

Université de Montréal

Étude clinique sur l'impact du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline
sur l'évolution des patients atteints de fibrose kystique

par

The Thanh Diem Nguyen

Programme de Sciences Biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de Maîtrise (M.Sc.)

en Sciences Biomédicales

option recherche clinique

Février 2012

© The Thanh Diem Nguyen, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :
Étude clinique sur l'impact du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline
sur l'évolution des patients atteints de fibrose kystique

Présenté par :
The Thanh Diem Nguyen

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Yves Berthiaume, président-rapporteur
Dr Sophie Laberge, directrice de recherche
Dr Annick Lavoie, membre du jury

RÉSUMÉ

La prévalence du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) a augmenté de façon dramatique dans les dernières années chez les patients atteints de fibrose kystique. Quoique le rôle du SARM dans la pathogénèse de l'atteinte respiratoire de la fibrose kystique ne soit pas clairement déterminé, certaines études récentes ont suggéré une association entre la persistance du SARM et le déclin accéléré de la fonction respiratoire. Cependant, l'importance clinique des diverses souches qui colonisent les patients atteints de fibrose kystique n'a pas encore été élucidée.

Les objectifs de ce mémoire étaient de déterminer les effets d'une colonisation persistante par un SARM sur le statut clinique et respiratoire des enfants atteints de fibrose kystique. Également, nous tenions à étudier les caractéristiques des différentes souches de SARM dans cette population.

Nous avons réalisé une étude rétrospective en analysant les données cliniques ainsi que les mesures de la fonction respiratoire chez les enfants atteints de fibrose kystique suivis à la Clinique de fibrose kystique du CHU Sainte-Justine entre 1996 et 2008 et ayant une colonisation persistante par un SARM. Afin de déterminer les souches qui colonisent cette population, nous avons effectué une caractérisation moléculaire des isolats du SARM.

Nous avons identifié 22 patients avec une colonisation persistante par un SARM. Les résultats n'ont démontré aucun changement significatif en ce qui concernait le taux de déclin de la fonction respiratoire avant ou après l'acquisition du SARM. Cependant, la colonisation persistante par un SARM était associée à une augmentation du nombre d'hospitalisations pour une exacerbation pulmonaire. La plupart de nos patients étaient colonisés par le CMRSA-2, une souche épidémique au Canada.

La présente étude suggère que la souche épidémique CMRSA-2 pouvait affecter l'évolution clinique des enfants atteints de fibrose kystique.

Mots-clés : Fibrose kystique, pédiatrie, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, SARM, tests de fonction pulmonaire, fonction respiratoire, électrophorèse en champ pulsé.

SUMMARY

Over the last several years, the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has increased dramatically among cystic fibrosis (CF) patients. Although the exact role of MRSA in the pathogenesis of lung disease has not been clearly established, some studies suggest an association between persistent infection with MRSA and a more rapid rate of decline in lung function. It is uncertain whether all MRSA strains that infect CF patients are clinically important.

The objectives of this thesis is to determine the effects of persistent MRSA on the clinical status and the lung function in children followed at the CF clinic at CHU Sainte-Justine and to characterize the MRSA strains in this population.

We reviewed lung function measurements from subjects with persistent MRSA followed at our clinic between years 1996 and 2008. The first isolate from each patient was further characterized by molecular analysis. The results of the present study showed no significant difference for the rate of decline in lung function prior to and after MRSA colonization. However MRSA colonization was associated with an increased number of severe respiratory exacerbations requiring hospitalization. CMRSA-2, an epidemic clone in Canada, was found in the majority of our patients.

This study suggests that persistent colonization with CMRSA-2 may affect the clinical outcome of children with cystic fibrosis.

