

Mise au point sur la mucoviscidose

Julie Beucher, Harriet Corvol

Service de pneumologie pédiatrique, Centre de ressources et de compétences pour la mucoviscidose, Inserm U938, Université Pierre et Marie Curie– Paris 6, Hôpital Trousseau, 75012 Paris, France.

Introduction

La mucoviscidose est la maladie génétique autosomique récessive létale la plus fréquente dans la population d'origine caucasienne. Mucoviscidose, également appelé fibrose kystique, signifie « mucus visqueux ». C'est une maladie pouvant toucher l'ensemble des épithéliums glandulaires de l'organisme.

La protéine défectueuse à l'origine de la mucoviscidose est restée longtemps inconnue. En 1989, le gène sera localisé sur le bras long du chromosome 7 et dénommé *CFTR* pour *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*¹⁻³. Le gène *CFTR* code pour un canal chlorure de la membrane cytoplasmique situé au pôle apical des cellules épithéliales et dont la fonction est de réguler le transport de chlore à travers la membrane selon un gradient électrochimique. Chez l'homme, l'expression pulmonaire de *CFTR* varie en fonction du type cellulaire. Elle est fortement exprimée dans les cellules ciliées de l'épithélium bronchique et dans les pneumocytes de type II au niveau alvéolaire.

Le déficit en protéine *CFTR* joue également un rôle important dans la réponse immuno-inflammatoire locale et dans la défense anti-microbienne. Le *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), germe opportuniste qui constitue un des tournants de la maladie⁴, s'installe dans le tissu pulmonaire sous forme d'un biofilm, qui lui confère une résistance vis-à-vis des mécanismes de défense immunitaire^{5,6}.

Mutations du gène *CFTR*

Près de 1 900 mutations du gène *CFTR* sont décrites actuellement. Les plus fréquentes sont les mutations faux-sens (40%), suivies des mutations par décalage du cadre de lecture (frameshift-16%), des mutations sur le site d'épissage (12%), des mutations non-sens (8%)⁷. En fonction de leurs répercussions, on parlera de mutations sévères ou modérées. Ces mutations peuvent être regroupées en 6 classes selon leurs conséquences fonctionnelles, entraînant une grande variabilité des manifestations cliniques et influençant l'évolution de la maladie :

- **Mutations classe 1** : mutations altérant la production de la protéine. Ces mutations résultent en une perte de fonction, liée à un défaut de synthèse. Il n'y a pas de transcription du gène en acide ribonucléique messenger (ARNm) stable. Sur le plan fonctionnel, ces mutants conduisent à une perte de la conductance au Cl⁻ du canal *CFTR* dans les épithéliums atteints.

- **Mutations classe 2** : mutations perturbant le processus de maturation cellulaire de la protéine. La protéine mutante n'est donc pas adressée à la membrane, en général elle reste localisée dans le cytoplasme. Ainsi, la protéine est soit absente, soit présente en quantité réduite dans la membrane apicale. Les mutations de cette classe représentent la majorité des anomalies observées, notamment la mutation p.Phe508del ou F508del. Elle correspond à la délétion de 3 nucléotides au niveau du 10^{ème} exon du gène, aboutissant à l'élimination d'une phénylalanine en position 508 de la protéine.
- **Mutations classe 3** : mutations perturbant la régulation du canal chlore, les protéines mutées sont présentes à la membrane apicale, mais ne peuvent pas être activées ou ont une fonction de canal Cl⁻ anormale.
- **Mutations classe 4** : mutations altérant la conduction et les mécanismes d'ouverture et de fermeture du canal Cl⁻. Les caractéristiques de ces canaux sont différentes de celles du canal CFTR endogène avec une diminution du flux d'ions et une sélectivité modifiée. Les mutations R117H appartiennent à cette classe.
- **Mutations classe 5** : mutations altérant la stabilité de l'ARNm CFTR. Ces mutations influencent la quantité d'ARNm, ainsi que la quantité de protéines fonctionnelles.
- **Mutations classe 6** : mutations altérant la stabilité de la protéine mature et donc perturbant la régulation des autres canaux par CFTR⁸. Ce sont principalement des mutations générant des protéines tronquées dans leur partie C-terminale comme Q1412X et 4326delTC.

