b>		
Cumulées par jour	1,00 (0,99-1,01)	0,9243
Cumulées par an	0,97 (0,87-1,08)	0,5941
<b>Humidité relative moyenne par an (%)</b>		
(55,4 ; 77]	Référence	Référence
(77 ; 79,5]	0,88 (0,73-1,06)	0,1732
(79,5 ; 81,5]	0,91 (0,76-1,09)	0,3121
(81,5 ; 93,3]	0,72 (0,59-0,88)	0,0015
<b>Irradiation solaire moyenne par jour (W/m<sup>2</sup>)</b>		
(0 ; 55]	Référence	Référence
(55 ; 122]	1,04 (0,86-1,25)	0,6810
(122 ; 205]	0,91 (0,76-1,11)	0,3552
(205 ; 710]	0,74 (0,61-0,90)	0,0032

\*Hazard-ratio calculés par régression de Cox adaptée aux données censurées par intervalle.

Les résultats des modèles de régression de Cox évaluant l'association entre la *Pa*-IA et les facteurs de risque climatiques sont présentés dans le Tableau 5. L'âge de *Pa*-IA ne diffère pas en fonction de la température ni des précipitations. Cependant, plus la moyenne annuelle d'humidité relative et la moyenne d'irradiation solaire journalière augmentent, plus le risque de survenue de *Pa*-IA diminue.

## 5. Analyse de génome entier

### a. Contexte et matériel

Afin d'explorer de nouvelles régions génomiques pouvant être associées à l'infection à *P. aeruginosa*, nous avons réalisé une analyse de génome entier (GWAS).

Nous avons utilisé les données issues du génotypage de génome entier (Puces Illumina 660W et Infinium Global Screening-24 v 2.0). Afin d'harmoniser les données issues de ces deux puces

à ADN, nous avons réalisé une imputation de données génétiques avec le logiciel Impute2 chez l'ensemble des 2465 patients CF (Howie *et al.* 2009) .

Les données ont ensuite été filtrées de la manière suivante : 1) exclusion des variants tri-alléliques, 2) exclusion de variants en fonction de l'équilibre de liaison entre ceux-ci avec un seuil de  $R^2$  de 95 % et, 3) exclusion des variants dont moins de 90 % des patients n'étaient pas génotypés et/ou ayant une MAF inférieure à 1 %.

## b. Méthode

L'analyse d'association entre la survenue de l'infection et les variants génétique a été réalisée par regression de Cox, selon un modèle additif (l'allèle ayant la plus grande fréquence était l'allèle de référence). Le modèle de regression de Cox a été ajusté sur la puce ADN. Comme suggéré par Ken Rice et Thomas Lumley (Laurie *et al.* 2010), seuls les variants ayant un filtre  $> 75$  ont été conservé, le filtre étant défini par :

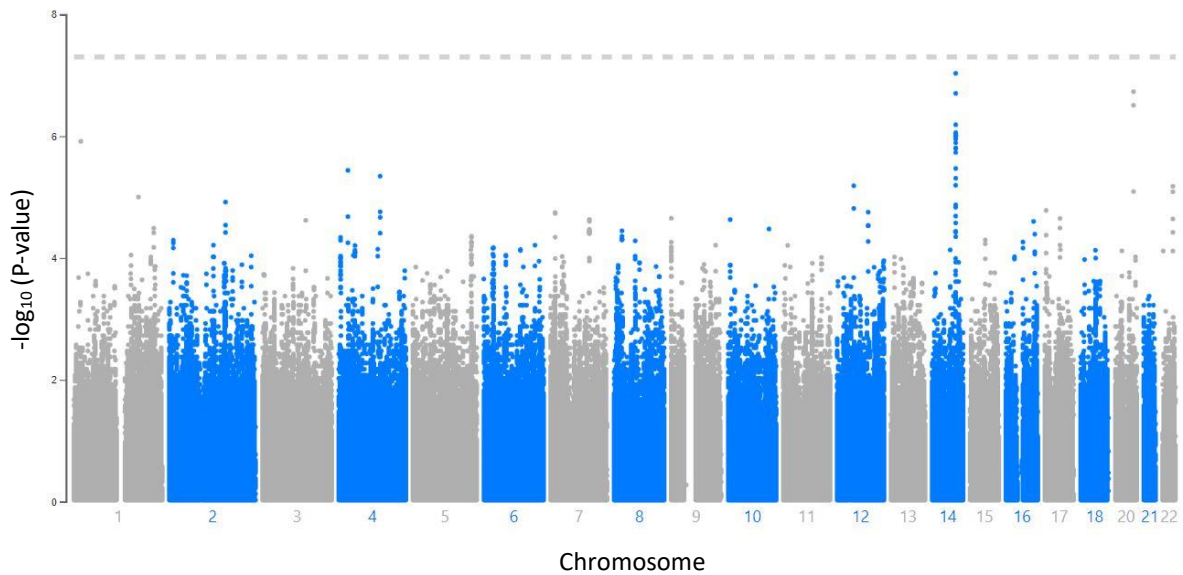
$Filtre = 2 \times MAF \times (1 - MAF) \times n_{\text{évènement}}$ , où  $MAF$  était la fréquence de l'allèle mineur et  $n_{\text{évènement}}$  le nombre patients présentant une infection à *P. aeruginosa*.

## c. Résultats

Parmi les 1231 enfants analysés de l'article, 593 CF ont eu un génotypage de génome entier, dont 470 ont eu une *Pa*-IA et 140 une *Pa*-CC. Nous n'avons pas réalisé d'analyse de GWAS de l'infection chronique, dans la mesure où seul 140 évènements étaient recensés chez ces 593 enfants.

Concernant l'analyse GWAS de la survenue de *Pa*-IA, après filtrage des résultats, 1 150 204 variants ont été inclus dans l'analyse. Aucune association significative n'a été mise en évidence (seuil de significativité :  $P\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$ ) (Figure 30).

Cependant, 26 variants sont associés de façon suggestive ( $5 \times 10^{-8} \leq P\text{-value} < 1 \times 10^{-5}$ ), dont 16 sont situés sur le pic observé sur le chromosome 14 (Figure 30). Cette région génomique est située proche du gène *FLRT2* (*Fibronectin-Like Domain-Containing Leucine-Rich Transmembrane Protein 2*) et le SNP le plus suggestif est le rs1899445, avec un HR de 1,47 (IC 95% : 1,32-1,92 ;  $P\text{-value} 9,28 \times 10^{-8}$  ;  $MAF = 0,30$ ) (Figure 31A). Le gène *FLRT2* code pour un membre de la famille des molécules d'adhésion cellulaire FLRT. Il a été montré que le budésone (glucocorticoïde inhalé) induit une diminution significative de l'expression en ARNm de *FLRT2* dans les cellules épithéliales alvéolaires et bronchiques (Mostafa *et al.* 2019).

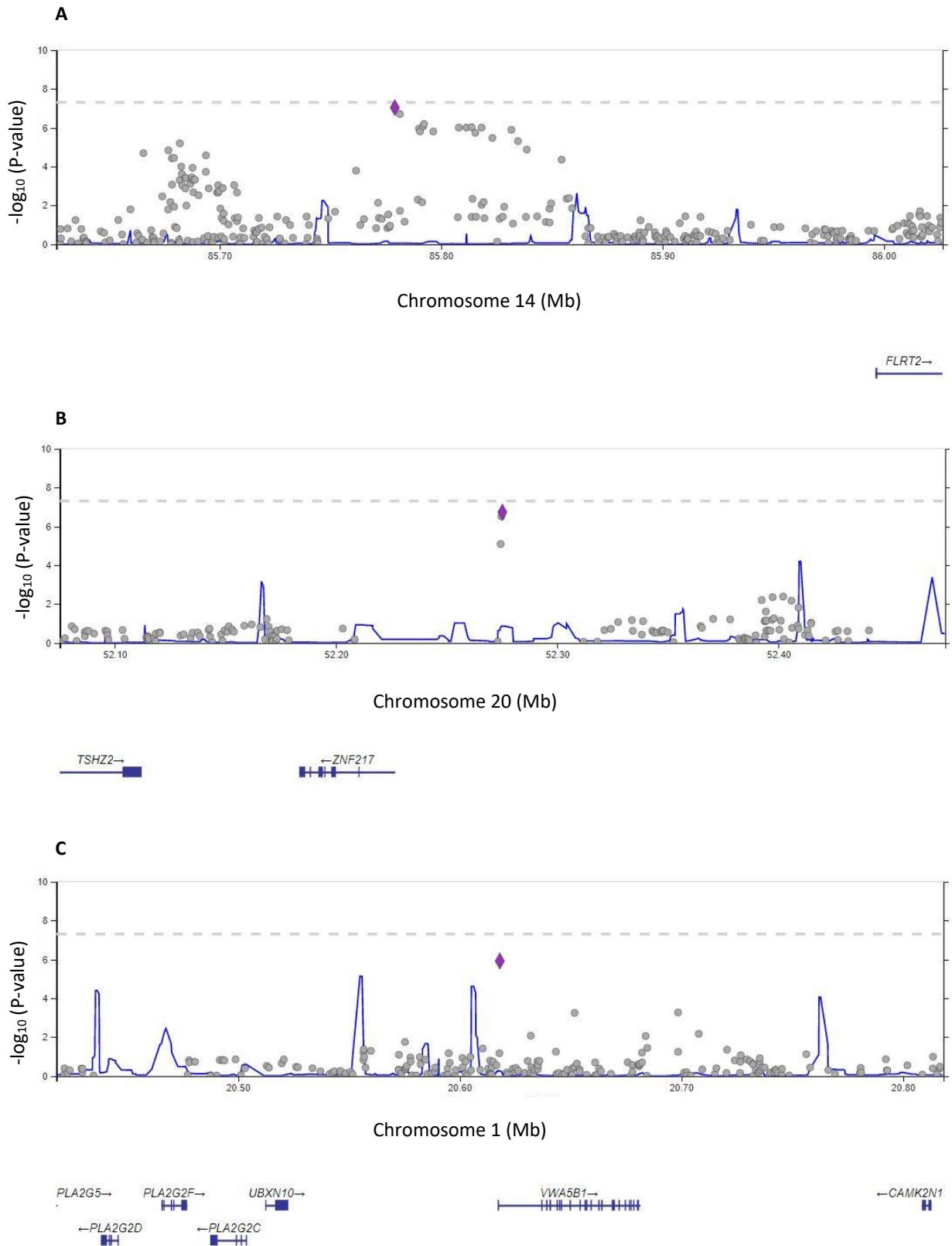


**Figure 30** | Manhattan plot des résultats de GWAS évaluant par regression de Cox, l'association entre variants génétique et la survenue de la primo-infection à *P. aeruginosa*, chez 593 enfants atteints de mucoviscidose.

Le rs601374 du chromosome 20 est le deuxième plus suggestif, avec un HR de 1,57 (IC 95% : 1,33-1,86 ; P-value  $1,85 \times 10^{-7}$ ; MAF = 0,16). Ce variant est situé proche du gène *ZNF217* (*Zinc Finger Protein 21*) (Figure 31B). La protéine ZNF217 pourrait atténuer les signaux apoptotiques résultant du dysfonctionnement des télomères et favoriserait la prolifération des cellules épithéliales mammaires (Huang *et al.* 2005).

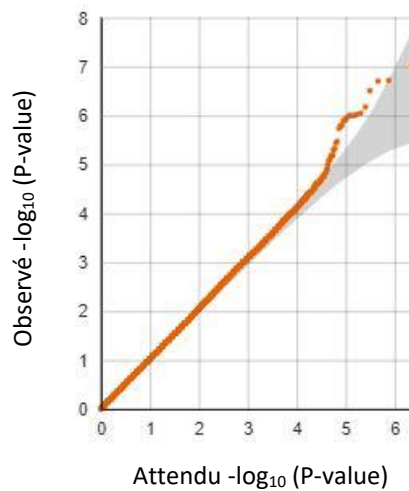
Le rs55947850 du chromosome 1 est suggestif avec un HR de 1,59 (IC 95% : 1,32-1,92 ; P-value  $1,22 \times 10^{-6}$  ; MAF = 0,14). Il est situé dans le gène *VWA5B1* (*Von Willebrand Factor A Domain Containing 5B1*) (Figure 31C). La protéine codée par ce gène est très peu exprimée dans le poumon.

Enfin, le QQ plot des distributions des P-values observées en fonction des P-values théoriques montre une courbe qui ne s'écarte de la médiane que pour des valeurs élevées de P-values. Ce qui laisse à penser que les variants suggestifs ne le sont pas en raison d'un effet de stratification de population (Figure 32).



**Figure 31** | Zoom sur les locus suggestifs de l'analyse GWAS évaluant la survenue de la primo-infection à *P. aeruginosa* par regression de Cox chez 593 enfants atteints de mucoviscidose.

**A)** Chromosome 14, rs1899445 en violet. **B)** Chromosome 20, rs6013748 en violet. **C)** Chromosome 1, rs55947850 en violet.



**Figure 32** | QQ plot des résultats de GWAS évaluant par regression de Cox l'association entre variants génétique et survenue de la primo-infection à *P. aeruginosa* chez 593 enfants atteints de mucoviscidose.

## **6. Corrélation entre le déclin de la fonction respiratoire et l'infection à *P. aeruginosa***

### **a. Contexte, matériel et méthode**

Afin d'évaluer précisément la corrélation entre l'âge survenue de l'infection et le déclin de la fonction respiratoire, nous avons modélisé conjointement les données de fonction respiratoire et de durées de survie en adaptant le modèle de regression mixte joint proposé par Schluchter et ses collègues (Schluchter *et al.* 2002) ; en assumant une pente de déclin différente avant et après la *Pa*-IA et la *Pa*-CC, avec ou sans terme de corrélation (la modélisation et la méthodologie statistique sont décrites en Annexe IX). L'adéquation des modèles a été évaluée par le critère d'information d'Akaike (AIC), qui est une mesure de qualité qui pénalise les modèles en fonction du nombre de paramètres estimé (Akaike 1973). Le meilleur modèle est celui qui a le plus faible AIC.

### **b. Résultats**

Nous avons observé que le modèle de regression mixte joint, sans ajout de terme de corrélation, estime des pentes de déclin annuel de VEMSpp après la *Pa*-IA et la *Pa*-CC, respectivement, à -0,92 % (IC 95 % : -0,93 ; -0,91) et à -1,73 (IC 95 % : -1,75 ; -1,71) (Tableau 6). Ces estimations sont très proches de celles estimées dans l'article et évaluées par regression linéaire mixte segmentée, à -0,92 % après la *Pa*-IA et à -1,51 après la *Pa*-CC (Mesinele *et al.* 2021).

Cependant, nous observons que le meilleur modèle est celui incluant une corrélation entre l'âge de l'infection et le déclin, avec des pentes de déclin annuel de VEMSpp de -1,26 (-1,28 ; -1,23) et de -3,06 (-3,1 ; -3,02) après la *Pa*-IA et la *Pa*-CC respectivement (Tableau 6).

Les pentes de déclin avant l'infection n'étaient pas informatives sur l'âge de survenue de la *Pa*-IA (coefficient de corrélation (corr) : -0,012 ; IC 95% : -0,075 à 0,050 ; P-value = 0,3515) et de la *Pa*-CC (corr : 0,061 ; IC 95% : -0,010 à 0,132 ; P-value = 0,9538). Nous observons des corrélations négatives entre l'âge de survenue de la *Pa*-IA (corr : -0,333 ; IC 95% : -0,387 à -0,276 ; P-value <0,0001), de la *Pa*-CC (corr : -0,520 ; IC 95% : -0,571 à -0,466, P-value <0,0001) et les pentes de déclin de la fonction respiratoire après ces deux évènements.

Ces données soulignent, d'une part le rôle prépondérant de la précocité de l'infection dans le déclin de la fonction respiratoire et d'autre part, son doublement après la survenue de l'infection chronique à *P. aeruginosa*.

**Tableau 6** | Résultats de l'analyse de l'impact de l'infection à *P. aeruginosa* sur le déclin de la fonction respiratoire selon un modèle de régression mixte joint, chez 980 enfants atteints de mucoviscidose.

Modèles	Nombre de patients	Intercept (IC 95 %) (VEMSpp)*	Pente avant l'infection (IC 95 %) (VEMSpp)*	Pente après l'infection (IC 95 %) (VEMSpp)*	AIC
<b>Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i></b>					
Sans corrélation	980	94,5 (94,4 ; 94,5)	-0,36 (-0,37 ; -0,36)	-0,92 (-0,93 ; -0,91)	111017,2
Avec corrélation	980	94,2 (94,2 ; 94,3)	-0,37 (-0,39 ; -0,36)	-1,26 (-1,28 ; -1,23)	111013,8
<b>Colonisation chronique à <i>P. aeruginosa</i></b>					
Sans corrélation	751	96,4 (96,3 ; 96,5)	-0,92 (-0,93 ; -0,91)	-1,73 (-1,75 ; -1,71)	86717,6
Avec corrélation	751	96,8 (96,8 ; 96,9)	-1,05 (-1,06 ; -1,04)	-3,06 (-3,1 ; -3,02)	86702,0

\* Mesures du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) exprimé en pourcentage prédit (VEMSpp) selon la méthode de la *Global Lung Function Initiative equations* (Quanjer *et al.* 2012).

*Abréviations* : AIC: Akaike information criterion (Akaike 1973) , IC : intervalle de confiance

# Partie 2 : Traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor

## I. État de l'art

Comme détaillé dans l'introduction, l'association du correcteur lumacaftor au potentiateur ivacaftor (LUMA-IVA, Orkambi<sup>®</sup>) a obtenu l'AMM dès 2016 pour les patients porteurs de la mutation de *CFTR* F508del à l'état homozygote âgés de plus de 12 ans ; avec des extensions au décours qui permettent depuis 2019 de prescrire cette association à partir de 2 ans. D'après le Registre de la mucoviscidose, ce traitement pourrait être prescrit à 41 % des patients français (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

Grand espoir pour les patients, il s'est vite avéré que les bénéfices respiratoire et nutritionnel étaient modérés et très hétérogènes d'un patient à l'autre, avec un gain de fonction respiratoire estimé entre -0,4 et 3,67 points de VEMSpp et un gain nutritionnel compris entre 0,73 et 0,96 kg/m<sup>2</sup> pour l'indice de masse corporelle (Aalbers *et al.* 2020; Burgel, Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021; Burgel *et al.* 2020; J. Stuart Elborn *et al.* 2016; Jennings *et al.* 2017; Konstan *et al.* 2017; Taylor-Cousar *et al.* 2018). Les facteurs de variabilité de la réponse (nutritionnelle et respiratoire) de ce traitement au long cours ( $\geq 2$  ans) ne sont pas encore décrits.

Les études en vie réelle ont révélé une tolérance limitée au traitement, mise en évidence par des taux d'interruption élevés, rapportés entre 17,2 % et 28,9 % selon les études (Burgel, Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021; Burgel *et al.* 2020; Jennings *et al.* 2017). Ces données soulignent une contrainte méthodologique majeure dans l'analyse des facteurs d'hétérogénéité de la réponse à long terme.

En effet, les interruptions précoces de traitement peuvent conduire à deux biais majeurs :

- Le biais de sélection : exclure les patients interrompant le traitement conduit à limiter la population de l'étude, notamment aux patients qui pourraient n'être que des bons répondeurs.

- Le biais de données manquantes : inclure les patients interrompant précocement le traitement dans une étude de suivi à long terme conduit à l'absence d'un grand nombre de données longitudinales.

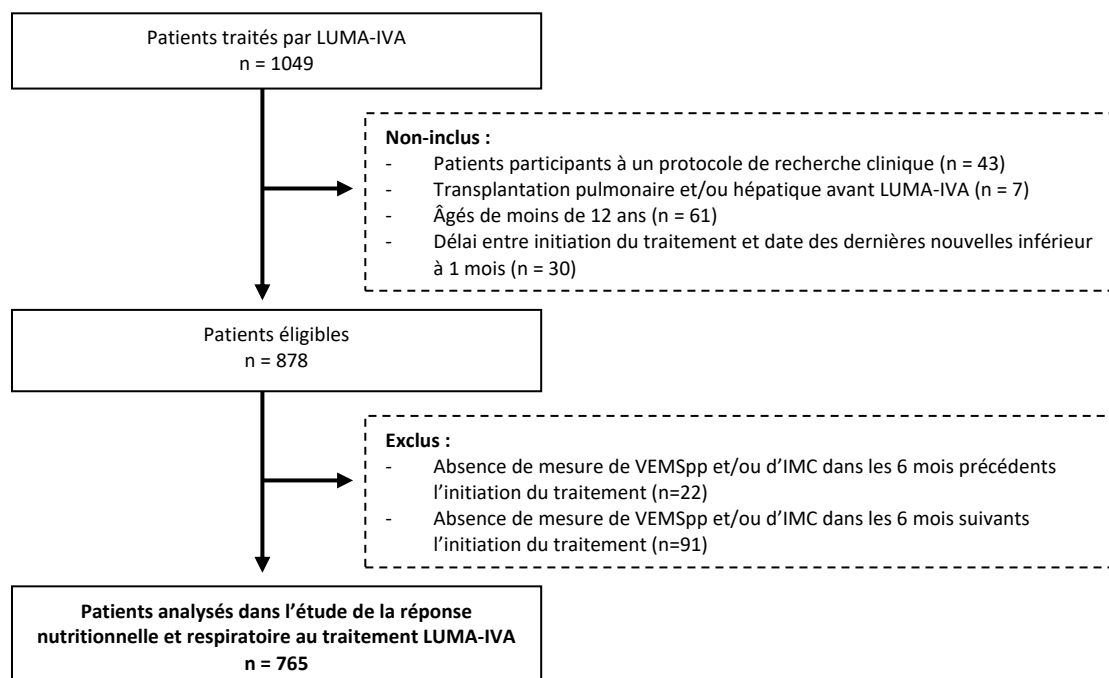
Le biais de sélection n'est pas méthodologiquement concevable dans notre étude des facteurs de variabilité de la réponse au traitement LUMA-IVA. La problématique des patients dits « *dropout* », et par conséquent les données manquantes qui en découlent, a été étudiée afin de définir des modèles statistiques appropriés.

Une solution méthodologique est l'utilisation d'équation d'estimation généralisée (ou modèle GEE pour *generalized estimating equation*). Ce modèle non-paramétrique offre l'avantage d'estimer des paramètres d'un modèle linéaire généralisé tout en supposant une structure de corrélation non connue (Hardin et Hilbe 2002; Liang et Zeger 1986). La prise en compte des données manquantes dans le modèle GEE peut être réalisée par la pondération (WGEE pour *weighted generalized estimating equation*) (Preisser *et al.* 2002; Robins *et al.* 1995). En effet, ce modèle permet de modéliser pour un sujet, une probabilité d'avoir des données manquantes à partir de variables connues. Cette probabilité est ensuite intégrée au modèle GEE par pondération.

## II. Matériel et méthodes

### 1. Patients

Nous avons inclus dans cette analyse les patients CF homozygotes pour la mutation de *CFTR* F508del âgés de plus de 12 ans et ayant débuté le traitement LUMA-IVA en dehors de tout protocole de recherche, non transplanté pulmonaire et/ou hépatique avant le traitement, et dont la date des dernières nouvelles était plus d'un mois après l'initiation du traitement. Nous avons exclu les patients n'ayant pas de données de fonction respiratoire (VEMSpp) ou de statut nutritionnel (IMC) dans les 6 mois précédant la mise sous traitement et/ou les patients sans données longitudinales post traitement (Figure 33).



**Figure 33** | Diagramme de flux de sélection des patients de l'analyse de la variabilité de la réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor.

*Abréviations* : VEMSpp : volume expiratoire maximal par seconde, IMC : indice de masse corporelle, LUMA-IVA : traitement lumacaftor-ivacaftor.

### 2. Réponse respiratoire au traitement

Pour évaluer la fonction respiratoire, les mesures du VEMS sont exprimées en pourcentage des valeurs prédites à l'aide des équations de la *Global Lung Function Initiative* (Quanjer *et al.* 2012). Les VEMSpp sont transformés en phénotype pulmonaire spécifique de la mucoviscidose (SaKnorm Z-value pour *Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype*) afin de pouvoir étudier des facteurs de variabilité corrélés à l'âge des patients (Kulich *et al.*

2005; Taylor *et al.* 2011). Pour chaque patient, la valeur *baseline* de SaKnorm Z-value est calculée comme la moyenne des mesures des 6 mois précédant le début du traitement. Nous avons classé les valeurs *baseline* selon les terciles comme suit : SaKnorm Z-value de -1,620 à 0,168 (1<sup>er</sup> tercile), de 0,169 à 0,791 (2<sup>ème</sup> tercile) et de 0,792 à 2,520 (3<sup>ème</sup> tercile).

### **3. Réponse nutritionnelle au traitement**

Nous avons évalué la réponse nutritionnelle au traitement LUMA-IVA par les mesures de l'indice de masse corporelle (IMC), transformé en BMI Z-score selon les normes définies par l'organisation mondiale de la santé (de Onis *et al.* 2007). Pour chaque patient, la valeur *baseline* de BMI Z-score est calculée comme la moyenne des mesures des 6 mois précédant le début du traitement. Nous avons classé les valeurs *baseline* selon les terciles comme suit : de -4,330 à -1,080 (1<sup>er</sup> tercile), de 1,079 à -0,307 (2<sup>ème</sup> tercile) et de -0,306 à 2,890 (3<sup>ème</sup> tercile).

### **4. Facteurs de variabilité**

#### **a. Facteurs de variabilité cliniques et démographiques**

L'analyse de la variabilité de la réponse nutritionnelle et respiratoire au traitement LUMA-IVA a porté sur les facteurs démographiques et cliniques suivant : le sexe, l'âge à l'initiation du traitement, la présence d'un iléus méconial à la naissance, la CFRD (*Cystic fibrosis-related diabetes*), la CFLD (*Cystic fibrosis liver disease*) et la présence d'une colonisation chronique par *P. aeruginosa* (Pa-CC) avant l'initiation du traitement.

##### *i. Définition de la CFRD*

Le protocole national de diagnostic et de soins de la mucoviscidose (PNDS) recommande un Afin de dépister l'apparition d'un diabète ou CFRD, le protocole national de diagnostic et de soins de la mucoviscidose (PNDS) recommande un test annuel d'hyperglycémie orale provoquée (HGPO) à partir de l'âge de 10 ans (HAS 2017). Le diagnostic de CFRD est posé lorsque les valeurs de glycémie à 2 heures sont supérieures ou égales à 11,1 mmol/L (200 mg/dL). Dans nos analyses, nous avons défini la CFRD comme « présente » lorsqu'un diagnostic était posé avant l'initiation du traitement LUMA-IVA.

##### *ii. Définition de la CFLD*

L'atteinte hépatique ou CFLD a été définie comme rapporté précédemment selon les recommandations européennes des bonnes pratiques (Boelle, Debray, Guillot, Clement, *et al.* 2019; Debray *et al.* 2011) :

- Présence d'au moins deux des caractéristiques suivantes : 1) examen physique anormal, y compris hépatomégalie et/ou splénomégalie ; 2) anomalies des tests de fonction hépatique, définies par une augmentation des taux de transaminases (alanine aminotransférase et/ou aspartate aminotransférase) et/ou de gamma-glutamyl transpeptidase au-dessus des limites supérieures de la normale ; ou 3) des signes échographiques d'atteinte hépatique (échogénicité hétérogène, marges irrégulières ou nodulaire), d'hypertension portale (splénomégalie, épaisseur accrue du petit épiploon, anastomose spléno-rénale spontanée, grosses veines collatérales ou ascite) ou d'anomalies biliaires (dilatation des voies biliaires).
- L'atteinte était considérée comme sévère lorsqu'au moins une des caractéristiques suivantes était présente : 1) cirrhose diagnostiquée par échographie, tomodensitométrie et/ou par imagerie par résonance magnétique ; 2) hypertension portale (splénomégalie, hypersplénisme (plaquettes <150 000 10<sup>9</sup>/L et globules blancs <3000 10<sup>9</sup>/L) ; 3) shunts porto-systémiques spontanés à l'échographie ; ou 4) varices œsophagiennes.

La CFLD a été définie comme "présente" lorsqu'un diagnostic était posé avant l'initiation du traitement LUMA-IVA.

### iii. Définition de la Pa-CC

Nous avons défini la Pa-CC selon les critères du PNDS, à savoir, au moins trois ECBC positifs à *P. aeruginosa* à au moins 1 mois d'intervalle sur une période de 6 mois (HAS 2017). La Pa-CC a été définie comme "présente" lorsqu'un diagnostic était posé avant l'initiation du traitement LUMA-IVA.

## b. Facteurs de variabilité génétiques

Nous avons étudié les facteurs génétiques d'hétérogénéité de la réponse au traitement par une approche gène-candidat. Nous avons analysé des polymorphismes de type SNP (*single nucleotid polymorphism*) situés dans, ou à proximité, des gènes de la famille des *SLC* (*solute carrier*). Ce choix a été motivé, d'une part en raison de l'implication controversée du gène *SLC26A9* dans la variabilité de la réponse respiratoire au traitement ivacaftor (Corvol, Mésinèle, *et al.* 2018; Eastman *et al.* 2021; Strug *et al.* 2016) ; d'autre part, en raison de leur rôle dans plusieurs phénotypes de la mucoviscidose (Corvol *et al.* 2015; W. Li *et al.* 2014; Pereira *et al.* 2017; Ruffin, Mercier, Calmel, Mesinele, Bigot, *et al.* 2020; Ruffin, Mercier, Calmel, Mesinele, Corvol, *et al.* 2020; Sun *et al.* 2012).

Nous avons analysé 9 SNP dans les gènes suivants : *SLC26A9* (rs7512462, rs1874361, rs4077468, rs4077469, rs7419153, rs12047830), *SLC9A3* (rs57221529) et *SLC6A14* (rs3788766 et rs12839137). Une brève description de ces gènes analysés est disponible en Annexe V.

## 5. Analyses statistiques

La variabilité de la réponse au traitement par LUMA-IVA a été mesurée par le coefficient de variation (CV) à 6 mois post-traitement, du gain absolu de VEMSpp pour la réponse respiratoire et du gain absolu d'IMC pour la réponse nutritionnelle. Le CV est une mesure de dispersion relative correspondant au rapport de l'écart-type à la moyenne ; plus sa valeur est élevée, plus la dispersion autour de la moyenne est grande.

Les facteurs de variabilité de la réponse respiratoire et nutritionnelle au cours des deux premières années de traitement par LUMA-IVA ont été analysés par des modèles WGEE mixtes (estimation d'équation généralisées pondérées ou *weighted generalized estimating equation*). Les mesures de SaKnorm Z-value et de BMI Z-score ont été moyennées sur des périodes successives de 6 mois, en commençant 6 mois avant le début du traitement (*baseline*) et en s'étendant sur les 2 années suivant le début du traitement.

Seules les données concernant la première initiation de traitement LUMA-IVA ont été analysées. En cas d'interruption de traitement, les données des mesures de SaKnorm Z-value et de BMI Z-score ont été censurées à la date de l'interruption, que le patient ait repris ou non le traitement ultérieurement.

Pour tenir compte des données manquantes, nous avons pondéré le modèle selon la probabilité d'absence de données définie par les 4 variables suivantes : le temps écoulé depuis le début du traitement, l'âge à l'initiation du traitement, le gain de fonction respiratoire au cours du semestre précédent et la valeur *baseline* de la fonction respiratoire. Ces critères comprennent donc les facteurs associés à l'interruption de traitement identifiés dans la littérature (Burgel *et al.* 2020).

Pour l'étude d'association génétique, nous avons appliqué un codage additif des SNP. Les allèles de référence ont été déterminés comme étant ceux dont la fréquence est la plus élevée dans la population européenne (<http://www.ensembl.org>). Les SNP du chromosome X (*SLC6A14* rs3788766 et rs12839137) ont également été codés de manière additive (0 ou 1 ou 2 pour les femmes et 0 ou 2 pour les hommes). Un test exact de Fisher a été utilisé pour tester la conformité des fréquences alléliques avec l'équilibre de Hardy-Weinberg.

### III. Résultats

#### 1. Population de l'étude

Parmi les 878 patients éligibles à l'analyse de la réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement LUMA-IVA, 765 patients ont été inclus (voir Figure 33). Les caractéristiques démographiques et cliniques à l'initiation du traitement LUMA-IVA sont résumées dans le Tableau 7. Les distributions sont similaires dans les groupes analysés (n = 765) et exclus (n = 173) selon le sexe, l'origine ethnique, la sévérité de l'atteinte respiratoire et nutritionnelle. Les patients exclus sont plus âgés et ont interrompu plus fréquemment le traitement. Parmi les 878 patients éligibles, 173 ont interrompus le traitement et sont âgés de 26,5 ans en moyenne (Tableau 7).

**Tableau 7** | Caractéristiques démographiques et cliniques des 878 patients atteints de mucoviscidose et éligibles à l'analyse de la réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor.

	Patients analysés n=765	Patients exclus n=113	Interruption de traitement n=173
Homme, % (n)	56% (430)	46% (52)	50% (86)
Caucasiens, % (n)	98% (745)	97% (110)	97% (168)
Âge à l'initiation de LUMA-IVA (années), moyenne ± SD	22,2	25,2	26,5
Âge à l'initiation de LUMA-IVA (années), % (n)			
≤ 20	50% (383)	32% (36)	26% (45)
20-30	28% (217)	38% (43)	38% (66)
>30	22% (165)	30% (34)	36% (62)
Présence d'un iléus méconial % (n)	17% (118)	25% (27)	16% (25)
Présence d'une CFRD*, % (n)	26% (195)	31% (33)	34% (56)
Présence d'une CFLD*, % (n)	36% (275)	46% (51)	41% (70)
Présence d'une Pa-CC*, % (n)	39% (295)	44% (50)	47% (81)
Sévérité de la fonction respiratoire <sup>‡</sup> (SaKnorm Z-value), moyenne ± SD	0,447 ± 0,702	0,457 ± 0,710	0,554 ± 0,640
Sévérité de l'état nutritionnel <sup>‡</sup> (BMI Z-score), moyenne ± SD	-0,677 ± 0,932	-0,807 ± 1,060	-0,679 ± 0,994
Interruption du traitement LUMA-IVA, % (n)	15% (111)	55% (62)	-

\*Avant l'initiation de LUMA-IVA; <sup>‡</sup>Au cours des 3 ans précédant l'initiation de LUMA-IVA

Abréviations : CFRD : *cystic fibrosis related diabetes* ; CFLD : *cystic fibrosis liver disease* ; Pa-CC : colonisation chronique à *P. aeruginosa* ; LUMA-IVA : traitement lumacaftor-ivacaftor.

#### 2. Réponses au traitement

##### a. Réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement

Après le début du traitement par LUMA-IVA, la fonction respiratoire et l'état nutritionnel sont améliorés, avec un gain estimé de SaKnorm Z-value de  $0,106 \pm 0,015$  (P-value <0,0001) et un gain de BMI Z-score de  $0,108 \pm 0,017$  (P-value <0,0001) (Tableau 8).

Ces améliorations sont maintenues pendant les deux premières années de traitement, avec des pentes de gain positives de  $0,054 \pm 0,010$  (P-value  $<0,0001$ ) pour la réponse respiratoire et de  $0,057 \pm 0,015$  (P-value =  $0,0001$ ) pour la réponse nutritionnelle (Tableau 8).

Comparativement au semestre précédent l'initiation du traitement, les gains absolus moyens au cours des 6 premiers mois sont de 2,11 points ( $\pm 0,14$ ) de VEMSpp et de 0,44 ( $\pm 0,01$ ) kg/m<sup>2</sup> pour l'IMC (Tableau 10). Nous avons observé une forte variabilité de la réponse respiratoire à 6 mois post-traitement, avec un coefficient de variabilité de 369 % du gain de VEMSpp et de 175 % pour le gain absolu d'IMC de la réponse respiratoire.

**Tableau 8** | Réponse respiratoire et nutritionnelle au cours des deux premières années de traitement par lumacaftor-ivacaftor, chez 765 patients atteints de mucoviscidose.

	Réponse respiratoire SaKnorm (Z-value)* $\pm$ SD	P-value	Réponse nutritionnelle BMI (Z-score)† $\pm$ SD	P-value
<b>Gain</b>	0,104 $\pm$ 0,014	<0,0001	0,108 $\pm$ 0,017	<0,0001
<b>Pente de gain / an</b>	0,054 $\pm$ 0,010	<0,0001	0,057 $\pm$ 0,015	0,0001

\*Les mesures du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) sont exprimées en phénotype pulmonaire spécifique de la mucoviscidose (SaKnorm Z-value) (Kulich *et al.* 2005; Taylor *et al.* 2011) ; †Les mesures de l'indice de masse corporelle sont transformées en BMI Z-score selon les normes de croissance définies par l'organisation mondiale de la santé (de Onis *et al.* 2007).

## b. Facteurs de variabilité cliniques et démographiques

La réponse au traitement LUMA-IVA n'est pas influencée par l'âge à l'initiation du traitement, la présence d'un iléus méconial, la CFRD, la CFLD et/ou la Pa-CC. La réponse varie par contre en fonction des valeurs de fonction respiratoire et d'état nutritionnel avant initiation du traitement (valeurs *baseline*). On observe en effet que plus la sévérité des patients augmente, plus les gains de fonction respiratoire et de l'état nutritionnel augmentent (Tableau 9 et Figure 34). Six mois après l'initiation du traitement, les patients du 1<sup>er</sup> tercile *baseline* (les plus sévères) ont une augmentation moyenne absolue de 2,68 points ( $\pm 0,25$ ) de VEMSpp et de 0,49 ( $\pm 0,02$ ) kg/m<sup>2</sup> pour l'IMC (Tableau 10).

Le sexe n'est pas associé à la réponse respiratoire, mais les femmes ont une meilleure réponse nutritionnelle (P-value = 0,04) (Tableau 9 et Figure 35A). À l'initiation du traitement LUMA-IVA, l'état nutritionnel moyen des femmes ( $-0,805 \pm 0,992$  de BMI Z-score) est inférieur à celui des hommes ( $-0,642 \pm 0,931$  de BMI Z-score). Après deux ans de traitement LUMA-IVA, les hommes et les femmes ont un statut nutritionnel similaire ( $-0,511 \pm 0,931$  et  $-0,522 \pm 0,922$  de BMI Z-score pour les hommes et les femmes respectivement) (Figure 35B).

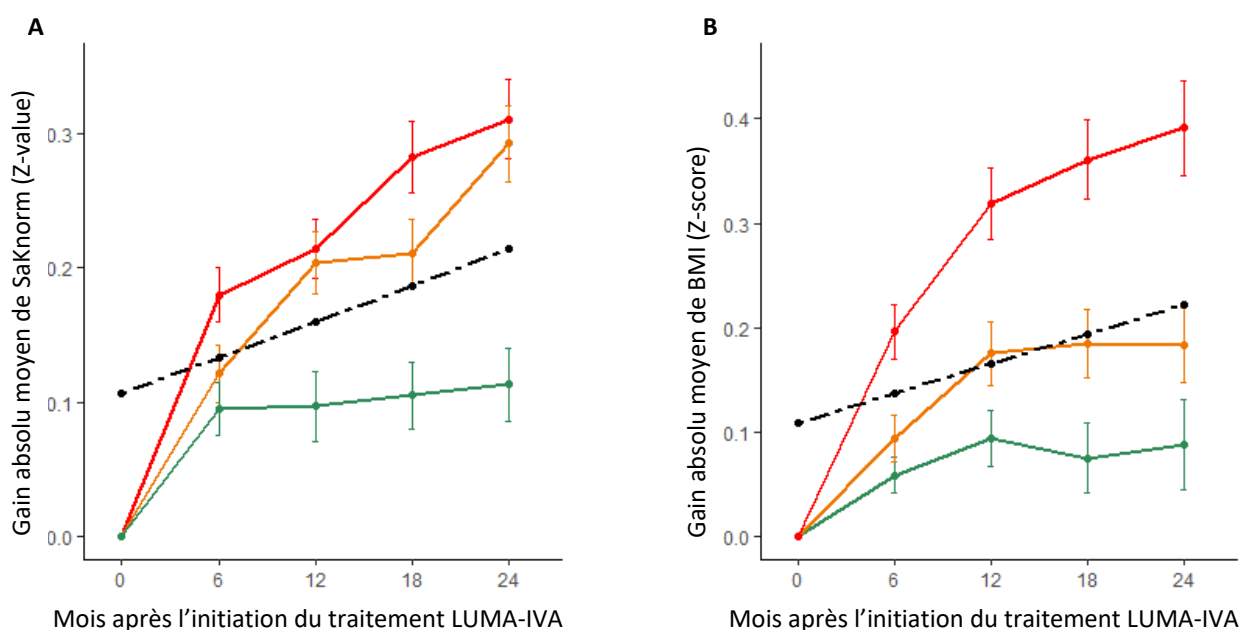
**Tableau 9** | Réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor, selon les facteurs de variabilité cliniques et démographiques, chez 765 patients atteints de mucoviscidose.

	Réponse respiratoire SaKnorm (Z-value) <sup>‡</sup> ± SD	P-value	Réponse nutritionnelle BMI (Z-score) <sup>†</sup> ± SD	P-value
<b>Sexe féminin</b>	-0,015 ± 0,023	0,5203	0,069 ± 0,034	0,0415
<b>Age à l'initiation de LUMA-IVA (années)</b>				
≤ 20	Référence	Référence	Référence	Référence
20-30	0,011 ± 0,026	0,6748	0,006 ± 0,037	0,8705
>30	-0,068 ± 0,023	0,0029	-0,048 ± 0,038	0,2047
<b>Présence d'un iléus méconial*</b>	-0,019 ± 0,031	0,5401	0,010 ± 0,048	0,8407
<b>Présence d'une CFRD*</b>	-0,003 ± 0,023	0,9066	-0,011 ± 0,039	0,7698
<b>Présence d'une CFLD*</b>	-0,004 ± 0,024	0,8839	0,003 ± 0,036	0,9414
<b>Présence d'une Pa-CC*</b>	0,018 ± 0,023	0,4380	-0,022 ± 0,034	0,5116
<b>Baseline</b>				
3 <sup>ème</sup> tercile	Référence	Référence	Référence	Référence
2 <sup>ème</sup> tercile	0,105 ± 0,027	0,0001	0,080 ± 0,036	0,0273
1 <sup>er</sup> tercile	0,145 ± 0,028	<0,0001	0,237 ± 0,040	<0,0001

<sup>‡</sup>Les mesures du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) sont exprimées en tant que phénotype pulmonaire spécifique de la mucoviscidose (SaKnorm Z-value) (Kulich *et al.* 2005; Taylor *et al.* 2011); <sup>†</sup>Les mesures de l'indice de masse corporelle sont transformées en BMI Z-score selon les normes de croissance définies par l'organisation mondiale de la santé (de Onis *et al.* 2007);

\*Avant l'initiation du traitement LUMA-IVA.

Abréviations : CFRD : cystic fibrosis related diabetes ; CFLD : cystic fibrosis liver disease ; Pa-CC : colonisation chronique à *P. aeruginosa* ; LUMA-IVA : traitement lumacaftor-ivacaftor.



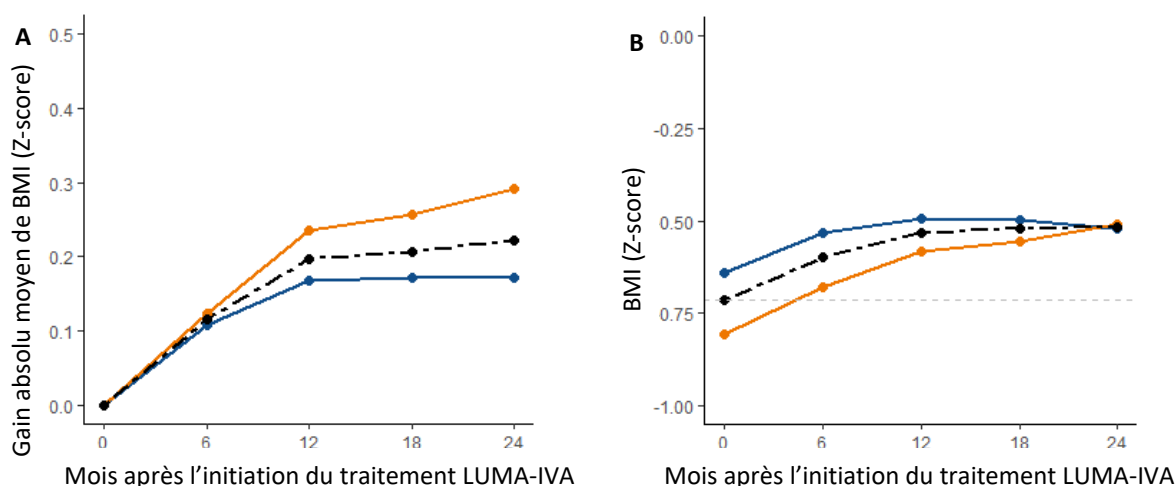
**Figure 34** | Gains absolus moyens après l'initiation du traitement lumacaftor-ivacaftor, selon les terciles *baseline*, chez 765 patients atteints de mucoviscidose : **A**) de la fonction respiratoire (SaKnorm Z-value) ; **B**) de l'état nutritionnel (BMI Z-score).

Les terciles *baseline* de SaKnorm Z-value sont : de -1,620 à 0,168 (1<sup>er</sup> tercile en rouge), de 0,169 à 0,791 (2<sup>ème</sup> tercile en orange) et de 0,792 à 2,520 (3<sup>ème</sup> tercile en vert). Les terciles *baseline* du BMI Z-score sont : de -4,330 à -1,080 (1<sup>er</sup> tercile en rouge), de -1,079 à -0,307 (2<sup>ème</sup> tercile en orange) et de -0,306 à 2,890 (3<sup>ème</sup> tercile en vert). Les lignes pointillées montrent les prédictions des gains selon le modèle d'estimation d'équation généralisée mixte pondéré (WGEE pour *weighted generalized estimating equation*) chez les 765 patients.

**Tableau 10** | Gains absolus moyens de fonction respiratoire et d'état nutritionnel au cours du premier semestre suivant l'initiation du traitement lumacaftor-ivacaftor chez l'ensemble des patients inclus et selon les terciles *baseline*, le sexe et les variants génétiques *SLC26A9* rs7512462 et *SLC6A14* rs12839137, chez les 765 patients atteints de mucoviscidose inclus.