Keywords: Cystic fibrosis, pediatrics, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, lung function tests, pulse-field gel electrophoresis.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....	iii
Summary	v
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations.....	x
Remerciements.....	xi
<hr/>	
Section 1 : Introduction.....	1
1.1 Fibrose kystique.....	1
1.1.1 Physiopathologie de l’atteinte pulmonaire.....	2
1.1.2 Microbiologie.....	4
1.1.3 Évolution clinique.....	8
1.2 SARM.....	9
1.2.1 Épidémiologie	9
1.2.2 Virulence.....	13
1.2.3 Atteinte clinique.....	16
1.2.4 Traitement.....	16
1.3 SARM et fibrose kystique	17
1.4 Hypothèse et objectifs.....	21
Section 2 : Méthodologie et résultats.....	22
Article : <i>Persistent Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Children with Cystic Fibrosis</i>	23
2.1 Abstract.....	25
2.2 Introduction.....	26
2.3 Methods.....	27
2.3.1 Study design.....	27
2.3.2 Microbiological methods.....	27
2.3.3 Statistical analysis.....	29

2.4 Results.....	29
2.5 Discussion.....	30
2.6 Conclusion.....	33
2.7 Acknowledgement.....	34
2.8 Reference.....	35
2.9 Tables.....	42
2.10 Figure legends.....	45
Section 3 : Discussion	49
3.1 PVL.....	53
3.2 Limites de l'étude.....	53
Section 4 : Conclusion.....	54
Section 5 : Références.....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Souches épidémiques de SARM au Canada

Article : *Persistent Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Children with Cystic Fibrosis*

Table 1 : Baseline characteristics at time of MRSA acquisition

Table 2 : Lung function and clinical outcomes 2 years prior to and 2 years after MRSA acquisition

Table 3 : Microbiologic characteristics of MRSA isolates

LISTE DES FIGURES

Article : *Persistent Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Children with Cystic Fibrosis*

Figure 1 : New cases of MRSA between 1996 and 2008

Figure 2 : FEV₁ % predicted values 2 years before and 2 years after MRSA acquisition. Time 0 represents time of first MRSA acquisition.

Figure 3 : PFGE pattern and phylogenetic tree of the 18 MRSA isolates. The scale indicates the level of pattern similarity. Pulsovars nomenclature was designated by letters. The epidemic strain CMRSA-2 was designated by the letter A. Numbers indicate the number of band differences compared to the reference strain. For example, pulsovar A2 has a 2-band difference from pulsovar A.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Français

ΔF508 : Délétion du résidu phénylalanine 508

ADN : Acide désoxyribonucléique

LBA : Lavage broncho-alvéolaire

DEMM₂₅₋₇₅ : Débit expiratoire maximal médian

FK : Fibrose kystique

IL : Interleukine

PCSIN : Programme canadien de surveillance des infections nosocomiales

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline

VEMS : Volume expiratoire maximal par seconde

Anglais

ATP : Adenosine triphosphate

CA-MRSA : Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

CFFPR : Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry

CFTR : Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

CMRSA : Canadian methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

ESCF : Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis

HA-MRSA : Health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MIC : Minimum inhibitory concentration

MRSA : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

NOS-2 : Nitric oxide synthase 2

PVL : Panton-Valentine leukocidin

REMERCIEMENTS

J'aimerais d'abord remercier ma directrice de recherche, Dr Sophie Laberge. Merci de m'avoir soutenue durant ce parcours. Vous êtes pour moi une inspiration sur le plan humain et professionnel. Votre patience, votre amitié et votre humanisme me sont très chers. Merci, merci pour tout.

Mes remerciements à tous mes coauteurs pour votre disponibilité, vos précieuses idées et vos conseils. Merci à Sylvie et Gisèle. Merci non seulement pour votre aide mais également pour votre grande amitié. Sylvie, ta patience lors de la correction de ce mémoire m'a fait chaud au cœur.

Un grand merci à Danielle Buch, éditrice/rédactrice à l'Unité de recherche clinique appliquée du Centre de recherche, CHU Sainte-Justine, pour la révision linguiste du manuscrit version française.

À tous les patients et à l'équipe de fibrose kystique du CHU Sainte-Justine, merci ! Vous êtes l'âme même de ce travail.

Enfin, ce mémoire est dédié à ma mère, à mon frère et à sa famille. Merci pour vos sacrifices et votre amour inconditionnel. Je sais que vous êtes et serez toujours là pour moi. Maman, tu es en même temps une mère, une secrétaire, une cuisinière, une confidente et ma meilleure amie. Je t'aime beaucoup, beaucoup, et tu le sais. Nam et Vy, mes deux petits trésors, c'est vos sourires et vos rires qui m'ont accompagnée durant ces longs mois loin de la maison.