Méthodes diagnostiques

Les critères diagnostiques de la mucoviscidose ont été définis lors de la conférence de consensus américaine de 1998⁹. Le diagnostic repose sur l'association de signes cliniques (signes cliniques évocateurs, antécédent de mucoviscidose dans la fratrie, test de dépistage néonatal positif) et d'un test de la sueur positif à 2 reprises (Cl⁻>60 mmol/l) et/ou la présence de 2 mutations du gène *CFTR*.

En 2002, la France a mis en place le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose au niveau national pour permettre un diagnostic précoce et une prise en charge optimale dans un centre spécialisé. Ces centres, au nombre de 49 en France, ont été dénommés « centres de ressources et de compétences de la mucoviscidose » (CRCM). Ce dépistage repose sur le dosage de trypsine immuno-réactive (TIR) à partir d'un échantillon de sang prélevé sur papier buvard au 4^{ème} jour de vie et dosé selon la technique mise au point par Crossley et al.¹⁰. Afin de limiter le nombre de faux positifs, le dosage de la TIR est couplé à la recherche des 30 principales mutations du gène de la mucoviscidose. En cas de résultat supérieur au seuil (>60µg/l), les enfants sont alors convoqués par les CRCM pour réaliser le test diagnostic : le test de la sueur.

Le test de la sueur représente le principal test diagnostique de cette pathologie, il est positif dans 98% des cas¹¹. Il consiste en un dosage de la concentration de chlore contenu dans la sueur des patients. Les techniques utilisées actuellement sont simples mais le facteur limitant est la quantité de

sueur recueillie qui peut être insuffisante chez le nourrisson de moins de deux mois, entraînant un risque d'erreur. Un test de la sueur retrouvant une concentration de chlore supérieure à 60mmol/L est en faveur d'une mucoviscidose et doit être contrôlé pour confirmer le diagnostic. La concentration normale doit être inférieure à 40 mmol/L. En cas de taux intermédiaire, situé entre 40 et 60mmol/L, l'interprétation est douteuse et un contrôle s'avère nécessaire. Chez les patients atteints de mucoviscidose, l'absorption de chlore par les canaux excréteurs des glandes sudoripares est impossible car l'altération de *CFTR* rend imperméable la couche épithéliale au chlore.

Une autre technique mise au point par Knowles ¹² consiste à mesurer la différence de potentiel de l'épithélium qui existe entre la peau et la muqueuse nasale, explorant ainsi les transports ioniques transépithéliaux. Cette valeur est significativement augmentée en cas de mucoviscidose, reflétant une absorption accrue de sodium. Le principal intérêt de cette technique est d'apporter une aide au diagnostic dans les formes atypiques avec des tests de la sueur intermédiaires.

Le génotypage par analyse génétique, devenu systématique en France, vise à rechercher la présence de mutations du gène *CFTR*.

Manifestations cliniques

Le dysfonctionnement des canaux CFTR est responsable de la déshydratation et de l'hyperviscosité du liquide de surface tapissant l'épithélium bronchique, entraînant une mauvaise clairance muco-ciliaire. L'ensemble des glandes exocrines (glandes sudoripares, pancréas,...) de l'organisme est atteint. La présentation clinique de la mucoviscidose est très hétérogène entre différentes familles ainsi qu'au sein d'une même famille. En France, un nouveau-né sur 4500 est touché par la mucoviscidose. Dès la naissance, il peut survenir un iléus méconial dans 10 à 20% des cas. Cet iléus méconial correspond à une occlusion intestinale basse néonatale qui se traduit par l'absence d'émission du méconium les premiers jours de vie. Plus tard, la forme clinique la plus fréquente associe des troubles respiratoires à des troubles digestifs et de la croissance staturo-pondérale.