	Réponse respiratoire Gain de VEMSpp* moyenne ± SDM	Réponse respiratoire Gain de SaKnorm (Z-value) <sup>†</sup> moyenne ± SDM	Réponse nutritionnelle Gain de BMI <sup>†</sup> (Kg/m <sup>2</sup> ) moyenne ± SDM	Réponse nutritionnelle Gain de BMI (Z-score) <sup>†</sup> moyenne ± SDM
<b>Global</b>	2,11 ± 0,14	0,13 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,12 ± 0,01
<b>Sexe</b>				
Homme	2,01 ± 0,18	0,13 ± 0,01	0,44 ± 0,02	0,11 ± 0,01
Femme	2,24 ± 0,22	0,13 ± 0,01	0,44 ± 0,02	0,12 ± 0,01
<b>Baseline**</b>				
1 <sup>er</sup> tercile	2,68 ± 0,25	0,18 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,20 ± 0,01
2 <sup>ème</sup> tercile	1,89 ± 0,26	0,12 ± 0,01	0,43 ± 0,03	0,09 ± 0,01
3 <sup>ème</sup> tercile	1,77 ± 0,23	0,10 ± 0,01	0,40 ± 0,02	0,06 ± 0,01
<b>SLC26A9, rs7512462</b>				
TT	1,95 ± 0,25	0,12 ± 0,01	0,46 ± 0,02	0,13 ± 0,01
TC	2,13 ± 0,20	0,13 ± 0,01	0,42 ± 0,02	0,11 ± 0,01
CC	2,40 ± 0,32	0,16 ± 0,01	0,42 ± 0,03	0,10 ± 0,01
<b>SLC6A14, rs12839137</b>				
GG	1,86 ± 0,18	0,12 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,09 ± 0,01
GA	2,26 ± 0,35	0,13 ± 0,01	0,47 ± 0,04	0,13 ± 0,02
AA	2,66 ± 0,35	0,16 ± 0,01	0,63 ± 0,03	0,18 ± 0,01

\*Les mesures du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) sont exprimées en pourcentage prédit selon les équations de référence de la *Globale Lung initiative* (Quanjer et al. 2012) et en tant que phénotype pulmonaire spécifique de la mucoviscidose (SaKnorm Z-value) (Kulich et al. 2005; Taylor et al. 2011) ; <sup>†</sup>Les mesures de l'indice de masse corporelle sont transformées en BMI Z-score selon les normes de croissance définies par l'organisation mondiale de la santé (de Onis et al. 2007) ; \*\*Avant l'initiation du traitement LUMA-IVA. *Abréviations* : LUMA-IVA : traitement lumacaftor-ivacaftor, SDM : *standard deviation of mean*.



**Figure 35** | Réponse nutritionnelle au cours des deux premières années suivant l'initiation du traitement lumacaftor-ivacaftor en fonction du sexe, chez 765 patients atteints de mucoviscidose : **A**) Moyenne des gains absolus de BMI Z-score ; **B**) Moyenne absolue des BMI Z-score. Les hommes sont en bleu, les femmes en orange et les lignes pointillées montrent le changement global chez les 765 patients.

### 3. Analyse génétique

Les distributions des génotypes et les résultats de l'analyse des facteurs génétiques de la variabilité de la réponse au traitement LUMA-IVA sont présentés dans le Tableau 11. Nous n'observons pas d'association entre la réponse respiratoire au traitement LUMA-IVA et les variants des gènes *SLC26A9*, *SLC9A3* ou *SLC6A14*.

Pour chaque allèle C supplémentaire du variant *SLC26A9* rs7512462, le modèle estime une diminution du gain de SaKnorm Z-value de -0,006 ( $\pm 0,017$ ) (P-value = 0,71) et du BMI Z-score de -0,023 ( $\pm 0,023$ ) (P-value = 0,32) (Tableau 11). Au cours des 6 mois suivant l'initiation du traitement, les gains absolus moyens de VEMSpp sont de 1,95 points ( $\pm 0,25$ ), 2,13 points ( $\pm 0,20$ ) et 2,40 points ( $\pm 0,32$ ) pour les génotypes TT, TC et CC respectivement (Tableau 10).

Nous avons observé que seul le variant *SLC6A14* rs12839137 est associé à la réponse nutritionnelle au traitement LUMA-IVA (Tableau 11). Au premier semestre, les gains absolus moyens de BMI sont de 0,38 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 0,02$ ) et 0,63 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 0,03$ ) pour les génotypes homozygotes GG et AA respectivement et de 0,47 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 0,04$ ) pour les génotypes hétérozygotes GA (Tableau 10).

**Tableau 11** | Réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement lumacaftor-ivacaftor, selon les facteurs génétiques, chez les 765 patients atteints de mucoviscidose inclus.

	Alleles*	MAF	HWE**	Réponse respiratoire SaKnorm (Z-value) <sup>‡</sup> $\pm$ SD	P-value	Réponse nutritionnelle BMI (Z-score) <sup>†</sup> $\pm$ SD	P-value	
<b><i>SLC26A9</i></b>								
	rs1874361	A/C	0,46	0,419	-0,006 $\pm$ 0,017	0,7338	0,009 $\pm$ 0,022	0,6919
	rs4077468	A/G	0,41	0,406	-0,011 $\pm$ 0,016	0,4976	-0,019 $\pm$ 0,023	0,4178
	rs4077469	C/T	0,41	0,496	-0,013 $\pm$ 0,016	0,4177	-0,023 $\pm$ 0,023	0,3350
	rs7419153	G/A	0,41	0,033	0,011 $\pm$ 0,017	0,4894	0,015 $\pm$ 0,024	0,5456
	rs7512462	T/C	0,41	0,451	-0,006 $\pm$ 0,017	0,7102	-0,023 $\pm$ 0,023	0,3166
	rs12047830	G/A	0,47	0,501	-0,011 $\pm$ 0,017	0,5290	-0,017 $\pm$ 0,024	0,4936
<b><i>SLC9A3</i></b>								
	rs57221529	A/G	0,20	0,735	0,029 $\pm$ 0,019	0,1256	0,022 $\pm$ 0,029	0,4564
<b><i>SLC6A14</i></b>								
	rs3788766	G/A	0,37	0,388	0,000 $\pm$ 0,014	0,9719	0,008 $\pm$ 0,019	0,6797
	rs12839137	G/A	0,21	0,862	0,000 $\pm$ 0,017	0,9852	0,045 $\pm$ 0,020	0,0276

<sup>‡</sup>Les mesures du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) sont exprimées en tant que phénotype pulmonaire spécifique de la mucoviscidose (SaKnorm Z-value) (Kulich *et al.* 2005; Taylor *et al.* 2011) ; <sup>†</sup>Les mesures de l'indice de masse corporelle sont transformées en BMI Z-score selon les normes de croissance de l'enfant définies par l'organisation mondiale de la santé (de Onis *et al.* 2007) ; \*Avant l'initiation du traitement LUMA-IVA ; \*Les allèles mineurs dans la population européenne sont en gras ; \*\*Les P-values de l'équilibre Hardy-Weinberg (HWE) ont été calculées par un test exact de Fisher et chez les femmes pour le gène *SLC6A14*.  
Abréviation : MAF: *minor allele frequency*

## IV. Limites

Notre étude présente plusieurs limites. Premièrement, des données manquantes ont conduit à exclure certains des patients CF de l'analyse. Selon les recommandations nationales, la fonction respiratoire et les mesures anthropométriques sont mesurées tous les trimestres chez les personnes CF (HAS 2017). De plus, la Société Française de la Mucoviscidose recommande des visites systématiques (avec évaluation clinique et exploration fonctionnelle respiratoire) au début du traitement et à 1, 3, 6 et 12 mois après l'initiation pour tout patient sous traitement LUMA-IVA (Burgel, Durieu, Chiron, Mely, *et al.* 2021). Ces données manquantes seraient, en partie, dues au recueil réalisé à partir des dossiers médicaux papiers et électroniques des patients. Cependant, nous n'observons pas de différences cliniques entre les patients inclus et exclus.

Deuxièmement, nous avons observé 15 % d'interruption de traitement parmi les 765 patients analysés, dont 11 % (n=12) ont pu être attribués à un manque de bénéfice observé par le patient et/ou par le médecin. Il a été montré que plus les patients français sont âgés et plus leur fonction respiratoire est dégradée, alors, plus grand est le risque d'interruption de traitement (Burgel *et al.* 2020). Cependant, pour tenir compte de ce biais, nous avons utilisé des modèles statistiques pondérés afin de prendre en compte cette probabilité de données manquantes ; en fonction de l'âge au moment de l'initiation du traitement, du gain de fonction respiratoire au semestre précédent et de la sévérité *baseline* de l'atteinte respiratoire.

## V. Discussion

Cette étude a analysé des facteurs cliniques et génétiques de la variabilité de la réponse respiratoire et nutritionnelle au traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor.

Six mois après l'initiation du traitement, nous avons observé une amélioration de la fonction respiratoire et de l'état nutritionnel, très proche des résultats des essais cliniques qui ont conduit à la commercialisation de ce traitement (Wainwright *et al.* 2015). L'amélioration de la fonction respiratoire est maintenue au cours des deux premières années de traitement, ce qui est en adéquation avec le ralentissement du déclin de VEMSpp observé dans les essais cliniques (Konstan *et al.* 2017). Parmi les 878 patients qui ont initié le traitement LUMA-IVA, 19,7 %

(173 patients) l'ont interrompu, ce taux d'interruption étant similaire à ceux rapportés dans d'autres études, notamment en raison d'effets indésirables (Jennings *et al.* 2017).

Nous avons observé que la sévérité de la fonction respiratoire et de l'état nutritionnel avant l'initiation de LUMA-IVA étaient des facteurs prédictifs de la réponse au traitement. Le gain de fonction respiratoire est d'autant meilleur que les patients ont une fonction respiratoire *baseline* altérée. Ce résultat avait été observé chez les 1108 patients inclus dans l'analyse d'efficacité de LUMA-IVA (J. Stuart Elborn *et al.* 2016).

Cependant, il a également été observé que les patients avec un VEMSpp inférieur à 40 % pouvaient avoir une diminution de leur fonction respiratoire au cours des 6 premiers mois de traitement par LUMA-IVA (Taylor-Cousar *et al.* 2018), et que les patients avec un VEMSpp supérieur à 90 % pouvaient n'observer aucun bénéfice après un an de traitement (Aalbers *et al.* 2020). Il convient de préciser que ces études avaient inclus moins de 50 patients, tandis que notre analyse portait sur 765 patients inclus dans l'étude « Recherche de gènes modificateurs dans la mucoviscidose », cohorte incluant plus de 85 % de l'ensemble des patients adultes français (Boelle, Debray, Guillot, Clement, *et al.* 2019).

En dehors de la sévérité *baseline*, aucun facteur démographique ou clinique n'est associé à la réponse respiratoire au traitement. Seul le sexe féminin est associé à une meilleure réponse nutritionnelle au traitement. Cette association est en partie liée à une différence de sévérité de l'état nutritionnel entre les hommes et les femmes avant le début du traitement. En effet, les femmes ont un BMI-Z-score plus altéré que les hommes avant l'initiation du traitement. Grâce à un gain de poids plus grand sous traitement, après 2 ans de LUMA-IVA, les femmes « rattrapent » un état nutritionnel similaire à celui des hommes. Toutes les études s'accordent sur un gain significatif de l'indice de masse corporelle, compris entre 0,21 et 0,96 kg/m<sup>2</sup>, indépendamment de la dose de LUMA-IVA, de la sévérité de la fonction pulmonaire ou de la durée du traitement (Burgel *et al.* 2020; J. Stuart Elborn *et al.* 2016; Konstan *et al.* 2017; Taylor-Cousar *et al.* 2018; Wainwright *et al.* 2015). Cependant, ces études n'avaient pas montré de différences entre les sexes dans la variabilité de la réponse nutritionnelle. Jusqu'à présent, le sexe féminin était seulement montré comme associé à un taux d'interruption plus élevé (Jennings *et al.* 2017).

Il a été suggéré que le gène *SLC26A9* modulerait la réponse respiratoire au traitement ivacaftor chez les patients porteurs d'une mutation *gating* de *CFTR* (Corvol, Mesinele, *et al.* 2018; Strug *et al.* 2016). De plus, des expériences *ex-vivo* avec des cellules épithéliales nasales de patients CF ont montré que le variant *SLC26A9* rs7512462 était associé à la fonction CFTR en réponse au traitement LUMA-IVA (Kmit *et al.* 2019). Notre étude dans une large cohorte de patients homozygotes pour la mutation F508del de *CFTR* n'a montré aucune preuve d'association entre les gènes de la famille *SLC* et la réponse respiratoire au traitement LUMA-IVA. Seul le variant *SLC6A14* rs12839137 est associé à la réponse nutritionnelle au traitement LUMA-IVA.

## VI. Communication

Cette étude portant sur les facteurs de la variabilité de la réponse au traitement LUMA-IVA a fait l'objet d'une rédaction d'article, intitulé « *Factors predisposing the response to lumacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis* ». Cet article est présenté en Annexe X et sera soumis en décembre 2021 pour publication dans l'édition spéciale « *Cystic Fibrosis: Diagnosis, Treatment, and Related Disorders* » du *Journal of Personalized Medicine*.

# Discussion

Bien que la mucoviscidose soit caractérisée par un large spectre phénotypique, l'atteinte pulmonaire reste aujourd'hui la première cause de morbi-mortalité des patients. L'atteinte pulmonaire se manifeste par un déclin progressif de la fonction respiratoire au cours de la vie des patients et est la conséquence de l'effet synergique et cumulé de l'inflammation excessive des voies aériennes respiratoires et d'infections récidivantes ; notamment par la bactérie pathogène *P. aeruginosa*, fréquemment retrouvée à l'âge adulte (Vaincre la Mucoviscidose 2021).

La préservation de la fonction respiratoire est un enjeu majeur de la prise en charge des patients CF. Celle-ci, nécessite le contrôle des infections des voies aériennes avec, en particulier, le traitement des exacerbations pulmonaires et l'adaptation des thérapeutiques. L'essor des traitements modulateurs de CFTR a inauguré un nouvel axe thérapeutique de l'atteinte pulmonaire. Ces innovations thérapeutiques permettent non seulement de préserver mais également d'améliorer la fonction respiratoire des patients.

Les phénotypes pulmonaires sont hétérogènes, que ce soit la survenue de l'infection à *P. aeruginosa* ou la réponse au traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA), que les patients aient ou non des mutations de *CFTR* identiques. Par conséquent, la variabilité interindividuelle de l'atteinte respiratoire des patients CF est multifactorielle ; impliquant des facteurs démographiques, cliniques, environnementaux et serait, pour moitié, due à des facteurs génétiques indépendants du gène *CFTR* (Vanscoy *et al.* 2007).

La connaissance des facteurs de variabilité interindividuelle, notamment les gènes modificateurs, permettrait de distinguer les patients à risque de développer une infection plus précoce à *P. aeruginosa* et de mieux sélectionner les patients répondeurs au traitement LUMA-IVA. C'est une étape fondamentale vers une médecine individualisée, orientée vers la préservation du capital santé des patients atteints de mucoviscidose.

## I. Infection à *Pseudomonas aeruginosa*

L'acquisition initiale de l'infection à *P. aeruginosa* (*Pa-IA*) survient précocement dans la vie des patients atteints de mucoviscidose. Notre étude dans une large cohorte de 1231 enfants CF a montré que l'âge de la *Pa-IA* était de 5,1 ans ; et qu'un quart des enfants développent une infection chronique (*Pa-CC*) à l'âge de 14,7 ans dans un délai de 6,9 ans après la *Pa-IA*. Nous observons un recul de l'âge de la *Pa-CC* dans les cohortes les plus récentes, tendance déjà observée dans une cohorte d'enfants américains (Crull *et al.* 2018). Cette encourageante régression de l'âge de l'infection chronique pourrait être le reflet de l'amélioration et de la standardisation de la prise en charge médicale et thérapeutique, suite aux recommandations nationales, à la création des CRCM et la mise en place du diagnostic néonatal systématique (HAS 2009, 2017).

La variabilité de l'infection à *P. aeruginosa* n'est pas liée au sexe. Nous n'observons en effet pas de différence dans l'âge de survenue de la *Pa-IA* et de la *Pa-CC* entre les filles et garçons CF de notre cohorte ; en accord avec les récents résultats de l'analyse d'une large cohorte nord-américaine (Heltshe *et al.* 2018). La précocité de l'infection n'est pas non plus liée à la mutation F508del de *CFTR*. Ce résultat n'est pas surprenant car notre étude n'inclut que des enfants présentant une insuffisance pancréatique exocrine, et donc porteurs de mutations à fonction minimale de *CFTR* majoritairement, mutations qui ont été montrées comme facteur de précocité d'infections bactériennes (Green *et al.* 2010).

Nous avons identifié plusieurs facteurs de risque cliniques de l'infection à *P. aeruginosa*. Tout d'abord, la CFRD (*cystic fibrosis-related diabetes*) qui serait impliquée dans l'acquisition initiale de l'infection ainsi que dans sa chronicisation. Cette association a déjà été rapportée dans la littérature, cependant, l'infection à *P. aeruginosa* était considérée comme un facteur de risque de précocité de la CFRD (Limoli *et al.* 2016; Marshall *et al.* 2005; Merlo *et al.* 2007). Cette association pourrait faire l'objet de futures études, notamment pour en définir précisément la direction.

Nous mettons pour la première fois en évidence le rôle de la CFLD (*cystic fibrosis liver disease*) dans la survenue de la *Pa-IA*. L'association CFLD/infection à *P. aeruginosa* a très peu été étudiée, cependant Toleno et ses collègues rapportent qu'elle pourrait être due à une susceptibilité aux infections des patients présentant une atteinte hépatique sévère (Toledano *et al.* 2019).

Les co-infections bactériennes et fongiques se révèlent être des facteurs de risque de survenue plus précoce de l'infection à *P. aeruginosa*. La composition spécifique de la communauté microbienne pulmonaire des patients CF pourrait avoir une influence sur l'état clinique des patients (Conrad *et al.* 2013). L'écologie de l'environnement bactérien, la succession des pathogènes dans les voies aériennes et le microbiome respiratoire (et sa composition le microbiote) ont été étudiés (Francoise et Hery-Arnaud 2020; Khanolkar *et al.* 2020). Il est considéré que les pathogènes pro-inflammatoires influencent régulièrement l'environnement des voies aériennes, à la fois directement (par la production de biofilms ou de métabolites qui provoquent une réponse de l'hôte) et indirectement, par leur interaction avec d'autres pathogènes bactériens et fongiques. La co-infection *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) / *P. aeruginosa* a fait l'objet de nombreuses publications, l'infection concomitante par ces deux pathogènes étant une situation fréquente qui favorise leur interaction. La capacité de *P. aeruginosa* à surpasser *S. aureus* par un comportement « agressif » a été largement décrite, et cette interaction compétitive a longtemps été la seule considérée (Frydenlund Michelsen *et al.* 2016). Cependant, plusieurs études récentes ont mis en évidence la capacité de ces deux espèces à coexister, par des mécanismes d'adaptation, de formations de biofilm mixte, de résistance aux antibiotiques, etc. (Armbruster *et al.* 2016; Briaud *et al.* 2019; Camus *et al.* 2020; Camus *et al.* 2021; Cendra *et al.* 2019). Cette coexistence *S. aureus* / *P. aeruginosa* favoriserait l'établissement et le maintien de la colonisation chronique à ces deux pathogènes et ce même schéma d'interaction est supposé être impliqué dans la coexistence de *P. aeruginosa* avec *Aspergillus fumigatus* (Chatterjee *et al.* 2020).

Contrairement à ce qui a été suggéré dans des cohortes anciennes (Maselli *et al.* 2003), le statut nutritionnel ne semble pas être un facteur de risque clinique de l'infection à *P. aeruginosa*. Cette observation pourrait être le reflet de la mise en place des stratégies thérapeutiques visant à maintenir ou améliorer l'état nutritionnel des enfants ; telles que l'évaluation diététique systématique à chaque visite, l'éducation thérapeutique des parents et des enfants afin de les aider à adapter leur alimentation ou les prescriptions médico-diététiques pour définir précocement des objectifs nutritionnels et des mesures diététiques correctrices (alimentation fractionnée, alimentation enrichie ou alimentation avec compléments oraux).

Les facteurs environnementaux seraient impliqués à hauteur d'environ 23 % dans la variabilité interindividuelle de l'infection à *P. aeruginosa* (Cutting 2015). Nous avons observé un gradient d'Ouest en Est dans la précocité de la primo-infection à *P. aeruginosa*, avec un rythme saisonnier (risque plus élevé en automne et en hiver) couplé à un effet protecteur de

l'augmentation de l'humidité relative et des radiations solaires. L'implication de facteurs de risque climatiques, géographiques et saisonnier a déjà été suggéré, cependant nous n'observons pas les mêmes tendances. En effet, l'augmentation de la température a été montrée comme associée à un risque accru d'infection à *P. aeruginosa* (Collaco *et al.* 2011; Psoter *et al.* 2016; Warriar *et al.* 2019). Cette différence pourrait s'expliquer d'une part, par une plus grande diversité de climats aux États-Unis et en Australie ; d'autre part, en raison d'une imprécision dans la localisation des enfants CF de notre cohorte.

Physiologiquement, il est observé une biodiversité des souches de *P. aeruginosa* dans les sols selon leur localisation géographique (Cho et Tiedje 2000). Le rôle des conditions climatiques dans la survenue de l'infection serait leurs capacités à modifier (notamment par la température) l'adhésion et la formation de biofilm de *P. aeruginosa*, selon les caractéristiques environnementales locales (Cappello 2006; Musken *et al.* 2010). Il serait d'une forte pertinence de poursuivre cette étude par l'analyse des propriétés biophysiques d'occupation des sols (ruralité, présence de points d'eau, de terrains agricoles, de forêts, etc...). Ceci serait réalisable grâce aux données européennes de l'inventaire « CORINE Land Cover », cependant ce type d'analyse nécessiterait des données spatio-temporelles très fines des patients (<https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/corine-land-cover-0>).

D'autres facteurs environnementaux seraient intéressants à étudier, notamment le rôle de l'exposition environnementale hospitalière. Cette bactérie étant reconnue comme potentiellement nosocomiale, il devrait être possible de réduire sa propagation en séparant les visites des patients infectés et non-infectés et en respectant des mesures d'hygiène strictes. Néanmoins, se pose toujours la question de l'existence d'infections croisées dans les CRCM. Les conditions socio-économiques et l'accès aux soins ont aussi été identifiés comme facteurs de risque de l'atteinte respiratoire et de l'infection à *P. aeruginosa* (Curtis *et al.* 1997; Kosorok *et al.* 1998; O'Connor *et al.* 2003; Schechter et Margolis 1998; Schechter *et al.* 2001). Il est cependant raisonnable de penser que le système de santé national français pallie à des différences d'accès aux soins, en particulier par la prise en charge à 100% des enfants atteints de mucoviscidose.

Les gènes modificateurs semblent jouer un rôle dans la variabilité de l'infection à *P. aeruginosa* avec une spécificité de certains variants soit pour l'acquisition, soit pour la chronicisation, soit pour la précocité du passage de la *Pa*-IA à la *Pa*-CC. Notamment,

l'implication de *SLC9A3* (rs4957048 et rs57221529) est montrée dans la précocité de la *Pa-CC* et la durée entre *Pa-IA* et *Pa-CC*. La famille des SLC (*solute carriers*) pourrait jouer un rôle important dans la physiopathologie de la mucoviscidose, en contrebalançant ou en aggravant l'impact des défauts de CFTR sur le transport des ions à travers l'épithélium des voies aériennes et, par conséquent, avoir un rôle dans l'infection à *P. aeruginosa*. Il est peu probable que la structuration de la population de notre étude explique les associations retrouvées, puisque le fond génétique des enfants est homogène avec notamment deux parents d'ascendance européenne.

Cependant, ces gènes-candidats n'expliquent pas à eux seuls la forte variabilité de l'infection à *P. aeruginosa* due aux gènes modificateurs qui a été estimée à 50 % dans la littérature (Cutting 2015). En effet, cela ne concerne qu'une faible proportion de patients, en raison des fréquences alléliques faibles (entre 2 % et 30 %) et d'une magnitude d'effet peu élevée (Hazard-ratio compris entre 0,79 et 1,81). Les analyses de génome entier, plutôt que l'approche gène-candidat, pourraient aider à concilier ces résultats. Dans notre analyse de GWAS nous identifions suggestivement une nouvelle région génomique qui pourrait être impliquée dans la variabilité interindividuelle de l'acquisition de l'infection à *P. aeruginosa*. Cette région est située à proximité du gène *FLRT2* dont l'expression en ARNm dans les cellules épithéliales alvéolaires et bronchiques diminuerait significativement en présence de budésonide (Mostafa *et al.* 2019). Le budésonide est un principe actif anti-inflammatoire et anti-allergique de la famille des glucocorticoïdes. Son usage par voie inhalée est fréquent chez les patients atteints de mucoviscidose pour le traitement de l'inflammation pulmonaire et des infections. Toutefois ces résultats préliminaires sont à prendre avec précautions puisque l'analyse n'a inclut que 593 enfants CF et que les résultats nécessitent d'être répliqués dans une plus grande cohorte indépendante.

Cette étude montre que l'infection à *P. aeruginosa* est un déterminant de la sévérité de l'atteinte pulmonaire avec un impact sur la fonction respiratoire à chaque stade de l'infection. Le déclin annuel de VEMSpp a été estimé à -0,38 % avant la *Pa-IA* puis accélère à -0,92 % après la *Pa-IA* et atteint -1,51 % après la *Pa-CC*. Ces résultats soulignent la nécessité d'une surveillance intensive des infections des voies aériennes précocement dans la vie des patients. Le modèle mixte joint que nous avons élaboré pour cette étude et qui permet de modéliser une corrélation entre l'âge de survenue de l'infection et le déclin de la fonction respiratoire, montre un impact majeur de l'infection chronique à *P. aeruginosa* ; estimé par une pente de déclin après la *Pa-CC* de -3,06 % de VEMSpp par an. Cependant, ce modèle présente un biais, puisque

nous ne pouvons pas modéliser, à ce jour, la *Pa*-IA et la *Pa*-CC dans un seul modèle. Développer un tel modèle serait d'un intérêt majeur pour les études épidémiologiques dans la mucoviscidose, car sa méthodologie permettrait d'ajouter plusieurs événements et phénotypes apparaissant au cours de la vie des patients (CFRD, CFLD, co-infections, etc.) et d'en estimer leurs corrélations tout en quantifiant leur impact marginalement et conjointement sur la fonction respiratoire.

Cette étude comporte d'autres limites. Premièrement, nous n'avons pas intégré le rôle des différentes stratégies thérapeutiques d'éradication de *P. aeruginosa*, en l'occurrence les antibiothérapies, dans nos analyses. Ces thérapeutiques sont de différentes formes (inhalées, orales et intraveineuses) et leur taux de succès d'éradication après l'acquisition de *P. aeruginosa* est très variable (entre 25 % et 100 %) (Proesmans *et al.* 2013), ce qui, par conséquent, engendre un risque de colonisation chronique inconstant. De même, nous n'avons pas ajusté les analyses sur la fréquence des ECBC, ECBC indispensables au diagnostic d'infection à *P. aeruginosa*. Néanmoins, les protocoles d'éradication sont relativement homogènes entre les centres et entre les patients, notamment depuis 2002 en France, depuis la standardisation des soins et des pratiques, avec la mise en place des CRCM et du PNDS (HAS 2002, 2017). Par ailleurs, la fréquence des ECBC est également standardisée, avec une visite trimestrielle des patients comprenant systématiquement un ECBC et une épreuve fonctionnelle respiratoire. Nous observons une moyenne de 3,69 (IC 95% : 3,53-3,85) mesures de VEMSpp par an dans l'analyse du déclin de la fonction respiratoire, ce qui est très proche des 4 visites recommandées par an.

## **II. Traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor**

Notre étude portant sur la variabilité de la réponse au traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA), chez 765 patients atteints de mucoviscidose, met en évidence un gain de fonction respiratoire estimé à +0,106 de SaKnorm Z-value et de +0,108 de BMI Z-score pour la réponse nutritionnelle. Ces gains sont maintenus au cours des deux premières années de traitement et, cliniquement parlant, correspondent à une augmentation moyenne à 6 mois de +2,11 points de VEMSpp et de +0,44 kg/m<sup>2</sup> pour l'indice de masse corporelle. Ces bénéfices sont très modérés, comparativement à ceux auxquels les patients pourraient prétendre avec la trithérapie tezacaftor-ivacaftor-elexacaftor. En effet, cette trithérapie, également indiquée pour les patients porteurs de la mutation F508del à l'état

homozygote, montre des améliorations nettement plus importantes, avec des gains estimés à +14,3 points de VEMSpp et de +4,2 kg (Burgel, Durieu, Chiron, Ramel, *et al.* 2021; Middleton *et al.* 2019).

Néanmoins, le traitement LUMA-IVA reste une innovation thérapeutique majeure, par sa capacité à réduire les exacerbations pulmonaires et les hospitalisations (Wainwright *et al.* 2015), à améliorer la tolérance à l'effort (Wark *et al.* 2019), l'atteinte hépatique (Drummond *et al.* 2021; Kutney *et al.* 2019) et l'atteinte intestinale (Tetard *et al.* 2020) ; et ce, malgré la méconnaissance de ses bénéfices en termes de gain de fertilité, d'amélioration des symptômes ORL et osseux, et malgré son incapacité à améliorer l'insuffisance pancréatique endocrine (Moheet *et al.* 2021; Thomassen *et al.* 2018). Par ailleurs, il serait très intéressant d'estimer son bénéfice dans le recul de l'acquisition des infections respiratoires bactériennes et d'étudier, d'ici quelques années, les changements de taux d'infections chroniques à *P. aeruginosa* dans les cohortes de nourrissons et jeunes enfants actuelles.

Hormis la sévérité de la fonction respiratoire, nous n'avons pas identifié de facteurs de risque expliquant la forte variabilité de la réponse respiratoire au traitement LUMA-IVA. Notre approche gène-candidat a permis de mettre en évidence la modulation de la réponse nutritionnelle par le gène *SLC6A14*. Il est intéressant de noter que deux études, menées respectivement dans une population finlandaise et française, ont montré que plusieurs variants de *SLC6A14* étaient associés à l'obésité (Durand *et al.* 2004; Suviolahti *et al.* 2003). Comme le transporteur d'acides aminés *SLC6A14* pourrait moduler la disponibilité du tryptophane pour la synthèse de la sérotonine, les auteurs ont émis l'hypothèse que ces variants pourraient affecter la perception de la faim et de la satiété. Miranda *et al.* ont également montré que d'autres variants de *SLC6A14* étaient associés à la prise alimentaire chez des enfants âgés de 7-8 ans (Miranda *et al.* 2015). Enfin, une étude *in vitro* a mis en évidence que le variant rs2011162, associé à l'obésité et situé dans le 3'UTR du gène *SLC6A14*, réduirait l'expression du transporteur et que les souris *slc6a14*<sup>-/-</sup> développent une obésité, une stéatose hépatique et un syndrome métabolique lorsqu'elles sont nourries avec un régime riche en graisses (Sivaprakasam *et al.* 2021). Ces résultats soutiennent l'hypothèse de l'implication de *SLC6A14* dans la modulation de l'état nutritionnel des enfants CF et dans la réponse nutritionnelle au traitement LUMA-IVA.

Notre étude gène-candidat était orientée vers les gènes modificateurs de type SLC, cependant certains mécanismes biologiques pharmacogénétiques laissent à penser que d'autres gènes pourraient être impliqués dans la réponse au traitement LUMA-IVA. En effet, il a été

montré que certains gènes interviennent dans la biotransformation et la réponse à différents traitements, en codant pour des enzymes métabolisant les médicaments : ce sont les cytochromes (CYP). La superfamille des cytochromes P450 est divisée en familles (CYP1, CYP2 et CYP3) puis en sous-familles (CYP1A, 1B ; CYP2A, 2B, 2C, 2D, 2E ; CYP3A) qui contiennent plusieurs dizaines d'isoenzymes, dont 5 sont impliquées dans le métabolisme d'environ 90 % des médicaments couramment utilisés : CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6 et CYP3A4. Chez l'homme, le CYP3A4 représente environ 30 % des cytochromes hépatiques et métabolise près de 60 % des médicaments. Certains cytochromes sont fortement liés à l'ivacaftor et au lumacaftor, d'une part parce qu'ils sont principalement métabolisés par des enzymes codées par les gènes *CYP3A* et/ou *CYP1A2* et *CYP2C9* et, d'autre part, parce que leurs métabolites ont la capacité d'inhiber certaines enzymes du *CYP3A* (Schneider 2018). Les variants des gènes de type CYP sont très peu polymorphes, voire monomorphiques dans la cohorte de 765 patients inclus dans nos analyses. Pour évaluer leur implication dans la variabilité de la réponse au traitement LUMA-IVA, la méthodologie nécessite d'être adaptée à l'analyse des variants rares, méthodologie non compatible avec le modèle d'estimation d'équation généralisée mixte pondérée (WGEE) que nous avons utilisé.

L'approche *sans à priori* (analyse de GWAS) aurait été d'un grand intérêt pour identifier des régions génomiques impliquées dans la réponse respiratoire et/ou nutritionnelle au traitement LUMA-IVA. Cependant, nous n'avons pas réussi à appliquer le modèle WGEE à l'analyse d'un grand nombre de variants pour des raisons logistiques, à savoir les capacités de mémoires informatiques que cela mobilise et le temps nécessaire (environ 1 mois pour un bras de chromosome). Comme alternative, nous envisageons d'étudier par une approche de GWAS uniquement la réponse à court terme (6 mois) au traitement IVA-LUMA. Cette méthodologie permettrait de pallier au biais de données manquantes longitudinales dû aux interruptions de traitement et donc de pouvoir utiliser des modèles de régressions linéaires.

### III. Perspectives

#### 1. Application clinique

Les résultats de cette étude sont encourageants et tendent à caractériser la variabilité interindividuelle des phénotypes respiratoires des patients atteints de mucoviscidose. Pouvoir distinguer les patients à risque de développer une infection bactérienne respiratoire plus précoce

et/ou chronique ou susceptibles de mieux répondre à un traitement modulateur de CFTR, c'est parvenir à une médecine préventive et prédictive.

Les facteurs de risque identifiés dans ces travaux de recherche ne permettent pas une application clinique directe. Cependant, ils trouvent leur intérêt dans la prévention. D'une part, en termes de suivi des patients, il pourrait être imaginé une fréquence plus élevée des ECBC à certaines périodes de l'année par exemple ; d'autre part, en termes de stratégie d'éradication plus « agressive » en cas de co-infections très précoces ; et enfin, en termes d'éducation thérapeutique orientée sur l'environnement des patients et des enfants plus à risque.

L'identification des gènes modificateurs de la variabilité phénotypique interindividuelle trouve son intérêt dans la combinaison de ces multiples variants de susceptibilité à effets modérés. Pouvoir identifier de nombreux variants impliqués dans le vaste spectre phénotypique de la mucoviscidose permettrait d'établir des scores de risque polygénique (PRS pour *polygenic risk score*). Grâce à un test sanguin simple, ces PRS pourraient prédire les degrés de sévérité des différentes atteintes de la mucoviscidose ; et ainsi, permette une prise en charge ciblée et individualisée des patients.

## **2. Application thérapeutique**

Identifier des gènes modificateurs des phénotypes de la mucoviscidose, c'est aussi pouvoir mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques, grâce à des études de biologie fonctionnelle. Les traitements modulateurs de CFTR ont pris une place prépondérante dans la prise en charge thérapeutique des patients, cependant, certains patients ne peuvent pas en bénéficier en raison de leurs mutations de *CFTR* non ciblées par ces thérapies. La compréhension des mécanismes moléculaires mis en jeu par ces gènes modificateurs ouvrirait la porte au développement de nouvelles thérapeutiques pour les patients, telles que la thérapie génique, les thérapies à ARNm et à microARN (Bardin *et al.* 2018; Fajac et Sermet 2021; Mercier *et al.* 2021; Sonnevile *et al.* 2017).

## **3. Le futur de la mucoviscidose**

L'amélioration de la prise en charge des patients atteints de mucoviscidose au cours des 50 dernières années a permis une augmentation spectaculaire de l'espérance de vie des patients. L'avènement des traitements modulateurs de CFTR offre de belles perspectives pour l'amélioration de l'état de santé et de la qualité de vie des patients. Il est donc à prévoir des changements démographiques dans la mucoviscidose. De récentes prédictions prévoient une

augmentation de 50 % du nombre de patients d'ici 2025 en Europe dont 20 % d'enfants (Burgel *et al.* 2015) et 75 % d'adultes supplémentaires en France (Burgel *et al.* 2017). Le vieillissement de la population CF dans les années à venir va exposer les patients à de nouveaux phénotypes, tels que le surpoids et l'obésité, les maladies cardio-vasculaires et les cancers. Il est donc nécessaire, dès aujourd'hui, de parvenir à une médecine personnalisée, prédictive, préventive et participative des patients CF orientée vers la préservation de leur capital santé.

# **Annexes**

# **I. Annexe I : Architecture et détail des données utilisées au cours du travail de thèse**

Ci-dessous sont listées les principales variables utilisées au cours de ce travail de thèse. Les données ont été recueillies dans le cadre de l'étude « Recherche des gènes modificateurs dans la mucoviscidose ».

Les modalités spécifiques et les unités de recueil sont indiquées entre parenthèses. Les dates sont recueillies au format JJ/MM/AAAA. Les variables annotées d'une astérisque (\*) correspondent à des données pouvant être recueillies de façon longitudinale ; c'est-à-dire que plusieurs enregistrements sont possibles pour un même patient mais à des dates différentes.

## **Données démographiques et antécédents chirurgicaux :**

- Sexe (H / F)
- Date de naissance
- Origine géographique du père (Europe / Maghreb / Afrique Noire Asie / Autre)
- Origine géographique de la mère (Europe / Maghreb / Afrique Noire Asie / Autre)
- Code postal de résidence
- Date de décès
- Date de la transplantation pulmonaire
- Date de la transplantation hépatique

## **Données relatives au diagnostic :**

- Date du diagnostic
- Mutation de *CFTR* allèle 1
- Mutation de *CFTR* allèle 2
- Trypsine immuno-réactive à J3 (en µg/l)
- Trypsine immuno-réactive à J21 (en µg/l)
- Date du test de la sueur
- Valeur du test de la sueur (en mmol/l)
- Diagnostic (Confirmé / Douteux / Non Confirmé)

## **Données relatives à l'atteinte digestive :**

- Iléus méconial (Oui / Non / NR)

- Chirurgie suite à l'iléus méconial (Oui / Non / NR)

**Données de l'atteinte pancréatique exocrine :**

- Insuffisance pancréatique (Oui / Non / NR)

**Données relatives à l'atteinte pancréatique endocrine :**

- Diabète (Oui / Non / NR)
- Date de diabète et variable correspondante\* :
  - Type de diabète (DID / DNID / Intolérance glucidique / Gestationnel / Cortico-induit / NR)
- Date de début des antidiabétiques oraux
- Date de début de l'insuline

Un commentaire libre est disponible dans la base de données afin, notamment, de préciser si les diabètes de type cortico-induit et gestationnel étaient résolutifs

**Données relatives à l'atteinte hépatique :**

- Atteinte hépatique (Oui /Non /NR)
- Date de début de l'atteinte hépatique
- Date de début de traitement par acide ursodésoxycholique
- Date de fin de traitement par acide ursodésoxycholique
- Date de début de cirrhose
- Date des premiers signes d'hypertension portale
- Date des premières varices œsophagiennes
- Date de début d'hépatomégalie
- Date de début de splénomégalie
- Date de début d'ascite
- Date de début de cytolyse
- Date de début de cholestase

**Données de microbiologie :**

Pour chaque type de pathogène sont recueillies :

- Date de primo-infection
- Date de colonisation chronique

Lorsque ces dates ne peuvent être déterminées précisément, sont alors recueillies les dates des premières occurrences dans le dossier médical sous la forme de :

- Date de primo-infection minimale
- Date de colonisation chronique minimale

**Données d'exploration fonctionnelle respiratoire (EFR) :**

- Date de l'EFR et variables correspondantes\* :
  - Poids ( en kg)
  - Taille (en cm)
  - VEMS (en L)
  - VEMS (en pourcentage prédit)

Il est à souligner que :

- L'ensemble des examens d'EFR réalisés par le patient sont recueillis. Les données ne sont pas annualisées et la fréquence des mesures par patient se situe autour de 4 fois par an ;
- Seules les mesures avant l'examen de réversibilité sont recueillies ;
- Pour les EFR réalisées au Jour 0 d'une initiation d'un traitement modulateur de CFTR, seules les mesures pré-traitement sont recueillies.

**Données de biologie :**

- Date de l'examen et variables correspondantes\* :
  - ASAT-TGO (en UI/L)
  - ALAT-TGP (en UI/L)
  - Gamma GT (en UI/L)
  - Phosphatases Alcalines en (UI/L)
  - Bilirubine totale (en mg/L)
  - Bilirubine conjuguée (en  $\mu\text{mol/L}$ )

Il est à souligner que les données de biologie sont principalement issues de l'examen sanguin réalisé au cours du bilan annuel du patient. La fréquence des mesures par patient se situe autour de une fois par an.

**Données relatives à l'inclusion et au suivi :**

- Date d'inclusion
- Nom du CRCM
- Date de prélèvement génétique

- Date de perdu de vue

En cas de changement de CRCM\* :

- Date de changement de CRCM
- Nom du nouveau CRCM

**Données relatives au traitement lumacaftor-ivacaftor :**

- Traitement reçu (Oui /Non/NR/NA)
- Date de début de traitement et si applicable\* :
  - Date de fin de traitement
  - Motif d'arrêt de traitement

Un commentaire libre est disponible dans la base de données afin, notamment, de préciser si le traitement a été reçu dans le cadre d'un protocole de recherche clinique.

*Abréviations utilisées* : NR : non renseigné ; NA : Non applicable ; CRCM : centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose ; DID : diabète insulino-dépendant ; DNID : diabète non insulino-dépendant.

## II. Annexe II : Revue de littérature sur les facteurs de risque de l'infection à *P. aeruginosa*

**Tableau 12** | Revue de littérature portant sur l'analyse des facteurs de risque cliniques et démographiques de l'infection à *P. aeruginosa* dans de larges cohortes de patients mucoviscidosiques.

Population Origine	Statut pancréatique Mutations de <i>CFTR</i>	Type d'infection à <i>P. aeruginosa</i>	Méthodologie	Principaux résultats	Références
Patients CF suivis entre 1975 et 1988. n = 502 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa-CC</i>	Analyse des facteurs de risque de la survenue de l'infection avant l'âge de 7 ans comparativement aux non-infectés par régression logistique.	<b>Âge à l'infection</b> : 23 % des CF colonisés chroniques l'étaient avant l'âge de 1 an et 67 % avant 7 ans. <b>Facteurs de risque associés</b> : insuffisance pancréatique, précocité du diagnostic, symptômes gastro-intestinaux et insuffisance pancréatique. <b>Facteurs de risque non associés</b> : genre, poids, taux de chlorures sudoraux et les symptômes respiratoires.	(E. Kerem, Corey, Stein, <i>et al.</i> 1990)
Patients CF diagnostiqués entre 1982 et 1990 avant l'âge de 36 mois. n = 3625 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa-IA</i>	Régression de Cox	<b>Âge à l'infection</b> : estimation de l'âge médian entre 5,5 et 6,5 ans. <b>Facteurs de risque associés</b> : insuffisance pancréatique, cohorte de naissance, régions de naissance et le genre. <b>Facteurs de risque non associés</b> : origine ethnique et exacerbation pulmonaire.	(Wang <i>et al.</i> 2001)
Patients CF suivis entre 1998 et 2002 n = 4293 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> multi-résistant (MARPA)	Régression de Cox	<b>Âge à l'infection</b> : non estimé. <b>Facteurs de risque associés</b> : la fonction respiratoire, diabète, Tobramycine inhalée au long cours, prévalence de MARPA dans le centre de suivi, taille des patients, antibiothérapie IV. <b>Facteurs de risque non associés</b> : genre, indice de masse corporelle, l'insuffisance pancréatique, co-infection à <i>Burkholderia cepacia</i> et <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	(Merlo <i>et al.</i> 2007)
Patients CF suivis jusqu'en 2009, âge moyen à la dernière visite d'environ 17 ans. n = 1381 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa-IA</i> Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde	Régression de Cox	<b>Âge à l'infection</b> : non estimé. <b>Facteurs de risque associés</b> : La <i>Pa-IA</i> et l'infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde sont associées aux classes de mutations de <i>CFTR</i> (résiduelle et minimale) quelques soit le degré de sévérité de fonction respiratoire. <b>Facteurs de risque non associés</b> : aucun.	(Green <i>et al.</i> 2010)
Patients CF diagnostiqués avant l'âge de 13 ans et suivis entre 2004 et 2006. n = 889 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa-IA</i>	Régression de Cox	<b>Âge à l'infection</b> : estimation de l'âge médian de <i>Pa-IA</i> à 3,25 ans (IC 95 % : 2,77-4,03). <b>Facteurs de risque associés</b> : classes de mutations de <i>CFTR</i> (résiduelle et minimale), prise d'enzymes pancréatiques. <b>Facteurs de risque non associés</b> : genre, mutation F508del, âge au diagnostic CF, iléus méconial, diagnostic par dépistage néonatal, traitements inhalés, traitement DNase, traitement Palivuzimab, poids, taille, indice de masse corporelle, co-infection à <i>Staphylococcus aureus</i> sensible ou résistant à la pénicilline, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> et <i>Alcaligenes xylosoxidans</i> , vaccin antigrippal, tabagisme passif, chauffage au bois, utilisation d'un jacuzzi ou d'une piscine, événement social avec un autre patient CF, garderie ou école maternelle, allaitement maternel, niveau d'éducation maternelle et le revenu du foyer.	(Rosenfeld <i>et al.</i> 2012)

Population Origine	Statut pancréatique Mutations de <i>CFTR</i>	Type d'infection à <i>P. aeruginosa</i>	Méthodologie	Principaux résultats	Références
Patients CF âgés de plus de 18 ans et suivis entre 2002 et 2012. n = 402 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa-CC</i> Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde	Modèle GEE ( <i>Generalized estimating equation</i> ).	<b>Âge à l'infection</b> : non estimé. <b>Facteurs de risque associés à la <i>Pa-CC</i></b> : l'âge au diagnostic CF, insuffisance pancréatique, fonction respiratoire et mutations de <i>CFTR</i> . <b>Facteurs de risque non associés à la <i>Pa-CC</i></b> : genre et CFRD.	(Crull <i>et al.</i> 2016)
Patients CF nés entre 2006 et 2015. n = 5592 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa-IA</i> <i>Pa-CC</i> Primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde	Régression de Cox	<b>Âge à l'infection</b> : âge médian de <i>Pa-IA</i> de 2,6 ans (IC 95 % : 2,4-2,9). Chez les 5592 patients 64 % ont eu une <i>Pa-IA</i> , parmi lesquels 13 % développent une <i>Pa-CC</i> et 17 % une infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde. <b>Facteurs de risque associés</b> : l'infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde augmente le risque de survenue d'une <i>Pa-CC</i> . Les classes de mutations I à III étaient associées à une précocité de survenue de la <i>Pa-IA</i> , de la <i>Pa-CC</i> , de l'infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde et au délai entre <i>Pa-CC</i> et infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde. Les facteurs de risque du délai entre <i>Pa-IA</i> et <i>Pa-CC</i> étaient l'origine ethnique et le nombre d'ECBC réalisés. <b>Facteurs de risque non associés</b> : le délai entre <i>Pa-IA</i> et <i>Pa-CC</i> n'était pas associé aux mutations de <i>CFTR</i> , au genre et au dépistage néonatal.	(Heltshe <i>et al.</i> 2018)

*Abbréviations* : CF : *cystic fibrosis*, PI : insuffisance pancréatique exocrine, PS : suffisance pancréatique exocrine, *Pa-IA* : primo-infection à *P. aeruginosa*, *Pa-CC* : colonisation chronique à *P. aeruginosa*, MARPA : *P. aeruginosa* multirésistant, IV : intra-veineuse, IC : intervalle de confiance, GEE : *Generalized estimating equation*, ECBC : examen cyto bactériologique des crachats.