1- INTRODUCTION

1.1 Fibrose kystique

Au Canada, la fibrose kystique (FK) affecte 1 nouveau-né sur 3600 naissances. Selon le registre canadien de la fibrose kystique, 3800 enfants et adultes fréquentaient des cliniques spécialisées en fibrose kystique en 2011 et il est estimé que sur le plan mondial, plus de 60 000 personnes sont atteintes de la maladie.¹ Malgré l'avancée des connaissances et des traitements, la FK demeure la principale cause de mortalité parmi les maladies héréditaires récessives autosomiques chez la population caucasienne.² En 1983, l'espérance de vie était de 25 ans, en 2008 elle avait atteint 46.6 ans.

Le gène de la FK a été découvert en 1989 par Riordan et al.³ Il est situé sur le bras long du chromosome 7 et comprend 27 exons codant pour une protéine de 1480 acides aminés, appelée « cystic fibrosis transmembrane conductance regulator » (CFTR). La protéine CFTR, située au pôle apical des cellules épithéliales, appartient à la famille des transporteurs « ATP-binding cassette ». Son activité est régulée par l'acide adénosine monophosphorique cyclique. La protéine CFTR est composée de cinq domaines : deux domaines transmembranaires hydrophobes comportant chacun six segments transmembranaires en hélice alpha, deux domaines qui lient et hydrolysent l'adénosine triphosphate (ATP) et finalement un domaine régulateur central (R) chargé agissant comme site de phosphorylation pour les protéines kinases A ou C. La protéine CFTR joue un rôle majeur dans le transport du chlore à travers la membrane cellulaire. Elle participe également à la régulation du transport sodique et potassique ainsi qu'à la formation de certaines molécules complexes dans la membrane plasmique. Enfin, le rôle de la protéine va au-delà du transport ionique car elle influence l'expression de nombreuses protéines modificatrices, entre autres les facteurs inflammatoires.⁴

Depuis l'identification du gène, plus de 1800 mutations ont été découvertes, dont seules 22 ont une fréquence dépassant 0.1 % (www.genet.sickkids.on.ca/cftr/). Certains mécanismes ont été démontrés *in vitro* par lesquels la protéine CFTR

pouvait être altérée. Cinq classes de mutations ont été proposées, selon leur effet fonctionnel.⁵

Classe I : absence de synthèse

Classe II : défaut de maturation avec dégradation prématurée

Classe III : perturbation de la régulation du canal chlore

Classe IV : altération de la conduction du canal chlore

Classe V : défaut de synthèse ou de fonction

La mutation la plus commune, une délétion de trois paires de bases responsables du codage de la phénylalanine à la position 508 de la protéine CFTR ($\Delta F508$), se retrouve dans 70 % des allèles FK chez la population caucasienne.² Cette délétion appartient à la classe II. Nonobstant où elle se classe, une mutation du gène CFTR entraîne l'absence ou la fonction altérée de la protéine CFTR, résultant en une anomalie du transport ionique.

1.1.1 Physiopathologie de l'atteinte respiratoire

La FK est une maladie multisystémique, mais l'atteinte pulmonaire explique 85 % du taux de mortalité.⁶ La FK affecte les voies respiratoires et les glandes sous-muqueuses, sites prédominants de l'expression du CFTR. Le parenchyme pulmonaire est relativement épargné jusqu'à tard dans la maladie. Malgré l'aspect normal de la morphologie des voies respiratoires à la naissance, les changements histologiques surviennent tôt en postnatal, voire les biopsies pulmonaires post mortem dans les quatre premiers mois de la vie.⁷ Le premier changement macroscopique observé est une augmentation du diamètre acinaire des glandes sous-muqueuses.⁸ La maladie avançant, les voies respiratoires distales obstruées se dilatent et évoluent en bronchiectasies. La présence de bronchiectasies aggrave la rétention de mucus et ainsi se crée le cercle vicieux de stase de mucus, d'inflammation et d'infection.