Manifestations pulmonaires

La cause principale de morbidité et mortalité est l'atteinte pulmonaire. La déshydratation des sécrétions bronchiques entraîne une altération de la clairance muco-ciliaire et une obstruction chronique des bronchioles par un mucus épais. Cette obstruction évolue rapidement vers une inflammation bronchique excessive et des infections à répétition. Ceci explique en partie les infections répétées à germes opportunistes, d'abord *Staphylococcus aureus* et *Haemophilus influenzae* puis *P. aeruginosa*, bactérie naturellement résistante à de nombreux antibiotiques et qui devient peu à peu le principal agent pathogène des voies respiratoires. Les symptômes initiaux associent des bronchites récidivantes à une toux grasse, productive et perannuelle. L'évolution se fait par poussées, responsables d'une dégradation progressive de l'épithélium respiratoire, aboutissant à une insuffisance respiratoire terminale.

Manifestations pancréatiques

Il survient une insuffisance pancréatique exocrine chez 85-90% des patients. Cette insuffisance pancréatique est liée à un défaut d'excrétion dans la lumière intestinale de trypsine et de lipase, du fait d'une obstruction des canaux pancréatiques par des sécrétions trop épaisses et de la dégénération et la fibrose du tissu pancréatique. Elle est responsable d'un défaut d'absorption des graisses et des vitamines liposolubles (A, D, E, K). La malabsorption est responsable d'une stéatorrhée (diarrhée grasseuse) et un retard de croissance staturo-pondérale. L'état de la fonction pancréatique exocrine, déficiente ou conservée, permet d'apprécier la gravité du phénotype des patients : phénotype sévère dans le premier cas ou modéré dans le second.

Le diabète, secondaire à une insuffisance pancréatique interne, est une des complications de la mucoviscidose, dont le risque augmente avec l'âge jusqu'à atteindre environ un patient sur 3 à l'âge adulte ¹³. La survenue d'un diabète est délétère pour la fonction pulmonaire et la mortalité ¹³.

Manifestations digestives

Les manifestations digestives les plus caractéristiques sont des obstructions intestinales. On distingue 2 formes d'obstruction : l'iléus méconial qui survient à la naissance et le syndrome d'obstruction intestinal distal dont les similarités étaient en faveur d'une étiologie commune. L'iléus méconial, secondaire à un défaut d'émission du méconium est responsable d'une occlusion intestinale aiguë néonatale. Le syndrome occlusif intestinal distal (SOID) est spécifique à la mucoviscidose. Il consiste en une occlusion intestinale au niveau de l'intestin grêle. Il se traduit par des douleurs abdominales spastiques en fosse iliaque droite, une distension abdominale et à l'extrême un syndrome occlusif. Le diagnostic peut être confirmé par une stase stercorale en fosse iliaque droite sur l'abdomen sans préparation. L'examen diagnostic et thérapeutique de référence est le lavement à la gastrograffine diluée, qui permet de confirmer le diagnostic mais aussi à la levée de l'obstruction.

Il y a également une fréquence de reflux gastro-œsophagien (RGO) dans la mucoviscidose, qui concernent jusqu'à 80% des adultes ¹⁴. Il est du à une relaxation inappropriée du sphincter inférieur de l'œsophage. La prise en charge est symptomatique et non spécifique.

Manifestations oto-rhino-laryngologiques

Il existe une inflammation des voies aériennes supérieures similaire à celle observée au niveau pulmonaire. On observe alors des sinusites à répétition qui peuvent être asymptomatiques ou responsables de céphalées. Une polypose naso-sinusienne peut également survenir sous forme de formations charnues de la muqueuse. Les symptômes sont une obstruction nasale, une épistaxis ou une sinusite.

Autres manifestations

L'atteinte hépato-biliaire est fréquente et peut évoluer vers une insuffisance hépatique dans environ 10% des cas. Cette symptomatologie est liée à une élévation de la viscosité de la bile et une obstruction des canaux hépatiques. La lésion hépatique pathognomonique de la mucoviscidose est la cirrhose biliaire focale, qui peut se compliquer d'une cirrhose.