### III. Annexe III : Revue de littérature sur les facteurs génétiques de l'infection à *P. aeruginosa*

**Tableau 13** | Revue de littérature portant sur l'analyse des facteurs de risque génétiques de l'infection à *P. aeruginosa* chez les patients mucoviscidiques.

Gène	Population Origine	Statut pancréatique Mutations de <i>CFTR</i>	Type d'infection à <i>P. aeruginosa</i>	Approche Méthodologie	Principaux résultats	Références
<i>SLC9A3</i>	Enfants CF, n = 1004 Canadiens	PI Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Régression de Cox	Le SNP rs4957061 allèle T avait un effet délétère sur la survenue de la <i>Pa</i> -IA, l'âge médian de <i>Pa</i> -IA était de 8,9 ans pour le génotype CC, 7,4 ans pour le génotype CT et 6,1 ans pour génotype TT. Les SNP rs57221559 et rs4957048 n'ont pas été analysés.	(R. Dorfman <i>et al.</i> 2011)
<i>SLC9A3</i>	Patients CF, n = 730 Canadiens	PI et PS 2 mutations « sévères »	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Modèle GEE ( <i>Generalized estimating equation</i> ).	Le SNP rs17563161 était associé à la survenue de la <i>Pa</i> -IA avec une effet délétère de l'allèle mineur T. Les SNP rs57221559 et rs4957048 n'ont pas été analysés.	(W. Li <i>et al.</i> 2014)
<i>SLC9A3</i>	Patients CF, n = 188 Brésil	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Régression logistique	Le SNP rs17563161 était non associé à la <i>Pa</i> -IA. Les SNP rs57221559 et rs4957048 n'ont pas été analysés.	(Pereira <i>et al.</i> 2017)
<i>SLC6A14</i>	Patients CF, n = 730 Canadiens	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Modèle GEE	Le SNP rs3788766 était associé à la survenue de <i>Pa</i> -IA avec une effet délétère de l'allèle mineur T.	(W. Li <i>et al.</i> 2014)
<i>SLC6A14</i>	Patients CF, n = 188 Brésil	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Régression logistique	Le SNP rs3788766 était associé à la <i>Pa</i> -IA avec effet délétère de l'allèle C, Odds-ratio <sub>CC/TT</sub> = 0,171 (IC 95% : 0,029–0,696).	(Pereira <i>et al.</i> 2017)
<i>CAV2</i>	Patients CF Nombre de patient en fonction des types d'analyses États-Unis Toutes origines ethniques	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -CC	Analyse d'exome : comparaison des patients CF F508del homozygotes ayant un phénotype extrême (âge à la <i>Pa</i> -CC ≤ 25 <sup>ème</sup> percentile (7 ans), âge médian de <i>Pa</i> -CC dans le groupe extrême de 2,6 ans) à un groupe contrôle CF (n = 3239). Analyse par regression linéaire adaptée au variant rares et petits échantillons (aSKAT-O test). Réplication dans une cohorte indépendante de 643 CF par régression de Cox.	<b>Analyse d'exome :</b> 85 CF avec phenotype extrême analysés. Le gène <i>CAV2</i> était associé à la <i>Pa</i> -CC (P-value = 6,7 x 10 <sup>-7</sup> ). <b>Cohorte de validation :</b> Le SNP rs8940 était associé à la <i>Pa</i> -CC avec un HR de 0,48 (IC 95% : 0,32-0,88) et un effet protecteur de l'allèle mineur.	(Emond <i>et al.</i> 2015)
<i>TMC6</i>	Patients CF Nombre de patient en fonction des types d'analyses États-Unis Toutes origines ethniques	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -CC	Analyse d'exome : comparaison des patients CF F508del homozygotes ayant un phénotype extrême (âge à la <i>Pa</i> -CC ≤ 25 <sup>ème</sup> percentile (7 ans), âge médian de <i>Pa</i> -CC dans le groupe extrême de 2,6 ans) à un groupe contrôle CF (n = 3239). Analyse par regression linéaire adaptée au variant rares et petits échantillons (aSKAT-O test). Réplication dans une cohorte indépendante de 643 CF par régression de Cox.	<b>Analyse d'exome :</b> 65 CF avec phenotype extrême analysés. Le gène <i>TMC6</i> était associé à la <i>Pa</i> -CC (P-value = 9,5 x 10 <sup>-7</sup> ). <b>Cohorte de validation :</b> Le SNP rs34712518 était associé à la <i>Pa</i> -CC avec un HR de 1,40 (IC 95% : 1,03-1,80) et un effet délétère de l'allèle mineur. Le SNP rs2748427 était associé à la <i>Pa</i> -CC avec un HR de 1,80 (IC 95% : 1,30-2,80) et un effet délétère de l'allèle mineur. Le SNP rs12449858 n'était pas associé à la <i>Pa</i> -CC (HR : 0,70 ; IC 95% : 0,44-1,10).	Emond <i>et al.</i> 2015)
<i>DCTN4</i>	Patients CF, Nombre de patient en fonction des types d'analyses États-Unis Toutes origines ethniques	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA <i>Pa</i> -CC	Analyse d'exome : comparaison des patients CF ayant un phénotype extrême (âge à la <i>Pa</i> -CC ≤ 5 ans, soit le 10 <sup>ème</sup> percentile, n=38) à un groupe contrôle CF (les 38 CF les plus âgés et n'ayant pas de <i>Pa</i> -CC). Analyse par regression logistique. Réplication dans une cohorte indépendante de 696 CF par régression de Cox	<b>Analyse d'exome :</b> Le gène <i>DCTN4</i> était associé à la <i>Pa</i> -CC (P-value = 2,2 x 10 <sup>-6</sup> ). <b>Cohorte de validation :</b> La présence d'au moins un allèle mineur dans les génotypes des SNP rs11954652 et/ou rs35772018 était associé à la <i>Pa</i> -IA (HR : 1,40 ; IC 95% : 1,10-1,80) et à la <i>Pa</i> -CC (HR : 1,90 ; IC 95% : 1,20-2,90), avec effet délétère de l'allèle mineur C pour le rs11954652 et de l'allèle mineur C pour le rs35772018.	(Emond <i>et al.</i> 2012)

Gène	Population Origine	Statut pancréatique Mutations de <i>CFTR</i>	Type d'infection à <i>P. aeruginosa</i>	Approche Méthodologie	Principaux résultats	Références
<i>DCTN4</i>	Patients CF, n = 121 France Caucasiens	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA <i>Pa</i> -CC	Gène-candidat Régression logistique Comparaison des infectés /non-infectés	La présence d'au moins un allèle mineur dans les génotypes des SNP rs11954652 et/ou rs35772018 n'était pas associée à la <i>Pa</i> -IA ni à la <i>Pa</i> -CC.	(Viel <i>et al.</i> 2016)
<i>TNF</i>	Patients CF, n = 49 Brésil	HTZ ou HMZ pour des mutations de <i>CFTR</i> de classes I ou II	<i>Pa</i> -CC	Gène-candidat Régression logistique Comparaison des infectés /non-infectés dans 3 catégories d'âge (>12 mois, entre 13 et 36 mois et >36 mois).	Le SNP rs361525 n'était pas associé à la <i>Pa</i> -IA quelques soient les catégories d'âge. Le SNP rs1800629 était associé à la <i>Pa</i> -IA, OR <sub>AA/GG</sub> = 0,0800 (IC 95% : 0,0003-0,0700) et OR <sub>GA/GG</sub> = 10,2 (IC 95% : 1,86-84,09) chez les moins de 12 mois.	(Coutinho <i>et al.</i> 2014)
<i>MBL2</i>	Patients CF, Enfants n = 260 Adulte n = 298 Royaume-Uni	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Régression logistique Comparaison des infectés /non infectés	Un haplotype composé de 3 polymorphismes dans le gène <i>MBL2</i> n'était pas associé à la présence de <i>P. aeruginosa</i> au décours d'un ECBC. Les SNP rs5030737, rs7096206 et rs11003125 n'ont pas été analysés.	(J. C. Davies <i>et al.</i> 2004)
<i>MBL2</i>	Patients CF, n = 96 Belgique	PI et PS Au moins une mutation F508del	<i>Pa</i> -CC	Gène-candidat Régression de Cox	Les 6 SNP analysés (dont le rs5030737, rs7096206 et rs11003125) n'étaient pas associés à la <i>Pa</i> -CC.	(Haerynck <i>et al.</i> 2012)
<i>MBL2</i>	Patients CF, n = 788 États-Unis Caucasien	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Régression linéaire	Un haplotype composé des SNP rs1800450, rs1800451, rs5030737 et rs7096206 du gène <i>MBL2</i> (bas niveau de production de la protéine MBL) était associé à la précocité de la <i>Pa</i> -IA comparativement aux patients porteurs de l'haplotype de haute production de MBL (P-value =0,0034). Le SNP rs11003125 n'a pas été analysé.	(McDougal <i>et al.</i> 2010)
<i>MBL2</i>	Patients CF, n = 91 Slovaquie	PI et PS Au moins une mutation F508del	<i>Pa</i> -IA	Gène-candidat Régression logistique	Les génotypes de 3 polymorphismes du gène <i>MBL2</i> n'étaient pas associés à l'âge de survenue de la <i>Pa</i> -IA. Les SNP rs5030737, rs7096206 et rs11003125 n'ont pas été analysés.	(Tarova <i>et al.</i> 2011)
<i>MBL2</i>	Patients CF, n = 47 Italie	PI et PS Toutes mutations	<i>Pa</i> -CC	Gène-candidat Régression logistique	Les génotypes de 3 polymorphismes du gène <i>MBL2</i> étaient associés à l'âge de survenue de la <i>Pa</i> -CC. Les SNP rs5030737, rs7096206 et rs11003125 n'ont pas été analysés.	(Trevisiol <i>et al.</i> 2005)

Abréviations : CF : *cystic fibrosis*, PI : insuffisance pancréatique exocrine, PS : suffisance pancréatique exocrine, *Pa*-IA : primo-infection à *P. aeruginosa*, *Pa*-CC : colonisation chronique à *P. aeruginosa*, MARPA : *P. aeruginosa* multirésistant, IC : intervalle de confiance, GEE : *Generalized estimating equation*, SNP : *single nucleotid polymorphism*, HMZ : homozygote, HTZ : hétérozygote, ECBC : examen cytbactériologique des crachats.

## IV. Annexe IV : Revue de littérature sur le déclin de la fonction respiratoire

**Tableau 14** | Revue de littérature portant sur l'analyse du déclin de la fonction respiratoire chez les patients mucoviscidosiques.

Population Origine	Statut pancréatique Mutations de CFTR	Design et méthodologie	Principaux résultats	Références
Patients CF suivis entre 1975 et 1988 n = 895 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire. Comparaison du déclin des patients avec <i>Pa</i> -IA aux patients non-infectés, par analyse de covariance.	Le déclin de la fonction respiratoire n'était pas associé à la <i>Pa</i> -IA et était de -2,2 % de VEMSpp par an avant la <i>Pa</i> -IA et -2,5 % après.	(E. Kerem, Corey, Gold, <i>et al.</i> 1990)
Patients CF ayant eu un ECBC entre 1954 et 1990 n = 198 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire.	Avant l'infection chronique à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde le déclin était compris entre +0,2 % et -1,3 % de VEMSpp par an selon le sexe, et entre -2,5 % et -2,4 % après.	(Demko <i>et al.</i> 1995)
Patients CF nés entre 1966 et 1974. n = 366 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire mixte.	Le déclin était compris entre -1,79 % et -9,16 % de VEMSpp par an selon l'âge au décès. Les patients décédés avant l'âge de 15 ans avait un VEMSpp initial plus bas et un déclin plus rapide. Pas d'analyse du statut infectieux	(Corey <i>et al.</i> 1997)
Patients CF âgés de plus de 12 ans avec une moyenne d'âge de ~23 ans. n = 53 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire mixte.	Le déclin de la fonction respiratoire était associé à l'infection à <i>P. aeruginosa</i> mucoïde et au genre. Le déclin était, selon le sexe des patients CF, compris entre -1,71 % de VEMSpp par an et -2,21 % chez les patients infectés et entre -0,90 % et -1,40 % chez les patients non-infectés.	(Parad <i>et al.</i> 1999)
Enfants CF âgés de 6 à 17 ans en 1997. n = 56 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par GEE ( <i>Generalized Estimating Equation</i> ).	Le déclin de la fonction respiratoire était évalué par le ratio VEMSpp/CVF (capacité vitale forcée). Le déclin était associé à la <i>Pa</i> -IA et était de -1,29 avant la <i>Pa</i> -IA et -1,81 après.	(Kosorok <i>et al.</i> 2001)
Patients CF nés avant 1993 âgés en moyenne de 21,9 ans. n = 377 Suède	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par un modèle de régression mixte.	Chez les 324 patients CF insuffisants pancréatiques, le déclin de la fonction respiratoire était significativement associé à l'infection chronique à <i>P. aeruginosa</i> . Chez les patients PI sans <i>Pa</i> -CC le déclin était de -0,53 % de VEMSpp par an, et de -1,02 % chez les patients PI avec une <i>Pa</i> -CC. Comparativement aux patients sans <i>Pa</i> -CC, le risque relatif d'avoir un VEMSpp <60 % était compris entre 1,7 et 3 selon l'âge chez les patients avec une <i>Pa</i> -CC.	(Schaedel <i>et al.</i> 2002)
Patients CF âgés nés à partir de 1965 avec une moyenne d'âge de 17 ans à leur dernière mesure de VEMSpp. n = 188 États-Unis	PI F508del HMZ	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par un modèle mixte joint.	Le déclin de la fonction respiratoire a été estimé avec une corrélation avec l'âge au décès. La pente de déclin a été estimée à -2,55 % de VEMSpp par an. Pas d'analyse du statut infectieux.	(Schluchter <i>et al.</i> 2002)
Enfants CF diagnostiqués nés entre 1989 et 1997. n = 40 France	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire.	Le déclin de la fonction respiratoire est associé à la <i>Pa</i> -CC. Déclin graduel qui n'était pas différent après la <i>Pa</i> -CC récente mais très altérée chez les enfants anciennement colonisés chroniques. Le déclin était de -1,1 % de VEMSpp par an ( $P < 0,0001$ ).	(Burggraeve <i>et al.</i> 2007)

Population Origine	Statut pancréatique Mutations de CFTR	Design et méthodologie	Principaux résultats	Références
Enfants CF âgés de 6 à 17 ans en 1997. n = 4866 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire mixte.	Le déclin était de -1,12 % de VEMSpp par an chez les 6-8 ans, de -2,39 % chez les 9-12 ans et de -2,34 % chez les 13-17 ans. Le déclin était associé à la dernière culture positive à <i>P. aeruginosa</i> chez les 6-8 ans avec un accélération de la pente de 0,34 %, chez les 9-12 ans avec une accélération de la pente de 0,22 %, mais pas chez les 13-17 ans (accélération de la pente de 0,06 %).	(Konstan <i>et al.</i> 2007)
Nourrissons âgés de 6 semaines à 30 mois en 2008. CF : n = 68 et non CF: n = 49 Australie	PI et PS Toutes mutations	Étude cas/témoins. Le déclin a été estimé par régression linéaire.	Le déclin de la fonction respiratoire chez les nourrissons CF, mesurée par la FEV <sub>0,5</sub> (volume expiratoire maximal en 0,5 seconde) était de -0,77 par an (IC 95 % : -1,14 à -0,41 ; P < 0,001). Le déclin n'était pas associé à l'inflammation ni à l'infection. Aucune différence n'a été trouvée dans la moyenne de la FEV <sub>0,5</sub> entre les nourrissons CF et non-CF.	(Linnane <i>et al.</i> 2008)
Enfants CF nés entre 1985 et 2000, divisés en 2 cohortes : cohorte 1 (1995-1992) et cohorte 2 (1993-2000). n = 144 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé entre l'âge de 6 et 12 ans par régression linéaire.	Le déclin de la fonction respiratoire était associé à la <i>Pa-CC</i> . Le déclin était de -0,58 % de VEMSpp par an dans la cohorte 1 et de + 0,91 % dans la cohorte 2. L'augmentation du déclin après la <i>Pa-CC</i> était de 2,1 %.	(McPhail <i>et al.</i> 2008)
Nourrissons CF âgés en moyenne de 20 semaines entre 2006 et 2011. n = 37 Australie	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par GEE.	Le déclin de la fonction respiratoire chez les nourrissons CF était mesurée par la FEV <sub>0,5</sub> . Le déclin était associé à la présence de <i>P. aeruginosa</i> au décours d'un lavage broncho-alvéolaire et une augmentation de 0,38 % de FEV <sub>0,5</sub> par 10 semaines chez les enfants infectés.	(Pillariseti <i>et al.</i> 2011)
Patients CF de 8 à 25 ans nés entre 2000 et 2007. n = 629 avec 2 groupes de phénotypes extrêmes États-Unis	PI F508del HMZ	Étude cas/contrôle en population CF. Association entre phénotypes extrêmes évaluée par régression logistique. Sévère (cas) : 1 <sup>er</sup> quartile de VEMSpp Non-sévère (contrôle) : 4 <sup>ème</sup> quartile de VEMSpp	L'âge de l'infection était fortement associé à l'augmentation du risque d'atteinte respiratoire sévère. Comparativement aux patients CF avec un phénotype non-sévère, les patients CF sévères avaient un risque augmenté de <i>Pa-IA</i> (OR = 6,5 ; IC 95 % : 3,1-13,7) et d'infection à <i>P. aeruginosa</i> persistante (OR = 11,2 ; IC 95 % : 5,4,-23,1). Pas d'estimation du déclin de la fonction respiratoire.	(Pittman <i>et al.</i> 2011)
Patients CF présentant une <i>Pa-IA</i> âgés en moyenne de 19 ans. Données pour la période de 1994 à 2005. n = 4349 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par régression linéaire segmentée adaptée aux mesures répétées.	Chez les 4349 patients CF avec une <i>Pa-IA</i> , 1111 ont développé une infection à <i>P. aeruginosa</i> multirésistant (MARPA). Le déclin de la fonction respiratoire chez les patients sans MARPA était compris entre -1,77 % et -2,45 % de VEMSpp par an. Le déclin de la fonction respiratoire n'était pas associé à l'acquisition de l'infection MARPA (P = 0,45). Le déclin était de -2,22 % de VEMSpp par an avant et de -2,43 % après.	(Ren <i>et al.</i> 2012)
Patients CF âgés de 18 ans entre 1994 et 2005. n = 2267 États-Unis	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par un modèle de regression linéaire mixte. Analyse logistique multivariée pour comparer les adolescents aux jeunes adultes.	Le déclin de la fonction respiratoire était -1,59 % de VEMSpp par an chez les adolescents (14 à 17,4 ans) et de -2,68 chez les jeunes adultes (18,5 à 22 ans). L'accélération du déclin à l'âge adulte était significativement associée à la présence d'une infection à <i>P. aeruginosa</i> multirésistant à l'adolescence (OR infecté/non-infectés : 0,74, IC 95% : 0,56-0,99).	(Vandenbranden <i>et al.</i> 2012)
Enfants âgés de 4 à 8 ans CF : n = 56, issus du diagnostic néonatal entre 2002 et 2007 Non-CF : n = 18 nés entre 1996 et 2003, Australie	PI et PS Toutes mutations	Étude cas/témoins. Le déclin a été estimé par régression linéaire mixte.	La fonction respiratoire a été mesurée par la FEV <sub>0,75</sub> (volume expiratoire maximal en 0,75 seconde). Les enfants CF avaient une fonction respiratoire diminuée de 8,3 % comparativement aux enfants non-CF. La présence de <i>P. aeruginosa</i> au décours d'un lavage broncho-alvéolaire était significativement associée à une réduction de 15,6 % de FEV <sub>0,75</sub> .	(K. A. Ramsey <i>et al.</i> 2014)

Population Origine	Statut pancréatique Mutations de CFTR	Design et méthodologie	Principaux résultats	Références
Patients CF de 6 à 8 ans nés entre 1979 et 2000 n = 346 4 groupes en fonction des quartiles de VEMSpp États-Unis	PI F508del HMZ	Étude observationnelle en population CF. Comparaison des phénotypes par régression logistique. Le déclin de la fonction respiratoire entre l'enfance et l'adolescence et a été estimé par régression linéaire.	La présence d'une infection à <i>P. aeruginosa</i> précoce (avant 6 ans) n'était pas associée au déclin de la fonction respiratoire dans le groupe sévère, mais l'était dans le groupe non-sévère. En fonction des quartiles de VEMSpp, le déclin de la fonction respiratoire était compris entre -0,1 % et -2,8 de VEMSpp par an chez les patients infectés précocement à <i>P. aeruginosa</i> et compris entre -2,6 % et +0,6 % chez les non-infectés.	(Pittman, Noah, et al. 2017)
Enfants CF nés entre 2009 et 2014 et âgés de 5 à 18 ans. n = 545 Allemagne	PI et PS Toutes mutations	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par un modèle de régression linéaire mixte multivariée.	Le déclin de la fonction respiratoire était -1,92 % de VEMSpp par an (IC 95% : -2,26 ; -1,58 %). Le déclin augmentait de 0,28 % après la Pa-CC mais l'association entre pente de déclin et Pa-CC n'était pas statistiquement significative (P = 0,52).	(van Horck et al. 2018)
Patients CF âgés de 18 ans entre 1994 et 2005. Données issues de la période 2008-2019. n = 3655 avec 708 CF de 6-12 ans, 595 CF de 13-17 ans et 2352 CF de plus de 18 ans Australie	PI et PS Toutes mutations 352 CF transplantés	Étude observationnelle en population CF. Le déclin a été estimé par un modèle de régression linéaire mixte.	Entre 6 et 18 ans, le déclin de la fonction respiratoire variait de -2,2 % à -1,8 % de VEMSpp par an, entre 19 à 30 ans il variait de -1,8 % à -0,5 % et chez les CF âgés de plus de 30 ans le taux de déclin était de -0,5 % à 0,06 %. La fonction respiratoire était associée à la primo-infection à <i>P. aeruginosa</i> . Comparativement aux patients sans Pa-IA, la moyenne de VEMSpp était diminuée de 4,7 points de VEMSpp (P<0,001)	(Earnest et al. 2020)

*Abbréviations* : CF : *cystic fibrosis*, PI : insuffisance pancréatique exocrine, PS : suffisance pancréatique exocrine, Pa-IA : primo-infection à *P. aeruginosa*, Pa-CC : colonisation chronique à *P. aeruginosa*, MARPA : *P. aeruginosa* multirésistant, IC : intervalle de confiance, GEE : *Generalized estimating equation*, HMZ : homozygote, HTZ : hétérozygote, ECBC : examen cyto bactériologique des crachats, FEV<sub>0,5</sub> : volume expiratoire maximal en 0,5 seconde, FEV<sub>0,75</sub> : volume expiratoire maximal en 0,75 seconde, CVF : capacité vitale forcée.

## V. Annexe V : Description des gènes analysés dans le cadre de la thèse

**Tableau 15** | Description des gènes *CAV2*, *DCTN4*, *MBL2*, *SLC26A9*, *SLC6A14*, *SLC9A3*, *TMC6* et *TNF* : concepts et hypothèses de leur implication dans la mucoviscidose

Gène	Chr	Physiologie, fonction de la protéine et expression	Concepts et hypothèses dans la mucoviscidose	Références
CAV2	7	La protéine codée par ce gène est la cavéoline-2, elle forme un dimère avec la cavéoline-1.	Les cavéolines contribuent aux défenses de l'hôte en régulant l'endocytose médiée par les radeaux lipidiques ( <i>lipid rafts</i> ). Elles jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire à l'infection et le transport des protéines dans l'épithélium pulmonaire des patients CF.	(Zaas, Swan, Brown, Li, <i>et al.</i> 2009) (Zaas, Swan, Brown, Wright, <i>et al.</i> 2009)
		La cavéoline-2 fait partie d'une famille de 3 protéines structurales des cavéoles (petites invaginations de la membrane plasmique des cellules).	CAV2 a été identifié comme potentiel gène modificateur de la mucoviscidose en raison de son rôle dans la formation d'endosomes dans les cellules épithéliales pulmonaires.	(J. M. Wright <i>et al.</i> 2010) (Bajmoczy <i>et al.</i> 2009) (Zaas <i>et al.</i> 2005) (Trzcinska-Daneluti <i>et al.</i> 2009) (Emond <i>et al.</i> 2015)
		Elle est impliquée dans la transduction des signaux, le métabolisme des lipides, le contrôle de la croissance cellulaire et l'apoptose.	La cavéoline-2 forme un hétérodimère avec la cavéoline-1, qui, après infection par <i>P. aeruginosa</i> , co-localiserait avec CFTR et <i>P. aeruginosa</i> . La délétion de <i>CAV2</i> dans des cellules épithéliales murines a montré que cela empêche l'invasion par <i>P. aeruginosa</i> . Ceci suggère que les variants de <i>CAV2</i> pourraient réduire l'invasion précoce des cellules épithéliales pulmonaires par <i>P. aeruginosa</i> et ainsi réduire le risque de colonisation chronique.	
		<b>Expression</b> : ubiquitaire.	Dans des lignées cellulaires épithéliales murines, il a été montré que la co-expression de la cavéoline-2 avec la protéine F508del-CFTR permettrait de rétablir l'expression de CFTR mutante à la surface des cellules. Il est ainsi supposé que cela permettrait une meilleure défense pulmonaire.	
DCTN4	5	Le gène <i>DCTN4</i> code pour la dynactine 4, qui serait associée aux voies de signalisation du remodelage du cytosquelette, des neurofilaments et à la présentation des antigènes par le HLA classe II.	La dynactine 4 est un composant de la dynéine, qui permet le déplacement des autophagosomes le long des microtubules vers les lysosomes ; ceci afin qu'ils soient dégradés dans le cadre du processus d'autophagie (mécanisme permettant le transport et la dégradation de composants intracellulaires endommagés telles que les protéines et les bactéries).	(Kimura <i>et al.</i> 2008) (Haspel et Choi 2011) (Yuan <i>et al.</i> 2012) (Schroer 2004) (Emond <i>et al.</i> 2012) (Viel <i>et al.</i> 2016)
		<b>Expression</b> : ubiquitaire.	<i>P. aeruginosa</i> induirait l'autophagie dans les macrophages alvéolaires et l'autophagie joue un rôle essentiel dans la clairance de <i>P. aeruginosa</i> .	
			Dans la mucoviscidose, l'accumulation intracellulaire de F508del-CFTR est associée à une réduction du flux macro-autophagique via l'inhibition de la formation d'autophagosomes. Il en résulte une augmentation de l'inflammation des voies respiratoires.	
			Dans la mucoviscidose, les isoformes de la dynactine 4 influenceraient l'infection par <i>P. aeruginosa</i> en réduisant la clairance autophagique de <i>P. aeruginosa</i> dans les voies respiratoires ou en altérant la clairance macro-autophagique du <i>CFTR</i> mutant de classe II (par exemple F508del), ce qui augmenterait la sévérité de l'atteinte respiratoire des patients CF.	

Gène	Chr	Physiologie, fonction de la protéine et expression	Concepts et hypothèses dans la mucoviscidose	Références
MBL2	10	<p>MBL2 code pour une lectine de reconnaissance du système immunitaire inné. Elle est produite par le foie.</p> <p>MBL2 se lie au D-mannose et à la N-acétyl-D-glucosamine qui sont présents à surface de nombreuses bactéries, virus et champignons.</p> <p>En se liant, MBL2 déclenche l'activation de la voie du complément pour améliorer la phagocytose.</p> <p><b>Expression :</b> uniquement au niveau hépatique et principalement dans les hépatocytes.</p>	<p>Des niveaux élevés de cytokines sont bénéfiques parce qu'ils déclenchent les voies nécessaires à l'élimination des bactéries, mais ils peuvent aussi stimuler des cascades inflammatoires qui sont potentiellement préjudiciables au tissu pulmonaire des patients CF.</p> <p>MBL2 régule la sécrétion de cytokines :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Des niveaux intermédiaires de MBL2 déclenchent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL-6 et TNF-<math>\alpha</math>,</li> <li>- Des niveaux élevés de MBL2 (&gt;6 <math>\mu\text{g/ml}</math>) sont connus pour réprimer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et de réguler à la hausse la cytokine anti-inflammatoire IL-10.</li> </ul> <p>La MBL2 est principalement une protéine sérique, mais elle s'accumule dans les poumons lors d'une inflammation aiguë. Dans la population générale, les niveaux de MBL2 oligomérisée dans le sang varient considérablement. La déficience en MBL2 serait associée à une susceptibilité accrue aux infections dans divers contextes cliniques, et chez l'enfant où le risque est multiplié par 2.</p>	<p>(Moller-Kristensen <i>et al.</i> 2006)  (Fujita <i>et al.</i> 2004)  (Jack <i>et al.</i> 2001)  (Kilpatrick 2002)  (Koch <i>et al.</i> 2001)  (Ruslan Dorfman <i>et al.</i> 2008)  (Chalmers <i>et al.</i> 2011)</p>
		<p>SLC26A9 code pour la protéine du même nom, qui est un canal chlorure dans les cellules épithéliales.</p> <p>Il aurait un rôle dans la régulation des efflux ioniques de CFTR.</p> <p><b>Expression :</b> fortement exprimé au niveau de l'appareil digestif et de l'appareil respiratoire.</p>	<p>SLC26A9 a été montré comme étant un gène modificateur de la mucoviscidose à effet pléiotropique. En effet, il est associé à la sévérité de l'atteinte pancréatique endocrine et exocrine, l'atteinte intestinale et la réponse au traitement modulateur de CFTR lumacaftor.</p> <p>Il est suggéré que le canal <i>SLC26A9</i> pourrait compenser la dysfonction du canal CFTR et améliorer la fonction de CFTR au niveau de la membrane apicale des cellules des voies respiratoires.</p> <p>Les résultats d'une récente étude, publiée en préprint (Gong <i>et al.</i> 2021), soutiennent que <i>SLC26A9</i> pourrait être une cible thérapeutique pour l'amélioration de la fonction respiratoire :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- chez tous les patients CF (quelques que soient leurs mutations de <i>CFTR</i>)</li> <li>- chez les personnes atteintes d'autres maladies pulmonaires obstructives comme la BPCO.</li> </ul>	<p>(Corvol, Mesinele, <i>et al.</i> 2018)  (Strug <i>et al.</i> 2016)  (Miller <i>et al.</i> 2015)  (Sun <i>et al.</i> 2012)  (Blackman <i>et al.</i> 2013)  (Aksit <i>et al.</i> 2020)  (Kmit <i>et al.</i> 2019)  (Bertrand <i>et al.</i> 2017)  (Bertrand <i>et al.</i> 2009)  (Salomon <i>et al.</i> 2016)  (Liu <i>et al.</i> 2015)</p>
		<p>La protéine SLC6A14 est un transporteur membranaire, qui utilise l'énergie fournie par les gradients d'ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>, pour importer dans le cytoplasme de différents types de cellules, des acides aminés neutres et basiques.</p> <p><b>Expression :</b> principalement au niveau du tissu pulmonaire.</p>	<p>SLC6A14 diminuerait la concentration en acide aminés (AA) du liquide de surface des voies aériennes (LSA) pour créer un environnement défavorable à la croissance bactérienne.</p> <p>SLC6A14 transporte un précurseur de l'oxyde nitrique (l'arginine) qui a une propriété bactéricide et favoriserait l'induction de la réponse inflammatoire et immunitaire.</p> <p>SLC6A14 via l'oxyde nitrique, permettrait d'augmenter la fonction résiduelle de CFTR via la voie GMP cyclique.</p> <p>L'inhibition du transport d'arginine dépendant de SLC6A14 induirait une augmentation de l'adhésion de <i>P. aeruginosa</i> aux cellules épithéliales bronchiques.</p> <p>SLC6A14 participerait au maintien de l'intégrité de l'épithélium et favoriserait une réparation efficace en cas de lésions.</p>	<p>(Ruffin, Mercier, Calmel, Mesinele, Bigot, <i>et al.</i> 2020)  (Ruffin, Mercier, Calmel, Mesinele, Corvol, <i>et al.</i> 2020)  (Ahmadi <i>et al.</i> 2019)  (Di Paola <i>et al.</i> 2017)</p>

Gène	Chr	Physiologie, fonction de la protéine et expression	Concepts et hypothèses dans la mucoviscidose	Références
SLC9A3	5	SLC9A3 code pour un échangeur d'ions sodium/protons.	Il a été démontré que la protéine SLC9A3 participe à l'échange de bicarbonate dans les cellules épithéliales de l'intestin. Puisque le transport du bicarbonate est altéré chez les patients CF, il est supposé qu'une modification de l'expression de SLC9A3 pourrait agir comme une voie compensatoire dans les épithéliums des patients CF. En effet, une étude sur des souris CF a montré que la délétion du gène <i>Slc9a3</i> permettait de corriger le phénotype d'obstruction intestinale qui ressemble étroitement à l'iléus méconial. De plus, le gène SLC9A3 a été montré comme associé à la survenue de l'iléus méconial chez les patients CF.	(Bradford <i>et al.</i> 2009) (Furukawa <i>et al.</i> 2004) (R. Dorfman <i>et al.</i> 2011) (Sun <i>et al.</i> 2012) (Corvol <i>et al.</i> 2015)
		Il est impliqué dans l'absorption d'ions Na <sup>+</sup> et d'eau à travers l'épithélium.		
		<b>Expression</b> : fortement exprimé au niveau gastro-intestinal et très peu au niveau de l'appareil respiratoire.	Au niveau respiratoire, l'altération de la fonction de SLC9A3 appauvrirait davantage le LSA des patients CF et la clairance mucociliaire ; ce qui augmenterait ainsi la susceptibilité à l'infection par <i>P. aeruginosa</i> et augmenterait la sévérité de l'atteinte pulmonaire.	
			SLC9A3 a été montré comme associé à la sévérité de l'atteinte respiratoire chez les patients CF.	
TMC6	17	La protéine TMC6 forme un complexe avec son homologue TMC8 et interagit avec le transporteur de zinc SLC30A1, supprimant ainsi l'activation de plusieurs facteurs de transcription dont AP-1.	Les variants de <i>TMC6</i> déréguleraient la réplication du virus du papillome humain via la transcription d'AP-1. Le facteur de transcription AP-1 favorise l'induction de la transcription de l'IL-8 par <i>P. aeruginosa</i> ; l'IL-8 étant un médiateur clé des cellules épithéliales bronchiques et de l'atteinte pulmonaire des patients CF.	(Lazarczyk et Favre 2008) (Bezzeri <i>et al.</i> 2011) (Harder <i>et al.</i> 2000) (Smith <i>et al.</i> 2007) (Day <i>et al.</i> 2003) (Emond <i>et al.</i> 2015)
		<b>Expression</b> : principalement localisé dans le réticulum endoplasmique, mais aussi dans la membrane nucléaire et l'appareil de Golgi. Elle est exprimée dans l'appareil respiratoire et plus fortement dans l'appareil digestif.	AP-1 est également impliqué dans la protection contre <i>P. aeruginosa</i> via le gène <i>DEF1</i> ; qui code pour la cytokine bêta-défensine-2. Ainsi, TMC6 pourrait influencer la régulation d'AP-1 et modifier ainsi la réponse à <i>P. aeruginosa</i> .	
			TMC6 est également relié fonctionnellement à l'endocytose médiée par la cavéoline.	
TNF	6	Le <i>TNF</i> code pour la cytokine pro-inflammatoire TNF-alpha (TNF- $\alpha$ ), qui a une fonction de médiateur de l'immunité.	Le TNF- $\alpha$ est impliqué dans l'apoptose, la réponse inflammatoire et pourrait activer les cellules productrices d'IL-1 et d'IL-6 pour répondre à une infection. Sa libération peut être stimulée par plusieurs autres médiateurs, dont les endotoxines bactériennes. Son action permet donc de contenir et éliminer les agents pathogènes.	(Hull et Thomson 1998) (Rehman <i>et al.</i> 2021)
		Le TNF- $\alpha$ est principalement produit par les macrophages.	Plusieurs traitements médicamenteux (anticorps monoclonaux anti-TNF- $\alpha$ ) permettent de neutraliser les formes solubles et transmembranaires de TNF- $\alpha$ , et ce, pour le traitement de maladies auto-immunes inflammatoires chroniques.	
		<b>Expression</b> : fortement exprimé dans le poumon.	Le TNF- $\alpha$ serait augmenté dans les voies respiratoires des patients CF. Dans une récente étude, les auteurs ont traité des cultures primaires d'épithéliums des voies respiratoires CF humains avec du TNF- $\alpha$ couplé à l'IL-17 (une autre cytokine pro-inflammatoire) et ont montré que : - cela induirait une augmentation du pH du LSA en régulant un échangeur apical Cl <sup>-</sup> /HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - le pH serait d'autant plus alcalinisé lorsque le traitement TNF- $\alpha$ + IL-17 est couplé à un traitement par modulateur de CFTR.	

Abréviations : Chr : chromosome ; AA : acide aminé ; LSA : liquide de surface des voies aériennes respiratoires ; GMP : guanosine mono phosphate, CF : *cystic fibrosis*, BPCO : broncho pneumopathie chronique obstructive.

## VI. Annexe VI : Données complémentaires de l'article

### Données complémentaires de l'article *Risk factors for Pseudomonas aeruginosa airway infection and lung function decline in children with cystic fibrosis.*

#### RISK FACTORS FOR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AIRWAY INFECTION AND LUNG FUNCTION DECLINE IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS

##### SUPPLEMENTARY MATERIAL

###### 1 Supplementary Information

###### 1.1 Pancreatic status definition

Faecal elastase is used as a marker for pancreatic exocrine function (<200 µg/g of stool insufficiency). Patients with pancreatic insufficiency require lifelong pancreatic enzyme replacement therapy (1). Patients were classified as either pancreatic-sufficient (PS) or pancreatic-insufficient (PI) if they received pancreatic enzyme replacement therapy.

###### 1.2 Cystic fibrosis related diabetes (CFRD) definition

CF French guidelines (2) recommend that people with CF (pwCF) aged 10 years and older be tested every year for CFRD with an oral glucose tolerance test (OGTT). CFRD is diagnosed with 2 h oral glucose tolerance test values of more than or equal to 11.1 mmol/L (200 mg/dL). Here, CFRD was defined as "present" when it occurred before *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) infection or before the latest news.

###### 1.3 Cystic fibrosis related liver disease (CFLD) definition

CFLD was defined as previously reported according to the European best-practice guidelines (3, 4):

- At least two of the following characteristics were present: 1) abnormal physical examination, including hepatomegaly and/or splenomegaly; 2) abnormalities in liver

function tests defined as an increase in transaminase (alanine aminotransferase and/or aspartate aminotransferase) and/or gamma-glutamyl transpeptidase levels above the upper normal limits; or 3) ultrasonographic (US) evidence of liver involvement (heterogeneous echogenicity, irregular margins, or nodularity), portal hypertension (splenomegaly, increased thickness of the lesser omentum, spontaneous splenorenal anastomosis, large collateral veins, or ascites), or biliary abnormalities (bile duct dilatation).

- When patients had severe CFLD defined when at least one of the following characteristics were present: 1) cirrhosis diagnosed either by US, computed tomography, and/or magnetic resonance imaging; 2) portal hypertension (splenomegaly, hypersplenism (platelets <150,000  $10^9/L$  and white blood cells <3000  $10^9/L$ ); 3) spontaneous portosystemic shunts on US; or 4) oesophageal varices.

CFLD was defined as “*present*” when it occurred before *Pa* infection or before the latest news.

#### 1.4 Censoring

Data were extracted from electronic medical records and additional paper records, and we used observations from birth. The following rules were applied to determine the status and dates of initial acquisition of *Pa* (*Pa-IA*) and chronic colonisation of *Pa* (*Pa-CC*):

- Patients with no reports of *P. aeruginosa* (*Pa*) infection or colonisation during follow-up. These were considered “right-censored” at the date of last news and considered not infected at the corresponding age.

- Patients with a reported date of *Pa-IA* (resp. *Pa-CC*) during the follow-up. The age at the reported date was defined as the age at *Pa-IA* (resp. *Pa-CC*):

- If the date was before the patient’s 5<sup>th</sup> birthday,

- If the patient had been followed since he/she was 3 years old or less,
- If the patient had been followed for more than 1 year in the centre,
- If the patient was born after routine neonatal screening for CF (2002),
- If initial acquisition/chronic colonisation with another pathogen had been reported at least 1 year before the reported date—this was considered to imply active surveillance (*Staphylococcus aureus* susceptible or resistant to methicillin, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Scedosporium apiospermum*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Aspergillus fumigatus*, and *atypical mycobacteria* ), or
- If there were reports of *Pa*-IA or *Pa*-CC with no date, or if the reported date was at a late age with partial follow-up before, or if the dates of *Pa*-IA and *Pa*-CC were the same, we considered the date of *Pa*-IA as “interval-censored” between birth and the corresponding age, which is occurring at some date in this interval.

For patients with lung transplant, all data after the transplant were discarded, and these rules were applied to the data prior to the date of transplantation. For pwCF under CFTR modulators, data on *Pa* infection were not censored at the time of treatment initiation.

## 2 Supplementary analysis

### 2.1 Statistical power of genetic analysis

In the genetic analysis of *Pa-IA*, by applying the formulas for the number of subjects required for the identification of allelic hazard ratios (HRs), with 847 events and a power of approximately 80%, it would have been possible to identify genetic risk factors with HRs greater than 1.55, for SNPs with a minor allele frequency (MAF) greater than 10% and of the order of 2.65, and for rare variants with MAF greater than 2%.

For *Pa-CC* and duration between *Pa-IA* and *Pa-CC* analysis, with 234 events and a power of about 80%, we were able to identify genetic risk factors involving HRs greater than 2.30 for SNPs with MAF greater than 10% and of the order of 6.20 and for rare variants with MAF greater than 2%.

### 2.2 Sensitivity analysis

A sensitivity analysis was performed to estimate age at *Pa-IA*, *Pa-IA*, and duration from *Pa-IA* to *Pa-CC* according to the censoring method. Excluding pwCF with data interval-censored data led to a larger age at *Pa-IA*, *Pa-CC*, and duration from *Pa-IA* to *Pa-CC*, by 4 to 8 months (Table S4).