Le mécanisme entraînant une atteinte pulmonaire à partir d'une dysfonction de la protéine CFTR n'est pas complètement élucidé. Deux hypothèses ont été proposées.⁴ La première (« low-volume model ») suggère l'absorption excessive de sodium à travers le canal sodique épithélial et par conséquent, une réabsorption d'eau. Il s'ensuit une déshydratation de la surface des voies respiratoires et une altération de la clairance mucociliaire. La deuxième hypothèse (« high-salt model ») suggère une diminution de l'absorption du chlore, en l'absence de la protéine CFTR. Les ions chlorure ne pouvant suivre l'absorption des ions sodium qui se fait via le canal sodique épithélial, s'accumulent et créent une hyperpolarisation de la différence de potentiel transépithélial. Par conséquent, la résorption nette du sodium se trouve diminuée et le sodium demeure dans la lumière ductale. Certains auteurs ont suggéré que la forte teneur en sodium du liquide à la surface des voies respiratoires désactivait les peptides antimicrobiens (défensines) et prédisposait à l'infection bactérienne.⁴ Le débat continue en ce qui concerne le mécanisme sous-jacent, cependant il est généralement accepté que la modification du volume et de la composition ionique du liquide à la surface occasionne une dysfonction ciliaire et une diminution de la clairance mucociliaire. Il s'ensuit que les bactéries inhalées ne sont pas éliminées ou expulsées et risquent d'engendrer de l'infection. Puisque la mucine est impliquée dans la liaison et l'élimination des bactéries, la défense de l'hôte se trouve une fois de plus affectée par le déficit de mucine.⁹ De plus, certaines études ont démontré que le mucus chez les personnes atteintes de fibrose kystique contenait très peu de mucine intacte.

Une anomalie de la protéine CFTR entraîne également une diminution de l'isoforme majeure de l'oxyde nitrique syntase au niveau des cellules épithéliales des voies respiratoires, notamment le NOS-2, et en second lieu, de l'oxyde nitrique.¹⁰ L'oxyde nitrique a des propriétés antibactériennes et sa réduction prédisposerait à l'infection.

L'inflammation joue un rôle clé dans la physiopathologie de la FK. Plusieurs études ont démontré une réponse inflammatoire marquée, que ce soit chez les patients avec cultures bactériennes négatives ou positives.¹¹⁻¹³ L'état pro-inflammatoire en l'absence de pathogène a été observé dans certaines études *in*

vitro chez la souris.¹⁴ En effet, chez les patients atteints de FK, le niveau d'interleukine 10 (IL-10), une molécule avec des propriétés anti-inflammatoires, était diminué dans certains spécimens de lavage broncho-alvéolaire.¹⁵ Dans la FK, l'inflammation est surtout neutrophilique.¹³ Plusieurs médiateurs participent à la cascade inflammatoire, en particulier l'IL-1 et l'IL-8, le facteur de nécrose tumorale alpha, et le leucotriène B4. La sécrétion d'élastase et de protéase par les neutrophiles activés occasionne une protéolyse et une chondrolyse du tissu pulmonaire. De plus, l'élastase neutrophilique cause une diminution de la fréquence des battements ciliaires et en conséquence une diminution de la clairance ciliaire.² Elle nuit également à la défense contre les bactéries par l'inactivation des molécules impliquées dans l'opsonisation des bactéries. Enfin, la dégradation des neutrophiles occasionne une relâche d'actine filamentaire et de débris d'acide désoxyribonucléique (ADN) de poids moléculaire élevé. Il a été démontré que ces produits de dégradation cellulaire augmentaient la viscosité des sécrétions endobronchiques.¹⁶

1.1.2 Microbiologie

La méthode de choix pour la collecte des sécrétions respiratoires est l'expectoration. Le prélèvement peut être difficile chez les jeunes enfants puisqu'ils sont incapables d'expectorer adéquatement. Deux options ont été proposées : la culture de gorge et la culture de liquide de lavage broncho-alvéolaire. La culture de gorge a une faible sensibilité (44 %) alors que sa spécificité est forte (95 %).¹⁷ La culture du liquide de lavage broncho-alvéolaire par bronchoscopie est plus sensible mais la procédure est invasive et nécessite une sédation sous anesthésie générale chez la population pédiatrique. Pour cette raison, le lavage broncho-alvéolaire est généralement réservé aux patients ayant une réponse thérapeutique sous-optimale afin de mieux documenter la présence de pathogènes respiratoires.² Une culture de gorge ou des expectorations est recommandée au moins tous les 3 mois chez un patient dont le statut respiratoire est stable.¹⁸ Des cultures supplémentaires seront nécessaires lors des exacerbations.