Les manifestations génitales se traduisent chez la femme par une hypofertilité liée à des modifications de la glaire cervicale. Chez l'homme, il existe une agénésie bilatérale des canaux déférents entraînant une azoospermie et une stérilité.

Les désordres hydro-électrolytiques au niveau des glandes sudoripares peuvent être responsables d'un syndrome de perte de sel avec une déshydratation aiguë lors d'efforts physiques importants ou de fortes chaleurs.

Examens complémentaires

Les patients font l'objet d'un suivi régulier dans les CRCM. En dehors des examens complémentaires requis suite à la survenue de complications, un bilan annuel systématique est réalisé. Ce bilan consiste en des examens biologiques, radiologiques et fonctionnels respiratoires.

Les explorations biologiques visent à ajuster les suppléments oraux en dosant les vitamines et oligo-éléments. Sont dépistés également des signes biologiques d'inflammation, l'apparition d'une atteinte hépatique ou d'un diabète.

Des ECBC sont réalisés systématiquement afin de dépister une infection ou une colonisation des voies respiratoires et d'adapter les antibiothérapies.

Les explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) permettent d'évaluer la fonction respiratoire du patient et de suivre l'évolution de la maladie en comparant aux EFR précédentes. Elles sont effectuées au moins 2 fois par an puis en fonction des symptômes.

Concernant l'imagerie, en dehors de la radio de thorax annuelle sont réalisés des scanners thoraciques tous les 2 à 3 ans en fonction des équipes. L'intérêt de l'IRM thoracique est en cours d'exploration pour ces patients dont l'espérance de vie s'est nettement améliorée. Des échographies abdominales annuelles permettent de rechercher une atteinte hépatobiliaire. Des échographies cardiaques, annuelles à partir de l'âge de 10 ans, dépistent l'apparition d'une hypertension artérielle pulmonaire, facteur de mauvais pronostic associé à l'hypoxie.

Principes de traitement

Les progrès dans la prise en charge avec la mise en place des CRCM et l'amélioration des thérapeutiques ont permis d'augmenter l'espérance de vie, qui est de 46 ans pour les enfants nés en

2008. Il n'existe pas à ce jour de traitement curatif de la maladie. La prise en charge consiste en un traitement symptomatique.

Prise en charge de l'atteinte digestive

Prise en charge nutritionnelle

Une dénutrition est observée dans la mucoviscidose, du fait d'une diminution des ingestats et une augmentation des pertes. La diminution des ingestats est secondaire à l'insuffisance pancréatique exocrine et à une anorexie favorisée par l'encombrement, les douleurs abdominales, les prises médicamenteuses,... L'augmentation des pertes est secondaire à l'inflammation et à l'augmentation du travail musculaire. Une prise en charge nutritionnelle avec un enrichissement des apports est le plus souvent nécessaire avec l'évolution de la maladie.

Insuffisance pancréatique

L'insuffisance pancréatique exocrine (IPE) touche 85-90% des patients. Depuis les années 80, les patients reçoivent une supplémentation en extrait pancréatique administré par voie orale lors de chaque repas et adapter en fonction du volume des repas et des symptômes digestifs. Une insulinothérapie adaptée sera prescrite en cas de diabète associé (insuffisance pancréatique endocrine).

Supplément vitaminique

L'IPE est associée à une malabsorption des vitamines liposolubles (A, D, E, K), il existe également un déficit en vitamine B12 et en zinc. Les patients reçoivent alors des compléments vitaminiques et des oligoéléments pour compenser ces pertes.

Prise en charge de l'atteinte pulmonaire

Amélioration de la clairance mucociliaire

L'altération de la clairance mucociliaire favorise la survenue d'infection et participe à la destruction du parenchyme pulmonaire. La kinésithérapie respiratoire est systématique dès que le diagnostic est posé, même en l'absence de symptômes.

Des mucolytiques peuvent être administrés aux patients afin de fluidifier les sécrétions. Des aérosols de desoxyribonuclease recombinante humaine (rhDNase ou Pulmozyme®) permettent d'hydrolyser de grandes quantités d'ADN issu des polynucléaires et des bactéries du site inflammatoire. Ce traitement permet de diminuer la viscosité du mucus pulmonaire, améliorant ainsi la fonction pulmonaire ¹⁵.