### 3 Supplementary tables

**Table S1. Median and quartile ages by clinical and demographic risk factors estimated by the Kaplan–Meier method for interval-censored data, for *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition, chronic colonisation, and duration from initial acquisition to chronic colonisation in the 1,231 young patients with cystic fibrosis**

	Initial acquisition			Chronic colonisation			Duration from initial acquisition to chronic colonisation		
	Patients at risk % (n)	Number of events	Median age of event Years (95% CI)	Patients at risk % (n)	Number of events	Quartile age of event Years (95% CI)	Patients at risk % (n)	Number of events	Quartile age of event Years (95% CI)
<b>ALL</b>	100% (1231)	847	5.1 (3.8–6.2)	100% (1231)	234	14.7 (12.1–NA)	100% (847)	234	6.9 (4.5–9.1)
<b>Sex</b>									
Female	48% (586)	414	4.8 (4.1–5.6)	48% (586)	120	14.0 (11.1–NA)	49% (414)	120	5.7 (3.8–8.7)
Male	52% (645)	433	5.4 (4.4–6.0)	52% (645)	114	16.2 (13.3–NA)	51% (433)	114	7.9 (6.2–9.0)
<b>Year of birth</b>									
2001–2003	26% (318)	265	5.1 (4.1–5.7)	26% (318)	101	12.1 (10.1–14.7)	31% (265)	101	5.7 (3.4–8.5)
2004–2006	27% (328)	240	5.4 (4.4–7.2)	27% (328)	64	NA	28% (240)	64	6.4 (4.8–12.1)
2007–2009	25% (304)	199	5.2 (4.1–6.4)	25% (304)	47	NA	23% (199)	47	7.7 (4.9–NA)
>2009	23% (281)	143	NA	23% (281)	22	NA	17% (143)	22	NA
<b>CFTR genotype</b>									
F508del homozygotes	56% (687)	477	5.0 (4.3–5.6)	56% (687)	128	14.7 (13.3–NA)	56% (477)	128	7.4 (4.8–8.7)
F508del heterozygotes	36% (449)	308	5.4 (4.3–6.1)	36% (449)	84	16.2 (12.2–NA)	36% (308)	84	6.3 (4.9–10.1)
Others	8% (95)	62	4.4 (3.1–7.6)	8% (95)	22	11.7 (9.0–NA)	7% (62)	22	6.6 (3.4–11.9)
<b>Meconium ileus</b>									
Absence	80% (989)	688	5.2 (4.4–5.6)	80% (989)	196	14 (12.4–16.6)	81% (688)	196	6.6 (5.3–8.2)
Presence	15% (183)	130	4.4 (3.8–5.6)	15% (183)	28	NA	15% (130)	28	8.8 (5.4–NA)
<b>CFRD</b>									
Absence	99% (1218)	843	-	97% (1193)	230	-	97% (818)	230	-
Presence	1% (13)	4	-	3% (38)	4	-	3% (29)	4	-
<b>CFLD</b>									
Absence	90% (1108)	784	-	82% (1014)	207	-	81% (690)	207	-
Presence	10% (123)	63	-	18% (217)	27	-	19% (157)	27	-
<b>Size of CF care centre (n)</b>									
Small ( $\leq 125$ )	47% (583)	397	5.4 (3.9–6.6)	47% (583)	107	14.7 (12.2–NA)	47% (397)	107	7.1 (4.8–10.5)
Large (126–282)	53% (648)	450	4.7 (3.4–6.8)	53% (648)	127	14.3 (11.7–NA)	53% (450)	127	6.6 (3.4–10.1)

Abbreviations: CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; CFRD: cystic fibrosis related diabetes; CFLD: cystic fibrosis liver disease

**Table S2. Median and quartile ages by modifier genotypes estimated by the Kaplan–Meier method for interval-censored data, for *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition, chronic colonisation, and duration from initial acquisition to chronic colonisation in the 1,231 young patients with cystic fibrosis**

Gene	Genotype	Initial acquisition			Chronic colonisation			Duration from initial acquisition to chronic colonisation		
		Patients at risk % (n)	Number of events	Median age of event Years (95% CI)	Patients at risk % (n)	Number of events	Quartile age of event Years (95% CI)	Patients at risk % (n)	Number of events	Quartile age of event Years (95% CI)
<b>CAV2</b>										
rs8940	CC	47% (382)	398	5.2 (4.2–6.1)	47% (382)	125	13.7 (11.8–16.6)	47% (398)	125	5.9 (3.4–8.2)
rs8940	GC	38% (467)	327	5.3 (4.4–6.0)	38% (467)	83	14.8 (12.2–NA)	39% (327)	83	7.9 (5.7–9.1)
rs8940	GG	10% (123)	92	3.8 (2.7–5.6)	10% (123)	20	NA	11% (92)	20	15.8 (4.0–NA)
<b>SLC9A3</b>										
rs57221529	AA	57% (701)	483	5.4 (4.6–6.0)	57% (701)	122	16.4 (14–NA)	57% (483)	122	7.9 (5.9–10.1)
rs57221529	GA	33% (408)	285	4.7 (4.0–5.8)	33% (408)	88	12.6 (11.2–16.1)	34% (285)	88	6.2 (3.8–8.2)
rs57221529	GG	5% (63)	48	4.6 (3.0–6.0)	5% (63)	16	9.3 (6.5–NA)	6% (48)	16	3.4 (0.7–NA)
rs4957048	GG	59% (723)	494	5.4 (4.8–6.2)	59% (723)	123	16.6 (14.1–NA)	58% (494)	123	7.9 (5.9–10.1)
rs4957048	GA	33% (401)	289	4.7 (3.8–5.5)	33% (401)	88	13.4 (11.2–16.1)	34% (289)	88	6.9 (3.8–8.1)
rs4957048	AA	4% (52)	38	4.4 (2.3–8.8)	4% (52)	16	9.3 (3.5–NA)	4% (38)	16	1.5 (0.5–NA)
<b>TMC6</b>										
rs34712318*	CC	84% (1040)	727	5.1 (4.4–5.6)	84% (1040)	201	14.2 (12.6–16.6)	86% (727)	201	7.1 (5.7–8.5)
rs34712318*	TC and TT	11% (135)	94	4.4 (3.4–6.6)	11% (135)	26	NA	11% (94)	26	5.3 (2.9–NA)
rs2748427	AA	57% (704)	478	5.2 (4.4–5.7)	57% (704)	138	14.7 (12.2–NA)	56% (478)	138	6.4 (4.6–8.6)
rs2748427	GA	33% (403)	294	4.7 (4.0–5.6)	33% (403)	79	14.1 (12.1–NA)	35% (294)	79	7.9 (5.7–8.8)
rs2748427	GG	6% (68)	48	5.6 (3.5–10.3)	6% (68)	12	NA	6% (48)	12	7.7 (3.2–NA)
rs12449858*	GG	79% (973)	688	4.8 (4.3–5.5)	79% (973)	198	14 (12.2–16.2)	81% (688)	198	6.6 (5.3–8.1)
rs12449858*	GA and AA	16% (202)	133	5.6 (4.9–7.5)	16% (202)	29	NA	16% (133)	29	11.1 (4.8–NA)
<b>SLC6A14</b>										
rs3788766	AA	39% (474)	342	5.2 (4.3–5.7)	39% (474)	98	14.7 (12.4–NA)	40% (342)	98	7.1 (5.2–8.6)
rs3788766	GA	18% (227)	172	4.9 (4.1–6.0)	18% (227)	54	14.0 (10.1–NA)	20% (172)	54	5.3 (3.2–11.1)
rs3788766	GG	23% (284)	212	4.7 (3.8–6.0)	23% (284)	59	14.1 (11.1–NA)	25% (212)	59	7.9 (5.7–10.2)
<b>DCTN4</b>										
rs11934652*	GG	71% (868)	634	5.3 (4.4–5.7)	71% (868)	183	14.3 (12.6–16.6)	75% (634)	183	6.9 (5.3–8.4)
rs11934652*	GC and CC	10% (124)	94	4.4 (3.3–5.4)	10% (124)	29	10.7 (9.2–NA)	11% (94)	29	7.8 (2–11.1)
rs35772018*	TT	92% (1133133)	784	5.3 (4.7–5.7)	92% (1133133)	212	14.7 (13.7–16.7)	93% (784)	212	7.4 (5.9–8.7)
rs35772018*	TC and CC	4% (47)	39	3.7 (3.1–5.1)	4% (47)	15	8.8 (5.8–NA)	5% (39)	15	1.9 (1.5–NA)
<b>MBL2</b>										
rs5030737*	GG	69% (846)	623	4.8 (4.1–5.4)	69% (846)	182	14.0 (12.1–16.4)	74% (623)	182	7.1 (5.5–8.4)
rs5030737*	GA and AA	11% (140)	99	6.3 (5.3–8.7)	11% (140)	30	14.7 (10.4–NA)	12% (99)	30	5.3 (2.7–9.4)
rs7096206	CC	60% (739)	528	4.4 (3.9–5.4)	60% (739)	147	14.7 (12.1–NA)	62% (528)	147	6.3 (4.9–8.5)
rs7096206	GC	31% (384)	253	5.7 (5.2–7.0)	31% (384)	69	16.6 (13.2–NA)	30% (253)	69	7.1 (4.8–10.0)
rs7096206	GG	4% (54)	40	5.1 (2.5–6.4)	4% (54)	11	16.7 (8.9–NA)	5% (40)	11	8.7 (1.7–NA)
rs11003125	GG	39% (481)	338	4.9 (4.1–6.0)	39% (481)	95	14.1 (12.2–NA)	40% (338)	95	7.1 (5.3–10.2)
rs11003125	GC	44% (542)	378	4.7 (4.0–5.4)	44% (542)	105	14.7 (11.8–NA)	45% (378)	105	6.9 (4.8–8.4)
rs11003125	CC	13% (156)	107	6.0 (4.9–8.3)	13% (156)	28	16.1 (12.4–NA)	13% (107)	28	7.4 (4.3–NA)
<b>TNF</b>										
rs1800629	GG	60% (743)	545	5.1 (4.3–5.6)	60% (743)	161	13.8 (12.1–NA)	64% (545)	161	7.1 (5.3–8.2)
rs1800629	GA	17% (215)	163	4.6 (3.7–5.7)	17% (215)	47	14.2 (10.2–NA)	19% (163)	47	6.6 (4.5–10.2)
rs1800629	AA	2% (26)	14	9.3 (3.7–NA)	2% (26)	2	NA	2% (14)	2	NA
rs361325*	GG	87% (1073073)	745	5.3 (4.7–5.7)	87% (1073)	200	14.7 (13.8–NA)	88% (745)	200	7.5 (5.7–8.7)
rs361325*	GA and AA	9% (109)	80	2.9 (1.9–4.4)	9% (109)	29	10.5 (7.3–NA)	9% (80)	29	4.9 (1.7–10.5)

\* Dominant model

Table S3. Description of the modifier gene variants

Variants	Position <sup>‡</sup>	Allele				
		m*	M*	MAF** EUR	MAF** Cohort	Hardy-Weinberg equilibrium***
<b>CAV2</b>						
rs8940	7:116506020506020	G	C <sup>(a)</sup>	0.16	0.30	0.0454
<b>SLC9A3</b>						
rs57221529	5:586509509	G	A <sup>(a)</sup>	0.21	0.23	0.7397
rs4957048	5:583327327	A	G <sup>(a)</sup>	0.20	0.21	0.7952
<b>TMC6</b>						
rs34712518	17:78124950	T	C	0.06	0.06	0.6006
rs2748427	17:78125783	G	A	0.21	0.23	0.3218
rs12449858	17:78125237	A	G	0.09	0.09	0.3802
<b>SLC6A14</b>						
rs3788766	X:116435671435671	G <sup>(a)</sup>	A	0.36	0.40	<0.0001
<b>DCTN4</b>						
rs11954652	5:150718321718321	C <sup>(a)</sup>	G	0.06	0.07	0.3057
rs35772018	5:150730677730677	C	T <sup>(a)</sup>	0.02	0.02	0.0865
<b>MBL2</b>						
rs5030737	10:52771482	A	G <sup>(a)</sup>	0.06	0.07	0.8144
rs7096206	10:52771925	G	C <sup>(a)</sup>	0.22	0.21	0.6593
rs11003125	10:52772254	C	G <sup>(a)</sup>	0.39	0.36	0.8503
<b>TNF</b>						
rs1800629	6:31575254	A	G <sup>(a)</sup>	0.13	0.14	0.0402
rs361525	6:31575324	A	G <sup>(a)</sup>	0.06	0.05	0.7434

\*m(inor), M(major),<sup>(a)</sup> Ancestral; \*\* Minor allele frequency; \*\*\*Hardy-Weinberg equilibrium P-value; <sup>‡</sup>physical position according to Ensembl GRCh38 ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org))

Table S4. Results of the sensitivity analysis comparing age at *P. aeruginosa* infection according to the censoring method

	Analysis with interval-censoring			Analysis without interval-censoring		
	Number of patients at risk	Number of events	Age of events* Years (95% CI)	Number of patients at risk	Number of events	Age of events* Years (95% CI)
<i>Pa</i> -IA <sup>†</sup>	1231	847	5.1 (3.8–6.2)	1193	809	5.4 (4.1–6.6)
<i>Pa</i> -CC <sup>‡</sup>	1231	234	14.7 (12.1–NA)	1217	220	15.4 (12.4–NA)
Duration from <i>Pa</i> -IA to <i>Pa</i> -CC <sup>‡</sup>	847	234	6.9 (4.5–9.1)	833	220	7.4 (4.8–10.1)

\*Compute by the Kaplan–Meier method, <sup>†</sup>median age, <sup>‡</sup>quartile age

Abbreviations: *Pa*-IA: *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition; *Pa*-CC: *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation

#### 4 Supplementary figures

Figure S1. Cumulative incidence of *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation according to birth cohorts ( $\leq 2003$  red and  $\geq 2004$  grey) in 1,231 young patients with cystic fibrosis born after 2000

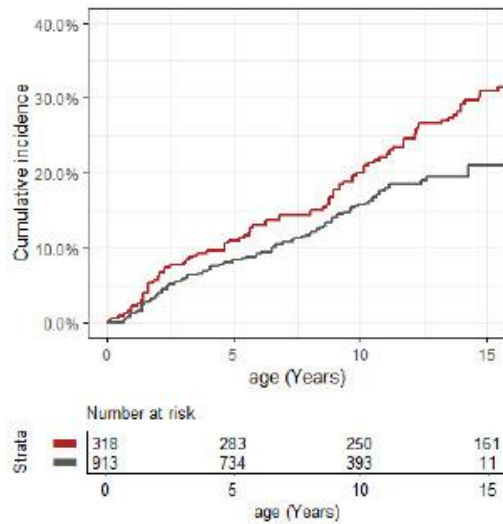


Figure S2. Cumulative incidences of *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition (A) and chronic colonisation (B) by *DCTN4* rs35772018 genotypes (TC and CC in red, TT in blue) according to age

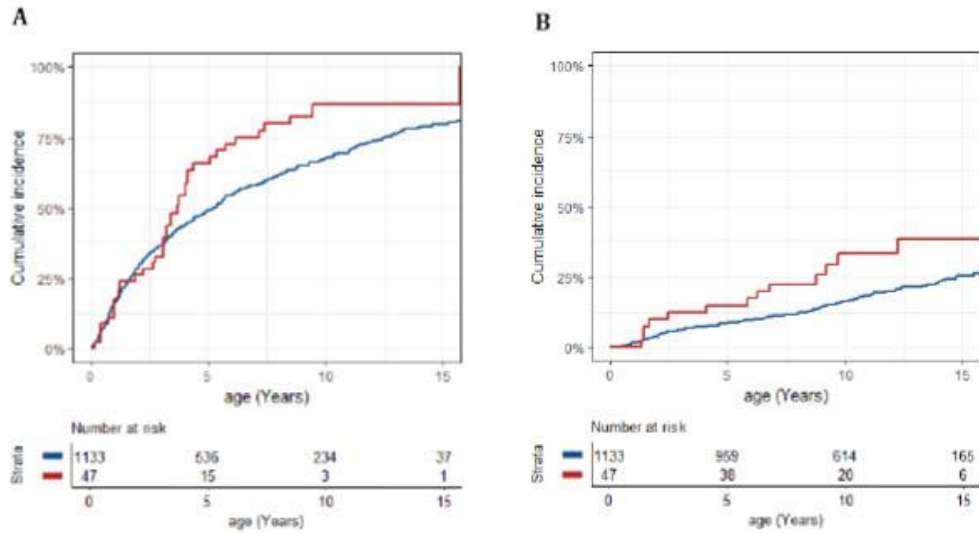
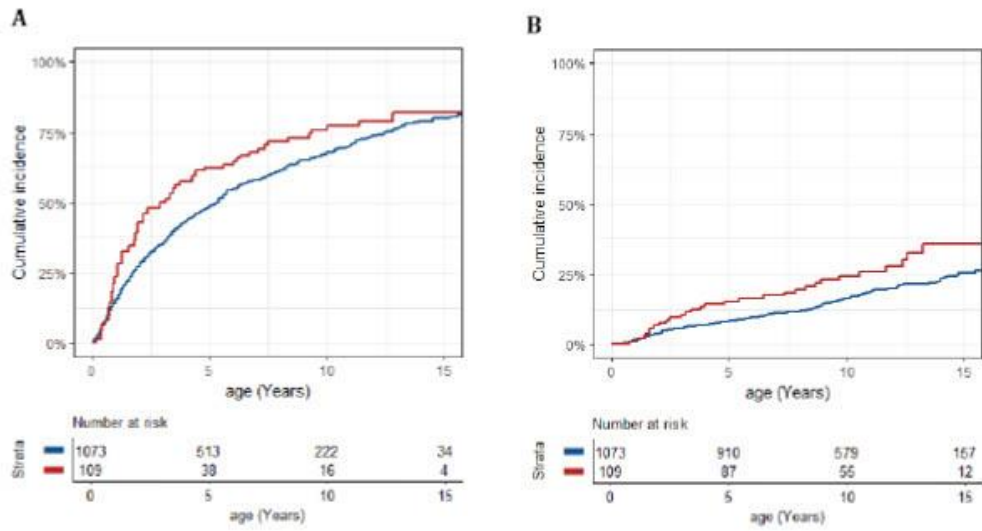


Figure S3. Cumulative incidences of *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition (A) and chronic colonisation (B) by *TNF* rs361525 genotypes (GA and AA in red, GG in blue) according to age



**Figure S4. Cumulative incidences of *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation by *SLC9A3* rs57221529 genotypes (GG in blue, GA in red, and AA in green), according to (A) age; and (B) duration after *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition**

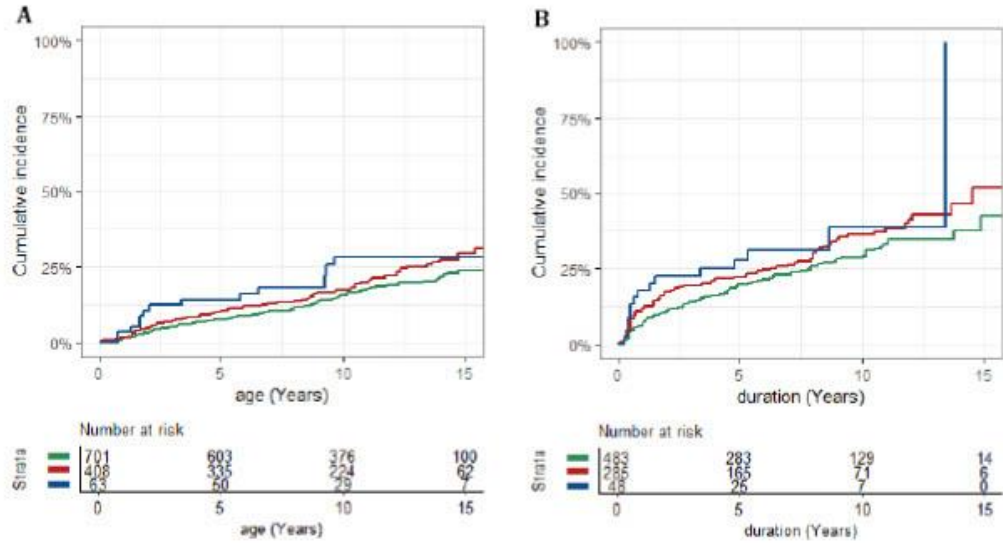
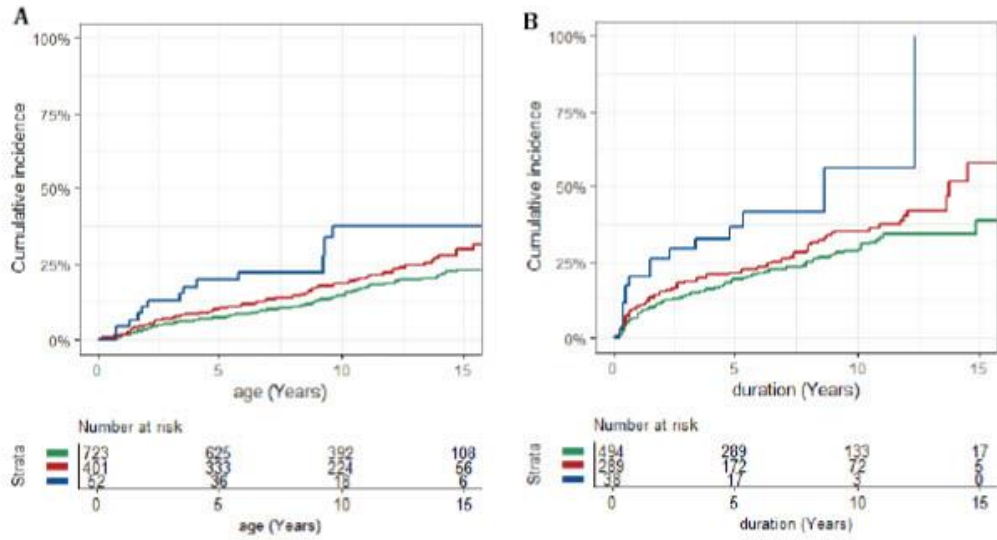
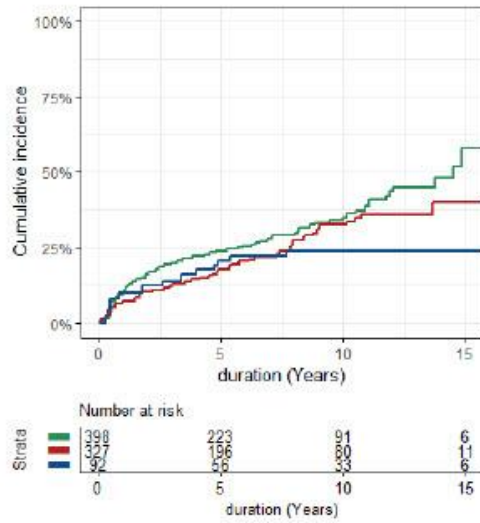


Figure S5. Cumulative incidence of *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation by *SLC9A3* rs4957048 genotypes (AA in blue, GA in red, and GG in green) according to (A) age; (B) duration after *Pseudomonas aeruginosa* initial acquisition



**Figure S6. Cumulative incidence of *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation by *CAV2* rs8940 genotype (GG in blue, GC in red, and CC in green) according to duration after initial acquisition**



## REFERENCES

1. Shteinberg M, Haq IJ, Polineni D, Davies JC. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2021;397(10290):2195-211.
2. HAS. Mucoviscidose: Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Guide - Affection de longue durée. 2017.
3. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros*. 2011;10 Suppl 2:S29-36.
4. Boelle PY, Debray D, Guillot L, Clement A, Corvol H, French CFMGSI. Cystic Fibrosis Liver Disease: Outcomes and Risk Factors in a Large Cohort of French Patients. *Hepatology*. 2019;69(4):1648-56.

## VII. Annexe VII : Âges de survenue des co-infections bactériennes et fongiques

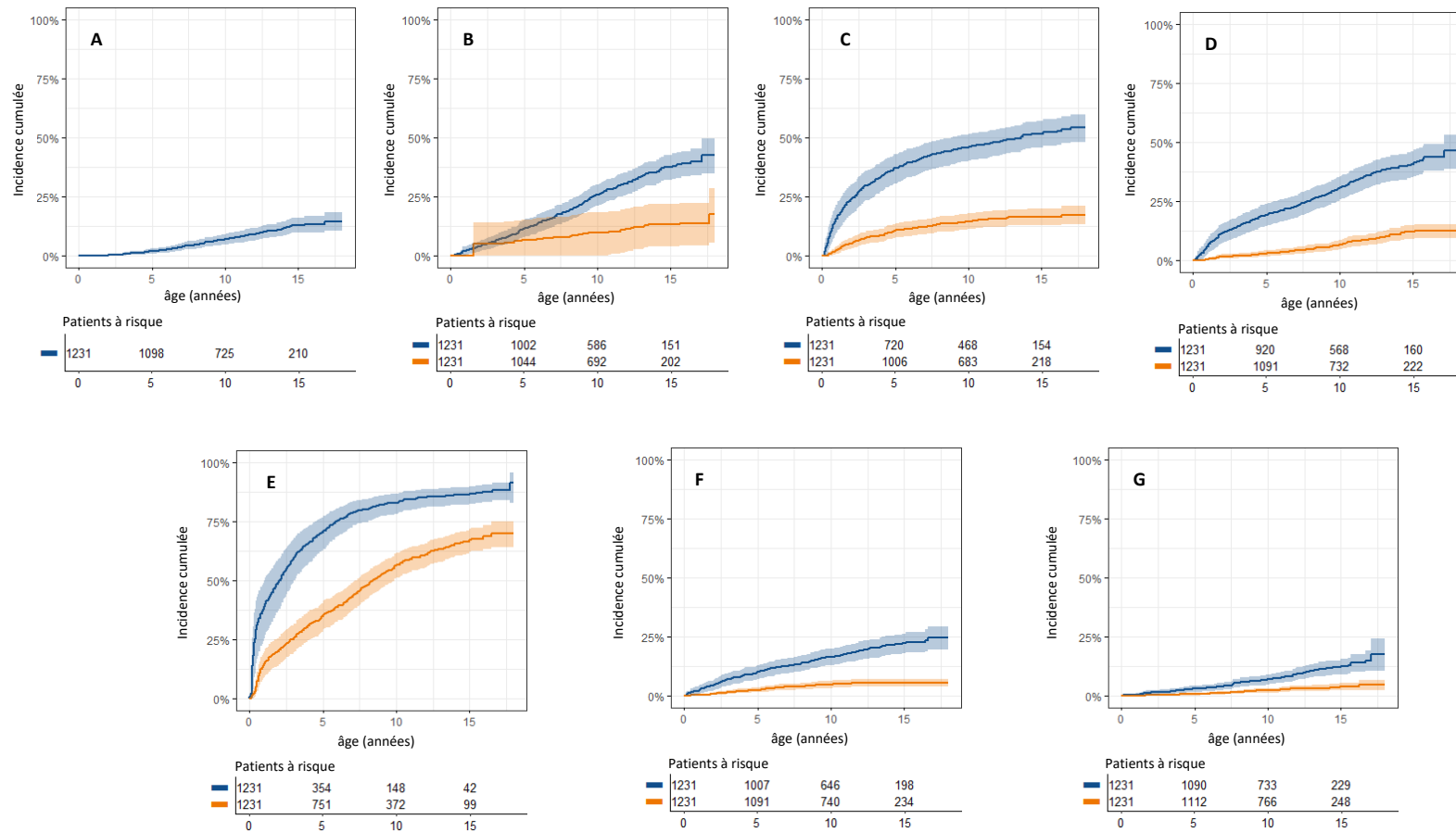
**Estimations des âges de survenue des primo-infection et colonisation chroniques aux infections bactériennes à *Staphylocoque aureus* sensible ou résistant à la méticilline, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* et *Haemophilus influenzae*, à l'infection fongique à *Aspergillus*. Estimation de l'âge de survenue d'une aspergillose broncho-pulmonaire allergique.**

Le tableau *ci-dessous* présente les estimations des âges de survenue de la primo-infection et de la colonisation chronique des co-infections. Par exemple, parmi les 1231 enfants CF analysés dans la partie 1 de la thèse, 709 enfants ont eu une colonisation chronique à *Staphylocoque aureus méticilline résistant* et l'âge médian de survenue était de 8,4 ans (IC 95% : 7,2-9,8). De même, 108 enfants ont eu une primo-infection à *Alcaligenes xylosoxidans* et 10 % l'ont eu à l'âge de 12,6 ans (IC 95% : 10,9-16,7).

**Tableau 16** | Estimation des âges de survenue de primo-infection et de colonisation chronique des co-infections bactériennes, fongiques et de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique, chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose. Estimation par la méthode de Kaplan-Meier adaptée aux données censures par intervalle.

	Nombre d'évènements N (%)	Âge à l'évènement en années (IC 95 %)	
		Quantile de l'âge	Âge
<b>Aspergillose broncho-pulmonaire allergique</b>	102 (8,3 %)	10%	12,6 (10,6 ; 16,8)
<b><i>Aspergillus</i></b>			
Primo-infection	342 (27,8 %)	25%	9,7 (8,7 ; 11,6)
Colonisation chronique	128 (10,4 %)	10%	11,0 (1,6 ; ∞)
<b><i>Haemophilus influenzae</i></b>			
Primo-infection	577 (46,9 %)	50%	13,6 (8,9 ; ∞)
Colonisation chronique	177 (14,4 %)	10%	4,7 (3,0 ; 7,9)
<b><i>Stenotrophomonas maltophilia</i></b>			
Primo-infection	412 (33,5 %)	25%	7,9 (5,8 ; 9,9)
Colonisation chronique	99 (8 %)	10%	13,1 (10,8 ; ∞)
<b><i>Staphylocoque aureus sensible à la méticilline</i></b>			
Primo-infection	1024 (83,2 %)	50%	2,1 (1,0 ; 3,1)
Colonisation chronique	709 (57,6 %)	50%	8,4 (7,2 ; 9,8)
<b><i>Staphylocoque aureus méticilline résistant</i></b>			
Primo-infection	215 (17,5 %)	15%	8,9 (6,2 ; 11,9)
Colonisation chronique	57 (4,6 %)	5%	10,3 (7,2 ; ∞)
<b><i>Alcaligenes xylosoxidans</i></b>			
Primo-infection	108 (8,8 %)	10%	12,6 (10,9 ; 16,7)
Colonisation chronique	32 (2,6 %)	1%	6,5 (4,0 ; 9,1)

## VIII. Annexe VIII : Incidences cumulées des co-infections bactériennes et fongiques



**Figure 36** | Incidence cumulée de la primo-infection (bleu) et de la colonisation chronique (orange) selon l'âge, chez 1231 enfants atteints de mucoviscidose, avec IC 95 %. (A) APBA, (B) *Aspergillus Fumigatus*, (C) *Haemophilus influenzae*, (D) *Stenotrophomonas maltophilia*, (E) *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline, (F) *Staphylococcus aureus* méticilline résistant, (G) *Alcaligenes xylosoxidans*.

## IX. Annexe IX : Méthodologie et modélisation du modèle de régression mixte joint

Nous avons utilisé un modèle basé sur la modélisation conjointe telle que décrite par Schluchter *et al.* (Schluchter et al. 2002). Il s'agit d'un modèle à effets aléatoires à deux niveaux ; où le premier niveau décrit la distribution conditionnelle des mesures longitudinales du VEMSpp ( $y_i$ ), étant donné les effets aléatoires de régression spécifiques au sujet ( $b_i$ ) correspondant à l'intercept ( $b_{i0}$ ) et la pente de VEMSpp ( $b_{i1}$ ), avant le moment de survenue de l'événement avec  $b_i = (b_{i0}, b_{i1})'$ . La variation du VEMSpp selon l'âge s'écrit comme suit :

$$y_i = Z_i b_i + e_i$$

où pour  $i = 1, \dots, n$ ,  $Z_i$  est une matrice  $n_i \times 2$  matrix, dont la première colonne est constituée de 1 et la seconde contient les âges aux mesures du VEMSpp ( $a_i$ ).

Le deuxième niveau suppose une distribution normale multivariée conjointe pour ( $b_i$ ) et le temps log-transformé avant l'événement ( $T_i^0 = \log(t_i)$ ). Le modèle est estimé à l'aide d'un algorithme de maximisation de l'espérance tel que décrit dans Schluchter *et al.* (Schluchter et al. 2002).

Dans l'approche originale de Schluchter, le modèle ne tient compte que des mesures du VEMSpp avant l'événement d'intérêt, par exemple la Pa-IA. Nous avons étendu l'approche pour tenir compte des mesures de VEMSpp après l'infection par *P. aeruginosa*. Nous avons ajouté un paramètre de niveau individuel  $b_{i2}$ , correspondant à la pente supplémentaire après l'événement avec  $b_i = (b_{i0}, b_{i1}, b_{i2})'$ , la matrice  $Z_i$  incluait donc une colonne supplémentaire contenant les différences positives entre l'âge et le moment de survenue de l'événement. En suivant la méthode de Schluchter, les log-vraisemblances maximales restent inchangées, tant dans le cas d'un patient infecté (lorsque  $t_i < a_{i_{max}}$ ), que dans le cas d'un patient non(infecté (lorsque  $t_i \leq a_{i_{min}}$ ). Pour prendre en compte les enfants qui avaient déjà été primo-infectés ou colonisés chroniques avant la première mesure de VEMSpp (lorsque  $t_i \leq a_{i_{min}}$ ), nous avons modélisé la contribution à la log-vraisemblance de la façon suivante :

$$LL_i = P(y_i) + \log \left( 1 - \Phi \left( \frac{t_i - E(T_i^0 | y_i)}{\sqrt{\text{var}(T_i^0 | y_i)}} \right) \right)$$

Où  $y_i$  était la mesure du VEMSpp avec la moyenne  $E(y_i) = Z_i \times \beta$  et la matrice de covariance  $cov(y_i) = Z_i \times \Sigma_i \times Z_i' + \sigma_e^2 \times I$  ( $\sigma_e^2$  était la variance résiduelle et  $\Sigma_i$  la matrice de variance-covariance de l'intercept, des pentes et de l'âge à l'infection) et  $\Phi$  était la fonction de densité cumulative de la distribution normale. Le modèle utilisait la distribution conditionnelle normalement distribuée  $T_i^0$ ,

- de moyenne :  $E(T_i^0 | y_i) = \mu_t + (\sigma_{bt}' \times Z_i' \times (cov(y_i))^{-1}) \times (y_i - E(y_i))$  et,
- de variance  $var(T_i^0 | y_i) = \sigma_t^2 - (\sigma_{bt}' \times Z_i' \times (cov(y_i))^{-1}) \times (Z_i' \times \sigma_{bt})$ ,

avec  $\mu_t$  moyenne de  $T_i^0$ ,  $\sigma_{bt}$  la matrice de covariance de  $T_i^0$  estimée avec  $b_i$  et  $\sigma_t^2$  la variance de  $T_i^0$ .

La probabilité  $P(y_i)$ , selon la distribution normale standard, des mesures de VEMSpp chez  $i^{\text{ème}}$  sujet avec  $n_{y_i}$  nombre de mesures était la suivante :

$$P(y_i) = -0.5 \left( n_{y_i} \times \ln(2\pi) + \log(\det(var(y_i))) + (y_i - E(y_i))' \times (cov(y_i))^{-1} \times (y_i - E(y_i)) \right),$$

Les intervalles de confiance des paramètres du modèle ont été calculés en utilisant une méthode de *bootstrap*, où les données ont été bootstrappées au niveau individuel du patient.

Tous les enfants ayant une valeur de VEMSpp après l'âge de 5 ans ont été inclus dans l'analyse du déclin avant et après la *Pa-IA* ; si ces enfants ont également eu une *Pa-CC* pendant le suivi, seules les données longitudinales avant cet événement ont été prises en compte. Pour l'analyse du déclin du VEMSpp avant et après la *Pa-CC*, seuls les patients présentant une *Pa-IA* ont été analysés et seules les mesures du VEMSpp après la *Pa-IA* ont été prises en compte. En cas de *Pa-IA* ou de *Pa-CC* au cours de la première année de vie, le délai avant l'événement a été arrondi à 1 an.

## X. Annexe X : Article en cours de soumission

L'article rédigé ci-dessous et intitulé « *Factors predisposing the response to lumacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis* » sera soumis en décembre 2021 pour publication dans l'édition spéciale « *Cystic Fibrosis: Diagnosis, Treatment, and Related Disorders* » du *Journal of Personalized Medicine*.

### FACTORS PREDISPOSING THE RESPONSE TO LUMACAFITOR/IVACAFITOR IN PEOPLE WITH CYSTIC FIBROSIS

Julie Mésinèle<sup>1,2</sup>, Manon Ruffin<sup>1</sup>, Loïc Guillot<sup>1</sup>, Pierre-Yves Boëlle<sup>2\*</sup>, Harriet Corvol<sup>1,3\*</sup>, on behalf of the French CF Modifier Gene Study Investigators

\*equally contributed

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Inserm UMR S\_938, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), Paris, France;

<sup>2</sup>Sorbonne Université, Inserm, Institut Pierre Louis d'épidémiologie et de Santé Publique, IPLESP, APHP, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France;

<sup>3</sup>AP-HP, Hôpital Trousseau, Service de Pneumologie Pédiatrique, Paris, France.

#### Correspondence:

Harriet Corvol, AP-HP, Hôpital Trousseau, Pediatric Pulmonary Department

26 Avenue du Docteur Arnold Netter, 75012 Paris, France

Tel: (33) 1 44 73 66 18, Fax: (33) 1 44 73 67 18, email: harriet.corvol@aphp.fr

**Keywords:** CFTR modulator therapy, long term effect, lung function, nutritional status, modifiers genes, Solute carrier family genes, cystic fibrosis

**Highlights:**

- Lumacaftor/ivacaftor improves lung function and nutritional status over 2 years of treatment.
- Women show high change in nutritional status under lumacaftor/ivacaftor.
- *SLC26A9* genotype does not correlate with lumacaftor/ivacaftor lung response.
- Nutritional response to lumacaftor/ivacaftor is associated with *SLC6A14* rs12839137 variant.

## ABSTRACT

Lumacaftor/ivacaftor (LUMA-IVA) therapy is prescribed to people with cystic fibrosis (pwCF) homozygous for the *Phe508del-CFTR* variant to restore CFTR protein function. There is however large inter-individual variability in treatment response. Here, we seek to identify clinical and/or genetic factors that may modulate the response to this CFTR modulator therapy. 765 pwCF older than 12 years under LUMA-IVA and with lung function and nutritional measurements available before and after treatment initiation were included. Response to treatment was determined by the change in lung function and nutritional status, from baseline and over the two first-year after initiation; and assessed by weighted generalized estimating equation models. Gains in lung function and nutritional status were observed after 6 months of treatment (on average  $2.11 \pm 7.81$  % for percent predicted FEV<sub>1</sub> and  $0.44 \pm 0.77$  kg/m<sup>2</sup> for BMI) and sustained over the 2 years. We observed that the more severe patients gained the most in lung function and nutritional status with LUMA-IVA. While females started with a nutritional status more impaired than males, they had larger response and regained BMI Z-score values similar to men after 2 years of treatment. We observed no association between *SLC* variants and pulmonary function response to LUMA-IVA, but *SLC6A14* rs12839137 variant was associated with nutritional response. Only *SLC6A14* rs12839137 variant was associated with the nutritional response. Further investigations, including other genomic regions, will be needed to explore the inter-individual variability of the response to LUMA-IVA.

## 1 Introduction

Cystic fibrosis (CF) is a rare, autosomal recessive, life-shortening genetic disease that affects more than 90,000 people worldwide (1). It is caused by mutations in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), a chloride channel expressed in epithelial cells throughout the body. Treatment of people with CF (pwCF) was until recently only symptomatic. In the last decade, considerable efforts have led to the development of therapies that target the CFTR protein named CFTR modulators. Since 2012, pwCF carrying some *CFTR* gating variants can be treated with ivacaftor, a potentiator therapy which increases the probability of CFTR-channel opening.

Following, lumacaftor, a CFTR corrector that improves the processing and trafficking of the *Phe508del*-CFTR protein, was combined with ivacaftor to treat pwCF homozygous for the *Phe508del*-CFTR variant. Phase 2 trial of this association lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA) demonstrated improvements of the lung function, measured by an increase of the percent-predicted forced expiratory volume in one second (ppFEV<sub>1</sub>), and of the nutritional status, evaluated by the body mass index (BMI) (2). Marketing authorizations were granted in 2015.

Since then, clinical benefits of LUMA-IVA have been questioned, particularly because of its high cost (3, 4). Besides, phase 3 trials and real-life studies over the first 2 years of treatment demonstrated highly heterogeneous response in lung function and nutritional status (5-11). These studies also highlighted the inter-individual variability of the airway response and the limited tolerance to treatment, with high discontinuation rates ranging from 17.2 % to 28.9 % (5, 7, 9). Predisposing factors for interruption and for the response variability were shown to be baseline lung function, age at treatment initiation and gender (5, 7-11).

In a previous study, we found that lung response variability to ivacaftor was associated with variants in the *Solute Carrier Family 26 Member 9 (SLC26A9)* gene in a cohort of French pwCF, confirming results observed in Canadians (12, 13). However, these results were controverted in North American pwCF (14). Nevertheless, this gene was also shown to be involved in lung function variability (13, 15) and to meconium ileus susceptibility in pwCF (16). Furthermore, other variants in the *SLC* gene family (*SLC6A14* and *SLC9A3*) have been shown to be involved with several CF phenotypes, suggesting a pleiotropic effect of this gene's family (15-18).

Here, we analysed the evolution of pwCF treated with LUMA-IVA and included in the "French CF Gene Modifier Study" to identify clinical and/or genetic factors that may modulate the response to this CFTR modulator therapy.

## 2 Materials and methods

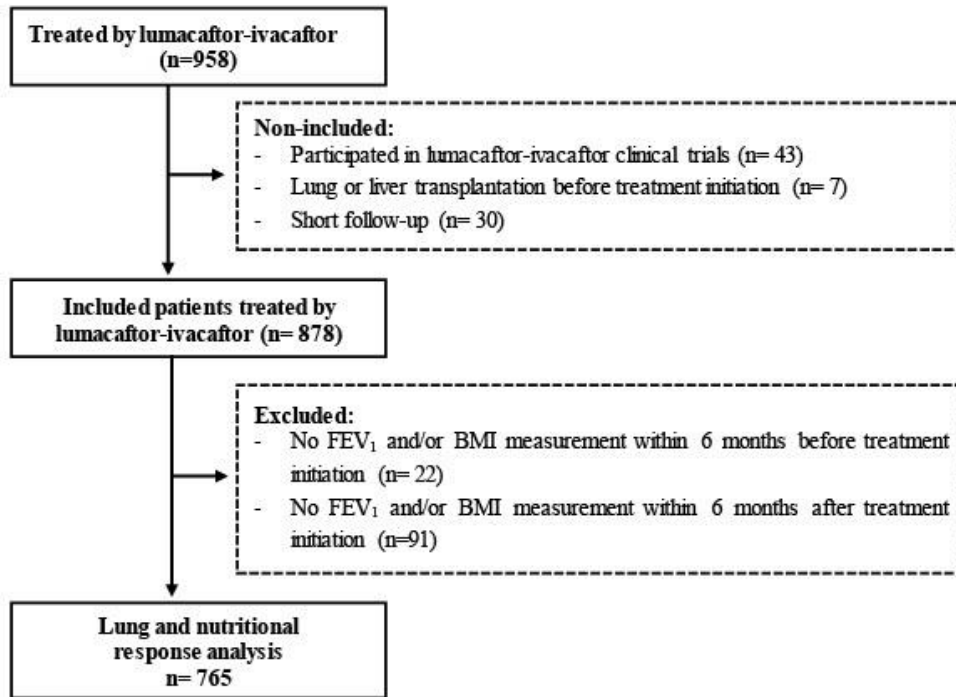
### 2.1 Study design and patients

The “French CF modifier gene study” is a nationwide observational study of pwCF in France with prospective data collection from participants. Here we aimed to evaluate the lung and nutritional response to LUMA-IVA over the first two years of treatment. As of 31 January 2021, 4,975 pwCF attending one of the 47 French CF centres were included in this national cohort (corresponding to ~70% of all French pwCF) (19). The study was approved by the French ethical committee (CPP n°2004/15), and the information collection was approved by the Commission Nationale de L'informatique et des Libertés (n°04.404). Informed consent in writing was obtained from each patient and/or guardian.

Since 2001, neonatal CF screening has been underway in France and specialized care for pwCF has been delivered in expert CF centres according to national recommendations (20, 21). Standardized longitudinal data have been prospectively collected for each pwCF, making the current analysis possible. Data collected in electronic or paper medical records over time in the participating CF centres were input in a national database.

All pwCF older than 12 years, homozygous for the *Phe508del-CFTR* mutation and treated by LUMA-IVA out of clinical trials were eligible for inclusion, provided they had at least 6 months follow-up after treatment initiation and had not received lung or liver transplant (n = 878) (Figure 1). We excluded pwCF without FEV<sub>1</sub> and/or BMI values at baseline (n = 22) and/or over the first 6 months after treatment initiation due to missing data (n = 42) or early treatment interruption (n = 49). Finally, 765 pwCF were included in the analyses (Figure 1).

Figure 1. Flowchart



FEV<sub>1</sub>: Forced expiratory volume in one second  
BMI: Body mass index

## 2.2 Lung and nutritional response to combined lumacaftor/ivacaftor therapy

According to CF care recommendations, lung function testing including spirometry and anthropometric measurements are performed at every visit in pwCF (21, 22). To assess the lung function, measurements of FEV<sub>1</sub> were expressed as percent-predicted values using the Global Lung Function Initiative equations (23) or transformed to the Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype (SaKnorm Z-value) (24, 25). SaKnorm is a quantitative phenotype that allows direct comparison of lung phenotypes between pwCF and accounts for differential survival. To evaluate the nutritional response, body mass index (BMI) measurements were Z-score transformed according to WHO Child Growth Standards (26). For each pwCF, SaKnorm Z-value and BMI Z-score baseline values were computed as the measurements average over the 6 months prior the initiation treatment.

We classified the baseline values according to terciles as follows: i) SaKnorm Z-values from -1.620 to 0.168 (1<sup>st</sup> tercile), from 0.169 to 0.791 (2<sup>nd</sup> tercile) and from 0.792 to 2.520 (3<sup>rd</sup> tercile) for lung response analysis, ii) BMI Z-score from -4.330 to -1.080 (1<sup>st</sup> tercile), from -1.079 to -0.307 (2<sup>nd</sup> tercile) and from -0.306 to 2.890 (3<sup>rd</sup> tercile) for nutritional response analysis.

Gender, age at treatment initiation, meconium ileus, CF-related diabetes (CFRD), CF-related liver disease (CFLD) and presence of *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation (*Pa*-CC) were analysed (see Supplementary Information for CFRD, CFLD and *Pa*-CC definitions).

## 2.3 Modifiers of response to combined lumacaftor/ivacaftor therapy

We analysed 9 single nucleotide polymorphisms (SNPs) located in or near *SLC* genes that had already been shown to be associated with lung response variability to ivacaftor (12, 13) and/or several CF phenotypes (15-18). Using Kompetitive Allele Specific PCR (LGC Group,

Teddington, United Kingdom), we genotyped 9 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the following genes: *SLC26A9* (rs7512462, rs1874361, rs4077468, rs4077469, rs7419153, rs12047830), *SLC9A3* (rs57221529) and *SLC6A14* (rs3788766 and rs12839137).

#### 2.4 Statistical analysis

Descriptive statistics were reported as mean  $\pm$  standard deviation (SD) or  $\pm$  standard deviation of mean (SDM) or percentages and 95% confidence intervals (95% CIs), as appropriate. The lung function and nutritional response over the 2 first years of LUMA-IVA were analysed by generalized estimating equation mixed models adapted to longitudinal data. Measurements of SaKnorm Z-value and BMI Z-score were averaged over successive 6-months periods, starting 6 months before treatment initiation (baseline value) and extending over the 2 years following treatment initiation. To account for missing data in patient's follow-up, we used generalized estimating equations with weights according to the probability of missingness (27, 28). The missingness model included 4 variables: time since treatment initiation, age at treatment initiation, change in lung function in the previous semester and the baseline lung function value. These criteria included factors associated with treatment discontinuation (7).