Les bactéries les plus communément associées à l'infection pulmonaire chez les personnes atteintes de FK sont le *Staphylococcus aureus*, l'*Haemophilus influenzae* et le *Pseudomonas aeruginosa*. Moins fréquemment, le *Stenotrophomonas maltophilia*, les bactéries du complexe *Burkholderia cepacia* et les mycobactéries atypiques seront isolées.¹⁹ Quoique la rétention de mucus et la diminution de la clairance mucociliaire contribuent certainement à accentuer la vulnérabilité à l'infection chez les patients atteints de FK, plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer l'affinité accrue de certaines bactéries pour les voies respiratoires. La prédisposition des patients atteints de FK à l'infection à *Pseudomonas aeruginosa* a été largement étudiée. On sait que l'anomalie du CFTR entraîne une augmentation de glycolipides sialylés à la surface des cellules épithéliales.²⁰ Saiman et al. ont démontré que les glycolipides servaient de récepteurs pour le *Pseudomonas aeruginosa* et augmentaient la liaison de cette bactérie au niveau pulmonaire. De plus, la protéine CFTR est impliquée dans la liaison et l'internalisation de *Pseudomonas aeruginosa* et subséquemment dans la destruction de la bactérie.¹⁰ Dans la FK, ce mécanisme immunitaire inné est altéré. Enfin, certaines études ont suggéré que le *Pseudomonas aeruginosa* était surtout localisé dans la couche de mucus lorsqu'il colonise les voies respiratoires. Dans la FK, la faible concentration d'oxygène dans le mucus favorise la formation d'alginate, de souches de bactéries mucoïdes résistantes,²¹ et de biofilms.²² Les biofilms, des microcolonies de bactéries sessiles qui forment un agrégat à la surface lié à une matrice d'exopolymères, sont particulièrement résistants aux antibiotiques.

Les bactéries manifestent des capacités d'adaptation, les rendant plus résistantes à la défense de l'hôte et aux antibiotiques. Par exemple, le *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* et le *Pseudomonas aeruginosa* sont capables d'acquérir rapidement des mutations. Ces phénotypes hypermutables sont associés à une persistance à long terme, voire l'infection chronique.²³

Quoique plusieurs bactéries soient nettement associées à un mauvais pronostic, le rôle de certaines bactéries dans la pathogenèse de l'atteinte respiratoire de la FK est imprécis. Ce fait complique notamment la prise en charge et le traitement des patients. L'antibiothérapie occasionne des effets secondaires et des coûts pour le

système de santé. De plus, l'apparition de bactéries multirésistantes est un véritable problème pour les patients atteints de FK. C'est pourquoi, afin de guider les choix thérapeutiques, une connaissance de la pathogénicité bactérienne est essentielle.

Le *Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie la plus fréquemment isolée chez les patients atteints de FK, tous âges confondus. L'infection à *Pseudomonas aeruginosa* est associée à un faible gain pondéral, à une augmentation de la fréquence des hospitalisations liées aux exacerbations pulmonaires et enfin à une diminution de la survie.²³ Dans le cas de la colonisation à *Burkholderia cepacia*, certaines études ont démontré un déclin plus rapide dans les tests de la fonction respiratoire ainsi qu'une augmentation dans le taux de mortalité. En 1984, Isles et al.²⁴ ont documenté une augmentation dans la prévalence de *Burkholderia cepacia* dans une clinique de FK à Toronto. Il décrit le syndrome 'cepacia', ce syndrome est caractérisé par une pneumonie nécrosante, une bactériémie et une détérioration rapide de la fonction respiratoire. Certains auteurs ont suggéré qu'une colonisation respiratoire persistante avec certaines bactéries en particulier serait plus délétère qu'une colonisation transitoire. Une colonisation persistante selon les critères de Leeds, caractérisée par plus de 50 % de cultures positives pour le *Pseudomonas aeruginosa* dans les derniers 12 mois, était associée à une détérioration importante de la fonction respiratoire lorsque comparée à une colonisation transitoire.²⁵ Enfin, chez les patients infectés par une mycobactérie atypique ainsi que définie par l'American Thoracic Society, Esther et al.²⁶ ont observé des anomalies parenchymateuses ainsi qu'un déclin accéléré de la fonction respiratoire au CT scan pulmonaire. Le diagnostic d'une infection à mycobactérie atypique nécessite au moins trois cultures positives ou deux cultures et une coloration positives.²⁷