Par leur effet osmotique, l'inhalation de sérum salé hypertonique pourrait également favoriser l'hydratation du mucus et améliorer la clairance mucociliaire ^{16,17}. Le sérum salé hypertonique s'avère néanmoins moins efficace que la dornase est indiqué en seconde ligne en cas d'échec ou d'intolérance du pulmozyme® ¹⁸. Des aérosols de mannitol ont également été proposés pour leur pouvoir osmotique, ils devraient prochainement être commercialisés en Europe.

Antibiothérapie

L'antibiothérapie doit être précoce, débutée dès l'apparition de signes d'exacerbation pulmonaire. Un examen cytotactériologique des crachats (ECBC) est systématiquement réalisé. Il permet d'isoler des germes et de réaliser un antibiogramme pour ainsi mettre en route une antibiothérapie ciblée.

Dans un premier temps, l'antibiothérapie vise principalement le *S. aureus* et l'*H. influenzae* souvent traité par une antibiothérapie orale. En cas d'infection au *P. aeruginosa*, la primocolonisation pourra être traitée soit par une antibiothérapie orale ou inhalée, soit par voie veineuse selon la clinique. Il a été démontré qu'une prise en charge précoce permet d'éradiquer le pathogène de l'organisme et ainsi de retarder la colonisation chronique¹⁹. En cas d'infection chronique, les exacerbations seront traitées par voie veineuse.

Concernant les autres infections, le choix de l'antibiothérapie sera fonction du germe, des symptômes et de l'antibiogramme.

Anti-inflammatoires

Très rapidement, il apparaît un cercle vicieux dans la mucoviscidose impliquant l'inflammation, l'infection et la libération de dérivés oxydants. Un des enjeux de la thérapeutique est de rompre ce cercle vicieux, c'est pourquoi des anti-inflammatoires et anti-oxydants sont apparus comme des traitements de choix.

Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) : De fortes doses d'ibuprofène ont été associées à un ralentissement du déclin du VEMS, principalement chez des enfants ayant une atteinte modérée²⁰. Mais les effets secondaires gastriques et rénaux fréquents ont conduit à l'abandon de ces traitements.

Corticothérapie : Les corticoïdes sont connus pour leur rôle anti-inflammatoire en diminuant le recrutement des neutrophiles et la libération de cytokines. Un effet bénéfique des corticoïdes par voie systémique a été rapporté chez des enfants présentant une forme modérée de mucoviscidose, avec une amélioration de la fonction respiratoire et une réduction de la fréquence des exacerbations. Toutefois, ces bénéfices sont ternis par des effets secondaires notables. Ainsi, les corticoïdes par voie systémique ne sont pas utilisés, en dehors des aspergilloses broncho-pulmonaires (ABPA) immunoallergiques et des exacerbations sévères. Concernant les corticoïdes inhalés, ils font l'objet de controverse mais restent néanmoins très souvent prescrits dans le cadre de la mucoviscidose. Une revue de la cochrane n'a pas pu établir l'effet bénéfique ou délétère de cette thérapeutique dans la mucoviscidose²¹.

Macrolides : Les macrolides sont des antibiotiques utilisés pour leur action antibactérienne contre les germes intracellulaires. Ils sont également prescrits à doses prophylactiques pour leurs propriétés anti-inflammatoires, en particulier, l'azithromycine. Pour la mucoviscidose, une récente méta-analyse a pu identifier les bénéfices d'un traitement prophylactique par azithromycine en analysant l'ensemble des études randomisées²². Il s'en dégage que ce traitement permettrait une amélioration du volume expiratoire maximal seconde (VEMS, reflet de la fonction respiratoire) essentiellement pour les patients colonisés par le *P. aeruginosa*. Malgré un nombre similaire d'exacerbations, ce traitement serait également associé à moins de cures d'antibiotiques oraux et à une meilleure qualité de vie. Cependant, les effets secondaires seront à surveiller afin de dépister l'apparition de résistances bactériennes et l'émergence de bactéries atypiques.