For the genetic association study, we applied additive SNP coding and reference alleles were determined as those with the highest frequency in the European population (<http://www.ensembl.org>). SNPs in the chromosome X (*SLC6A14* rs3788766 and rs12839137) were also additively coded (0 or 1 or 2 for women and 0 or 2 for men). Fisher's exact test was used to test conformance of the allele frequencies with the Hardy–Weinberg equilibrium.

All analyses were carried out using the R software (version 4.1.0, <http://www.R-project.org>) using the package “wgeesel”.

### 3 Results

#### 3.1 Study population

Demographics and baseline characteristics of the eligible pwCF on LUMA-IVA are summarized in **Table 1**. There are similar distributions across the analysed and excluded groups by gender, origin, clinical characteristics, lung disease and nutritional severity. Compared to analysed pwCF, excluded pwCF were older (P-value < 0.001). Among the 765 pwCF analysed, 15 % (111 pwCF) discontinued treatment.

**Table 1. Demographics and baseline (prior to combined lumacaftor/ivacaftor therapy) characteristics of the 878 eligible people with cystic fibrosis**

	Patients analysed n=765	Patients excluded n=113	P-value
Male, % (n)	56% (430)	46% (52)	0.042
Caucasian origin, % (n)	98% (745)	97% (110)	0.915
Age at treatment initiation (years), mean $\pm$ SD	22.2 $\pm$ 9.0	25.2 $\pm$ 9.4	<0.001
Age at treatment initiation (years), % (n)			
$\leq$ 20	50% (383)	32% (36)	0.001
20-30	28% (217)	38% (43)	
>30	22% (165)	30% (34)	
Presence of meconium ileus % (n)	17% (118)	25% (27)	0.025
Presence of CFRD*, % (n)	26% (195)	31% (33)	0.256
Presence of CFLD*, % (n)	36% (275)	46% (51)	0.052
Presence of Pa-CC*, % (n)	39% (295)	44% (50)	0.248
Lung disease severity* (SaKnorm Z-value), mean $\pm$ SD	0.447 $\pm$ 0.702	0.457 $\pm$ 0.710	0.942
Nutritional severity* (BMI Z-score), mean $\pm$ SD	-0.677 $\pm$ 0.932	-0.807 $\pm$ 1.060	0.072

\*Before treatment initiation; \*Over the past 3 years before treatment initiation, forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) measurements were expressed as Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype (SaKnorm Z-value) (24, 25); \*Over the past 3 years before treatment initiation, body mass index (BMI) measurements were Z-score transformed according to WHO Child Growth Standards (26)

Abbreviations: CFRD: cystic fibrosis related diabetes, CFLD: cystic fibrosis liver disease, Pa-CC: *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation

#### 3.2 Overall changes in lung function and nutritional status with LUMA-IVA

Following the initiation of LUMA-IVA, the lung function and nutritional status improved with a SaKnorm Z-value gain of 0.106  $\pm$  0.015 (P-value <0.0001) and a BMI Z-score gain of

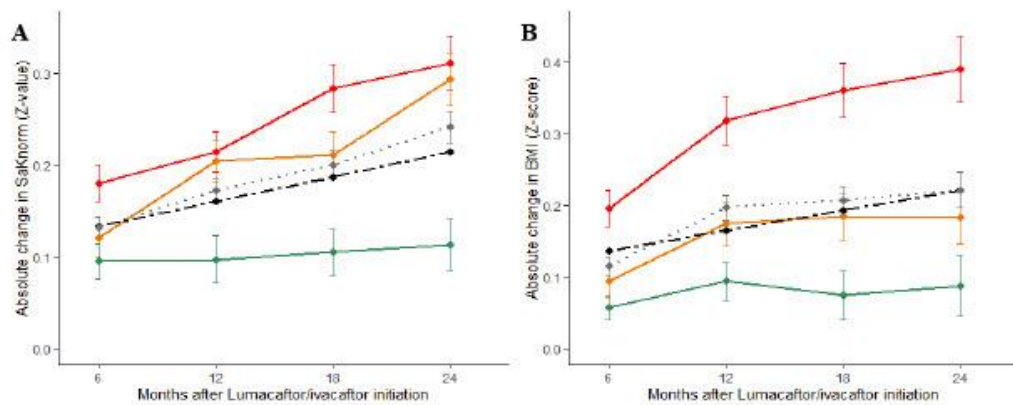
0.108 ± 0.017 (P-value <0.0001). Improvements were sustained over the 2 years of treatment with change slopes of 0.054 ± 0.010 (P-value <0.0001) for the lung function and of 0.057 ± 0.015 (P-value = 0.0001) for the nutritional response. In the first semester, the average absolute gains from baseline were 2.11 ± 0.14 % predicted for ppFEV<sub>1</sub> and 0.44 ± 0.01 kg/m<sup>2</sup> for BMI (Table S1).

Treatment response was similar according to age at initiation, presence of meconium ileus, CFRD, CFLD or *Pa*-CC status, but changed by pre-treatment values. As the severity of pwCF increased, so did the gains in lung function and nutritional status (Table 2 and Figure 2). At 6 months post-treatment, the pwCF in the baseline 1<sup>st</sup> tercile had an increased ppFEV<sub>1</sub> of 2.68 ± 0.25 % predicted and of 0.49 ± 0.02 kg/m<sup>2</sup> for BMI (Table S1).

**Table 2. Lung function and nutritional response of combined lumacaftor/ivacaftor therapy, according to clinical and demographic characteristics in 765 people with cystic fibrosis**

	Change in SaKnorm (Z-value)* ± SD	P-value	Change in BMI (Z-score)* ± SD	P-value
Female	-0.015 ± 0.023	0.5203	0.069 ± 0.034	0.0415
Age at initiation (Years)				
≤ 20	Reference	Reference	Reference	Reference
20-30	0.011 ± 0.026	0.6748	0.006 ± 0.037	0.8705
>30	-0.068 ± 0.023	0.0029	-0.048 ± 0.038	0.2047
Presence of meconium ileus	-0.019 ± 0.031	0.5401	0.010 ± 0.048	0.8407
Presence of CFRD*	-0.003 ± 0.023	0.9066	-0.011 ± 0.039	0.7698
Presence of CFLD*	-0.004 ± 0.024	0.8839	0.003 ± 0.036	0.9414
Presence of <i>Pa</i> -CC*	0.018 ± 0.023	0.4380	-0.022 ± 0.034	0.5116
Baseline				
3rd tercile	Reference	Reference	Reference	Reference
2nd tercile	0.105 ± 0.027	0.0001	0.080 ± 0.036	0.0273
1st tercile	0.145 ± 0.028	<0.0001	0.237 ± 0.040	<0.0001

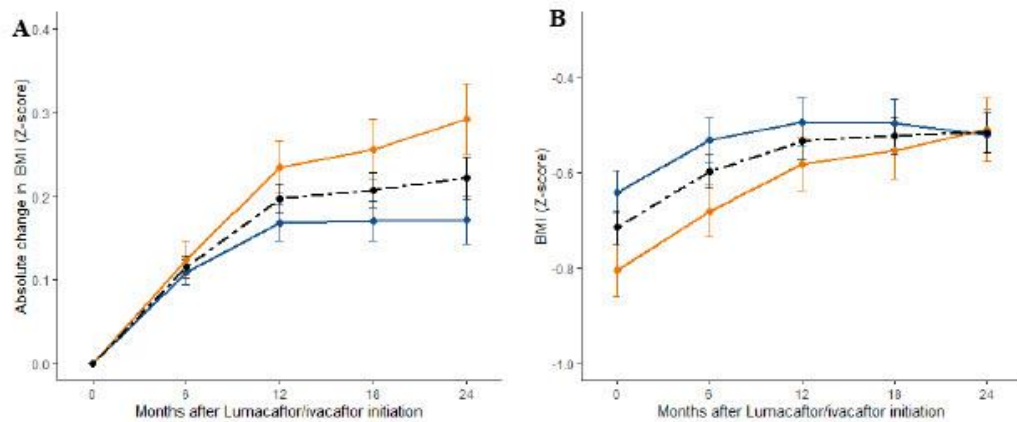
\*Forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) measurements were expressed as Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype (SaKnorm Z-value) (24, 25); \*Body mass index (BMI) measurements were Z-score transformed according to WHO Child Growth Standards (26); \*Before initiation of lumacaftor/ivacaftor combination therapy  
Abbreviations: CFRD: cystic fibrosis related diabetes, CFLD: cystic fibrosis liver disease, *Pa*-CC: *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation



**Figure 2. Change according to baseline tertiles following initiation of combined lumacaftor/ivacaftor therapy with 95% CIs in (A) Lung function (SaKnorm Z-value), and (B) Nutritional status (BMI Z-score), in 765 people with cystic fibrosis (pwCF).**

For lung response analysis, the baseline SaKnorm (Z-value) tertiles were: from -1.620 to 0.168 (1<sup>st</sup> tercile in red), from 0.169 to 0.791 (2<sup>nd</sup> tercile in orange) and from 0.792 to 2.520 (3<sup>rd</sup> tercile in green). For nutritional response analysis, the baseline BMI (Z-score) tertiles were: from -4.330 to -1.080 (1<sup>st</sup> tercile in red), from -1.079 to -0.307 (2<sup>nd</sup> tercile in orange) and from -0.306 to 2.890 (3<sup>rd</sup> tercile in green). The black dotted lines showed the model predicted change and the grey dotted lines the overall change in the 765 pwCF.

Gender was not associated with lung function response; but females had a higher nutritional response (P-value = 0.04) (Table 2 and Figure 3A). At initiation of LUMA-IVA, baseline nutritional status of women ( $-0.805 \pm 0.992$  of BMI Z-score) was more severe than men ( $-0.642 \pm 0.931$  of BMI Z-score). After 2 years of LUMA-IVA, both men and women had similar nutritional status ( $-0.511 \pm 0.931$  and  $-0.522 \pm 0.922$  for BMI Z-score for men and women respectively) (Figure 3B).



**Figure 3. Nutritional status (BMI Z-score) over 2 years following initiation of combined lumacaftor/ivacaftor therapy according to gender with 95% CIs, (A) Mean of absolute changes from baseline, (B) Mean of BMI Z-score, in 765 people with cystic fibrosis (pwCF). Men were in blue, women in orange and the dotted lines showed the overall change in the 765 pwCF.**

### 3.3 Genetic analysis

Genotype distributions and results of weighted generalised estimating equation mixed models are shown in Table 3. There was no evidence of association between lung function response to LUMA-IVA and variants of *SLC26A9*, *SLC9A3* or *SLC6A14* genes.

For *SLC26A9* rs7512462 variant and for each additional C-allele, the model estimated a decreased gain of SaKnorm Z-value of  $-0.006 (\pm 0.017)$  (P-value = 0.71) and of BMI Z-score of  $-0.023 (\pm 0.023)$  (P-value = 0.32) (Table 3 and Figure 2A). Over the 6 months post-treatment, the average ppFEV<sub>1</sub> absolute gains from baseline were  $1.95 \pm 0.25$  % predicted,  $2.13 \pm 0.20$  % predicted and  $2.40 \pm 0.32$  % predicted for TT, TC and CC genotypes respectively (Table S1).

We observed that only *SLC6A14* rs12839137 variant was associated with the nutritional response to LUMA-IVA (Table 3). In the first semester, the absolute BMI gains were  $0.38 \text{ kg/m}^2$

( $\pm 0.02$ ) and  $0.63 \text{ kg/m}^2$  ( $\pm 0.03$ ) for the homozygous genotypes GG and AA respectively and of  $0.47 \text{ kg/m}^2$  ( $\pm 0.04$ ) for the GA heterozygous genotypes (Table S1).

**Table 3. Lung function and nutritional response of combined lumacaftor/ivacaftor therapy, according to *SLC26A9*, *SLC9A3* and *SLC6A14* variants, in 765 people with cystic fibrosis**

	Position <sup>‡</sup>	Alleles*	MAF EUR	MAF Cohort	HWE**	Change in SaKnorm (Z-value)*± SD	P-value	Change in BMI (Z-score)* ± SD	P-value
<b><i>SLC26A9</i></b>									
rs1874361	1:205939058	A/C	0.48	0.46	0.419	-0.006 ± 0.017	0.7338	0.009 ± 0.022	0.6919
rs4077468	1:205945629	A/G	0.41	0.41	0.406	-0.011 ± 0.016	0.4976	-0.019 ± 0.023	0.4178
rs4077469	1:205945757	C/T	0.41	0.41	0.496	-0.013 ± 0.016	0.4177	-0.023 ± 0.023	0.3350
rs7419153	1:205948181	G/A	0.38	0.41	0.033	0.011 ± 0.017	0.4894	0.015 ± 0.024	0.5456
rs7512462	1:205930467	T/C	0.41	0.41	0.451	-0.006 ± 0.017	0.7102	-0.023 ± 0.023	0.3166
rs12047830	1:205947571	G/A	0.49	0.47	0.501	-0.011 ± 0.017	0.5290	-0.017 ± 0.024	0.4936
<b><i>SLC9A3</i></b>									
rs57221529	5:586509509	A/G	0.21	0.20	0.735	0.029 ± 0.019	0.1256	0.022 ± 0.029	0.4564
<b><i>SLC6A14</i></b>									
rs3788766	X:116435671435671	G/A	0.36	0.37	0.388	0.000 ± 0.014	0.9719	0.008 ± 0.019	0.6797
rs12839137	X:116434382	G/A	0.22	0.21	0.862	0.000 ± 0.017	0.9852	0.045 ± 0.020	0.0276

<sup>‡</sup>Physical position according to Ensembl GRCh38 ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)) ; \*Minor allele in European Population are in bold ; \*\*Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) P-values were computed by Fisher's exact test and among women for *SLC6A14* ; †Forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) measurements were expressed as Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype (SaKnorm Z-value) (24, 25) ; ‡Body mass index (BMI) measurements were Z-score transformed according to WHO Child Growth Standards (26)

Abbreviation: MAF: minor allele frequency

#### 4 Discussion

LUMA-IVA was the first promising targeted therapy available for management of pwCF homozygous for the *Phe508del-CFTR* variant, the most common CF genotype worldwide. Its use in real life has shown a heterogeneous and relatively modest improvement in lung function with limited tolerance. This study analysed clinical factors as well as *solute carrier* variants, located on *SLC26A9*, *SLC9A3* and *SLC6A14*, as predictors of lung function and nutritional response to LUMA-IVA.

At 6 months post treatment, we observed gains of lung function and nutritional status very close to findings of clinical trials that led to the marketing of the therapy (2). Improvement in lung function severity was sustained over the 2 first years of treatment. The positive slope ( $+0.054 \pm 0.010$  of SaKnorm Z-value by year) was reflected in a reduction of ppFEV<sub>1</sub> decline over the 2 years post-treatment (see Supplementary analysis), again observed in clinical trials(6). Among the 878 pwCF who started LUMA-IVA, 19.7 % (173 pwCF) interrupted the treatment, similarly to previous reported rate of discontinuation of 17.2% due to adverse effects (5).

Since 2016 in France, LUMA-IVA treatment can be prescribed to pwCF homozygous for the *Phe508del-CFTR* variant without baseline ppFEV<sub>1</sub> requirements. We observed that pre-treatment lung function and nutritional status were predictors of treatment response. Indeed, as the severity of pwCF decreased, so did the gain in lung function. Absolute mean change in ppFEV<sub>1</sub> after 6 months of treatment were +2.68% in the more severe patients (1<sup>st</sup> SaKnorm Z-value tercile), +1.89% and +1.77% for patients in the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> terciles of SaKnorm Z-value respectively. This pattern was observed in the efficacy analysis, in which improvement in ppFEV<sub>1</sub> after 6 months of treatment were +3.30% (95% CI: 0.20 to 6.40) in pwCF with baseline

ppFEV<sub>1</sub><40% and +2.80% (95% CI: 1.70 to 3.80) in pwCF with baseline ppFEV<sub>1</sub>≥40% (11). However, it was also reported that, after 6 months of LUMA-IVA, pwCF with baseline ppFEV<sub>1</sub><40% had a non-significant loss of lung function of -0.40% (-1.90 to 1.10) (8), while those with baseline ppFEV<sub>1</sub> ≥ 90% had unchanged lung function of 0.15% (10). The differences in lung function improvement in these reports and our findings may be due to airways' response assessment. We used ppFEV<sub>1</sub> transformed in SaKnorm Z-value to classify pwCF at baseline. This adjustment is an indicator of lung function severity and provide for the direct comparison of pwCF of various ages. We used this specific phenotype to account for age-dependent clinical variables (CFRD, CFLD and Pa-CC). In addition, it should be noted that previous studies included fewer than 50 pwCF, whereas the current study analysed 765 pwCF of the "French CF modifier gene study", which includes more than 85% of all French adult pwCF (29).

Apart from baseline lung function, no demographic or clinical factors were found to be associated with the respiratory response to treatment. Only gender was associated with the nutritional response, with a statistically significant greater change in BMI Z-score in women after LUMA-IVA initiation. This result is in part related to a difference in nutritional severity between men and women before treatment initiation. Indeed, we observed that women regained the same level of nutritional severity as men after 2 years of treatment. All studies agree that there is a significant gain in BMI, ranging from 0.21 to 0.96 kg/m<sup>2</sup>, irrespective of the LUMA-IVA dose, lung function severity or treatment duration (2, 6-8, 11). However, none of these studies showed differences in gender for the nutritional status response. So far, female gender was only associated with a higher discontinuation rate (5).

This study in a very large cohort of pwCF homozygous for the *Phe508del-CFTR* variant did not show any evidence of association between *SLC* genes' family and respiratory response to LUMA-IVA. *SLC26A9* gene was suggested to modulate the airway response to ivacaftor in

pwCF who harbour at least one of the targeted *CFTR* gating variant (12-14). Moreover, *ex-vivo* experiments with nasal epithelial cells from pwCF showed that *SLC26A9* rs7512462 variant was associated with *CFTR* function in response to LUMA-IVA (30). However, we observed no association of this variant with either the respiratory or the nutritional response to LUMA-IVA. Among the variants analyzed, only *SLC6A14* rs12839137 variant was associated with the nutritional response. Interestingly, two studies in Finnish and French showed that several *SLC6A14* variants were associated with obesity (31, 32). As the amino acid transporter *SLC6A14* could modulate tryptophan availability for serotonin synthesis, authors hypothesized that these variants might affect perception of hunger and satiety. Miranda *et al.* also showed that other *SLC6A14* variants were associated with food intake in children at 7-8 years of age (33). Finally, an *in vitro* study highlighted that the obesity-associated rs2011162 variant, located in the 3'UTR of the *SLC6A14* gene, reduces the expression of the transporter and that *Slc6a14*<sup>-/-</sup> mice develop obesity, fatty liver and metabolic syndrome when fed with high-fat diet (34). These findings support the hypothesis of the involvement of *SLC6A14* in the regulation of the nutritional status in pwCF.

#### *Limitations*

Our study has several limitations. First, missing information led to exclude pwCF from the analysis of FEV<sub>1</sub> and BMI change. According to French CF care recommendations, lung function and anthropometric measurements are measured every quarter in pwCF (21) ; and, following recommendations of the French CF Learning Society, each pwCF who initiates LUMA-IVA has systematic visits at treatment initiation and at 1, 3, 6, and 12 months after initiation (with clinical assessment and pulmonary function test) (9). Missing data could be due to the collection date from patients' paper and electronic medical records. However, we did not observe any clinical differences between included and excluded patients.

Secondly, we observed 15% of treatment interruption among the 765 pwCF analysed, of which 10% (n=12) could be attributed to lack of observed benefit by the patient and/or physician. It was also showed that risk of discontinuation increased with age and severity of lung function (7). However, to account for this selection bias and shorter follow-up times, we used weighted statistical models to estimate the probability of missing data; as a function of age at treatment initiation, change in lung function at the prior semester and the baseline lung function value.

### *Conclusions*

LUMA-IVA shows modest benefits in terms of lung function and nutritional status in pwCF. However, benefits in quality of life should not be overlooked, as well as the reduction of respiratory exacerbations, that have a major role in the CF management. We showed that variants located on *SLC* gene family (*SLC26A9*, *SLC9A3* and *SLC6A14*) were not predictors of the airway treatment response and further investigations, including other genomic regions, are needed to better explain inter-individual variability. Nevertheless, we observed that one variant of the *SLC6A14* gene was associated with the nutritional response, which will be important to further explore. With the development of the next-generation CFTR modulators such as the elexacaftor/ivacaftor/tezacaftor tritherapy, identifying genetic modifiers involved in the response to treatment is an opportunity to achieve predictive and personalised medicine in CF.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

### 5 Supplementary Information

#### 5.1 *Cystic fibrosis related diabetes (CFRD) definition*

CF French guidelines (21) recommend that people with CF (pwCF) aged 10 years and older be tested every year for CFRD with an oral glucose tolerance test (OGTT). CFRD is diagnosed with 2 h oral glucose tolerance test values of more than or equal to 11.1 mmol/L (200 mg/dL). Here, CFRD was defined as “*present*” when it occurred before age at initiation of the lumacaftor/ivacaftor (LUMA-IVA) therapy.

#### 5.2 *Cystic fibrosis related liver disease (CFLD) definition*

CFLD was defined as previously reported according to the European best-practice guidelines (29, 35):

- At least two of the following characteristics were present: 1) abnormal physical examination, including hepatomegaly and/or splenomegaly; 2) abnormalities in liver function tests defined as an increase in transaminase (alanine aminotransferase and/or aspartate aminotransferase) and/or gamma-glutamyl transpeptidase levels above the upper normal limits; or 3) ultrasonographic (US) evidence of liver involvement (heterogeneous echogenicity, irregular margins, or nodularity), portal hypertension (splenomegaly, increased thickness of the lesser omentum, spontaneous splenorenal anastomosis, large collateral veins, or ascites), or biliary abnormalities (bile duct dilatation).
- When patients had severe CFLD defined when at least one of the following characteristics were present: 1) cirrhosis diagnosed either by US, computed tomography, and/or

magnetic resonance imaging; 2) portal hypertension (splenomegaly, hypersplenism (platelets <150,000 10<sup>9</sup>/L and white blood cells <3000 10<sup>9</sup>/L); 3) spontaneous portosystemic shunts on US; or 4) oesophageal varices.

CFLD was defined as “*present*” when it occurred before age at initiation of the LUMA-IVA therapy.

### 5.3 *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonisation (*Pa-CC*) definition

Microbiological analyses of sputum samples were conducted quarterly in expert laboratories affiliated with CF centres in all pwCF, according to French CF care recommendations (21). Physicians determined the date of *Pa-CC* according to the standardised definition: at least three positive samples at least 1 month apart over a 6-month period (21). Age at *Pa-CC* was the age at the third isolation. Here, *Pa-CC* was defined as “*present*” when it occurred before age at initiation of the LUMA-IVA therapy.

## 6 Supplementary analysis : impact of LUMA-IVA on lung function decline

We used linear mixed model regression to compute the change in ppFEV<sub>1</sub> according to LUMA-IVA status. For each 765 pwCF included, all longitudinal ppFEV<sub>1</sub> data 3 years before and 2 years after LUMA-IVA initiation were included in the model. We described individual trajectories of ppFEV<sub>1</sub> by a segmented regression with changes in slope at the age at LUMA-IVA initiation and estimated the average change per year in the periods before and after LUMA-IVA initiation. More precisely, the model was:

$$ppFEV_1(a) = b_0 + b_1 \text{age} + b_2 (\text{age} - \text{age}_{LUMA-IVA})_+ + b_3 (\text{treatment}) + \epsilon;$$

Where  $b_1$  was the slope corresponding to the natural decline of ppFEV<sub>1</sub> with age,  $b_2$  was the additional slope after LUMA-IVA initiation,  $(\cdot)_+$  was the positive part function, *treatment* a binary variable (coded 0 if ppFEV<sub>1</sub> measurement was before and coded if 1 ppFEV<sub>1</sub> measurement was after LUMA-IVA initiation) and  $\epsilon$  was a normally distributed error. We used random intercepts and slopes to capture the heterogeneity in decline in ppFEV<sub>1</sub>.

Among the 765 pwCF, we observed the average annual rate of change in ppFEV<sub>1</sub> was -1.86 %/year (95% CI: -2.04 to -1.68) in pwCF before LUMA-IVA initiation (Table S2). The decrease was slower after LUMA-IVA initiation with an annual rate of change in ppFEV<sub>1</sub> of -0.81/year (95% CI: -1.22 to -0.40) (Table S2).

7 Supplementary table

**Table S1. Mean of lung and nutritional response to combined lumacaftor/ivacaftor therapy within 6 months following initiation, in 765 people with cystic fibrosis**

	Change in FEV <sub>1</sub> (% Pred)* mean ± SDM	Change in SaKnorm (Z-value)* mean ± SDM	Change in BMI mean ± SDM	Change in BMI (Z-score)* mean ± SDM
<b>Overall</b>	2.11 ± 0.14	0.13 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.12 ± 0.01
<b>Gender</b>				
Male	2.01 ± 0.18	0.13 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.11 ± 0.01
Female	2.24 ± 0.22	0.13 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.12 ± 0.01
<b>Baseline</b>				
1st tercile	2.68 ± 0.25	0.18 ± 0.01	0.49 ± 0.02	0.20 ± 0.01
2nd tercile	1.89 ± 0.26	0.12 ± 0.01	0.43 ± 0.03	0.09 ± 0.01
3rd tercile	1.77 ± 0.23	0.10 ± 0.01	0.40 ± 0.02	0.06 ± 0.01
<b>SLC26A9, rs7512462</b>				
TT	1.95 ± 0.25	0.12 ± 0.01	0.46 ± 0.02	0.13 ± 0.01
TC	2.13 ± 0.20	0.13 ± 0.01	0.42 ± 0.02	0.11 ± 0.01
CC	2.40 ± 0.32	0.16 ± 0.01	0.42 ± 0.03	0.10 ± 0.01
<b>SLC6A14, rs12839137</b>				
GG	1.86 ± 0.18	0.12 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.09 ± 0.01
GA	2.26 ± 0.35	0.13 ± 0.01	0.47 ± 0.04	0.13 ± 0.02
AA	2.66 ± 0.35	0.16 ± 0.01	0.63 ± 0.03	0.18 ± 0.01

\*Forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) measurements were expressed as percent-predicted values (ppFEV<sub>1</sub>) using the Global Lung Function Initiative equations (23); \*Forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) measurements were expressed as Kulich Normalized Mortality Adjusted CF-specific lung phenotype (SaKnorm Z-value) (24, 25), \*Body mass index (BMI) measurements were Z-score transformed according to WHO Child Growth Standards (26).

Abbreviation: SDM: standard deviation of mean.

**Table S2. Lung function decline in people with cystic fibrosis according to lumacaftor/ivacaftor status**

Parameter	Estimate (95% CI)	P-value**
ppFEV <sub>1</sub> * change rate before LUMA-IVA initiation (%/year)	-1.86 (-2.04; -1.68)	<0.0001
Additional change rate after LUMA-IVA initiation (%/year)	1.06 (0.60; 1.51)	<0.0001

\*Forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) measurements were expressed as percent-predicted values (ppFEV<sub>1</sub>) using the Global Lung Function Initiative equations (23), allowing adjustment of the model on age, sex, and height; \*\*For comparison to 0.

*Abbreviation:* LUMA-IVA: lumacaftor/ivacaftor therapy

## REFERENCES

1. Bell SC, Mall MA, Gutierrez H, Macek M, Madge S, Davies JC, et al. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med*. 2020;8(1):65-124.
2. Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, Marigowda G, Huang X, Cipolli M, et al. Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med*. 2015.
3. Jones AM, Barry PJ. Lumacaftor/ivacaftor for patients homozygous for Phe508del-CFTR: should we curb our enthusiasm? *Thorax*. 2015;70(7):615-6.
4. Elborn JS, Ramsey B, Wainwright C, Boyle M. Response to: 'Lumacaftor/ivacaftor for patients homozygous for Phe508del-CFTR: should we curb our enthusiasm?' by Jones and Barry. *Thorax*. 2016;71(2):185-6.
5. Jennings MT, Dezube R, Paranjape S, West NE, Hong G, Braun A, et al. An Observational Study of Outcomes and Tolerances in Patients with Cystic Fibrosis Initiated on Lumacaftor/Ivacaftor. *Ann Am Thorac Soc*. 2017;14(11):1662-6.
6. Konstan MW, McKone EF, Moss RB, Marigowda G, Tian S, Waltz D, et al. Assessment of safety and efficacy of long-term treatment with combination lumacaftor and ivacaftor therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation (PROGRESS): a phase 3, extension study. *Lancet Respir Med*. 2017;5(2):107-18.
7. Burgel PR, Munck A, Durieu I, Chiron R, Mely L, Prevotat A, et al. Real-Life Safety and Effectiveness of Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;201(2):188-97.
8. Taylor-Cousar JL, Jain M, Barto TL, Haddad T, Atkinson J, Tian S, et al. Lumacaftor/ivacaftor in patients with cystic fibrosis and advanced lung disease homozygous for F508del-CFTR. *J Cyst Fibros*. 2018;17(2):228-35.
9. Burgel PR, Durieu I, Chiron R, Mely L, Prevotat A, Murriss-Espin M, et al. Clinical response to lumacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis according to baseline lung function. *J Cyst Fibros*. 2021;20(2):220-7.
10. Aalbers BL, de Winter-de Groot KM, Arets HGM, Hofland RW, de Kiviet AC, van Oirschot-van de Ven MMM, et al. Clinical effect of lumacaftor/ivacaftor in F508del homozygous CF patients with FEV1  $\geq$  90% predicted at baseline. *J Cyst Fibros*. 2020;19(4):654-8.
11. Elborn JS, Ramsey BW, Boyle MP, Konstan MW, Huang X, Marigowda G, et al. Efficacy and safety of lumacaftor/ivacaftor combination therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR by pulmonary function subgroup: a pooled analysis. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2016;4:617-26.
12. Corvol H, Mesinele J, Douksieh IH, Strug LJ, Boelle PY, Guillot L. SLC26A9 Gene Is Associated With Lung Function Response to Ivacaftor in Patients With Cystic Fibrosis. *Frontiers in pharmacology*. 2018;9:828.
13. Strug LJ, Gonska T, He G, Keenan K, Ip W, Boelle PY, et al. Cystic fibrosis gene modifier SLC26A9 modulates airway response to CFTR-directed therapeutics. *Hum Mol Genet*. 2016;25(20):4590-600.
14. Eastman AC, Pace RG, Dang H, Aksit MA, Vecchio-Pagan B, Lam AN, et al. SLC26A9 SNP rs7512462 is not associated with lung disease severity or lung function response to ivacaftor in cystic fibrosis patients with G551D-CFTR. *J Cyst Fibros*. 2021.
15. Pereira SV, Ribeiro JD, Bertuzzo CS, Marson FAL. Association of clinical severity of cystic fibrosis with variants in the SLC gene family (SLC6A14, SLC26A9, SLC11A1 and SLC9A3). *Gene*. 2017;629:117-26.
16. Sun L, Rommens JM, Corvol H, Li W, Li X, Chiang TA, et al. Multiple apical plasma membrane constituents are associated with susceptibility to meconium ileus in individuals with cystic fibrosis. *Nat Genet*. 2012;44(5):562-9.

17. Corvol H, Blackman SM, Boelle PY, Gallins PJ, Pace RG, Stonebraker JR, et al. Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. *Nat Commun.* 2015;6:8382.
18. Li W, Soave D, Miller MR, Keenan K, Lin F, Gong J, et al. Unraveling the complex genetic model for cystic fibrosis: pleiotropic effects of modifier genes on early cystic fibrosis-related morbidities. *Hum Genet.* 2014;133(2):151-61.
19. Dehillotte C, Lemonnier L. Registre français de la mucoviscidose – Bilan des données 2018, Vaincre la Mucoviscidose. 2020.
20. HAS. Conférence de consensus- Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose. 2002.
21. HAS. Mucoviscidose: Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Guide - Affection de longue durée. 2017.
22. Castellani C, Duff AJA, Bell SC, Heijerman HGM, Munck A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros.* 2018;17(2):153-78.
23. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J.* 2012;40(6):1324-43.
24. Kulich M, Rosenfeld M, Campbell J, Kronmal R, Gibson RL, Goss CH, et al. Disease-specific reference equations for lung function in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172(7):885-91.
25. Taylor C, Commander CW, Collaco JM, Strug LJ, Li W, Wright FA, et al. A novel lung disease phenotype adjusted for mortality attrition for cystic fibrosis genetic modifier studies. *Pediatr Pulmonol.* 2011;46(9):857-69.
26. de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007;85(9):660-7.
27. Robins JM, Rotnitzky A, Zhao LP. Analysis of Semiparametric Regression Models for Repeated Outcomes in the Presence of Missing Data. *Journal of the American Statistical Association.* 1995;90(429):106-21.
28. Preisser JS, Lohman KK, Rathouz PJ. Performance of weighted estimating equations for longitudinal binary data with drop-outs missing at random. *Stat Med.* 2002;21(20):3035-54.
29. Boelle PY, Debray D, Guillot L, Clement A, Corvol H, French CFMGS. Cystic Fibrosis Liver Disease: Outcomes and Risk Factors in a Large Cohort of French Patients. *Hepatology.* 2019;69(4):1648-56.
30. Kmit A, Marson FAL, Pereira SV, Vinagre AM, Leite GS, Servidoni MF, et al. Extent of rescue of F508del-CFTR function by VX-809 and VX-770 in human nasal epithelial cells correlates with SNP rs7512462 in SLC26A9 gene in F508del/F508del Cystic Fibrosis patients. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2019;1865(6):1323-31.
31. Durand E, Boutin P, Meyre D, Charles MA, Clement K, Dina C, et al. Polymorphisms in the amino acid transporter solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter) member 14 gene contribute to polygenic obesity in French Caucasians. *Diabetes.* 2004;53(9):2483-6.
32. Suviolahti E, Oksanen LJ, Ohman M, Cantor RM, Ridderstrale M, Tuomi T, et al. The SLC6A14 gene shows evidence of association with obesity. *J Clin Invest.* 2003;112(11):1762-72.
33. Miranda RC, Vetter SB, Genro JP, Campagnolo PD, Mattevi VS, Vitolo MR, et al. SLC6A14 and 5-HTR2C polymorphisms are associated with food intake and nutritional status in children. *Clin Biochem.* 2015;48(18):1277-82.
34. Sivaprakasam S, Sikder MOF, Ramalingam L, Kaur G, Dufour JM, Moustaid-Moussa N, et al. SLC6A14 deficiency is linked to obesity, fatty liver, and metabolic syndrome but only under conditions of a high-fat diet. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2021;1867(5):166087.
35. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros.* 2011;10 Suppl 2:S29-36.



# Bibliographie

- Aalbers, B. L., de Winter-de Groot, K. M., Arets, H. G. M., Hofland, R. W., de Kiviet, A. C., van Oirschot-van de Ven, M. M. M., Kruijswijk, M. A., Schotman, S., Michel, S., van der Ent, C. K. and Heijerman, H. G. M. (2020). Clinical effect of lumacaftor/ivacaftor in F508del homozygous CF patients with FEV1  $\geq$  90% predicted at baseline. *J Cyst Fibros*, 19(4), 654-658.
- Accurso, F. J. and Sontag, M. K. (2003). Seeking modifier genes in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 167(3), 289-290.
- Acton, J. D. and Wilmott, R. W. (2001). Phenotype of CF and the effects of possible modifier genes. *Paediatr Respir Rev*, 2(4), 332-339.
- Ahmadi, S., Wu, Y. S., Li, M., Ip, W., Lloyd-Kuzik, A., Di Paola, M., Du, K., Xia, S., Lew, A., Bozoky, Z., Forman-Kay, J., Bear, C. E. and Gonska, T. (2019). Augmentation of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Function in Human Bronchial Epithelial Cells via SLC6A14-Dependent Amino Acid Uptake. Implications for Treatment of Cystic Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 61(6), 755-764.
- Akaike, H. (1973). Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. *Second International Symposium on Information Theory*, 267-281 p.
- Aksit, M. A., Pace, R. G., Vecchio-Pagan, B., Ling, H., Rommens, J. M., Boelle, P. Y., Guillot, L., Raraigh, K. S., Pugh, E., Zhang, P., Strug, L. J., Drumm, M. L., Knowles, M. R., Cutting, G. R., Corvol, H. and Blackman, S. M. (2020). Genetic Modifiers of Cystic Fibrosis-Related Diabetes Have Extensive Overlap With Type 2 Diabetes and Related Traits. *J Clin Endocrinol Metab*, 105(5).
- Alton, E., Armstrong, D. K., Ashby, D., Bayfield, K. J., Bilton, D., Bloomfield, E. V., Boyd, A. C., Brand, J., Buchan, R., Calcedo, R., Carvelli, P., Chan, M., Cheng, S. H., Collie, D. D. S., Cunningham, S., Davidson, H. E., Davies, G., Davies, J. C., Davies, L. A., Dewar, M. H., Doherty, A., Donovan, J., Dwyer, N. S., Elgmati, H. I., Featherstone, R. F., Gavino, J., Gea-Sorli, S., Geddes, D. M., Gibson, J. S. R., Gill, D. R., Greening, A. P., Griesenbach, U., Hansell, D. M., Harman, K., Higgins, T. E., Hodges, S. L., Hyde, S. C., Hyndman, L., Innes, J. A., Jacob, J., Jones, N., Keogh, B. F., Limberis, M. P., Lloyd-Evans, P., Maclean, A. W., Manvell, M. C., McCormick, D., McGovern, M., McLachlan, G., Meng, C., Montero, M. A., Milligan, H., Moyce, L. J., Murray, G. D., Nicholson, A. G., Osadolor, T., Parra-Leiton, J., Porteous, D. J., Pringle, I. A., Punch, E. K., Pytel, K. M., Quittner, A. L., Rivellini, G., Saunders, C. J., Scheule, R. K., Sheard, S., Simmonds, N. J., Smith, K., Smith, S. N., Soussi, N., Soussi, S., Spearing, E. J., Stevenson, B. J., Sumner-Jones, S. G., Turkkila, M., Ureta, R. P., Waller, M. D., Wasowicz, M. Y., Wilson, J. M., Wolstenholme-Hogg, P. and Consortium, U. K. C. F. G. T. (2015). Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*, 3(9), 684-691.
- Andersen, D. H. (1938). CYSTIC FIBROSIS OF THE PANCREAS AND ITS RELATION TO CELIAC DISEASE: A CLINICAL AND PATHOLOGIC STUDY. *American Journal of Diseases of Children*, 56(2), 344-399.
- Andersen, D. H. and Hodges, R. G. (1946). Celiac syndrome; genetics of cystic fibrosis of the pancreas, with a consideration of etiology. *Am J Dis Child*, 72, 62-80.
- Anderson, M. P., Gregory, R. J., Thompson, S., Souza, D. W., Paul, S., Mulligan, R. C., Smith, A. E. and Welsh, M. J. (1991). Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity. *Science*, 253(5016), 202-205.
- Antunes, M. A., Morales, M. M., Pelosi, P. and Macêdo Rocco, P. R. (2013). Chapter 6 - Lung Resident Stem Cells. In R. C. d. S. Goldenberg & A. C. Campos de Carvalho (Eds.), *Resident Stem Cells and Regenerative Therapy* (pp. 105-122): Academic Press.
- Arkwright, P. D., Pravica, V., Geraghty, P. J., Super, M., Webb, A. K., Schwarz, M. and Hutchinson, I. V. (2003). End-organ dysfunction in cystic fibrosis: association with angiotensin I converting enzyme and cytokine gene polymorphisms. *Am J Respir Crit Care Med*, 167(3), 384-389.

- Armbruster, C. R., Wolter, D. J., Mishra, M., Hayden, H. S., Radey, M. C., Merrihew, G., MacCoss, M. J., Burns, J., Wozniak, D. J., Parsek, M. R. and Hoffman, L. R. (2016). Staphylococcus aureus Protein A Mediates Interspecies Interactions at the Cell Surface of Pseudomonas aeruginosa. *mBio*, 7(3).
- Bajmoczy, M., Gadjeva, M., Alper, S. L., Pier, G. B. and Golan, D. E. (2009). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and caveolin-1 regulate epithelial cell internalization of Pseudomonas aeruginosa. *Am J Physiol Cell Physiol*, 297(2), C263-277.
- Baltimore, R. S. and Mitchell, M. (1980). Immunologic investigations of mucoid strains of Pseudomonas aeruginosa: comparison of susceptibility to opsonic antibody in mucoid and nonmucoid strains. *J Infect Dis*, 141(2), 238-247.
- Bardin, P., Sonnevile, F., Corvol, H. and Tabary, O. (2018). Emerging microRNA Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol*, 9, 1113.
- Bartlett, J. R., Friedman, K. J., Ling, S. C., Pace, R. G., Bell, S. C., Bourke, B., Castaldo, G., Castellani, C., Cipolli, M., Colombo, C., Colombo, J. L., Debray, D., Fernandez, A., Lacaille, F., Macek, M., Jr., Rowland, M., Salvatore, F., Taylor, C. J., Wainwright, C., Wilschanski, M., Zemkova, D., Hannah, W. B., Phillips, M. J., Corey, M., Zielenski, J., Dorfman, R., Wang, Y., Zou, F., Silverman, L. M., Drumm, M. L., Wright, F. A., Lange, E. M., Durie, P. R., Knowles, M. R. and Gene Modifier Study, G. (2009). Genetic modifiers of liver disease in cystic fibrosis. *JAMA*, 302(10), 1076-1083.
- Basbaum, C. B., Jany, B. and Finkbeiner, W. E. (1990). The serous cell. *Annu Rev Physiol*, 52, 97-113.
- Basil, M. C., Katzen, J., Engler, A. E., Guo, M., Herriges, M. J., Kathiriya, J. J., Windmueller, R., Ysasi, A. B., Zacharias, W. J., Chapman, H. A., Kotton, D. N., Rock, J. R., Snoeck, H. W., Vunjak-Novakovic, G., Whitsett, J. A. and Morrissey, E. E. (2020). The Cellular and Physiological Basis for Lung Repair and Regeneration: Past, Present, and Future. *Cell Stem Cell*, 26(4), 482-502.
- Baussano, I., Tardivo, I., Bellezza-Fontana, R., Forneris, M. P., Lezo, A., Anfossi, L., Castello, M., Aleksandar, V. and Bignamini, E. (2006). Neonatal screening for cystic fibrosis does not affect time to first infection with Pseudomonas aeruginosa. *Pediatrics*, 118(3), 888-895.
- Bellin, M. D., Laguna, T., Leschyshyn, J., Regelman, W., Dunitz, J., Billings, J. and Moran, A. (2013). Insulin secretion improves in cystic fibrosis following ivacaftor correction of CFTR: a small pilot study. *Pediatr Diabetes*, 14(6), 417-421.
- Bergstrom, J. H., Birchenough, G. M., Katona, G., Schroeder, B. O., Schutte, A., Ermund, A., Johansson, M. E. and Hansson, G. C. (2016). Gram-positive bacteria are held at a distance in the colon mucus by the lectin-like protein ZG16. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113(48), 13833-13838.
- Berkson, J. and Gage, R. P. (1950). Calculation of survival rates for cancer. *Proc Staff Meet Mayo Clin*, 25(11), 270-286.
- Bertrand, C. A., Mitra, S., Mishra, S. K., Wang, X., Zhao, Y., Pilewski, J. M., Madden, D. R. and Frizzell, R. A. (2017). The CFTR trafficking mutation F508del inhibits the constitutive activity of SLC26A9. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 312(6), L912-L925.
- Bertrand, C. A., Zhang, R., Pilewski, J. M. and Frizzell, R. A. (2009). SLC26A9 is a constitutively active, CFTR-regulated anion conductance in human bronchial epithelia. *J Gen Physiol*, 133(4), 421-438.
- Bezencon, C., Furholz, A., Raymond, F., Mansourian, R., Metairon, S., Le Coutre, J. and Damak, S. (2008). Murine intestinal cells expressing Trpm5 are mostly brush cells and express markers of neuronal and inflammatory cells. *J Comp Neurol*, 509(5), 514-525.
- Bezzerri, V., d'Adamo, P., Rimessi, A., Lanzara, C., Crovella, S., Nicolis, E., Tamanini, A., Athanasakis, E., Tebon, M., Bisoffi, G., Drumm, M. L., Knowles, M. R., Pinton, P., Gasparini, P., Berton, G. and Cabrini, G. (2011). Phospholipase C-beta3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *J Immunol*, 186(8), 4946-4958.
- Bhagirath, A. Y., Li, Y., Somayajula, D., Dadashi, M., Badr, S. and Duan, K. (2016). Cystic fibrosis lung environment and Pseudomonas aeruginosa infection. *BMC Pulm Med*, 16(1), 174.
- Bickmann, J. K., Kamin, W., Wiebel, M., Hauser, F., Wenzel, J. J., Neukirch, C., Stuhmann, M., Lackner, K. J. and Rossmann, H. (2009). A novel approach to CFTR mutation testing by pyrosequencing-based assay panels adapted to ethnicities. *Clin Chem*, 55(6), 1083-1091.