Nouvelles voies thérapeutiques

Plusieurs molécules sont actuellement à l'étude pour rétablir la fonctionnalité du canal CFTR.

Le vertex 770 (Ivacaftor[®]) est une molécule qui permettrait d'activer le canal CFTR déficient secondairement à des mutations de classe III. Ce traitement a fait l'objet d'une étude randomisée en double aveugle contre placebo chez des sujets porteurs de la mutation G551D. Les patients traités par Ivacaftor[®] améliorent rapidement et de façon très significative leur VEMS, gagnent du poids, et les exacerbations sont diminuées de plus de moitié sans effet secondaire notable. Face à ces résultats très encourageants, cette molécule sera très prochainement commercialisée.

Le vertex 809 est quant à lui un correcteur de la protéine CFTR et pourrait être utile en présence de mutations de classe II en traitement combiné avec le vertex 770. Enfin, la molécule PTC124 (Altaluren[®]) pourrait restaurer partiellement la production de CFTR en présence d'une mutation associée à un codon stop prématuré, de classe I. Ces molécules font actuellement l'objet d'études pharmacologiques à des fins thérapeutiques avec des premiers résultats publiés encourageants.

Références

1. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;**245**(4922):1073-80.
2. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;**245**(4922):1066-73.
3. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989;**245**(4922):1059-65.
4. Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, Ramsey B, Gibson RL. Pseudomonas aeruginosa and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002;**34**(2):91-100.
5. Bjarnsholt T, Jensen PO, Fiandaca MJ, et al. Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 2009;**44**(6):547-58.
6. Hoiby N, Ciofu O, Bjarnsholt T. Pseudomonas aeruginosa biofilms in cystic fibrosis. *Future Microbiol* 2010;**5**(11):1663-74.
7. www.genet.sickkids.on.ca/cftr.
8. Pilewski JM, Frizzell RA. Role of CFTR in airway disease. *Physiol Rev* 1999;**79**(1 Suppl):S215-55.
9. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998;**132**(4):589-95.
10. Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet* 1979;**1**(8114):472-4.
11. Ruef C, Jefferson DM, Schlegel-Haueter SE, Suter S. Regulation of cytokine secretion by cystic fibrosis airway epithelial cells. *Eur Respir J* 1993;**6**(10):1429-36.
12. Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference: techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther* 1995;**6**(4):445-55.
13. Mackie AD, Thornton SJ, Edenborough FP. Cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med* 2003;**20**(6):425-36.

14. Ledson MJ, Tran J, Walshaw MJ. Prevalence and mechanisms of gastro-oesophageal reflux in adult cystic fibrosis patients. *J R Soc Med* 1998;**91**(1):7-9.
15. Quan JM, Tiddens HA, Sy JP, et al. A two-year randomized, placebo-controlled trial of dornase alfa in young patients with cystic fibrosis with mild lung function abnormalities. *J Pediatr* 2001;**139**(6):813-20.
16. Wills PJ, Hall RL, Chan W, Cole PJ. Sodium chloride increases the ciliary transportability of cystic fibrosis and bronchiectasis sputum on the mucus-depleted bovine trachea. *J Clin Invest* 1997;**99**(1):9-13.
17. Elkins MR, Robinson M, Rose BR, et al. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2006;**354**(3):229-40.
18. Mucoclear. *Haute autorité de santé* 2008.
19. Taccetti G, Campana S, Festini F, Mascherini M, Doring G. Early eradication therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 2005;**26**(3):458-61.
20. Konstan MW, Byard PJ, Hoppel CL, Davis PB. Effect of high-dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1995;**332**(13):848-54.
21. Dezateux C, Walters S, Balfour-Lynn I. Inhaled corticosteroids for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000(2):CD001915.
22. Cai Y, Chai D, Wang R, Bai N, Liang BB, Liu Y. Effectiveness and safety of macrolides in cystic fibrosis patients: a meta-analysis and systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2011;**66**(5):968-78.