- Bjarnsholt, T., Jensen, P. O., Fiandaca, M. J., Pedersen, J., Hansen, C. R., Andersen, C. B., Pressler, T., Givskov, M. and Hoiby, N. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*, 44(6), 547-558.
- Blackman, S. M., Commander, C. W., Watson, C., Arcara, K. M., Strug, L. J., Stonebraker, J. R., Wright, F. A., Rommens, J. M., Sun, L., Pace, R. G., Norris, S. A., Durie, P. R., Drumm, M. L., Knowles, M. R. and Cutting, G. R. (2013). Genetic modifiers of cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes*, 62(10), 3627-3635.
- Blackman, S. M., Hsu, S., Ritter, S. E., Naughton, K. M., Wright, F. A., Drumm, M. L., Knowles, M. R. and Cutting, G. R. (2009). A susceptibility gene for type 2 diabetes confers substantial risk for diabetes complicating cystic fibrosis. *Diabetologia*, 52(9), 1858-1865.
- Boelle, P. Y., Debray, D., Guillot, L., Clement, A., Corvol, H. and French, C. F. M. G. S. I. (2019). Cystic Fibrosis Liver Disease: Outcomes and Risk Factors in a Large Cohort of French Patients. *Hepatology*, 69(4), 1648-1656.
- Boelle, P. Y., Debray, D., Guillot, L., Corvol, H. and French, C. F. M. G. S. I. (2019). SERPINA1 Z allele is associated with cystic fibrosis liver disease. *Genet Med*, 21(9), 2151-2155.
- Boers, J. E., den Brok, J. L., Koudstaal, J., Arends, J. W. and Thunnissen, F. B. (1996). Number and proliferation of neuroendocrine cells in normal human airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med*, 154(3 Pt 1), 758-763.
- Bonfield, T. L., Panuska, J. R., Konstan, M. W., Hilliard, K. A., Hilliard, J. B., Ghnaim, H. and Berger, M. (1995). Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *Am J Respir Crit Care Med*, 152(6 Pt 1), 2111-2118.
- Borzan, V., Tomasevic, B. and Kurbel, S. (2014). Hypothesis: Possible respiratory advantages for heterozygote carriers of cystic fibrosis linked mutations during dusty climate of last glaciation. *J Theor Biol*, 363, 164-168.
- Boyle, M. P. and De Boeck, K. (2013). A new era in the treatment of cystic fibrosis: correction of the underlying CFTR defect. *Lancet Respir Med*, 1(2), 158-163.
- Bradford, E. M., Sartor, M. A., Gawenis, L. R., Clarke, L. L. and Shull, G. E. (2009). Reduced NHE3-mediated Na<sup>+</sup> absorption increases survival and decreases the incidence of intestinal obstructions in cystic fibrosis mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 296(4), G886-898.
- Branchfield, K., Nantie, L., Verheyden, J. M., Sui, P., Wienhold, M. D. and Sun, X. (2016). Pulmonary neuroendocrine cells function as airway sensors to control lung immune response. *Science*, 351(6274), 707-710.
- Briaud, P., Camus, L., Bastien, S., Doleans-Jordheim, A., Vandenesch, F. and Moreau, K. (2019). Coexistence with *Pseudomonas aeruginosa* alters *Staphylococcus aureus* transcriptome, antibiotic resistance and internalization into epithelial cells. *Sci Rep*, 9(1), 16564.
- Brouard, J., Knauer, N., Boelle, P. Y., Corvol, H., Henrion-Caude, A., Flamant, C., Bremont, F., Delaisi, B., Duhamel, J. F., Marguet, C., Roussey, M., Miesch, M. C., Chadelat, K., Boule, M., Fauroux, B., Ratjen, F., Grasemann, H. and Clement, A. (2005). Influence of interleukin-10 on *Aspergillus fumigatus* infection in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis*, 191(11), 1988-1991.
- Burgel, P. R., Bellis, G. and Elborn, J. S. (2017). Modelling future trends in cystic fibrosis demography using the French Cystic Fibrosis Registry: update and sensitivity analysis. *Eur Respir J*, 50(2).
- Burgel, P. R., Bellis, G., Olesen, H. V., Viviani, L., Zolin, A., Blasi, F., Elborn, J. S. and Europe, E. E. T. F. o. P. o. C. f. A. w. C. F. i. (2015). Future trends in cystic fibrosis demography in 34 European countries. *Eur Respir J*, 46(1), 133-141.
- Burgel, P. R., Durieu, I., Chiron, R., Mely, L., Prevotat, A., Murriss-Espin, M., Porzio, M., Abely, M., Reix, P., Marguet, C., Macey, J., Sermet-Gaudelus, I., Corvol, H., Bui, S., Biouhee, T., Hubert, D., Munck, A., Lemonnier, L., Dehillotte, C., Silva, J. D., Paillasseur, J. L., Martin, C. and French Cystic Fibrosis Reference Network study, g. (2021). Clinical response to lumacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis according to baseline lung function. *J Cyst Fibros*, 20(2), 220-227.
- Burgel, P. R., Durieu, I., Chiron, R., Ramel, S., Danner-Boucher, I., Prevotat, A., Grenet, D., Marguet, C., Reynaud-Gaubert, M., Macey, J., Mely, L., Fanton, A., Quetant, S., Lemonnier, L., Paillasseur, J. L., Da Silva, J., Martin, C. and French Cystic Fibrosis Reference Network Study, G. (2021). Rapid Improvement after Starting Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and Advanced Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 204(1), 64-73.

- Burgel, P. R., Munck, A., Durieu, I., Chiron, R., Mely, L., Prevotat, A., Murriss-Espin, M., Porzio, M., Abely, M., Reix, P., Marguet, C., Macey, J., Sermet-Gaudelus, I., Corvol, H., Bui, S., Lemonnier, L., Dehillotte, C., Da Silva, J., Paillasseur, J. L., Hubert, D. and French Cystic Fibrosis Reference Network Study, G. (2020). Real-Life Safety and Effectiveness of Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 201(2), 188-197.
- Burggraave, N., Branger, B., Dabadie, A., Deneuille, E., Rault, G. and Roussey, M. (2007). [Longitudinal evaluation of pulmonary function tests in children with newborn screening for cystic fibrosis. Relationships with pulmonary infection. Study of 40 children undergoing 744 pulmonary function tests]. *Arch Pediatr*, 14(7), 864-869.
- Burke, W., Aitken, M. L., Chen, S. H. and Scott, C. R. (1992). Variable severity of pulmonary disease in adults with identical cystic fibrosis mutations. *Chest*, 102(2), 506-509.
- Busch, R. (1990). On the history of cystic fibrosis. *Acta Univ Carol Med (Praha)*, 36(1-4), 13-15.
- Bustamante-Marin, X. M. and Ostrowski, L. E. (2017). Cilia and Mucociliary Clearance. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 9(4).
- Campbell, N. and Reece, J. (2007). *Biologie*. Pearson Education.
- Campbell, P. W., 3rd, Phillips, J. A., 3rd, Krishnamani, M. R., Maness, K. J. and Hazinski, T. A. (1991). Cystic fibrosis: relationship between clinical status and F508 deletion. *J Pediatr*, 118(2), 239-241.
- Camus, L., Briaud, P., Bastien, S., Elsen, S., Doleans-Jordheim, A., Vandenesch, F. and Moreau, K. (2020). Trophic cooperation promotes bacterial survival of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ISME J*, 14(12), 3093-3105.
- Camus, L., Briaud, P., Vandenesch, F. and Moreau, K. (2021). How Bacterial Adaptation to Cystic Fibrosis Environment Shapes Interactions Between *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol*, 12, 617784.
- Cantin, A. M., Hartl, D., Konstan, M. W. and Chmiel, J. F. (2015). Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy. *J Cyst Fibros*, 14(4), 419-430.
- Cappello, S. G., SP. (2006). Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Braz J Microbiol* 37:205–7.
- Carson, S. W., Psoter, K., Koehler, K., Siklosi, K. R., Montemayor, K., Toporek, A., West, N. E., Lechtzin, N., Hansel, N. N., Collaco, J. M. and Merlo, C. A. (2021). Indoor air pollution exposure is associated with greater morbidity in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*.
- Castellani, C., Conway, S., Smyth, A. R., Stern, M. and Elborn, J. S. (2014). Standards of Care for Cystic Fibrosis ten years later. *J Cyst Fibros*, 13 Suppl 1, S1-2.
- Castellani, C., Duff, A. J. A., Bell, S. C., Heijerman, H. G. M., Munck, A., Ratjen, F., Sermet-Gaudelus, I., Southern, K. W., Barben, J., Flume, P. A., Hodkova, P., Kashirskaya, N., Kirszenbaum, M. N., Madge, S., Oxley, H., Plant, B., Schwarzenberg, S. J., Smyth, A. R., Taccetti, G., Wagner, T. O. F., Wolfe, S. P. and Drevinek, P. (2018). ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros*, 17(2), 153-178.
- Castranova, V., Rabovsky, J., Tucker, J. H. and Miles, P. R. (1988). The alveolar type II epithelial cell: a multifunctional pneumocyte. *Toxicol Appl Pharmacol*, 93(3), 472-483.
- Cendra, M. D. M., Blanco-Cabra, N., Pedraz, L. and Torrents, E. (2019). Optimal environmental and culture conditions allow the in vitro coexistence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in stable biofilms. *Sci Rep*, 9(1), 16284.
- Chalmers, J. D., Fleming, G. B., Hill, A. T. and Kilpatrick, D. C. (2011). Impact of mannose-binding lectin insufficiency on the course of cystic fibrosis: A review and meta-analysis. *Glycobiology*, 21(3), 271-282.
- Chatterjee, P., Sass, G., Swietnicki, W. and Stevens, D. A. (2020). Review of Potential *Pseudomonas* Weaponry, Relevant to the *Pseudomonas-Aspergillus* Interplay, for the Mycology Community. *J Fungi (Basel)*, 6(2).
- Cheng, K., Ashby, D. and Smyth, R. L. (2017). Ursodeoxycholic acid for cystic fibrosis-related liver disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 9, CD000222.

- Cheng, S. H., Gregory, R. J., Marshall, J., Paul, S., Souza, D. W., White, G. A., O'Riordan, C. R. and Smith, A. E. (1990). Defective intracellular transport and processing of CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis. *Cell*, 63(4), 827-834.
- Cho, J. C. and Tiedje, J. M. (2000). Biogeography and degree of endemicity of fluorescent *Pseudomonas* strains in soil. *Appl Environ Microbiol*, 66(12), 5448-5456.
- Claustres, M., Theze, C., des Georges, M., Baux, D., Girodon, E., Bienvenu, T., Audrezet, M. P., Dugueperoux, I., Ferec, C., Lalau, G., Pagin, A., Kitzis, A., Thoreau, V., Gaston, V., Bieth, E., Malinge, M. C., Reboul, M. P., Fergelot, P., Lemonnier, L., Mekki, C., Fanen, P., Bergougnoux, A., Sasorith, S., Raynal, C. and Bareil, C. (2017). CFTR-France, a national relational patient database for sharing genetic and phenotypic data associated with rare CFTR variants. *Hum Mutat*, 38(10), 1297-1315.
- Coburn, B., Wang, P. W., Diaz Caballero, J., Clark, S. T., Brahma, V., Donaldson, S., Zhang, Y., Surendra, A., Gong, Y., Elizabeth Tullis, D., Yau, Y. C., Waters, V. J., Hwang, D. M. and Guttman, D. S. (2015). Lung microbiota across age and disease stage in cystic fibrosis. *Sci Rep*, 5, 10241.
- Cogen, J. D., Whitlock, K. B., Gibson, R. L., Hoffman, L. R. and VanDevanter, D. R. (2019). The use of antimicrobial susceptibility testing in pediatric cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *J Cyst Fibros*, 18(6), 851-856.
- Cohen-Cymerknoh, M., Kerem, E., Ferkol, T. and Elizur, A. (2013). Airway inflammation in cystic fibrosis: molecular mechanisms and clinical implications. *Thorax*, 68(12), 1157-1162.
- Collaco, J. M., Blackman, S. M., McGready, J., Naughton, K. M. and Cutting, G. R. (2010). Quantification of the relative contribution of environmental and genetic factors to variation in cystic fibrosis lung function. *J Pediatr*, 157(5), 802-807 e801-803.
- Collaco, J. M., McGready, J., Green, D. M., Naughton, K. M., Watson, C. P., Shields, T., Bell, S. C., Wainwright, C. E., Group, A. S. and Cutting, G. R. (2011). Effect of temperature on cystic fibrosis lung disease and infections: a replicated cohort study. *PLoS One*, 6(11), e27784.
- Collaco, J. M., Raraigh, K. S., Appel, L. J. and Cutting, G. R. (2016). Respiratory pathogens mediate the association between lung function and temperature in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 15(6), 794-801.
- Collaco, J. M., Vanscoy, L., Bremer, L., McDougal, K., Blackman, S. M., Bowers, A., Naughton, K., Jennings, J., Ellen, J. and Cutting, G. R. (2008). Interactions between secondhand smoke and genes that affect cystic fibrosis lung disease. *JAMA*, 299(4), 417-424.
- Conrad, D., Haynes, M., Salamon, P., Rainey, P. B., Youle, M. and Rohwer, F. (2013). Cystic fibrosis therapy: a community ecology perspective. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 48(2), 150-156.
- Conway, S., Balfour-Lynn, I. M., De Rijcke, K., Drevinek, P., Foweraker, J., Havermans, T., Heijerman, H., Lannefors, L., Lindblad, A., Macek, M., Madge, S., Moran, M., Morrison, L., Morton, A., Noordhoek, J., Sands, D., Vertommen, A. and Peckham, D. (2014). European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Framework for the Cystic Fibrosis Centre. *J Cyst Fibros*, 13 Suppl 1, S3-22.
- Corey, M., Durie, P., Moore, D., Forstner, G. and Levison, H. (1989). Familial concordance of pancreatic function in cystic fibrosis. *J Pediatr*, 115(2), 274-277.
- Corey, M., Edwards, L., Levison, H. and Knowles, M. (1997). Longitudinal analysis of pulmonary function decline in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr*, 131(6), 809-814.
- Corvol, H., Blackman, S. M., Boelle, P. Y., Gallins, P. J., Pace, R. G., Stonebraker, J. R., Accurso, F. J., Clement, A., Collaco, J. M., Dang, H., Dang, A. T., Franca, A., Gong, J., Guillot, L., Keenan, K., Li, W., Lin, F., Patrone, M. V., Raraigh, K. S., Sun, L., Zhou, Y. H., O'Neal, W. K., Sontag, M. K., Levy, H., Durie, P. R., Rommens, J. M., Drumm, M. L., Wright, F. A., Strug, L. J., Cutting, G. R. and Knowles, M. R. (2015). Genome-wide association meta-analysis identifies five modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis. *Nat Commun*, 6, 8382.
- Corvol, H., Flamant, C., Vallet, C., Clement, A. and Brouard, J. (2006). [Modifier genes and cystic fibrosis]. *Arch Pediatr*, 13(1), 57-63.
- Corvol, H., Mésinèle, J., Douksieh, I.-H., Strug, L. J., Boëlle, P.-Y. and Guillot, L. (2018). SLC26A9 Gene Is Associated With Lung Function Response to Ivacaftor in Patients With Cystic Fibrosis. *Frontiers in Pharmacology*, 9(828).

- Corvol, H., Mesinele, J., Douksieh, I. H., Strug, L. J., Boelle, P. Y. and Guillot, L. (2018). SLC26A9 Gene Is Associated With Lung Function Response to Ivacaftor in Patients With Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol*, 9, 828.
- Corvol, H., Nathan, N., Charlier, C., Chadelat, K., Le Rouzic, P., Tabary, O., Fauroux, B., Henrion-Caude, A., Feingold, J., Boelle, P. Y. and Clement, A. (2007). Glucocorticoid receptor gene polymorphisms associated with progression of lung disease in young patients with cystic fibrosis. *Respir Res*, 8, 88.
- Corvol, H., Thompson, K. E., Tabary, O., le Rouzic, P. and Guillot, L. (2016). Translating the genetics of cystic fibrosis to personalized medicine. *Transl Res*, 168, 40-49.
- Costerton, J. W. (2001). Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends Microbiol*, 9(2), 50-52.
- Coutinho, C. A., Marson, F. A., Marcelino, A. R., Bonadia, L. C., Carlin, M. P., Ribeiro, A. F., Ribeiro, J. D. and Bertuzzo, C. S. (2014). TNF-alpha polymorphisms as a potential modifier gene in the cystic fibrosis. *Int J Mol Epidemiol Genet*, 5(2), 87-99.
- Crawford, I., Maloney, P. C., Zeitlin, P. L., Guggino, W. B., Hyde, S. C., Turley, H., Gatter, K. C., Harris, A. and Higgins, C. F. (1991). Immunocytochemical localization of the cystic fibrosis gene product CFTR. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88(20), 9262-9266.
- Crull, M. R., Ramos, K. J., Caldwell, E., Mayer-Hamblett, N., Aitken, M. L. and Goss, C. H. (2016). Change in *Pseudomonas aeruginosa* prevalence in cystic fibrosis adults over time. *BMC Pulm Med*, 16(1), 176.
- Crull, M. R., Somayaji, R., Ramos, K. J., Caldwell, E., Mayer-Hamblett, N., Aitken, M. L., Nichols, D. P., Rowhani-Rahbar, A. and Goss, C. H. (2018). Changing Rates of Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Cystic Fibrosis: A Population-Based Cohort Study. *Clin Infect Dis*, 67(7), 1089-1095.
- Curtis, J. R., Burke, W., Kassner, A. W. and Aitken, M. L. (1997). Absence of health insurance is associated with decreased life expectancy in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 155(6), 1921-1924.
- Cuthbert, A. W., Halstead, J., Ratcliff, R., Colledge, W. H. and Evans, M. J. (1995). The genetic advantage hypothesis in cystic fibrosis heterozygotes: a murine study. *J Physiol*, 482 ( Pt 2), 449-454.
- Cutting, G. R. (2015). Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet*, 16(1), 45-56.
- Cutz, E., Pan, J., Yeager, H., Domnik, N. J. and Fisher, J. T. (2013). Recent advances and controversies on the role of pulmonary neuroepithelial bodies as airway sensors. *Semin Cell Dev Biol*, 24(1), 40-50.
- Cystic Fibrosis Canada. (2020). The Canadian Cystic Fibrosis Registry 2019 Annual Data Report. *Toronto, Canada: Cystic Fibrosis Canada*.
- Cystic Fibrosis Foundation. (2020). Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry- 2019 Annual Data Report. *Bethesda, Maryland*.
- Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R. G., Pavirani, A., Lecocq, J. P. and Lazdunski, M. (1991). Altered chloride ion channel kinetics associated with the delta F508 cystic fibrosis mutation. *Nature*, 354(6354), 526-528.
- Darrah, R., McKone, E., O'Connor, C., Rodgers, C., Genatossio, A., McNamara, S., Gibson, R., Stuart Elborn, J., Ennis, M., Gallagher, C. G., Kalsheker, N., Aitken, M., Wiese, D., Dunn, J., Smith, P., Pace, R., Londono, D., Goddard, K. A., Knowles, M. R. and Drumm, M. L. (2010). EDNRA variants associate with smooth muscle mRNA levels, cell proliferation rates, and cystic fibrosis pulmonary disease severity. *Physiol Genomics*, 41(1), 71-77.
- Davies, J. C., Turner, M. W., Klein, N. and London, M. B. L. C. F. S. G. (2004). Impaired pulmonary status in cystic fibrosis adults with two mutated MBL-2 alleles. *Eur Respir J*, 24(5), 798-804.
- Davies, J. C., Wainwright, C. E., Canny, G. J., Chilvers, M. A., Howenstine, M. S., Munck, A., Mainz, J. G., Rodriguez, S., Li, H., Yen, K., Ordoñez, C. L., Ahrens, R. and Group, V.-E. S. (2013). Efficacy and safety of ivacaftor in patients aged 6 to 11 years with cystic fibrosis with a G551D mutation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 187, 1219-1225.
- Davis, J. D. and Wypych, T. P. (2021). Cellular and functional heterogeneity of the airway epithelium. *Mucosal Immunol*, 14(5), 978-990.

- Davis, P. B. (2006). Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med*, 173(5), 475-482.
- Day, P. M., Lowy, D. R. and Schiller, J. T. (2003). Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology*, 307(1), 1-11.
- De Boeck, K., Munck, A., Walker, S., Faro, A., Hiatt, P., Gilmartin, G. and Higgins, M. (2014). Efficacy and safety of ivacaftor in patients with cystic fibrosis and a non-G551D gating mutation. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 13, 674-680.
- De Braekeleer, M., Allard, C., Leblanc, J. P., Aubin, G. and Simard, F. (1998). Genetic determinants of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients in Canada. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 17(4), 269-271.
- de Onis, M., Onyango, A. W., Borghi, E., Siyam, A., Nishida, C. and Siekmann, J. (2007). Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ*, 85(9), 660-667.
- Debray, D., Kelly, D., Houwen, R., Strandvik, B. and Colombo, C. (2011). Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros*, 10 Suppl 2, S29-36.
- Debray, D., Narkewicz, M. R., Bodewes, F., Colombo, C., Housset, C., de Jonge, H. R., Jonker, J. W., Kelly, D. A., Ling, S. C., Poynard, T., Sogni, P., Trauner, M., Witters, P., Baumann, U., Wilschanski, M. and Verkade, H. J. (2017). Cystic Fibrosis-related Liver Disease: Research Challenges and Future Perspectives. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 65(4), 443-448.
- Del Porto, P., Cifani, N., Guarnieri, S., Di Domenico, E. G., Mariggio, M. A., Spadaro, F., Guglietta, S., Anile, M., Venuta, F., Quattrucci, S. and Ascenzioni, F. (2011). Dysfunctional CFTR alters the bactericidal activity of human macrophages against *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*, 6(5), e19970.
- Delord, M. and Génin, E. (2016). Multiple imputation for competing risks regression with interval-censored data. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 86(11), 2217-2228.
- Demko, C. A., Byard, P. J. and Davis, P. B. (1995). Gender differences in cystic fibrosis: *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Clin Epidemiol*, 48(8), 1041-1049.
- Devoto, M., De Benedetti, L., Seia, M., Piceni Sereni, L., Ferrari, M., Bonduelle, M. L., Malfroot, A., Lissens, W., Balassopoulou, A., Adam, G. and et al. (1989). Haplotypes in cystic fibrosis patients with or without pancreatic insufficiency from four European populations. *Genomics*, 5(4), 894-898.
- Di Paola, M., Park, A. J., Ahmadi, S., Roach, E. J., Wu, Y. S., Struder-Kypke, M., Lam, J. S., Bear, C. E. and Khursigara, C. M. (2017). SLC6A14 Is a Genetic Modifier of Cystic Fibrosis That Regulates *Pseudomonas aeruginosa* Attachment to Human Bronchial Epithelial Cells. *mBio*, 8(6).
- Di Sant'Agnese, P. A., Darling, R. C., Perera, G. A. and Shea, E. (1953). Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics*, 12(5), 549-563.
- Dodge, J. A. and Turck, D. (2006). Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 20(3), 531-546.
- Dorfman, R., Sandford, A., Taylor, C., Huang, B., Frangolias, D., Wang, Y., Sang, R., Pereira, L., Sun, L., Berthiaume, Y., Tsui, L.-C., Paré, P. D., Durie, P., Corey, M. and Zielenski, J. (2008). Complex two-gene modulation of lung disease severity in children with cystic fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 118, 1040-1049.
- Dorfman, R., Taylor, C., Lin, F., Sun, L., Sandford, A., Pare, P., Berthiaume, Y., Corey, M., Durie, P., Zielenski, J. and Members of Canadian Consortium for, C. F. G. S. (2011). Modulatory effect of the SLC9A3 gene on susceptibility to infections and pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 46(4), 385-392.
- Doring, G., Conway, S. P., Heijerman, H. G., Hodson, M. E., Hoiby, N., Smyth, A. and Touw, D. J. (2000). Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J*, 16(4), 749-767.
- Dork, T., Wulbrand, U., Richter, T., Neumann, T., Wolfes, H., Wulf, B., Maass, G. and Tummeler, B. (1991). Cystic fibrosis with three mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Hum Genet*, 87(4), 441-446.
- Drumm, M. L. (2001). Modifier genes and variation in cystic fibrosis. *Respir Res*, 2(3), 125-128.

- Drumm, M. L., Konstan, M. W., Schluchter, M. D., Handler, A., Pace, R., Zou, F., Zariwala, M., Fargo, D., Xu, A., Dunn, J. M., Darrah, R. J., Dorfman, R., Sandford, A. J., Corey, M., Zielenski, J., Durie, P., Goddard, K., Yankaskas, J. R., Wright, F. A., Knowles, M. R. and Gene Modifier Study, G. (2005). Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med*, 353(14), 1443-1453.
- Drummond, D., Dana, J., Berteloot, L., Schneider-Futschik, E. K., Chedeveigne, F., Bailly-Botuha, C., Nguyen-Khoa, T., Cornet, M., Le Bourgeois, M., Debray, D., Girard, M. and Sermet-Gaudelus, I. (2021). Lumacaftor-ivacaftor effects on cystic fibrosis-related liver involvement in adolescents with homozygous F508 del-CFTR. *J Cyst Fibros*.
- Dupuit, F., Kalin, N., Brezillon, S., Hinrasky, J., Tummeler, B. and Puchelle, E. (1995). CFTR and differentiation markers expression in non-CF and delta F 508 homozygous CF nasal epithelium. *J Clin Invest*, 96(3), 1601-1611.
- Durand, E., Boutin, P., Meyre, D., Charles, M. A., Clement, K., Dina, C. and Froguel, P. (2004). Polymorphisms in the amino acid transporter solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter) member 14 gene contribute to polygenic obesity in French Caucasians. *Diabetes*, 53(9), 2483-2486.
- Durieu, I., Dalon, F., Reynaud, Q., Lemonnier, L., Dehillotte, C., Berard, M., Walther, D., Viprey, M., Van Ganse, E. and Belhassen, M. (2021). Temporal trends in healthcare resource use and associated costs of patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*.
- Earnest, A., Salimi, F., Wainwright, C. E., Bell, S. C., Ruseckaite, R., Ranger, T., Kotsimbos, T. and Ahern, S. (2020). Lung function over the life course of paediatric and adult patients with cystic fibrosis from a large multi-centre registry. *Sci Rep*, 10(1), 17421.
- Eastman, A. C., Pace, R. G., Dang, H., Aksit, M. A., Vecchio-Pagan, B., Lam, A. N., O'Neal, W. K., Blackman, S. M., Knowles, M. R. and Cutting, G. R. (2021). SLC26A9 SNP rs7512462 is not associated with lung disease severity or lung function response to ivacaftor in cystic fibrosis patients with G551D-CFTR. *J Cyst Fibros*.
- Elborn, J. S. (2016). Cystic fibrosis. *Lancet*, 388(10059), 2519-2531.
- Elborn, J. S., Bell, S. C., Madge, S. L., Burgel, P. R., Castellani, C., Conway, S., De Rijcke, K., Dembski, B., Drevinek, P., Heijerman, H. G., Innes, J. A., Lindblad, A., Marshall, B., Olesen, H. V., Reimann, A. L., Sole, A., Viviani, L., Wagner, T. O., Welte, T. and Blasi, F. (2016). Report of the European Respiratory Society/European Cystic Fibrosis Society task force on the care of adults with cystic fibrosis. *Eur Respir J*, 47(2), 420-428.
- Elborn, J. S., Ramsey, B., Wainwright, C. and Boyle, M. (2016). Response to: 'Lumacaftor/ivacaftor for patients homozygous for Phe508del-CFTR: should we curb our enthusiasm?' by Jones and Barry. *Thorax*, 71(2), 185-186.
- Elborn, J. S., Ramsey, B. W., Boyle, M. P., Konstan, M. W., Huang, X., Marigowda, G., Waltz, D., Wainwright, C. E. and groups, V.-T. a. T. s. (2016). Efficacy and safety of lumacaftor/ivacaftor combination therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR by pulmonary function subgroup: a pooled analysis. *The Lancet. Respiratory Medicine*, 4, 617-626.
- Emerson, J., Rosenfeld, M., McNamara, S., Ramsey, B. and Gibson, R. L. (2002). Pseudomonas aeruginosa and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 34(2), 91-100.
- Emond, M. J., Louie, T., Emerson, J., Chong, J. X., Mathias, R. A., Knowles, M. R., Rieder, M. J., Tabor, H. K., Nickerson, D. A., Barnes, K. C., Project, N. G. E. S., Go, L., Gibson, R. L. and Bamshad, M. J. (2015). Exome Sequencing of Phenotypic Extremes Identifies CAV2 and TMC6 as Interacting Modifiers of Chronic Pseudomonas aeruginosa Infection in Cystic Fibrosis. *PLoS Genet*, 11(6), e1005273.
- Emond, M. J., Louie, T., Emerson, J., Zhao, W., Mathias, R. A., Knowles, M. R., Wright, F. A., Rieder, M. J., Tabor, H. K., Nickerson, D. A., Barnes, K. C., National Heart, L., Blood Institute, G. O. E. S. P., Lung, G. O., Gibson, R. L. and Bamshad, M. J. (2012). Exome sequencing of extreme phenotypes identifies DCTN4 as a modifier of chronic Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis. *Nat Genet*, 44(8), 886-889.
- Engelhardt, J. F., Zepeda, M., Cohn, J. A., Yankaskas, J. R. and Wilson, J. M. (1994). Expression of the cystic fibrosis gene in adult human lung. *J Clin Invest*, 93(2), 737-749.
- Fajac, I. and Sermet, I. (2021). Therapeutic Approaches for Patients with Cystic Fibrosis Not Eligible for Current CFTR Modulators. *Cells*, 10(10).

- Fanconi, G., Uehlinger, E. and Knauer, C. (1936). Das coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer pankreasfibromatose und bronchiektasien. *Wien Med Wschr*, 86:753–756.
- Farber, S. (1943). Pancreatic insufficiency and the celiac syndrome. *N Engl J Med*, 229:653-682.
- Farrell, P., Ferec, C., Macek, M., Frischer, T., Renner, S., Riss, K., Barton, D., Repetto, T., Tzetis, M., Giteau, K., Duno, M., Rogers, M., Levy, H., Sahbatou, M., Fichou, Y., Le Marechal, C. and Genin, E. (2018). Estimating the age of p.(Phe508del) with family studies of geographically distinct European populations and the early spread of cystic fibrosis. *Eur J Hum Genet*, 26(12), 1832-1839.
- Farrell, P., Joffe, S., Foley, L., Canny, G. J., Mayne, P. and Rosenberg, M. (2007). Diagnosis of cystic fibrosis in the Republic of Ireland: epidemiology and costs. *Ir Med J*, 100(8), 557-560.
- Farrell, P. M. (2008). The prevalence of cystic fibrosis in the European Union. *J Cyst Fibros*, 7(5), 450-453.
- Ferguson, J. H. and Chang, A. B. (2014). Vitamin D supplementation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*(5), CD007298.
- Ferrari, M. and Cremonesi, L. (1996). Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis patients. *Ann Biol Clin (Paris)*, 54(6), 235-241.
- Fichou, Y., Génin, E., Le Maréchal, C., Audrézet, M.-P., Scotet, V. and Férec, C. (2008). Estimating the age of CFTR mutations predominantly found in Brittany (Western France). *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 7, 168-173.
- Flamant, C., Henrion-Caude, A., Boelle, P. Y., Bremont, F., Brouard, J., Delaisi, B., Duhamel, J. F., Marguet, C., Roussey, M., Miesch, M. C., Boule, M., Strange, R. C. and Clement, A. (2004). Glutathione-S-transferase M1, M3, P1 and T1 polymorphisms and severity of lung disease in children with cystic fibrosis. *Pharmacogenetics*, 14(5), 295-301.
- Flume, P. A., Liou, T. G., Borowitz, D. S., Li, H., Yen, K., Ordonez, C. L., Geller, D. E. and Group, V. X. S. (2012). Ivacaftor in subjects with cystic fibrosis who are homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Chest*, 142(3), 718-724.
- Flume, P. A., Mogayzel, P. J., Jr., Robinson, K. A., Rosenblatt, R. L., Quittell, L., Marshall, B. C., Clinical Practice Guidelines for Pulmonary Therapies, C. and Cystic Fibrosis Foundation Pulmonary Therapies, C. (2010). Cystic fibrosis pulmonary guidelines: pulmonary complications: hemoptysis and pneumothorax. *Am J Respir Crit Care Med*, 182(3), 298-306.
- Flume, P. A., Strange, C., Ye, X., Ebeling, M., Hulsey, T. and Clark, L. L. (2005). Pneumothorax in cystic fibrosis. *Chest*, 128(2), 720-728.
- Flume, P. A., Yankaskas, J. R., Ebeling, M., Hulsey, T. and Clark, L. L. (2005). Massive hemoptysis in cystic fibrosis. *Chest*, 128(2), 729-738.
- Folkesson, A., Jelsbak, L., Yang, L., Johansen, H. K., Ciofu, O., Hoiby, N. and Molin, S. (2012). Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the cystic fibrosis airway: an evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol*, 10(12), 841-851.
- Francoise, A. and Hery-Arnaud, G. (2020). The Microbiome in Cystic Fibrosis Pulmonary Disease. *Genes (Basel)*, 11(5).
- Frangolias, D. D., Ruan, J., Wilcox, P. J., Davidson, A. G., Wong, L. T., Berthiaume, Y., Hennessey, R., Freitag, A., Pedder, L., Corey, M., Swezey, N., Zielenski, J., Tullis, E. and Sandford, A. J. (2003). Alpha 1-antitrypsin deficiency alleles in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 29(3 Pt 1), 390-396.
- Frayman, K. B., Armstrong, D. S., Carzino, R., Ferkol, T. W., Grimwood, K., Storch, G. A., Teo, S. M., Wylie, K. M. and Ranganathan, S. C. (2017). The lower airway microbiota in early cystic fibrosis lung disease: a longitudinal analysis. *Thorax*, 72(12), 1104-1112.
- Frost, F., Walshaw, M. and Nazareth, D. (2020). Cystic Fibrosis Related Diabetes - An Update. *QJM*.
- Frydenlund Michelsen, C., Hossein Khademi, S. M., Krogh Johansen, H., Ingmer, H., Dorrestein, P. C. and Jelsbak, L. (2016). Evolution of metabolic divergence in *Pseudomonas aeruginosa* during long-term infection facilitates a proto-cooperative interspecies interaction. *ISME J*, 10(6), 1323-1336.

- Fujita, T., Matsushita, M. and Endo, Y. (2004). The lectin-complement pathway--its role in innate immunity and evolution. *Immunol Rev*, 198, 185-202.
- Furukawa, O., Bi, L. C., Guth, P. H., Engel, E., Hirokawa, M. and Kaunitz, J. D. (2004). NHE3 inhibition activates duodenal bicarbonate secretion in the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 286(1), G102-109.
- Gabolde, M., Hubert, D., Guilloud-Bataille, M., Lenaerts, C., Feingold, J. and Besmond, C. (2001). The mannose binding lectin gene influences the severity of chronic liver disease in cystic fibrosis. *J Med Genet*, 38(5), 310-311.
- Garg, A., Sui, P., Verheyden, J. M., Young, L. R. and Sun, X. (2019). Consider the lung as a sensory organ: A tip from pulmonary neuroendocrine cells. *Curr Top Dev Biol*, 132, 67-89.
- Garrod, A. E. and Hurlley, W. H. (1913). Congenital family steatorrhoea. *QJM: An International Journal of Medicine*, os6(2), 242-258.
- Gelfond, D. and Borowitz, D. (2013). Gastrointestinal complications of cystic fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 11(4), 333-342; quiz e330-331.
- Genomes Project, C., Auton, A., Brooks, L. D., Durbin, R. M., Garrison, E. P., Kang, H. M., Korbel, J. O., Marchini, J. L., McCarthy, S., McVean, G. A. and Abecasis, G. R. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526(7571), 68-74.
- Genzsch, M., Dang, H., Dang, Y., Garcia-Caballero, A., Suchindran, H., Boucher, R. C. and Stutts, M. J. (2010). The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator impedes proteolytic stimulation of the epithelial Na<sup>+</sup> channel. *J Biol Chem*, 285(42), 32227-32232.
- Girodon-Boulandet, E. and Costa, C. (2005). Génétique de la mucoviscidose. *Médecine thérapeutique pédiatrie*, 8(3):126-134.
- Goeminne, P. C., Kicinski, M., Vermeulen, F., Fierens, F., De Boeck, K., Nemery, B., Nawrot, T. S. and Dupont, L. J. (2013). Impact of air pollution on cystic fibrosis pulmonary exacerbations: a case-crossover analysis. *Chest*, 143(4), 946-954.
- Goldfarbmuren, K. C., Jackson, N. D., Sajuthi, S. P., Dyjack, N., Li, K. S., Rios, C. L., Plender, E. G., Montgomery, M. T., Everman, J. L., Bratcher, P. E., Vladar, E. K. and Seibold, M. A. (2020). Dissecting the cellular specificity of smoking effects and reconstructing lineages in the human airway epithelium. *Nat Commun*, 11(1), 2485.
- Gong, J., He, G., Wang, C., Bartlett, C., Panjwani, N., Lin, F., Keenan, K., Avolio, J., Halevy, A., Shaw, M., Esmaeili, M., Côté-Maurais, G., Adam, D., Bégin, S., Bjornson, C., Chilvers, M., Reisman, J., Price, A., Parkins, M., Van Wylick, R., Berthiaume, Y., Bilodeau, L., Mateos-Corral, D., Hughes, D., Smith, M. J., Morrison, N., Brusky, J., Tullis, E., Stephenson, A. L., Quon, B. S., Wilcox, P., Leung, W. M., Solomon, M., Sun, L., Brochiero, E., Moraes, T. J., Gonska, T., Ratjen, F., Rommens, J. M. and Strug, L. J. (2021). Genetic evidence supports the development of SLC26A9 targeting therapies for the treatment of lung disease. *medRxiv*, 2021.2010.2007.21264392.
- Goss, C. H., Newsom, S. A., Schildcrout, J. S., Sheppard, L. and Kaufman, J. D. (2004). Effect of ambient air pollution on pulmonary exacerbations and lung function in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 169(7), 816-821.
- Gouyon, P. H. and Henry, J. P. (1998). Précis de génétique des populations. *Masson*.
- Grasemann, H., Knauer, N., Buscher, R., Hubner, K., Drazen, J. M. and Ratjen, F. (2000). Airway nitric oxide levels in cystic fibrosis patients are related to a polymorphism in the neuronal nitric oxide synthase gene. *Am J Respir Crit Care Med*, 162(6), 2172-2176.
- Grasemann, H., Storm van's Gravesande, K., Buscher, R., Knauer, N., Silverman, E. S., Palmer, L. J., Drazen, J. M. and Ratjen, F. (2003). Endothelial nitric oxide synthase variants in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 167(3), 390-394.
- Green, D. M., Collaco, J. M., McDougal, K. E., Naughton, K. M., Blackman, S. M. and Cutting, G. R. (2012). Heritability of respiratory infection with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *J Pediatr*, 161(2), 290-295 e291.
- Green, D. M., McDougal, K. E., Blackman, S. M., Sosnay, P. R., Henderson, L. B., Naughton, K. M., Collaco, J. M. and Cutting, G. R. (2010). Mutations that permit residual CFTR function delay acquisition of multiple respiratory pathogens in CF patients. *Respir Res*, 11, 140.

- Gu, X., Karp, P. H., Brody, S. L., Pierce, R. A., Welsh, M. J., Holtzman, M. J. and Ben-Shahar, Y. (2014). Chemosensory functions for pulmonary neuroendocrine cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 50(3), 637-646.
- Gu, Y., Harley, I. T., Henderson, L. B., Aronow, B. J., Vietor, I., Huber, L. A., Harley, J. B., Kilpatrick, J. R., Langefeld, C. D., Williams, A. H., Jegga, A. G., Chen, J., Wills-Karp, M., Arshad, S. H., Ewart, S. L., Thio, C. L., Flick, L. M., Filippi, M. D., Grimes, H. L., Drumm, M. L., Cutting, G. R., Knowles, M. R. and Karp, C. L. (2009). Identification of IFRD1 as a modifier gene for cystic fibrosis lung disease. *Nature*, 458(7241), 1039-1042.
- Guo, X., Pace, R. G., Stonebraker, J. R., Commander, C. W., Dang, A. T., Drumm, M. L., Harris, A., Zou, F., Swallow, D. M., Wright, F. A., O'Neal, W. K. and Knowles, M. R. (2011). Mucin variable number tandem repeat polymorphisms and severity of cystic fibrosis lung disease: significant association with MUC5AC. *PLoS One*, 6(10), e25452.
- Haardt, M., Benharouga, M., Lechardeur, D., Kartner, N. and Lukacs, G. L. (1999). C-terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its biogenesis. A novel class of mutation. *J Biol Chem*, 274(31), 21873-21877.
- Haerynck, F., Van Steen, K., Cattaert, T., Loeys, B., Van Daele, S., Schelstraete, P., Claes, K., Van Thielen, M., De Canck, I., Mahachie John, J. M. and De Baets, F. (2012). Polymorphisms in the lectin pathway genes as a possible cause of early chronic *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients. *Hum Immunol*, 73(11), 1175-1183.
- Hamosh, A., FitzSimmons, S. C., Macek, M., Jr., Knowles, M. R., Rosenstein, B. J. and Cutting, G. R. (1998). Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr*, 132(2), 255-259.
- Hanna, R. M. and Weiner, D. J. (2015). Overweight and obesity in patients with cystic fibrosis: a center-based analysis. *Pediatr Pulmonol*, 50(1), 35-41.
- Harder, J., Meyer-Hoffert, U., Teran, L. M., Schwichtenberg, L., Bartels, J., Maune, S. and Schroder, J. M. (2000). Mucoïd *Pseudomonas aeruginosa*, TNF-alpha, and IL-1beta, but not IL-6, induce human beta-defensin-2 in respiratory epithelia. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 22(6), 714-721.
- Hardin, J. W. and Hilbe, J. M. (2002). Generalized Estimating Equations (1st ed.). *Chapman and Hall/CRC*.
- Hart, M. A., Konstan, M. W., Darrah, R. J., Schluchter, M. D., Storer-Isser, A., Xue, L., Londono, D., Goddard, K. A. and Drumm, M. L. (2005). Beta 2 adrenergic receptor polymorphisms in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 39(6), 544-550.
- HAS. (2002). Conférence de consensus- Prise en charge du patient atteint de mucoviscidose.
- HAS. (2009). Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en france : État des lieux et perspectives après 5 ans defonctionnement.
- HAS. (2017). Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) Mucoviscidose. *Guide - Affection de longue durée*.
- Haspel, J. A. and Choi, A. M. (2011). Autophagy: a core cellular process with emerging links to pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 184(11), 1237-1246.
- Heltshe, S. L., Godfrey, E. M., Josephy, T., Aitken, M. L. and Taylor-Cousar, J. L. (2017). Pregnancy among cystic fibrosis women in the era of CFTR modulators. *J Cyst Fibros*, 16(6), 687-694.
- Heltshe, S. L., Khan, U., Beckett, V., Baines, A., Emerson, J., Sanders, D. B., Gibson, R. L., Morgan, W. and Rosenfeld, M. (2018). Longitudinal development of initial, chronic and mucoïd *Pseudomonas aeruginosa* infection in young children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 17(3), 341-347.
- Henrion-Caude, A., Flamant, C., Roussey, M., Housset, C., Flahault, A., Fryer, A. A., Chadelat, K., Strange, R. C. and Clement, A. (2002). Liver disease in pediatric patients with cystic fibrosis is associated with glutathione S-transferase P1 polymorphism. *Hepatology*, 36(4 Pt 1), 913-917.
- Henry, R. L., Mellis, C. M. and Petrovic, L. (1992). Mucoïd *Pseudomonas aeruginosa* is a marker of poor survival in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 12(3), 158-161.
- Hillian, A. D., Londono, D., Dunn, J. M., Goddard, K. A., Pace, R. G., Knowles, M. R., Drumm, M. L. and Group, C. F. G. M. S. (2008). Modulation of cystic fibrosis lung disease by variants in interleukin-8. *Genes Immun*, 9(6), 501-508.

- Hoegger, M. J., Fischer, A. J., McMenimen, J. D., Ostedgaard, L. S., Tucker, A. J., Awadalla, M. A., Moninger, T. O., Michalski, A. S., Hoffman, E. A., Zabner, J., Stoltz, D. A. and Welsh, M. J. (2014). Impaired mucus detachment disrupts mucociliary transport in a piglet model of cystic fibrosis. *Science*, 345(6198), 818-822.
- Hogenauer, C., Santa Ana, C. A., Porter, J. L., Millard, M., Gelfand, A., Rosenblatt, R. L., Prestidge, C. B. and Fordtran, J. S. (2000). Active intestinal chloride secretion in human carriers of cystic fibrosis mutations: an evaluation of the hypothesis that heterozygotes have subnormal active intestinal chloride secretion. *Am J Hum Genet*, 67(6), 1422-1427.
- Hoiby, N., Ciofu, O. and Bjarnsholt, T. (2010). Pseudomonas aeruginosa biofilms in cystic fibrosis. *Future Microbiol*, 5(11), 1663-1674.
- Horiuchi, T., Gondo, H., Miyagawa, H., Otsuka, J., Inaba, S., Nagafuji, K., Takase, K., Tsukamoto, H., Koyama, T., Mitoma, H., Tamimoto, Y., Miyagi, Y., Tahira, T., Hayashi, K., Hashimura, C., Okamura, S. and Harada, M. (2005). Association of MBL gene polymorphisms with major bacterial infection in patients treated with high-dose chemotherapy and autologous PBSCT. *Genes Immun*, 6(2), 162-166.
- Hovenberg, H. W., Davies, J. R. and Carlstedt, I. (1996). Different mucins are produced by the surface epithelium and the submucosa in human trachea: identification of MUC5AC as a major mucin from the goblet cells. *Biochem J*, 318 ( Pt 1), 319-324.
- Howie, B. N., Donnelly, P. and Marchini, J. (2009). A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies. *PLoS Genet*, 5(6), e1000529.
- Howlett, C., Ronan, N. J., NiChroinin, M., Mullane, D. and Plant, B. J. (2016). Partial restoration of pancreatic function in a child with cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*, 4(5), e21-22.
- Huang, G., Krig, S., Kowbel, D., Xu, H., Hyun, B., Volik, S., Feuerstein, B., Mills, G. B., Stokoe, D., Yaswen, P. and Collins, C. (2005). ZNF217 suppresses cell death associated with chemotherapy and telomere dysfunction. *Hum Mol Genet*, 14(21), 3219-3225.
- Hull, J. and Thomson, A. H. (1998). Contribution of genetic factors other than CFTR to disease severity in cystic fibrosis. *Thorax*, 53(12), 1018-1021.
- Huot, L., Durieu, I., Bourdy, S., Ganne, C., Bellon, G., Colin, C., Touzet, S. and study, R. (2008). Evolution of costs of care for cystic fibrosis patients after clinical guidelines implementation in a French network. *J Cyst Fibros*, 7(5), 403-408.
- Ideozu, J. E., Zhang, X., McColley, S. and Levy, H. (2019). Transcriptome Profiling and Molecular Therapeutic Advances in Cystic Fibrosis: Recent Insights. *Genes (Basel)*, 10(3).
- Jack, D. L., Read, R. C., Tenner, A. J., Frosch, M., Turner, M. W. and Klein, N. J. (2001). Mannose-binding lectin regulates the inflammatory response of human professional phagocytes to Neisseria meningitidis serogroup B. *J Infect Dis*, 184(9), 1152-1162.
- Jacquot, J., Puchelle, E., Hinnrasky, J., Fuchey, C., Bettinger, C., Spilmont, C., Bonnet, N., Dieterle, A., Dreyer, D., Pavirani, A. and et al. (1993). Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in airway secretory glands. *Eur Respir J*, 6(2), 169-176.
- Jennings, M. T., Dezube, R., Paranjape, S., West, N. E., Hong, G., Braun, A., Grant, J., Merlo, C. A. and Lechtzin, N. (2017). An Observational Study of Outcomes and Tolerances in Patients with Cystic Fibrosis Initiated on Lumacaftor/Ivacaftor. *Ann Am Thorac Soc*, 14(11), 1662-1666.
- Johansen, H. K. and Hoiby, N. (1992). Seasonal onset of initial colonisation and chronic infection with Pseudomonas aeruginosa in patients with cystic fibrosis in Denmark. *Thorax*, 47(2), 109-111.
- Johansen, H. K., Nir, M., Hoiby, N., Koch, C. and Schwartz, M. (1991). Severity of cystic fibrosis in patients homozygous and heterozygous for delta F508 mutation. *Lancet*, 337(8742), 631-634.
- Jones, A. M. and Barry, P. J. (2015). Lumacaftor/ivacaftor for patients homozygous for Phe508del-CFTR: should we curb our enthusiasm? *Thorax*, 70(7), 615-616.
- Jones, R. H. and Boadi-Boateng, F. (1991). Unequally spaced longitudinal data with AR(1) serial correlation. *Biometrics*, 47(1), 161-175.

- Kaplan, E. L. and Meier, P. (1958). Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53(282), 457-481.
- Kaplan, N. L., Lewis, P. O. and Weir, B. S. (1994). Age of the delta F508 cystic fibrosis mutation. *Nat Genet*, 8(3), 216-218.
- Keiser, N. W., Birket, S. E., Evans, I. A., Tyler, S. R., Crooke, A. K., Sun, X., Zhou, W., Nellis, J. R., Stroebele, E. K., Chu, K. K., Tearney, G. J., Stevens, M. J., Harris, J. K., Rowe, S. M. and Engelhardt, J. F. (2015). Defective innate immunity and hyperinflammation in newborn cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-knockout ferret lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 52(6), 683-694.
- Kelly, A., De Leon, D. D., Sheikh, S., Camburn, D., Kubrak, C., Peleckis, A. J., Stefanovski, D., Hadjiliadis, D., Rickels, M. R. and Rubenstein, R. C. (2019). Islet Hormone and Incretin Secretion in Cystic Fibrosis after Four Months of Ivacaftor Therapy. *Am J Respir Crit Care Med*, 199(3), 342-351.
- Kerem, B., Rommens, J. M., Buchanan, J. A., Markiewicz, D., Cox, T. K., Chakravarti, A., Buchwald, M. and Tsui, L. C. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science (New York, N.Y.)*, 245, 1073-1080.
- Kerem, E., Conway, S., Elborn, S., Heijerman, H. and Consensus, C. (2005). Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros*, 4(1), 7-26.
- Kerem, E., Corey, M., Gold, R. and Levison, H. (1990). Pulmonary function and clinical course in patients with cystic fibrosis after pulmonary colonization with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pediatr*, 116(5), 714-719.
- Kerem, E., Corey, M., Kerem, B. S., Rommens, J., Markiewicz, D., Levison, H., Tsui, L. C. and Durie, P. (1990). The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis--analysis of the most common mutation (delta F508). *N Engl J Med*, 323(22), 1517-1522.
- Kerem, E., Corey, M., Stein, R., Gold, R. and Levison, H. (1990). Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients. *Pediatr Infect Dis J*, 9(7), 494-498.
- Khanolkar, R. A., Clark, S. T., Wang, P. W., Hwang, D. M., Yau, Y. C. W., Waters, V. J. and Guttman, D. S. (2020). Ecological Succession of Polymicrobial Communities in the Cystic Fibrosis Airways. *mSystems*, 5(6).
- Kilpatrick, D. C. (2002). Mannan-binding lectin: clinical significance and applications. *Biochim Biophys Acta*, 1572(2-3), 401-413.
- Kim, D. Y., Sato, A., Fukuyama, S., Sagara, H., Nagatake, T., Kong, I. G., Goda, K., Nochi, T., Kunisawa, J., Sato, S., Yokota, Y., Lee, C. H. and Kiyono, H. (2011). The airway antigen sampling system: respiratory M cells as an alternative gateway for inhaled antigens. *J Immunol*, 186(7), 4253-4262.
- Kim, S. J. and Skach, W. R. (2012). Mechanisms of CFTR Folding at the Endoplasmic Reticulum. *Front Pharmacol*, 3, 201.
- Kimura, S., Noda, T. and Yoshimori, T. (2008). Dynein-dependent movement of autophagosomes mediates efficient encounters with lysosomes. *Cell Struct Funct*, 33(1), 109-122.
- Kmit, A., Marson, F. A. L., Pereira, S. V., Vinagre, A. M., Leite, G. S., Servidoni, M. F., Ribeiro, J. D., Ribeiro, A. F., Bertuzzo, C. S. and Amaral, M. D. (2019). Extent of rescue of F508del-CFTR function by VX-809 and VX-770 in human nasal epithelial cells correlates with SNP rs7512462 in SLC26A9 gene in F508del/F508del Cystic Fibrosis patients. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1865(6), 1323-1331.
- Knowles, M. R., Carson, J. L., Collier, A. M., Gatzky, J. T. and Boucher, R. C. (1981). Measurements of nasal transepithelial electric potential differences in normal human subjects in vivo. *Am Rev Respir Dis*, 124(4), 484-490.
- Knowles, M. R., Paradiso, A. M. and Boucher, R. C. (1995). In vivo nasal potential difference: techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther*, 6(4), 445-455.
- Ko, S. B., Zeng, W., Dorwart, M. R., Luo, X., Kim, K. H., Millen, L., Goto, H., Naruse, S., Soyombo, A., Thomas, P. J. and Muallem, S. (2004). Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters. *Nat Cell Biol*, 6(4), 343-350.
- Koch, A., Melbye, M., Sorensen, P., Homoe, P., Madsen, H. O., Molbak, K., Hansen, C. H., Andersen, L. H., Hahn, G. W. and Garred, P. (2001). Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA*, 285(10), 1316-1321.

- Konstan, M. W., McKone, E. F., Moss, R. B., Marigowda, G., Tian, S., Waltz, D., Huang, X., Lubarsky, B., Rubin, J., Millar, S. J., Pasta, D. J., Mayer-Hamblett, N., Goss, C. H., Morgan, W. and Sawicki, G. S. (2017). Assessment of safety and efficacy of long-term treatment with combination lumacaftor and ivacaftor therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation (PROGRESS): a phase 3, extension study. *Lancet Respir Med*, 5(2), 107-118.
- Konstan, M. W., Morgan, W. J., Butler, S. M., Pasta, D. J., Craib, M. L., Silva, S. J., Stokes, D. C., Wohl, M. E., Wagener, J. S., Regelman, W. E., Johnson, C. A., Scientific Advisory, G., the, I. and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic, F. (2007). Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr*, 151(2), 134-139, 139 e131.
- Kosorok, M. R., Jalaluddin, M., Farrell, P. M., Shen, G., Colby, C. E., Laxova, A., Rock, M. J. and Splaingard, M. (1998). Comprehensive analysis of risk factors for acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology*, 26, 81-88.
- Kosorok, M. R., Wei, W. H. and Farrell, P. M. (1996). The incidence of cystic fibrosis. *Stat Med*, 15(5), 449-462.
- Kosorok, M. R., Zeng, L., West, S. E., Rock, M. J., Splaingard, M. L., Laxova, A., Green, C. G., Collins, J. and Farrell, P. M. (2001). Acceleration of lung disease in children with cystic fibrosis after *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. *Pediatr Pulmonol*, 32(4), 277-287.
- Kotloff, R. M., FitzSimmons, S. C. and Fiel, S. B. (1992). Fertility and pregnancy in patients with cystic fibrosis. *Clin Chest Med*, 13(4), 623-635.
- Kramer, E. L. and Clancy, J. P. (2018). TGFbeta as a therapeutic target in cystic fibrosis. *Expert Opin Ther Targets*, 22(2), 177-189.
- Kreda, S. M., Mall, M., Mengos, A., Rochelle, L., Yankaskas, J., Riordan, J. R. and Boucher, R. C. (2005). Characterization of wild-type and deltaF508 cystic fibrosis transmembrane regulator in human respiratory epithelia. *Mol Biol Cell*, 16(5), 2154-2167.
- Kubesch, P., Dork, T., Wulbrand, U., Kalin, N., Neumann, T., Wulf, B., Geerlings, H., Weissbrodt, H., von der Hardt, H. and Tummler, B. (1993). Genetic determinants of airways' colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Lancet*, 341(8839), 189-193.
- Kulich, M., Rosenfeld, M., Campbell, J., Kronmal, R., Gibson, R. L., Goss, C. H. and Ramsey, B. (2005). Disease-specific reference equations for lung function in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 172(7), 885-891.
- Kunzelmann, K., Kathofer, S. and Greger, R. (1995). Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> conductances in airway epithelial cells: increased Na<sup>+</sup> conductance in cystic fibrosis. *Pflugers Arch*, 431(1), 1-9.
- Kunzelmann, K., Mall, M., Briel, M., Hipper, A., Nitschke, R., Ricken, S. and Greger, R. (1997). The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator attenuates the endogenous Ca<sup>2+</sup> activated Cl<sup>-</sup> conductance of *Xenopus* oocytes. *Pflugers Arch*, 435(1), 178-181.
- Kutney, K., Donnola, S. B., Flask, C. A., Gubitosi-Klug, R., O'Riordan, M., McBennett, K., Sferra, T. J. and Kaminski, B. (2019). Lumacaftor/ivacaftor therapy is associated with reduced hepatic steatosis in cystic fibrosis patients. *World J Hepatol*, 11(12), 761-772.
- L'assurance maladie, Boutrelle, A., Nathalie Vallier, N., Gaspari, F., Sophie Pépin, S. and Weill, A. (2007). Prise en charge de la mucoviscidose en affection de longue durée (ALD). *Points de repère n°7. Mars 2007*.
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., FitzHugh, W., Funke, R., Gage, D., Harris, K., Heaford, A., Howland, J., Kann, L., Lehoczky, J., LeVine, R., McEwan, P., McKernan, K., Meldrim, J., Mesirov, J. P., Miranda, C., Morris, W., Naylor, J., Raymond, C., Rosetti, M., Santos, R., Sheridan, A., Sougnez, C., Stange-Thomann, Y., Stojanovic, N., Subramanian, A., Wyman, D., Rogers, J., Sulston, J., Ainscough, R., Beck, S., Bentley, D., Burton, J., Clee, C., Carter, N., Coulson, A., Deadman, R., Deloukas, P., Dunham, A., Dunham, I., Durbin, R., French, L., Grafham, D., Gregory, S., Hubbard, T., Humphray, S., Hunt, A., Jones, M., Lloyd, C., McMurray, A., Matthews, L., Mercer, S., Milne, S., Mullikin, J. C., Mungall, A., Plumb, R., Ross, M., Shownkeen, R., Sims, S., Waterston, R. H., Wilson, R. K., Hillier, L. W., McPherson, J. D., Marra, M. A., Mardis, E. R., Fulton, L. A., Chinwalla, A. T., Pepin, K. H., Gish, W. R., Chissoe, S. L., Wendl, M. C., Delehaunty, K. D., Miner, T. L., Delehaunty, A., Kramer, J. B., Cook, L. L., Fulton, R. S., Johnson, D. L., Minx, P. J., Clifton, S. W., Hawkins, T., Branscomb, E., Predki, P., Richardson, P., Wenning, S., Slezak, T.,

Doggett, N., Cheng, J. F., Olsen, A., Lucas, S., Elkin, C., Uberbacher, E., Frazier, M., Gibbs, R. A., Muzny, D. M., Scherer, S. E., Bouck, J. B., Sodergren, E. J., Worley, K. C., Rives, C. M., Gorrell, J. H., Metzker, M. L., Naylor, S. L., Kucherlapati, R. S., Nelson, D. L., Weinstock, G. M., Sakaki, Y., Fujiyama, A., Hattori, M., Yada, T., Toyoda, A., Itoh, T., Kawagoe, C., Watanabe, H., Totoki, Y., Taylor, T., Weissenbach, J., Heilig, R., Saurin, W., Artiguenave, F., Brottier, P., Bruls, T., Pelletier, E., Robert, C., Wincker, P., Smith, D. R., Doucette-Stamm, L., Rubenfield, M., Weinstock, K., Lee, H. M., Dubois, J., Rosenthal, A., Platzer, M., Nyakatura, G., Taudien, S., Rump, A., Yang, H., Yu, J., Wang, J., Huang, G., Gu, J., Hood, L., Rowen, L., Madan, A., Qin, S., Davis, R. W., Federspiel, N. A., Abola, A. P., Proctor, M. J., Myers, R. M., Schmutz, J., Dickson, M., Grimwood, J., Cox, D. R., Olson, M. V., Kaul, R., Raymond, C., Shimizu, N., Kawasaki, K., Minoshima, S., Evans, G. A., Athanasiou, M., Schultz, R., Roe, B. A., Chen, F., Pan, H., Ramser, J., Lehrach, H., Reinhardt, R., McCombie, W. R., de la Bastide, M., Dedhia, N., Blocker, H., Hornischer, K., Nordtsiek, G., Agarwala, R., Aravind, L., Bailey, J. A., Bateman, A., Batzoglou, S., Birney, E., Bork, P., Brown, D. G., Burge, C. B., Cerutti, L., Chen, H. C., Church, D., Clamp, M., Copley, R. R., Doerks, T., Eddy, S. R., Eichler, E. E., Furey, T. S., Galagan, J., Gilbert, J. G., Harmon, C., Hayashizaki, Y., Haussler, D., Hermjakob, H., Hokamp, K., Jang, W., Johnson, L. S., Jones, T. A., Kasif, S., Kasprzyk, A., Kennedy, S., Kent, W. J., Kitts, P., Koonin, E. V., Korf, I., Kulp, D., Lancet, D., Lowe, T. M., McLysaght, A., Mikkelsen, T., Moran, J. V., Mulder, N., Pollara, V. J., Ponting, C. P., Schuler, G., Schultz, J., Slater, G., Smit, A. F., Stupka, E., Szustakowki, J., Thierry-Mieg, D., Thierry-Mieg, J., Wagner, L., Wallis, J., Wheeler, R., Williams, A., Wolf, Y. I., Wolfe, K. H., Yang, S. P., Yeh, R. F., Collins, F., Guyer, M. S., Peterson, J., Felsenfeld, A., Wetterstrand, K. A., Patrinos, A., Morgan, M. J., de Jong, P., Catanese, J. J., Osoegawa, K., Shizuya, H., Choi, S., Chen, Y. J., Szustakowki, J. and International Human Genome Sequencing, C. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822), 860-921.

Landsteiner, K. (1905). Darmverschluss durch eingedicktes Meconium. *Pankreatitis, Centralbl f allg Path u path Anat*, 16, 903.

Laurie, C. C., Doheny, K. F., Mirel, D. B., Pugh, E. W., Bierut, L. J., Bhangale, T., Boehm, F., Caporaso, N. E., Cornelis, M. C., Edenberg, H. J., Gabriel, S. B., Harris, E. L., Hu, F. B., Jacobs, K. B., Kraft, P., Landi, M. T., Lumley, T., Manolio, T. A., McHugh, C., Painter, I., Paschall, J., Rice, J. P., Rice, K. M., Zheng, X., Weir, B. S. and Investigators, G. (2010). Quality control and quality assurance in genotypic data for genome-wide association studies. *Genet Epidemiol*, 34(6), 591-602.

Lazarczyk, M. and Favre, M. (2008). Role of Zn<sup>2+</sup> ions in host-virus interactions. *J Virol*, 82(23), 11486-11494.

Le Heron, L., Guillaume, C., Velard, F., Braux, J., Touqui, L., Moriceau, S., Sermet-Gaudelus, I., Laurent-Maquin, D. and Jacquot, J. (2010). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) regulates the production of osteoprotegerin (OPG) and prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> in human bone. *J Cyst Fibros*, 9(1), 69-72.

Ledder, O., Haller, W., Couper, R. T., Lewindon, P. and Oliver, M. (2014). Cystic fibrosis: an update for clinicians. Part 2: hepatobiliary and pancreatic manifestations. *J Gastroenterol Hepatol*, 29(12), 1954-1962.

Lee, T. W., Brownlee, K. G., Conway, S. P., Denton, M. and Littlewood, J. M. (2003). Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*, 2(1), 29-34.

Lee, T. W., Southern, K. W., Perry, L. A., Penny-Dimri, J. C. and Aslam, A. A. (2016). Topical cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene replacement for cystic fibrosis-related lung disease. *Cochrane Database Syst Rev*(6), CD005599.

Levy, H., Kalish, L. A., Cannon, C. L., Garcia, K. C., Gerard, C., Goldmann, D., Pier, G. B., Weiss, S. T. and Colin, A. A. (2008). Predictors of mucoid *Pseudomonas* colonization in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*, 43(5), 463-471.

Levy, H., Murphy, A., Zou, F., Gerard, C., Klanderma, B., Schuemann, B., Lazarus, R., Garcia, K. C., Celedon, J. C., Drumm, M., Dahmer, M., Quasney, M., Schneck, K., Reske, M., Knowles, M. R., Pier, G. B., Lange, C. and Weiss, S. T. (2009). IL1B polymorphisms modulate cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol*, 44(6), 580-593.

Li, W., Soave, D., Miller, M. R., Keenan, K., Lin, F., Gong, J., Chiang, T., Stephenson, A. L., Durie, P., Rommens, J., Sun, L. and Strug, L. J. (2014). Unraveling the complex genetic model for cystic fibrosis: pleiotropic effects of modifier genes on early cystic fibrosis-related morbidities. *Hum Genet*, 133(2), 151-161.

Li, Z., Kosorok, M. R., Farrell, P. M., Laxova, A., West, S. E., Green, C. G., Collins, J., Rock, M. J. and Splaingard, M. L. (2005). Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis. *JAMA*, 293(5), 581-588.

Liang, K.-Y. and Zeger, S. L. (1986). Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika*, 73(1), 13-22.

- Limoli, D. H., Yang, J., Khansaheb, M. K., Helfman, B., Peng, L., Stecenko, A. A. and Goldberg, J. B. (2016). Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa co-infection is associated with cystic fibrosis-related diabetes and poor clinical outcomes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 35(6), 947-953.
- Linnane, B. M., Hall, G. L., Nolan, G., Brennan, S., Stick, S. M., Sly, P. D., Robertson, C. F., Robinson, P. J., Franklin, P. J., Turner, S. W., Ranganathan, S. C. and Arest, C. F. (2008). Lung function in infants with cystic fibrosis diagnosed by newborn screening. *Am J Respir Crit Care Med*, 178(12), 1238-1244.
- Linsdell, P. and Hanrahan, J. W. (1998). Glutathione permeability of CFTR. *Am J Physiol*, 275(1), C323-326.
- Linsdell, P., Tabcharani, J. A., Rommens, J. M., Hou, Y. X., Chang, X. B., Tsui, L. C., Riordan, J. R. and Hanrahan, J. W. (1997). Permeability of wild-type and mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channels to polyatomic anions. *J Gen Physiol*, 110(4), 355-364.
- Lipuma, J. J. (2010). The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*, 23(2), 299-323.
- Liu, X., Li, T., Riederer, B., Lenzen, H., Ludolph, L., Yeruva, S., Tuo, B., Soleimani, M. and Seidler, U. (2015). Loss of Slc26a9 anion transporter alters intestinal electrolyte and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport and reduces survival in CFTR-deficient mice. *Pflugers Arch*, 467(6), 1261-1275.
- Lopes-Pacheco, M. (2016). CFTR Modulators: Shedding Light on Precision Medicine for Cystic Fibrosis. *Frontiers in Pharmacology*, 7(275).
- Loussouarn, G., Demolombe, S., Mohammad-Panah, R., Escande, D. and Baro, I. (1996). Expression of CFTR controls cAMP-dependent activation of epithelial K<sup>+</sup> currents. *Am J Physiol*, 271(5 Pt 1), C1565-1573.
- Lukacs, G. L., Chang, X. B., Bear, C., Kartner, N., Mohamed, A., Riordan, J. R. and Grinstein, S. (1993). The delta F508 mutation decreases the stability of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the plasma membrane. Determination of functional half-lives on transfected cells. *J Biol Chem*, 268(29), 21592-21598.
- Mall, M., Bleich, M., Greger, R., Schreiber, R. and Kunzelmann, K. (1998). The amiloride-inhibitable Na<sup>+</sup> conductance is reduced by the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in normal but not in cystic fibrosis airways. *J Clin Invest*, 102(1), 15-21.
- Marshall, B. C., Butler, S. M., Stoddard, M., Moran, A. M., Liou, T. G. and Morgan, W. J. (2005). Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr*, 146(5), 681-687.
- Martin, A. C., Laing, I. A., Zhang, G., Brennan, S., Winfield, K., Sly, P. D., Stick, S. M., Goldblatt, J. and LeSouef, P. N. (2005). CD14 C-159T and early infection with Pseudomonas aeruginosa in children with cystic fibrosis. *Respir Res*, 6, 63.
- Martin, C., Thevenot, G., Danel, S., Chapron, J., Tazi, A., Macey, J., Dusser, D. J., Fajac, I. and Burgel, P. R. (2011). Pseudomonas aeruginosa induces vascular endothelial growth factor synthesis in airway epithelium in vitro and in vivo. *Eur Respir J*, 38(4), 939-946.
- Marty, N., Pasquier, C., Dournes, J. L., Chemin, K., Chavagnat, F., Guinand, M., Chabanon, G., Pipy, B. and Montrozier, H. (1998). Effects of characterised Pseudomonas aeruginosa exopolysaccharides on adherence to human tracheal cells. *J Med Microbiol*, 47(2), 129-134.
- Maselli, J. H., Sontag, M. K., Norris, J. M., MacKenzie, T., Wagener, J. S. and Accurso, F. J. (2003). Risk factors for initial acquisition of Pseudomonas aeruginosa in children with cystic fibrosis identified by newborn screening. *Pediatric Pulmonology*, 35, 257-262.
- McDougal, K. E., Green, D. M., Vanscoy, L. L., Fallin, M. D., Grow, M., Cheng, S., Blackman, S. M., Collaco, J. M., Henderson, L. B., Naughton, K. and Cutting, G. R. (2010). Use of a modeling framework to evaluate the effect of a modifier gene (MBL2) on variation in cystic fibrosis. *Eur J Hum Genet*, 18(6), 680-684.
- McElvaney, N. G. (2016). Alpha-1 Antitrypsin Therapy in Cystic Fibrosis and the Lung Disease Associated with Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Ann Am Thorac Soc*, 13 Suppl 2, S191-196.
- McKone, E. F., Borowitz, D., Drevinek, P., Griese, M., Konstan, M. W., Wainwright, C., Ratjen, F., Sermet-Gaudelus, I., Plant, B., Munck, A., Jiang, Y., Gilmartin, G., Davies, J. C. and Group, V. X. S. (2014). Long-term safety and efficacy of ivacaftor in

- patients with cystic fibrosis who have the Gly551Asp-CFTR mutation: a phase 3, open-label extension study (PERSIST). *Lancet Respir Med*, 2(11), 902-910.
- McNicholas, C. M., Guggino, W. B., Schwiebert, E. M., Hebert, S. C., Giebisch, G. and Egan, M. E. (1996). Sensitivity of a renal K<sup>+</sup> channel (ROMK2) to the inhibitory sulfonyleurea compound glibenclamide is enhanced by coexpression with the ATP-binding cassette transporter cystic fibrosis transmembrane regulator. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(15), 8083-8088.
- McPhail, G. L., Acton, J. D., Fenchel, M. C., Amin, R. S. and Seid, M. (2008). Improvements in lung function outcomes in children with cystic fibrosis are associated with better nutrition, fewer chronic pseudomonas aeruginosa infections, and dornase alfa use. *J Pediatr*, 153(6), 752-757.
- Meindl, R. S. (1987). Hypothesis: a selective advantage for cystic fibrosis heterozygotes. *American Journal of Physical Anthropology*, 74, 39-45.
- Mekus, F., Ballmann, M., Bronsveld, I., Bijman, J., Veeze, H. and Tummler, B. (2000). Categories of deltaF508 homozygous cystic fibrosis twin and sibling pairs with distinct phenotypic characteristics. *Twin Res*, 3(4), 277-293.
- Mercier, J., Ruffin, M., Corvol, H. and Guillot, L. (2021). Gene Therapy: A Possible Alternative to CFTR Modulators? *Front Pharmacol*, 12, 648203.
- Merlo, C. A., Boyle, M. P., Diener-West, M., Marshall, B. C., Goss, C. H. and Lechtzin, N. (2007). Incidence and risk factors for multiple antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis. *Chest*, 132(2), 562-568.
- Mesinele, J., Ruffin, M., Kemgang, A., Guillot, L., Boelle, P. Y. and Corvol, H. (2021). Risk factors for Pseudomonas aeruginosa airway infection and lung function decline in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*.
- Middleton, P. G., Mall, M. A., Drevinek, P., Lands, L. C., McKone, E. F., Polineni, D., Ramsey, B. W., Taylor-Cousar, J. L., Tullis, E., Vermeulen, F., Marigowda, G., McKee, C. M., Moskowitz, S. M., Nair, N., Savage, J., Simard, C., Tian, S., Waltz, D., Xuan, F., Rowe, S. M., Jain, R. and Group, V. X. S. (2019). Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med*, 381(19), 1809-1819.
- Miller, M. R., Soave, D., Li, W., Gong, J., Pace, R. G., Boelle, P. Y., Cutting, G. R., Drumm, M. L., Knowles, M. R., Sun, L., Rommens, J. M., Accurso, F., Durie, P. R., Corvol, H., Levy, H., Sontag, M. K. and Strug, L. J. (2015). Variants in Solute Carrier SLC26A9 Modify Prenatal Exocrine Pancreatic Damage in Cystic Fibrosis. *J Pediatr*, 166(5), 1152-1157 e1156.
- Miranda, R. C., Vetter, S. B., Genro, J. P., Campagnolo, P. D., Mattevi, V. S., Vitolo, M. R. and Almeida, S. (2015). SLC6A14 and 5-HT<sub>2C</sub> polymorphisms are associated with food intake and nutritional status in children. *Clin Biochem*, 48(18), 1277-1282.
- Modiano, G., Ciminelli, B. M. and Pignatti, P. F. (2007). Cystic fibrosis and lactase persistence: a possible correlation. *Eur J Hum Genet*, 15(3), 255-259.
- Moheet, A., Beisang, D., Zhang, L., Sagel, S. D., VanDalfsen, J. M., Heltshe, S. L., Frederick, C., Mann, M., Antos, N., Billings, J., Rowe, S. M., Moran, A. and Network, P. I. o. t. C. F. F. T. D. (2021). Lumacaftor/ivacaftor therapy fails to increase insulin secretion in F508del/F508del CF patients. *J Cyst Fibros*, 20(2), 333-338.
- Moller-Kristensen, M., Ip, W. K., Shi, L., Gowda, L. D., Hamblin, M. R., Thiel, S., Jensenius, J. C., Ezekowitz, R. A. and Takahashi, K. (2006). Deficiency of mannose-binding lectin greatly increases susceptibility to postburn infection with Pseudomonas aeruginosa. *J Immunol*, 176(3), 1769-1775.
- Montoro, D. T., Haber, A. L., Biton, M., Vinarsky, V., Lin, B., Birket, S. E., Yuan, F., Chen, S., Leung, H. M., Villoria, J., Rogel, N., Burgin, G., Tsankov, A. M., Waghay, A., Slyper, M., Waldman, J., Nguyen, L., Dionne, D., Rozenblatt-Rosen, O., Tata, P. R., Mou, H., Shivaraju, M., Bihler, H., Mense, M., Tearney, G. J., Rowe, S. M., Engelhardt, J. F., Regev, A. and Rajagopal, J. (2018). A revised airway epithelial hierarchy includes CFTR-expressing ionocytes. *Nature*, 560(7718), 319-324.
- Moreau-Marquis, S., Bomberger, J. M., Anderson, G. G., Swiatecka-Urban, A., Ye, S., O'Toole, G. A. and Stanton, B. A. (2008). The DeltaF508-CFTR mutation results in increased biofilm formation by Pseudomonas aeruginosa by increasing iron availability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 295(1), L25-37.
- Morrall, N., Bertranpetit, J., Estivill, X., Nunes, V., Casals, T., Giménez, J., Reis, A., Varon-Mateeva, R., Macek, M. and Kalaydjieva, L. (1994). The origin of the major cystic fibrosis mutation (delta F508) in European populations. *Nature Genetics*, 7, 169-175.

- Morrone, M., Cangiotti, A. M. and Cinti, S. (2007). Brush cells in the human duodenojejunal junction: an ultrastructural study. *J Anat*, 211(1), 125-131.
- Mostafa, M. M., Rider, C. F., Shah, S., Traves, S. L., Gordon, P. M. K., Miller-Larsson, A., Leigh, R. and Newton, R. (2019). Glucocorticoid-driven transcriptomes in human airway epithelial cells: commonalities, differences and functional insight from cell lines and primary cells. *BMC Med Genomics*, 12(1), 29.
- Munck, A. and Roussey, M. (2008). [The French nationwide cystic fibrosis newborn screening program: strategy and results]. *Arch Pediatr*, 15 Suppl 1, S1-6.
- Musken, M., Di Fiore, S., Dotsch, A., Fischer, R. and Haussler, S. (2010). Genetic determinants of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm establishment. *Microbiology (Reading)*, 156(Pt 2), 431-441.
- Nair, V. R., Franco, L. H., Zacharia, V. M., Khan, H. S., Stamm, C. E., You, W., Marciano, D. K., Yagita, H., Levine, B. and Shiloh, M. U. (2016). Microfold Cells Actively Translocate Mycobacterium tuberculosis to Initiate Infection. *Cell Rep*, 16(5), 1253-1258.
- Nazareth, D. and Walshaw, M. (2013). A review of renal disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 12(4), 309-317.
- Nichols, A. L., Davies, J. C., Jones, D. and Carr, S. B. (2020). Restoration of exocrine pancreatic function in older children with cystic fibrosis on ivacaftor. *Paediatr Respir Rev*, 35, 99-102.
- Nove-Josserand, R., Grard, S., Auzou, L., Reix, P., Murriss-Espin, M., Bremont, F., Mammar, B., Mely, L., Hubert, D., Durieu, I. and Burgel, P. R. (2017). Case series of omalizumab for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*, 52(2), 190-197.
- O'Connor, G. T., Quinton, H. B., Kneeland, T., Kahn, R., Lever, T., Maddock, J., Robichaud, P., Detzer, M. and Swartz, D. R. (2003). Median household income and mortality rate in cystic fibrosis. *Pediatrics*, 111(4 Pt 1), e333-339.
- O'Leary, C. E., Schneider, C. and Locksley, R. M. (2019). Tuft Cells-Systemically Dispersed Sensory Epithelia Integrating Immune and Neural Circuitry. *Annu Rev Immunol*, 37, 47-72.
- Okuda, K., Dang, H., Kobayashi, Y., Carraro, G., Nakano, S., Chen, G., Kato, T., Asakura, T., Gilmore, R. C., Morton, L. C., Lee, R. E., Mascenik, T., Yin, W. N., Barbosa Cardenas, S. M., O'Neal, Y. K., Minnick, C. E., Chua, M., Quinney, N. L., Gentsch, M., Anderson, C. W., Ghio, A., Matsui, H., Nagase, T., Ostrowski, L. E., Grubb, B. R., Olsen, J. C., Randell, S. H., Stripp, B. R., Tata, P. R., O'Neal, W. K. and Boucher, R. C. (2021). Secretory Cells Dominate Airway CFTR Expression and Function in Human Airway Superficial Epithelia. *Am J Respir Crit Care Med*, 203(10), 1275-1289.
- Ooi, C. Y., Syed, S. A., Rossi, L., Garg, M., Needham, B., Avolio, J., Young, K., Surette, M. G. and Gonska, T. (2018). Impact of CFTR modulation with Ivacaftor on Gut Microbiota and Intestinal Inflammation. *Sci Rep*, 8(1), 17834.
- Ouadah, Y., Rojas, E. R., Riordan, D. P., Capostagno, S., Kuo, C. S. and Krasnow, M. A. (2019). Rare Pulmonary Neuroendocrine Cells Are Stem Cells Regulated by Rb, p53, and Notch. *Cell*, 179(2), 403-416 e423.
- Pamukcu, A., Bush, A. and Buchdahl, R. (1995). Effects of *pseudomonas aeruginosa* colonization on lung function and anthropometric variables in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 19(1), 10-15.
- Parad, R. B., Gerard, C. J., Zurakowski, D., Nichols, D. P. and Pier, G. B. (1999). Pulmonary outcome in cystic fibrosis is influenced primarily by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and immune status and only modestly by genotype. *Infect Immun*, 67(9), 4744-4750.
- Park, J. E., Yung, R., Stefanowicz, D., Shumansky, K., Akhabir, L., Durie, P. R., Corey, M., Zielenski, J., Dorfman, R., Daley, D. and Sandford, A. J. (2011). Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Genes Immun*, 12(5), 370-377.
- Pereira, S. V., Ribeiro, J. D., Bertuzzo, C. S. and Marson, F. A. L. (2017). Association of clinical severity of cystic fibrosis with variants in the SLC gene family (SLC6A14, SLC26A9, SLC11A1 and SLC9A3). *Gene*, 629, 117-126.
- Perisson, C., Destruys, L., Grenet, D., Bassinet, L., Derelle, J., Sermet-Gaudelus, I., Thumerelle, C., Prevotat, A., Rosner, V., Clement, A. and Corvol, H. (2017). Omalizumab treatment for allergic bronchopulmonary aspergillosis in young patients with cystic fibrosis. *Respir Med*, 133, 12-15.

- Pier, G. B., Grout, M., Zaidi, T., Meluleni, G., Mueschenborn, S. S., Banting, G., Ratcliff, R., Evans, M. J. and Colledge, W. H. (1998). Salmonella typhi uses CFTR to enter intestinal epithelial cells. *Nature*, 393(6680), 79-82.
- Pillarisetti, N., Williamson, E., Linnane, B., Skoric, B., Robertson, C. F., Robinson, P., Massie, J., Hall, G. L., Sly, P., Stick, S., Ranganathan, S. and Australian Respiratory Early Surveillance Team for Cystic, F. (2011). Infection, inflammation, and lung function decline in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 184(1), 75-81.
- Pittman, J. E., Calloway, E. H., Kiser, M., Yeatts, J., Davis, S. D., Drumm, M. L., Schechter, M. S., Leigh, M. W., Emond, M., Van Rie, A. and Knowles, M. R. (2011). Age of Pseudomonas aeruginosa acquisition and subsequent severity of cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol*, 46(5), 497-504.
- Pittman, J. E., Noah, H., Calloway, H. E., Davis, S. D., Leigh, M. W., Drumm, M., Sagel, S. D., Accurso, F. J., Knowles, M. R. and Sontag, M. K. (2017). Early childhood lung function is a stronger predictor of adolescent lung function in cystic fibrosis than early Pseudomonas aeruginosa infection. *PLoS One*, 12(5), e0177215.
- Pittman, J. E., Wylie, K. M., Akers, K., Storch, G. A., Hatch, J., Quante, J., Frayman, K. B., Clarke, N., Davis, M., Stick, S. M., Hall, G. L., Montgomery, G., Ranganathan, S., Davis, S. D., Ferkol, T. W. and Australian Respiratory Early Surveillance Team for Cystic, F. (2017). Association of Antibiotics, Airway Microbiome, and Inflammation in Infants with Cystic Fibrosis. *Ann Am Thorac Soc*, 14(10), 1548-1555.
- Plant, B. J., Gallagher, C. G., Bucala, R., Baugh, J. A., Chappell, S., Morgan, L., O'Connor, C. M., Morgan, K. and Donnelly, S. C. (2005). Cystic fibrosis, disease severity, and a macrophage migration inhibitory factor polymorphism. *Am J Respir Crit Care Med*, 172(11), 1412-1415.
- Plasschaert, L. W., Zilionis, R., Choo-Wing, R., Savova, V., Knehr, J., Roma, G., Klein, A. M. and Jaffe, A. B. (2018). A single-cell atlas of the airway epithelium reveals the CFTR-rich pulmonary ionocyte. *Nature*, 560(7718), 377-381.
- Poolman, E. M. and Galvani, A. P. (2007). Evaluating candidate agents of selective pressure for cystic fibrosis. *Journal of the Royal Society, Interface*, 4, 91-98.
- Preisser, J. S., Lohman, K. K. and Rathouz, P. J. (2002). Performance of weighted estimating equations for longitudinal binary data with drop-outs missing at random. *Stat Med*, 21(20), 3035-3054.
- Pressler, T., Bohmova, C., Conway, S., Dumcius, S., Hjelte, L., Hoiby, N., Kollberg, H., Tummler, B. and Vavrova, V. (2011). Chronic Pseudomonas aeruginosa infection definition: EuroCareCF Working Group report. *J Cyst Fibros*, 10 Suppl 2, S75-78.
- Proesmans, M., Vermeulen, F., Boulanger, L., Verhaegen, J. and De Boeck, K. (2013). Comparison of two treatment regimens for eradication of Pseudomonas aeruginosa infection in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 12(1), 29-34.
- Psoter, K. J., AJ, D. E. R., Wakefield, J., Mayer, J. D., Bryan, M. and Rosenfeld, M. (2016). Association of meteorological and geographical factors and risk of initial Pseudomonas aeruginosa acquisition in young children with cystic fibrosis. *Epidemiol Infect*, 144(5), 1075-1083.
- Psoter, K. J., De Roos, A. J., Mayer, J. D., Kaufman, J. D., Wakefield, J. and Rosenfeld, M. (2015). Fine particulate matter exposure and initial Pseudomonas aeruginosa acquisition in cystic fibrosis. *Ann Am Thorac Soc*, 12(3), 385-391.
- Psoter, K. J., De Roos, A. J., Wakefield, J., Mayer, J. and Rosenfeld, M. (2013). Season is associated with Pseudomonas aeruginosa acquisition in young children with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Infect*, 19(11), E483-489.
- Psoter, K. J., De Roos, A. J., Wakefield, J., Mayer, J. D. and Rosenfeld, M. (2017a). Air pollution exposure is associated with MRSA acquisition in young U.S. children with cystic fibrosis. *BMC Pulm Med*, 17(1), 106.
- Psoter, K. J., De Roos, A. J., Wakefield, J., Mayer, J. D. and Rosenfeld, M. (2017b). Seasonality of acquisition of respiratory bacterial pathogens in young children with cystic fibrosis. *BMC Infect Dis*, 17(1), 411.
- Psoter, K. J., Rosenfeld, M., De Roos, A. J., Mayer, J. D. and Wakefield, J. (2014). Differential geographical risk of initial Pseudomonas aeruginosa acquisition in young US children with cystic fibrosis. *Am J Epidemiol*, 179(12), 1503-1513.
- Quanjer, P. H., Stanojevic, S., Cole, T. J., Baur, X., Hall, G. L., Culver, B. H., Enright, P. L., Hankinson, J. L., Ip, M. S., Zheng, J., Stocks, J. and Initiative, E. R. S. G. L. F. (2012). Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*, 40(6), 1324-1343.

- Ramsey, B. W., Davies, J., McElvaney, N. G., Tullis, E., Bell, S. C., Drevinek, P., Griese, M., McKone, E. F., Wainwright, C. E., Konstan, M. W., Moss, R., Ratjen, F., Sermet-Gaudelus, I., Rowe, S. M., Dong, Q., Rodriguez, S., Yen, K., Ordonez, C. and Elborn, J. S. (2011). A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med*, 365(18), 1663-1672.
- Ramsey, K. A., Ranganathan, S., Park, J., Skoric, B., Adams, A. M., Simpson, S. J., Robins-Browne, R. M., Franklin, P. J., de Klerk, N. H., Sly, P. D., Stick, S. M., Hall, G. L. and Arest, C. F. (2014). Early respiratory infection is associated with reduced spirometry in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 190(10), 1111-1116.
- Regnier, A., Dannhoffer, L., Blouquit-Laye, S., Bakari, M., Naline, E. and Chinet, T. (2008). Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the human distal lung. *Hum Pathol*, 39(3), 368-376.
- Rehman, T., Karp, P. H., Tan, P., Goodell, B. J., Pezzulo, A. A., Thurman, A. L., Thornell, I. M., Durfey, S. L., Duffey, M. E., Stoltz, D. A., McKone, E. F., Singh, P. K. and Welsh, M. J. (2021). Inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-17 enhance the efficacy of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators. *J Clin Invest*, 131(16).
- Ren, C. L., Konstan, M. W., Yegin, A., Rasouliyan, L., Trzaskoma, B., Morgan, W. J., Regelmann, W., Scientific Advisory Group, I. and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic, F. (2012). Multiple antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and lung function decline in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 11(4), 293-299.
- Rhodin, J. A. (1966). The ciliated cell. Ultrastructure and function of the human tracheal mucosa. *Am Rev Respir Dis*, 93(3), Suppl:1-15.
- Riordan, J. R., Rommens, J. M., Kerem, B., Alon, N., Rozmahel, R., Grzelczak, Z., Zielenski, J., Lok, S., Plavsic, N., Chou, J. L. and et al. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 245(4922), 1066-1073.
- Robins, J. M., Rotnitzky, A. and Zhao, L. P. (1995). Analysis of Semiparametric Regression Models for Repeated Outcomes in the Presence of Missing Data. *Journal of the American Statistical Association*, 90(429), 106-121.
- Rommens, J. M., Iannuzzi, M. C., Kerem, B., Drumm, M. L., Melmer, G., Dean, M., Rozmahel, R., Cole, J. L., Kennedy, D. and Hidaka, N. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science (New York, N.Y.)*, 245, 1059-1065.
- Rose, M. C. and Voynow, J. A. (2006). Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev*, 86(1), 245-278.
- Rosenfeld, M., Cunningham, S., Harris, W. T., Lapey, A., Regelmann, W. E., Sawicki, G. S., Southern, K. W., Chilvers, M., Higgins, M., Tian, S., Cooke, J., Davies, J. C. and group, K. s. (2019). An open-label extension study of ivacaftor in children with CF and a CFTR gating mutation initiating treatment at age 2-5years (KLIMB). *J Cyst Fibros*, 18(6), 838-843.
- Rosenfeld, M., Emerson, J., McNamara, S., Thompson, V., Ramsey, B. W., Morgan, W. and Gibson, R. L. (2012). Risk factors for age at initial *Pseudomonas* acquisition in the cystic fibrosis epic observational cohort. *J Cyst Fibros*, 11(5), 446-453.
- Rosenfeld, M., Emerson, J., Williams-Warren, J., Pepe, M., Smith, A., Montgomery, A. B. and Ramsey, B. (2001). Defining a pulmonary exacerbation in cystic fibrosis. *J Pediatr*, 139(3), 359-365.
- Rosenow, T., Oudraad, M. C., Murray, C. P., Turkovic, L., Kuo, W., de Bruijne, M., Ranganathan, S. C., Tiddens, H. A., Stick, S. M. and Australian Respiratory Early Surveillance Team for Cystic, F. (2015). PRAGMA-CF. A Quantitative Structural Lung Disease Computed Tomography Outcome in Young Children with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 191(10), 1158-1165.
- Rosenstein, B. J. and Cutting, G. R. (1998). The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr*, 132(4), 589-595.
- Rowe, S. M., Daines, C., Ringshausen, F. C., Kerem, E., Wilson, J., Tullis, E., Nair, N., Simard, C., Han, L., Ingenito, E. P., McKee, C., Lekstrom-Himes, J. and Davies, J. C. (2017). Tezacaftor-Ivacaftor in Residual-Function Heterozygotes with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med*, 377(21), 2024-2035.
- Rowe, S. M., Heltshe, S. L., Gonska, T., Donaldson, S. H., Borowitz, D., Gelfond, D., Sagel, S. D., Khan, U., Mayer-Hamblett, N., Van Dalfsen, J. M., Joseloff, E., Ramsey, B. W. and Network, G. I. o. t. C. F. F. T. D. (2014). Clinical mechanism of the cystic

- fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator ivacaftor in G551D-mediated cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 190(2), 175-184.
- Rowntree, R. K. and Harris, A. (2003). The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet*, 67(Pt 5), 471-485.
- Ruffin, M., Mercier, J., Calmel, C., Mesinele, J., Bigot, J., Sutanto, E. N., Kicic, A., Corvol, H. and Guillot, L. (2020). Update on SLC6A14 in lung and gastrointestinal physiology and physiopathology: focus on cystic fibrosis. *Cell Mol Life Sci*, 77(17), 3311-3323.
- Ruffin, M., Mercier, J., Calmel, C., Mesinele, J., Corvol, H. and Guillot, L. (2020). [SLC6A14, a modifier gene in cystic fibrosis]. *Rev Mal Respir*, 37(3), 218-221.
- Ruffin, M., Voland, M., Marie, S., Bonora, M., Blanchard, E., Blouquit-Laye, S., Naline, E., Puyo, P., Le Rouzic, P., Guillot, L., Corvol, H., Clement, A. and Tabary, O. (2013). Anoctamin 1 dysregulation alters bronchial epithelial repair in cystic fibrosis. *Biochim Biophys Acta*, 1832(12), 2340-2351.
- Safe, M., Gifford, A. J., Jaffe, A. and Ooi, C. Y. (2016). Resolution of Intestinal Histopathology Changes in Cystic Fibrosis after Treatment with Ivacaftor. *Ann Am Thorac Soc*, 13(2), 297-298.
- Saint-Criq, V., Rebeyrol, C., Ruffin, M., Roque, T., Guillot, L., Jacquot, J., Clement, A. and Tabary, O. (2011). Restoration of chloride efflux by azithromycin in airway epithelial cells of cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 55(4), 1792-1793.
- Saint-Criq, V., Ruffin, M., Rebeyrol, C., Guillot, L., Jacquot, J., Clement, A. and Tabary, O. (2012). Azithromycin fails to reduce inflammation in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Eur J Pharmacol*, 674(1), 1-6.
- Salomon, J. J., Spahn, S., Wang, X., Fullekrug, J., Bertrand, C. A. and Mall, M. A. (2016). Generation and functional characterization of epithelial cells with stable expression of SLC26A9 Cl<sup>-</sup> channels. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 310(7), L593-602.
- Salvatore, F., Scudiero, O. and Castaldo, G. (2002). Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: the role of modifier genes. *Am J Med Genet*, 111(1), 88-95.
- Santis, G., Osborne, L., Knight, R. A. and Hodson, M. E. (1990). Independent genetic determinants of pancreatic and pulmonary status in cystic fibrosis. *Lancet*, 336(8723), 1081-1084.
- Schaedel, C., de Monestrol, I., Hjelte, L., Johannesson, M., Kornfalt, R., Lindblad, A., Strandvik, B., Wahlgren, L. and Holmberg, L. (2002). Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 33(6), 483-491.
- Schechter, M. S. and Margolis, P. A. (1998). Relationship between socioeconomic status and disease severity in cystic fibrosis. *J Pediatr*, 132(2), 260-264.
- Schechter, M. S., Shelton, B. J., Margolis, P. A. and Fitzsimmons, S. C. (2001). The association of socioeconomic status with outcomes in cystic fibrosis patients in the United States. *Am J Respir Crit Care Med*, 163(6), 1331-1337.
- Schidlow, D. V., Taussig, L. M. and Knowles, M. R. (1993). Cystic Fibrosis Foundation consensus conference report on pulmonary complications of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 15(3), 187-198.
- Schluchter, M. D., Konstan, M. W. and Davis, P. B. (2002). Jointly modelling the relationship between survival and pulmonary function in cystic fibrosis patients. *Stat Med*, 21(9), 1271-1287.
- Schneider, E. K. (2018). Cytochrome P450 3A4 Induction: Lumacaftor versus Ivacaftor Potentially Resulting in Significantly Reduced Plasma Concentration of Ivacaftor. *Drug Metab Lett*, 12(1), 71-74.
- Schroer, T. A. (2004). DYNACTIN. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20(1), 759-779.
- Scotet, V., Dugueperoux, I., Saliou, P., Rault, G., Roussey, M., Audrezet, M. P. and Ferec, C. (2012). Evidence for decline in the incidence of cystic fibrosis: a 35-year observational study in Brittany, France. *Orphanet J Rare Dis*, 7, 14.
- Scotet, V., Gutierrez, H. and Farrell, P. M. (2020). Newborn Screening for CF across the Globe-Where Is It Worthwhile? *Int J Neonatal Screen*, 6(1), 18.

- Scotet, V., L'Hostis, C. and Ferec, C. (2020). The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the CFTR Gene Discovery. *Genes (Basel)*, 11(6).
- Seidler, U., Blumenstein, I., Kretz, A., Viellard-Baron, D., Rossmann, H., Colledge, W. H., Evans, M., Ratcliff, R. and Gregor, M. (1997). A functional CFTR protein is required for mouse intestinal cAMP-, cGMP- and Ca(2+)-dependent HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion. *J Physiol*, 505 ( Pt 2), 411-423.
- Serre, J. L., Simon-Bouy, B., Mornet, E., Jaume-Roig, B., Balassopoulou, A., Schwartz, M., Taillandier, A., Boué, J. and Boué, A. (1990). Studies of RFLP closely linked to the cystic fibrosis locus throughout Europe lead to new considerations in populations genetics. *Human Genetics*, 84, 449-454.
- Shah, V. S., Chivukula, R. R., Lin, B., Waghay, A. and Rajagopal, J. (2021). Cystic Fibrosis and the Cells of the Airway Epithelium: What Are Ionocytes and What Do They Do? *Annu Rev Pathol*.
- Sharma, P., Yi, R., Nayak, A. P., Wang, N., Tang, F., Knight, M. J., Pan, S., Oliver, B. and Deshpande, D. A. (2017). Bitter Taste Receptor Agonists Mitigate Features of Allergic Asthma in Mice. *Sci Rep*, 7, 46166.
- Shed, E. F., Haworth, C. S., Barker, H., Bilton, D. and Compston, J. E. (2010). Osteoclast function, bone turnover and inflammatory cytokines during infective exacerbations of cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 9(2), 93-98.
- Shed, E. F., Haworth, C. S., Condliffe, A. M., McKeon, D. J., Scott, M. A. and Compston, J. E. (2007). Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) is expressed in human bone. *Thorax*, 62(7), 650-651.
- Shteinberg, M., Haq, I. J., Polineni, D. and Davies, J. C. (2021). Cystic fibrosis. *Lancet*, 397(10290), 2195-2211.
- Singh, A. K., Riederer, B., Chen, M., Xiao, F., Krabbenhoft, A., Engelhardt, R., Nylander, O., Soleimani, M. and Seidler, U. (2010). The switch of intestinal Slc26 exchangers from anion absorptive to HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretory mode is dependent on CFTR anion channel function. *Am J Physiol Cell Physiol*, 298(5), C1057-1065.
- Singh, P. K., Schaefer, A. L., Parsek, M. R., Moninger, T. O., Welsh, M. J. and Greenberg, E. P. (2000). Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. *Nature*, 407(6805), 762-764.
- Sivaprakasam, S., Sikder, M. O. F., Ramalingam, L., Kaur, G., Dufour, J. M., Moustaid-Moussa, N., Wachtel, M. S. and Ganapathy, V. (2021). SLC6A14 deficiency is linked to obesity, fatty liver, and metabolic syndrome but only under conditions of a high-fat diet. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1867(5), 166087.
- Sly, P. D., Gangell, C. L., Chen, L., Ware, R. S., Ranganathan, S., Mott, L. S., Murray, C. P., Stick, S. M. and Investigators, A. C. (2013). Risk factors for bronchiectasis in children with cystic fibrosis. *N Engl J Med*, 368(21), 1963-1970.
- Smith, J. L., Campos, S. K. and Ozbun, M. A. (2007). Human papillomavirus type 31 uses a caveolin 1- and dynamin 2-mediated entry pathway for infection of human keratinocytes. *J Virol*, 81(18), 9922-9931.
- Smyth, A., O'Hea, U., Williams, G., Smyth, R. and Heaf, D. (1994). Passive smoking and impaired lung function in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*, 71(4), 353-354.
- Smyth, A. R., Bell, S. C., Bojcin, S., Bryon, M., Duff, A., Flume, P., Kashirskaya, N., Munck, A., Ratjen, F., Schwarzenberg, S. J., Sermet-Gaudelus, I., Southern, K. W., Taccetti, G., Ullrich, G., Wolfe, S. and European Cystic Fibrosis, S. (2014). European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Best Practice guidelines. *J Cyst Fibros*, 13 Suppl 1, S23-42.
- Société française de pédiatrie. (2003). [Consensus conference. Management of patients with cystic fibrosis. Monday the 18th and Tuesday the 19th of November, 2002, Luxembourg Palace, Paris. Observation, nutrition, gastroenterology and metabolism. Text of the recommendations (long version)]. *Arch Pediatr*, 10 Suppl 3, 382s-397s.
- Somayaji, R., Parkins, M. D., Shah, A., Martiniano, S. L., Tunney, M. M., Kahle, J. S., Waters, V. J., Elborn, J. S., Bell, S. C., Flume, P. A., VanDevanter, D. R. and Antimicrobial Resistance in Cystic Fibrosis International Working, G. (2019). Antimicrobial susceptibility testing (AST) and associated clinical outcomes in individuals with cystic fibrosis: A systematic review. *J Cyst Fibros*, 18(2), 236-243.
- Sonneville, F., Ruffin, M., Coraux, C., Rousselet, N., Le Rouzic, P., Blouquit-Laye, S., Corvol, H. and Tabary, O. (2017). MicroRNA-9 downregulates the ANO1 chloride channel and contributes to cystic fibrosis lung pathology. *Nat Commun*, 8(1), 710.

- Sonneville, F., Ruffin, M., Guillot, L., Rousselet, N., Le Rouzic, P., Corvol, H. and Tabary, O. (2015). New insights about miRNAs in cystic fibrosis. *Am J Pathol*, 185(4), 897-908.
- Southern, K. W. (2012). Macrolide antibiotics for cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev*, 13(4), 228-229.
- Southern, K. W., Munck, A., Pollitt, R., Travert, G., Zanolla, L., Dankert-Roelse, J., Castellani, C. and Group, E. C. N. S. W. (2007). A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros*, 6(1), 57-65.
- Spielberg, D. R. and Clancy, J. P. (2016). Cystic Fibrosis and Its Management Through Established and Emerging Therapies. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 17, 155-175.
- Stern, M., Bertrand, D. P., Bignamini, E., Corey, M., Dembski, B., Goss, C. H., Pressler, T., Rault, G., Viviani, L., Elborn, J. S. and Castellani, C. (2014). European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Quality Management in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 13 Suppl 1, S43-59.
- Stoltz, D. A., Meyerholz, D. K. and Welsh, M. J. (2015). Origins of cystic fibrosis lung disease. *N Engl J Med*, 372(4), 351-362.
- Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrenner, P., Hickey, M. J., Brinkman, F. S., Hufnagle, W. O., Kowalik, D. J., Lagrou, M., Garber, R. L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L. L., Coulter, S. N., Folger, K. R., Kas, A., Larbig, K., Lim, R., Smith, K., Spencer, D., Wong, G. K., Wu, Z., Paulsen, I. T., Reizer, J., Saier, M. H., Hancock, R. E., Lory, S. and Olson, M. V. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799), 959-964.
- Strug, L. J., Gonska, T., He, G., Keenan, K., Ip, W., Boelle, P. Y., Lin, F., Panjwani, N., Gong, J., Li, W., Soave, D., Xiao, B., Tullis, E., Rabin, H., Parkins, M. D., Price, A., Zuberbuhler, P. C., Corvol, H., Ratjen, F., Sun, L., Bear, C. E. and Rommens, J. M. (2016). Cystic fibrosis gene modifier SLC26A9 modulates airway response to CFTR-directed therapeutics. *Hum Mol Genet*, 25(20), 4590-4600.
- Stutman, H. R., Lieberman, J. M., Nussbaum, E. and Marks, M. I. (2002). Antibiotic prophylaxis in infants and young children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial. *J Pediatr*, 140(3), 299-305.
- Sun, L., Rommens, J. M., Corvol, H., Li, W., Li, X., Chiang, T. A., Lin, F., Dorfman, R., Busson, P. F., Parekh, R. V., Zelenika, D., Blackman, S. M., Corey, M., Doshi, V. K., Henderson, L., Naughton, K. M., O'Neal, W. K., Pace, R. G., Stonebraker, J. R., Wood, S. D., Wright, F. A., Zielenski, J., Clement, A., Drumm, M. L., Boelle, P. Y., Cutting, G. R., Knowles, M. R., Durie, P. R. and Strug, L. J. (2012). Multiple apical plasma membrane constituents are associated with susceptibility to meconium ileus in individuals with cystic fibrosis. *Nat Genet*, 44(5), 562-569.
- Suviolahti, E., Oksanen, L. J., Ohman, M., Cantor, R. M., Ridderstrale, M., Tuomi, T., Kaprio, J., Rissanen, A., Mustajoki, P., Jousilahti, P., Vartiainen, E., Silander, K., Kilpikari, R., Salomaa, V., Groop, L., Kontula, K., Peltonen, L. and Pajukanta, P. (2003). The SLC6A14 gene shows evidence of association with obesity. *J Clin Invest*, 112(11), 1762-1772.
- Tabary, O., Zahm, J. M., Hinnrasky, J., Couetil, J. P., Cornillet, P., Guenounou, M., Gaillard, D., Puchelle, E. and Jacquot, J. (1998). Selective up-regulation of chemokine IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial gland cells in vivo and in vitro. *Am J Pathol*, 153(3), 921-930.
- Tabcharani, J. A., Rommens, J. M., Hou, Y. X., Chang, X. B., Tsui, L. C., Riordan, J. R. and Hanrahan, J. W. (1993). Multi-ion pore behaviour in the CFTR chloride channel. *Nature*, 366(6450), 79-82.
- Tarova, E. T., Polakova, H., Kayserova, H., Celec, P., Zuzulova, M. and Kadasi, L. (2011). Study of the effect of DNA polymorphisms in the mannose-binding lectin gene (MBL2) on disease severity in Slovak cystic fibrosis patients. *Gen Physiol Biophys*, 30(4), 373-378.
- Taylor-Cousar, J. L., Jain, M., Barto, T. L., Haddad, T., Atkinson, J., Tian, S., Tang, R., Marigowda, G., Waltz, D., Pilewski, J. and Group, V. X. I. (2018). Lumacaftor/ivacaftor in patients with cystic fibrosis and advanced lung disease homozygous for F508del-CFTR. *J Cyst Fibros*, 17(2), 228-235.
- Taylor-Cousar, J. L., Munck, A., McKone, E. F., van der Ent, C. K., Moeller, A., Simard, C., Wang, L. T., Ingenito, E. P., McKee, C., Lu, Y., Lekstrom-Himes, J. and Elborn, J. S. (2017). Tezacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del. *N Engl J Med*, 377(21), 2013-2023.

- Taylor, C., Commander, C. W., Collaco, J. M., Strug, L. J., Li, W., Wright, F. A., Webel, A. D., Pace, R. G., Stonebraker, J. R., Naughton, K., Dorfman, R., Sandford, A., Blackman, S. M., Berthiaume, Y., Pare, P., Drumm, M. L., Zielenski, J., Durie, P., Cutting, G. R., Knowles, M. R. and Corey, M. (2011). A novel lung disease phenotype adjusted for mortality attrition for cystic fibrosis genetic modifier studies. *Pediatr Pulmonol*, 46(9), 857-869.
- Tetard, C., Mittaine, M., Bui, S., Beaufils, F., Maumus, P., Fayon, M., Burgel, P. R., Lamireau, T., Delhaes, L., Mas, E. and Enaud, R. (2020). Reduced Intestinal Inflammation With Lumacaftor/Ivacaftor in Adolescents With Cystic Fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 71(6), 778-781.
- Texereau, J., Marullo, S., Hubert, D., Coste, J., Dusser, D. J., Dall'Ava-Santucci, J. and Dinh-Xuan, A. T. (2004). Nitric oxide synthase 1 as a potential modifier gene of decline in lung function in patients with cystic fibrosis. *Thorax*, 59(2), 156-158.
- Thomassen, J. C., Mueller, M. I., Alejandre Alcazar, M. A., Rietschel, E. and van Koningsbruggen-Rietschel, S. (2018). Effect of Lumacaftor/Ivacaftor on glucose metabolism and insulin secretion in Phe508del homozygous cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*, 17(2), 271-275.
- Tobacman, J. K. (2003). Does deficiency of arylsulfatase B have a role in cystic fibrosis? *Chest*, 123(6), 2130-2139.
- Toledano, M. B., Mukherjee, S. K., Howell, J., Westaby, D., Khan, S. A., Bilton, D. and Simmonds, N. J. (2019). The emerging burden of liver disease in cystic fibrosis patients: A UK nationwide study. *PLoS One*, 14(4), e0212779.
- Tomaiuolo, R., Degiorgio, D., Coviello, D. A., Baccarelli, A., Elce, A., Raia, V., Motta, V., Seia, M., Castaldo, G. and Colombo, C. (2009). An MBL2 haplotype and ABCB4 variants modulate the risk of liver disease in cystic fibrosis patients: a multicentre study. *Dig Liver Dis*, 41(11), 817-822.
- Travaglini, K. J., Nabhan, A. N., Penland, L., Sinha, R., Gillich, A., Sit, R. V., Chang, S., Conley, S. D., Mori, Y., Seita, J., Berry, G. J., Shrager, J. B., Metzger, R. J., Kuo, C. S., Neff, N., Weissman, I. L., Quake, S. R. and Krasnow, M. A. (2020). A molecular cell atlas of the human lung from single-cell RNA sequencing. *Nature*, 587(7835), 619-625.
- Trevisiol, C., Boniotto, M., Giglio, L., Poli, F., Morgutti, M. and Crovella, S. (2005). MBL2 polymorphisms screening in a regional Italian CF Center. *J Cyst Fibros*, 4(3), 189-191.
- Trouve, P., Genin, E. and Ferec, C. (2017). In silico search for modifier genes associated with pancreatic and liver disease in Cystic Fibrosis. *PLoS One*, 12(3), e0173822.
- Trzcinska-Daneluti, A. M., Ly, D., Huynh, L., Jiang, C., Fladd, C. and Rotin, D. (2009). High-content functional screen to identify proteins that correct F508del-CFTR function. *Mol Cell Proteomics*, 8(4), 780-790.
- Tsui, L. C., Buchwald, M., Barker, D., Braman, J. C., Knowlton, R., Schumm, J. W., Eiberg, H., Mohr, J., Kennedy, D., Plavsic, N. and et al. (1985). Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic DNA marker. *Science*, 230(4729), 1054-1057.
- Vaincre la Mucoviscidose. (2021). Registre français de la mucoviscidose – Bilan des données 2019.
- Van de Weert-van Leeuwen, P. B., Van Meegen, M. A., Speirs, J. J., Pals, D. J., Rooijackers, S. H., Van der Ent, C. K., Terheggen-Lagro, S. W., Arets, H. G. and Beekman, J. M. (2013). Optimal complement-mediated phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* by monocytes is cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-dependent. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 49(3), 463-470.
- van Ewijk, B. E., van der Zalm, M. M., Wolfs, T. F. and van der Ent, C. K. (2005). Viral respiratory infections in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 4 Suppl 2, 31-36.
- van Horck, M., van de Kant, K., Winkens, B., Wesseling, G., Gulmans, V., Hendriks, H., van der Grinten, C., Jobsis, Q. and Dompeling, E. (2018). Risk factors for lung disease progression in children with cystic fibrosis. *Eur Respir J*, 51(6).
- Vandenbranden, S. L., McMullen, A., Schechter, M. S., Pasta, D. J., Michaelis, R. L., Konstan, M. W., Wagener, J. S., Morgan, W. J., McColley, S. A., Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic, F. (2012). Lung function decline from adolescence to young adulthood in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 47(2), 135-143.
- VanDevanter, D. R., Heltshe, S. L., Hilliard, J. B. and Konstan, M. W. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial susceptibility test (AST) results and pulmonary exacerbation treatment responses in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 20(2), 257-263.

- Vanscoy, L. L., Blackman, S. M., Collaco, J. M., Bowers, A., Lai, T., Naughton, K., Algire, M., McWilliams, R., Beck, S., Hoover-Fong, J., Hamosh, A., Cutler, D. and Cutting, G. R. (2007). Heritability of lung disease severity in cystic fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 175, 1036-1043.
- Veit, G., Avramescu, R. G., Chiang, A. N., Houck, S. A., Cai, Z., Peters, K. W., Hong, J. S., Pollard, H. B., Guggino, W. B., Balch, W. E., Skach, W. R., Cutting, G. R., Frizzell, R. A., Sheppard, D. N., Cyr, D. M., Sorscher, E. J., Brodsky, J. L. and Lukacs, G. L. (2016). From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: expanded classification of cystic fibrosis mutations. *Mol Biol Cell*, 27(3), 424-433.
- Vieira Braga, F. A., Kar, G., Berg, M., Carpaij, O. A., Polanski, K., Simon, L. M., Brouwer, S., Gomes, T., Hesse, L., Jiang, J., Fasouli, E. S., Efremova, M., Vento-Tormo, R., Talavera-Lopez, C., Jonker, M. R., Affleck, K., Palit, S., Strzelecka, P. M., Firth, H. V., Mahbubani, K. T., Cvejic, A., Meyer, K. B., Saeb-Parsy, K., Luinge, M., Brandsma, C. A., Timens, W., Angelidis, I., Strunz, M., Koppelman, G. H., van Oosterhout, A. J., Schiller, H. B., Theis, F. J., van den Berge, M., Nawijn, M. C. and Teichmann, S. A. (2019). A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma. *Nat Med*, 25(7), 1153-1163.
- Viel, M., Hubert, D., Burgel, P. R., Genin, E., Honore, I., Martinez, B., Gaïtch, N., Chapron, J., Kanaan, R., Dusser, D., Girodon, E. and Bienvenu, T. (2016). DCTN4 as a modifier of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Clin Respir J*, 10(6), 777-783.
- Wagner, V. E. and Iglewski, B. H. (2008). *P. aeruginosa* Biofilms in CF Infection. *Clin Rev Allergy Immunol*, 35(3), 124-134.
- Wainwright, C. E., Elborn, J. S., Ramsey, B. W., Marigowda, G., Huang, X., Cipolli, M., Colombo, C., Davies, J. C., De Boeck, K., Flume, P. A., Konstan, M. W., McColley, S. A., McCoy, K., McKone, E. F., Munck, A., Ratjen, F., Rowe, S. M., Waltz, D. and Boyle, M. P. (2015). Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med*.
- Wang, S. S., FitzSimmons, S. C., O'Leary, L. A., Rock, M. J., Gwinn, M. L. and Khoury, M. J. (2001). Early diagnosis of cystic fibrosis in the newborn period and risk of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition in the first 10 years of life: A registry-based longitudinal study. *Pediatrics*, 107(2), 274-279.
- Wansleben, C., Barkauskas, C. E., Rock, J. R. and Hogan, B. L. (2013). Stem cells of the adult lung: their development and role in homeostasis, regeneration, and disease. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2(1), 131-148.
- Wark, P. A. B., Cookson, K., Thiruchelvam, T., Brannan, J. and Dorahy, D. J. (2019). Lumacaftor/ Ivacaftor improves exercise tolerance in patients with Cystic Fibrosis and severe airflow obstruction. *BMC Pulm Med*, 19(1), 106.
- Warrier, R., Skoric, B., Vidmar, S., Carzino, R. and Ranganathan, S. (2019). The role of geographical location and climate on recurrent *Pseudomonas* infection in young children with Cystic Fibrosis. *J Cyst Fibros*, 18(6), 817-822.
- Watson, J. K., Rulands, S., Wilkinson, A. C., Wuidart, A., Ousset, M., Van Keymeulen, A., Gottgens, B., Blanpain, C., Simons, B. D. and Rawlins, E. L. (2015). Clonal Dynamics Reveal Two Distinct Populations of Basal Cells in Slow-Turnover Airway Epithelium. *Cell Rep*, 12(1), 90-101.
- Weber, S. A. T., Iyomasa, R. M., Correa, C. C., Florentino, W. N. M. and Ferrari, G. F. (2017). Nasal polyposis in cystic fibrosis: follow-up of children and adolescents for a 3-year period. *Braz J Otorhinolaryngol*, 83(6), 677-682.
- Welsh, M. J. and Smith, A. E. (1993). Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell*, 73(7), 1251-1254.
- West, S. E., Zeng, L., Lee, B. L., Kosorok, M. R., Laxova, A., Rock, M. J., Splaingard, M. J. and Farrell, P. M. (2002). Respiratory infections with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis: early detection by serology and assessment of risk factors. *JAMA*, 287(22), 2958-2967.
- Whitsett, J. A. (2018). Airway Epithelial Differentiation and Mucociliary Clearance. *Ann Am Thorac Soc*, 15(Suppl 3), S143-S148.
- Wong, A. P., Keating, A. and Waddell, T. K. (2009). Airway regeneration: the role of the Clara cell secretory protein and the cells that express it. *Cytherapy*, 11(6), 676-687.
- Wong, P. Y. (1998). CFTR gene and male fertility. *Mol Hum Reprod*, 4(2), 107-110.

- Wright, F. A., Strug, L. J., Doshi, V. K., Commander, C. W., Blackman, S. M., Sun, L., Berthiaume, Y., Cutler, D., Cojocaru, A., Collaco, J. M., Corey, M., Dorfman, R., Goddard, K., Green, D., Kent, J. W., Jr., Lange, E. M., Lee, S., Li, W., Luo, J., Mayhew, G. M., Naughton, K. M., Pace, R. G., Pare, P., Rommens, J. M., Sandford, A., Stonebraker, J. R., Sun, W., Taylor, C., Vanscoy, L. L., Zou, F., Blangero, J., Zielenski, J., O'Neal, W. K., Drumm, M. L., Durie, P. R., Knowles, M. R. and Cutting, G. R. (2011). Genome-wide association and linkage identify modifier loci of lung disease severity in cystic fibrosis at 11p13 and 20q13.2. *Nat Genet*, 43(6), 539-546.
- Wright, J. M., Joseloff, E., Nikolsky, Y., Serebriyskaya, T. and Wetmore, D. (2010). Interactions between an inflammatory response to infection and protein trafficking pathways favor correction of defective protein trafficking in Cystic Fibrosis. *Bioinformatics*, 5(6), 228-233.
- Yamashiro, Y., Shimizu, T., Oguchi, S., Shioya, T., Nagata, S. and Ohtsuka, Y. (1997). The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 24(5), 544-547.
- Yuan, K., Huang, C., Fox, J., Laternus, D., Carlson, E., Zhang, B., Yin, Q., Gao, H. and Wu, M. (2012). Autophagy plays an essential role in the clearance of *Pseudomonas aeruginosa* by alveolar macrophages. *J Cell Sci*, 125(Pt 2), 507-515.
- Zaas, D. W., Duncan, M. J., Li, G., Wright, J. R. and Abraham, S. N. (2005). *Pseudomonas* invasion of type I pneumocytes is dependent on the expression and phosphorylation of caveolin-2. *J Biol Chem*, 280(6), 4864-4872.
- Zaas, D. W., Swan, Z., Brown, B. J., Wright, J. R. and Abraham, S. N. (2009). The expanding roles of caveolin proteins in microbial pathogenesis. *Commun Integr Biol*, 2(6), 535-537.
- Zaas, D. W., Swan, Z. D., Brown, B. J., Li, G., Randell, S. H., Degan, S., Sunday, M. E., Wright, J. R. and Abraham, S. N. (2009). Counteracting signaling activities in lipid rafts associated with the invasion of lung epithelial cells by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem*, 284(15), 9955-9964.
- Zemanick, E., Burgel, P. R., Taccetti, G., Holmes, A., Ratjen, F., Byrnes, C. A., Waters, V. J., Bell, S. C., VanDevanter, D. R., Stuart Elborn, J., Flume, P. A. and Antimicrobial Resistance International Working Group in Cystic, F. (2020). Antimicrobial resistance in cystic fibrosis: A Delphi approach to defining best practices. *J Cyst Fibros*, 19(3), 370-375.
- Zielenski, J. (2000). Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration*, 67(2), 117-133.
- Zielenski, J., Rozmahel, R., Bozon, D., Kerem, B., Grzelczak, Z., Riordan, J. R., Rommens, J. and Tsui, L. C. (1991). Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics*, 10(1), 214-228.
- Zielenski, J. and Tsui, L. C. (1995). Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annu Rev Genet*, 29, 777-807.
- Zolin, A., Orenti, A., Naehrlich, L., Jung, A. and Van Rens, J. (2020). ECFSPR Annual Report 2018.

# Communications scientifiques

## I. Liste des communications

### 1. Orales

- **Mesinele, J.**, Boelle, P. Y. et Corvol, H. « Infection pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose : Facteurs de risque et impact sur la fonction respiratoire » Colloque français des jeunes chercheurs de l'association « Vaincre la Mucoviscidose », 14 février 2020, Institut Pasteur, Paris, France.
- **Mesinele, J.**, Boelle, P. Y. et Corvol, H. « Infection respiratoire à *Pseudomonas aeruginosa* : Quels sont les patients les plus à risque ? Quel impact sur la fonction respiratoire ? » Rencontres Chercheurs/ Patients, Colloque français des jeunes chercheurs de l'association « Vaincre la Mucoviscidose », 13 février 2020, Institut Pasteur, Paris, France.

### 2. Affichées

- 21th Doctoral School Days, 18-19 Mai 2020, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris France
- 15e séminaire annuel du centre de recherche Saint-Antoine, 22-23 novembre 2019, Lieusaint, France.
- 20th Doctoral School Days, 20-21 Mai 2019, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris France

## II. Liste des publications

- **Mesinele, J.**, Ruffin, M., Kemgang, A., Guillot, L., Boelle, P. Y. and Corvol, H. (2021). Risk factors for *Pseudomonas aeruginosa* airway infection and lung function decline in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*  
<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.09.017>

- Ruffin, M., Mercier, J., Calmel, C., **Mesinele, J.**, Bigot, J., Sutanto, E. N., Kicic, A., Corvol, H. and Guillot, L. (2020). Update on SLC6A14 in lung and gastrointestinal physiology and physiopathology: focus on cystic fibrosis. *Cell Mol Life Sci*, 77(17), 3311-3323  
<https://doi.org/10.1007/s00018-020-03487-x>
- Ruffin, M., Mercier, J., Calmel, C., **Mesinele, J.**, Corvol, H. and Guillot, L. (2020). [SLC6A14, a modifier gene in cystic fibrosis]. *Rev Mal Respir*, 37(3), 218-221.  
<https://doi.org/10.1016/j.rmr.2020.02.008>
- Corvol, H., **Mesinele, J.**, Douksieh, I. H., Strug, L. J., Boelle, P. Y. and Guillot, L. (2018). SLC26A9 Gene Is Associated With Lung Function Response to Ivacaftor in Patients With Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol*, 9, 828.  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00828>

### III. Prix

- Prix de la meilleure présentation orale : colloque français des jeunes chercheurs de l'association "Vaincre la Mucoviscidose", 14 février 2020, Institut Pasteur, Paris, (France).
- Prix Mariane JOSSO de la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) : financement de thèse de sciences consacrée à la recherche en pneumologie, 2018

# Parcours professionnel et formations

## I. Formations

### 1. Diplômes

- **2018** : Master 2 Génétique Épidémiologique et Biomarqueurs, Université Paris-Saclay
- **2017** : Master 1 Méthodes en Santé Publique, Université Paris-Saclay
- **2010** : Formation d'Attaché de Recherche Clinique, Supsanté, Paris
- **2006** : Diplôme d'État Infirmier, IFSI Croix-Rouge-Française, Bordeaux
- **2002** : Baccalauréat Scientifique, Lycée Saint Thomas d'Aquin, Saint Jean de Luz (64)

### 2. Formations dans le cadre du parcours doctoral

- **Novembre 2021** : Initiation au langage PYTHON pour les biologistes, du 22 au 15 novembre 2021 (3 jours)
- **Novembre 2021** : Prise en main du logiciel SAS, 18 et 19 novembre 2021 (2 jours)
- **Mai 2021** : Manipulation moderne des données avec R : introduction au tidyverse et au package dplyr, du 19 au 21 mai 2021 (3 jours)
- **Avril à juin 2021** : Anglais professionnel, ½ journée par semaine du 6 avril 2021 au 8 juin 2021 (10 demi-journées)
- **Mai 2021** : Construire son professionnel et réussir sa recherche d'emploi, du 31 mai au 15 juin 2021 (2 jours)
- **Mars 2021** : Conduite de projet, du 18 mars au 2 avril 2021 (1,5 jours)

## II. Expériences professionnelles

- **Février 2019 à aujourd'hui : doctorat**

**Inserm**, Centre de Recherche Saint Antoine, *Équipe « Phénogénomique et Physiopathologie de la mucoviscidose »*

**iPLSEP**, Hôpital Saint Antoine, *Équipe « Modélisation des maladies transmissibles »*, PARIS

- **Mai 2016 à janvier 2019 :**

**Coordinatrice de projet de recherche**

**Inserm**, Centre de Recherche Saint Antoine, *Équipe « Phénogénomique et Physiopathologie de la mucoviscidose »*

*Missions* : gestion de la cohorte nationale « Gènes modificateurs dans la mucoviscidose » incluant ~5000 patients et déployées sur 45 centres : rédaction de protocole, documents réglementaires et procédures - gestion de base de données phénotypiques et génétiques - recueil de données - monitoring - gestion administrative

**Stagiaire en épidémiologie et statistiques**

En parallèle de mon activité à temps plein de coordinatrice de recherche, j'ai effectué :

- Un master 2, le stage validant de la formation a été réalisé au sein des deux équipes de direction de ce doctorat ; et portait sur la variabilité inter-individuelle de la primo-infection à *P. aeruginosa* dans la mucoviscidose. Travaux aboutissant à la conception du projet de thèse.
- Un master 1, le stage validant de la formation a été réalisé au sein des deux équipes de direction de ce doctorat ; et portait sur la variabilité inter-individuelle de la réponse respiratoire au traitement ivacaftor dans la mucoviscidose. Travaux aboutissant à la publication d'un article (Corvol, Mesinele, *et al.* 2018).

- **Septembre 2011 à novembre 2015 :**

- Infirmière de recherche clinique et attachée de recherche clinique**

- **Septembre à novembre 2015 :** Institut Curie, Hôpital René Huguenin, SAINT CLOUD  
Études de phase II à IV en oncologie
- **Octobre 2013 à aout 2015 :** Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Centre d'investigation clinique pluri-thématique, PARIS  
Étude de phase de II évaluant une thérapie génique intra-coronarienne chez des patients insuffisants cardiaques sévères
- **Aout 2012 à octobre 2013 :** Biotrial, RUEIL-MALMAISON  
Études de phase I de première administration à l'homme
- **Septembre à février 2011 :** Umanis Clinical Research, LEVALLOIS-PERRET.  
Étude observationnelle en diabétologie

- **Mars 2011 à mars 2012 et Novembre 2006 - avril 2010**

- Infirmière en France et en Suisse**

*Missions :* Infirmière en services de médecine et chirurgie (cardiologie, urgences, pneumologie, urologie, réadaptation et soins palliatifs principalement) et centre de prélèvements biologiques.



# Diffusion des travaux de thèse

## I. Résumé de la thèse pour diffusion

L'atteinte pulmonaire des patients atteints de la mucoviscidose (CF) se caractérise par des infections récurrentes à *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*). Le traitement modulateur de CFTR lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA) est un nouvel axe thérapeutique de cette atteinte.

Les objectifs de cette thèse étaient de caractériser la variabilité inter-individuelle de l'infection à *Pa* et de la réponse au traitement LUMA-IVA par une description épidémiologique des facteurs de risque cliniques et génétiques.

L'étude de l'infection à *Pa* a porté sur 1 231 enfants CF, dont 50 % ont eu une primo-infection (*Pa*-IA) à l'âge de 5,1 ans et 25 % une colonisation chronique (*Pa*-CC) à l'âge de 14,7 ans. Le diabète, l'atteinte hépatique, les co-infections bactériennes et fongiques, les saisons et les conditions climatiques environnementales sont des facteurs de risque de l'infection à *Pa*. Les variants génétiques des gènes *TNF*, *DCTN4*, *SLC9A3* et *CAV2* sont confirmés comme étant associés à l'infection à *Pa*. Le déclin annuel de la fonction respiratoire s'accroît significativement après la *Pa*-IA et la *Pa*-CC.

Chez les 765 patients CF ayant débuté le traitement LUMA-IVA, des gains de fonction respiratoire et d'état nutritionnel sont observés après 6 mois et sont maintenus au cours des 2 premières années de traitement. Aucun variant des gènes *SLC* n'est associé à la réponse respiratoire, mais le variant *SLC6A14* rs12839137 est associé à la réponse nutritionnelle.

Cette étude confirme que l'infection par *Pa* est un déterminant majeur de la sévérité de l'atteinte pulmonaire et a permis d'identifier des facteurs de risques cliniques et génétiques de la variabilité phénotypique des patients atteints de mucoviscidose.

## II. Thesis abstract for diffusion

Cystic fibrosis (CF) lung disease is characterised by recurrent *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) infections. The CFTR modulator lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA) is a novel therapeutic approach to this condition.

The aim of this thesis was to characterise the inter-individual variability of *Pa* infection and the response to LUMA-IVA by an epidemiological description of clinical and genetic risk factors.

The study of *Pa* infection included 1,231 CF children, of whom 50% had an initial acquisition (*Pa*-IA) at the age of 5.1 years and 25% a chronic colonisation (*Pa*-CC) at the age of 14.7 years. Diabetes, liver disease, bacterial and fungal co-infections, seasons and environmental climatic conditions are risk factors for *Pa* infection. Genetic variants in *TNF*, *DCTN4*, *SLC9A3* and *CAV2* genes are confirmed to be associated with *Pa* infection. The annual rate of lung function decline decreases significantly after *Pa*-IA and *Pa*-CC.

Among the 765 people with CF (pwCF) who initiated LUMA-IVA, gains in lung function and nutritional status are observed after 6 months and are sustained over the 2 first years of treatment. No *SLC* gene variants are associated with the respiratory response, but *SLC6A14* rs12839137 variant is associated with the nutritional response.

This study confirms that *Pa* infection is a major determinant of lung disease severity and identified clinical and genetic risk factors involved in the phenotypic variability of pwCF.

# Abstract

**Background:** Although cystic fibrosis (CF) is characterised by a large phenotypic diversity, lung disease remains the principal cause of morbidity and mortality in CF patients. Lung disease is characterised by recurrent *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) infections, leading to structural lung damage and decreased survival. The epidemiology of *Pa* infection and its impact on lung function remain uncertain. The development of CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) modulator therapies led to a new therapeutic area. Lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA) therapy is designed for patients homozygous for the F508del-*CFTR* mutation, however there is considerable inter-individual variability in response, and the clinical and/or genetic factors remain unknown.

**Methods:** The epidemiological description of *Pa* infection included 1,231 CF children. Age at initial acquisition (*Pa*-IA) and chronic colonisation (*Pa*-CC) were estimated by the Kaplan-Meier method. Risk factors were analysed by Cox regression models. The impact of *Pa* infection on lung function decline was assessed by modelling the predicted percentage forced expiratory volume in one second (ppFEV<sub>1</sub>) before infection, after *Pa*-IA and after *Pa*-CC. LUMA-IVA treatment response analysis included 765 CF patients over 12 years of age who initiated treatment. Response to treatment was determined by the change in lung function and nutritional status, from baseline, measured by SaKnorm Z-value and body mass index (BMI Z-score) respectively, and over the two first-year post-treatment. Factors of inter-individual variability were analysed by weighted generalized equation estimation mixed models.

**Results:** Among the 1,231 CF patients, 50% had *Pa*-IA by the age of 5.1 years [95% confidence interval (CI) 3.8–6.2] and 25% had *Pa*-CC by the age of 14.7 years (95% CI 12.1 to ∞). We observed that diabetes, liver disease, bacterial and fungal co-infections, seasons and environmental climatic conditions were risk factors for *Pa* infection; while gender, *CFTR* mutations and CF centre size were not. Genetic variants in *TNF*, *DCTN4*, *SLC9A3* and *CAV2* were confirmed to be associated with *Pa* infection. The annual rate of ppFEV<sub>1</sub> decline before *Pa* was -0.38% predicted/year (95% CI -0.59 to -0.18), which decreased significantly after *Pa*-IA to -0.93% predicted/year (95% CI -1.14 to -0.71) and after *Pa*-CC to -1.51% predicted/year (95% CI -1.86 to -1.16).

Among the 765 CF patients who started LUMA-IVA treatment, gains in lung function and nutritional status were observed after 6 months of treatment, on average + 2.11 (± 7.81) ppFEV<sub>1</sub> points and + 0.44 (± 0.77) kg/m<sup>2</sup> for BMI, and were sustained over the 2 years. These gains were larger in the more severe patients, those in the 1<sup>st</sup> tercile of SaKnorm Z-value and BMI Z-score at baseline. While females started with a nutritional status more impaired than males, they had larger response and regained BMI Z-score values similar to men after 2 years of treatment. We observed no association between *SLC* variants and the respiratory function response to LUMA-IVA treatment, but the *SLC6A14* rs12839137 variant was associated with the nutritional response.

**Conclusions:** This epidemiological description of *Pa* infection in a very large-scale cohort of CF children identified and replicated several risk factors associated with *Pa*-IA and *Pa*-CC, showed its deleterious impact on lung function and confirmed that *Pa* respiratory infection is a major determinant of lung disease severity. Among the 765 patients who initiated LUMA-IVA treatment, we observed that the more severe patients gained the most in lung function and nutritional status. Only the *SLC6A14* rs12839137 variant was associated with nutritional response. Further investigations, including other genomic regions, will be needed to explore the inter-individual variability of the response to LUMA-IVA treatment.

Deciphering the factors of inter-individual variability, including modifier genes, is a challenge that should offer a way to distinguish the patients at risk of developing earlier and/or chronic *Pa* infection and of responding differently to LUMA-IVA treatment. This study is a fundamental step for a personalized medicine in CF, directed towards the preservation of the health capital patients with cystic fibrosis.

**Keywords:** cystic fibrosis, risk factors, genetic modifiers, lung function, *Pseudomonas aeruginosa*, CFTR modulator therapy

## Résumé

**Contexte :** Bien que la mucoviscidose (CF pour Cystic Fibrosis en anglais) soit caractérisée par un large spectre phénotypique, l'atteinte pulmonaire reste aujourd'hui la première cause de morbi-mortalité des patients. Elle se caractérise par des infections récurrentes à *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*), entraînant des lésions pulmonaires et une diminution de la survie. L'épidémiologie de l'infection à *Pa* et son impact sur la fonction respiratoire restent incertains. L'essor des traitements modulateurs de CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) a inauguré un nouvel axe thérapeutique de l'atteinte pulmonaire. Le traitement lumacaftor-ivacaftor (LUMA-IVA) est indiqué pour les patients homozygotes pour la mutation F508del de *CFTR*, cependant il existe une grande variabilité interindividuelle de la réponse à ce traitement, dont les facteurs cliniques et/ou génétiques restent méconnus.

**Méthodes :** La description épidémiologique de l'infection à *Pa* a porté sur 1 231 enfants CF. L'âge à l'acquisition initiale (*Pa*-IA) et à la colonisation chronique (*Pa*-CC) ont été estimés par la méthode de Kaplan-Meier. Les facteurs de risque ont été analysés par des modèles de régression de Cox. L'impact de l'infection à *Pa* sur le déclin de la fonction respiratoire a été évalué en modélisant le volume expiratoire maximal par seconde exprimé en pourcentage prédit (VEMSpp) avant l'infection, après la *Pa*-IA et après la *Pa*-CC. L'analyse de la réponse au traitement LUMA-IVA a porté sur 765 patients CF âgés de plus de 12 ans et ayant initié le traitement. La réponse au traitement a été déterminée par le changement de la fonction respiratoire et de l'état nutritionnel au cours des deux premières années suivant l'initiation, comparativement à avant le traitement (*baseline*). La réponse respiratoire a été mesurée par la valeur de VEMSpp transformée en SaKnorm Z-value et la réponse nutritionnelle par l'indice de masse corporelle (IMC Z-score). Les facteurs de variabilité interindividuelle ont été analysés par des modèles d'estimation d'équations généralisées mixtes pondérées.

**Résultats :** Parmi les 1 231 enfants CF, 50 % ont une *Pa*-IA à l'âge de 5,1 ans [Intervalle de confiance à 95 % (IC) : 3,8 à 6,2] et 25 % une *Pa*-CC à l'âge de 14,7 ans (IC 95 % : 12,1 à ∞). Le diabète, l'atteinte hépatique, les co-infections bactériennes et fongiques, les saisons et les conditions climatiques environnementales sont des facteurs de risque de l'infection à *Pa* ; alors que le sexe, les mutations de *CFTR* et la taille des centres de suivis ne le sont pas. Il est confirmé que des variants génétiques des gènes *TNF*, *DCTN4*, *SLC9A3* et *CAV2* sont associés à l'infection à *Pa*. Le taux annuel de déclin du VEMSpp avant la *Pa*-IA de -0,38 % (IC 95 % : -0,59 à -0,18), diminue significativement après la *Pa*-IA à -0,93 % (IC 95 % : -1,14 à -0,71) et à -1,51 % (IC 95 % : -1,86 à -1,16) après la *Pa*-CC.

Chez les 765 patients CF ayant débuté le traitement LUMA-IVA, des gains de fonction respiratoire et d'état nutritionnel sont observés après 6 mois de traitement, avec en moyenne + 2,11 ( $\pm$  7,81) points de VEMSpp et + 0,44 ( $\pm$  0,77) kg/m<sup>2</sup> d'IMC, et sont maintenus pendant les 2 ans. Ces gains sont plus importants chez les patients les plus sévères, ceux qui se situent dans le 1<sup>er</sup> tercile de SaKnorm Z-value et de BMI Z-score *baseline*. Bien que les femmes aient un état nutritionnel plus altéré que les hommes avant l'initiation du traitement, elles ont eu un gain d'IMC plus important, et retrouvent ainsi des valeurs d'IMC Z-score similaires à celles des hommes après 2 ans de traitement. Nous n'avons observé aucune association entre les variants des gènes *SLC* et la réponse respiratoire au traitement LUMA-IVA, mais le variant *SLC6A14* rs12839137 est associé à la réponse nutritionnelle.

**Conclusions :** Cette description épidémiologique de l'infection à *Pa* dans une très large cohorte d'enfants CF a identifié et répliqué plusieurs facteurs de risque associés à la *Pa*-IA et à la *Pa*-CC et montré son impact délétère sur la fonction respiratoire. Cette étude confirme que l'infection des voies aériennes par *Pa* est un déterminant majeur de la sévérité de l'atteinte pulmonaire. Chez les 765 patients ayant initié le traitement LUMA-IVA, nous avons observé que les patients les plus sévères gagnent le plus en fonction respiratoire et en état nutritionnel. Seul le variant *SLC6A14* rs12839137 est associé à la réponse nutritionnelle au traitement. D'autres études, incluant d'autres régions génomiques, seront nécessaires pour explorer la variabilité interindividuelle de la réponse au traitement LUMA-IVA.

La connaissance des facteurs de variabilité interindividuelle, notamment les gènes modificateurs, permettrait de distinguer les patients à risque de développer une infection plus précoce à *P. aeruginosa* et de répondre différemment au traitement LUMA-IVA. C'est une étape fondamentale afin de parvenir à une médecine individualisée, orientée vers la préservation du capital santé des patients atteints de mucoviscidose.

**Mots clés:** mucoviscidose, facteurs de risque, gènes modificateurs, fonction respiratoire, *Pseudomonas aeruginosa*, traitement modulateur de CFTR