Le *Staphylococcus aureus* est souvent la première bactérie identifiée chez les enfants atteints de FK et elle se situe au deuxième rang, par la fréquence, chez les patients atteints de la FK tous âges confondus. Dans une étude menée par Abman et al.,²⁸ l'âge moyen pour une première culture positive était de 12.4 mois. On enregistre également une hausse significative dans la prévalence de *Staphylococcus aureus* entre 1995 et 2008, soit de 38.7% à 48.1%.²⁹ Certaines données obtenues lors de lavage broncho-alvéolaire ont suggéré qu'une densité

élevée de *Staphylococcus aureus* pouvait induire une forte réponse inflammatoire.³⁰ En effet, la densité élevée contribue à l'inflammation chronique en augmentant l'IL-8, ce qui stimule le chimiotaxisme des neutrophiles et occasionne une dérégulation des cellules B présentatrices de superantigènes staphylococciques.¹⁸ Cette cascade inflammatoire pourrait endommager les tissus et favoriser l'adhérence bactérienne. De plus, le *Staphylococcus aureus* a la capacité d'adaptation à l'environnement, pouvant former des colonies naines (« small colony variants »)³¹ qui persistent au niveau intracellulaire malgré la défense de l'hôte et l'antibiothérapie. Le *Staphylococcus aureus* produit également une grande variété de facteurs de virulence.³² Dans la population générale, cette bactérie est la principale cause de la bactériémie, des infections de la peau et des tissus mous, et des voies respiratoires inférieures.³³ Toutefois, son rôle dans la pathogenèse de l'atteinte respiratoire chez les patients atteints de FK demeure imprécis. Une analyse transversale des données du Registre épidémiologique européen sur la mucoviscidose (European epidemiologic registry of cystic fibrosis) a démontré que le *Staphylococcus aureus* n'était pas associé à une pauvre fonction respiratoire chez les enfants et les adultes.³⁴ Effectivement, une étude américaine de 5820 patients a indiqué que les facteurs prédictifs d'une meilleure survie comprenaient un volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) élevé, un z-score poids pour âge élevé, une suffisance pancréatique et une colonisation par un staphylocoque.³⁵ Plusieurs études ont démontré qu'une éradication de la bactérie n'était pas associée à une amélioration de la fonction respiratoire ou de l'évolution clinique. McCaffery et al. ont identifié 13 essais cliniques utilisant une variété de prophylaxies anti-staphylococciques. Il s'avère que malgré que la majorité des études aient démontré une éradication de la bactérie, néanmoins peu de données probantes émergeaient en faveur d'une amélioration de la fonction respiratoire ou des autres mesures cliniques.³⁶ L'intérêt visant la prophylaxie anti-staphylococcique a diminué suivant l'étude de Stutman et al.,³⁷ les auteurs ayant trouvé une augmentation du taux d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients ayant reçu une prophylaxie anti-staphylococcique, notamment la céphalexine. Cette trouvaille suggérerait un effet protecteur produit par la présence de *Staphylococcus aureus* dans les voies respiratoires ou une prédisposition à l'infection causée par la suppression de certaines bactéries par la céphalexine. Les données sont présentement

insuffisantes pour recommander l'utilisation d'une prophylaxie anti-staphylococcique.^{23,38}

1.1.3 Évolution clinique

La rétention de mucus, l'infection et l'inflammation ont pour résultat une destruction tissulaire pulmonaire et une altération des échanges gazeux qui mènent finalement à l'insuffisance respiratoire. La FK est donc caractérisée par un déclin progressif de la fonction respiratoire et par des épisodes d'exacerbations pulmonaires. Les exacerbations sont liées à un taux de mortalité augmenté, à un déclin plus rapide de la fonction pulmonaire, à une diminution de la qualité de vie³⁹ et enfin à une augmentation des coûts des services de santé.⁴⁰

Dans la population pédiatrique, la FK est associée à une baisse d'environ 2 % par année du pourcentage de la valeur moyenne prédite du VEMS.^{2,41} La mesure de la fonction respiratoire permet de documenter la stabilité ou la progression de la maladie pulmonaire obstructive. La majorité des enfants de plus de 5 ans sont capables d'effectuer un test de fonction respiratoire reproductible selon les critères publiés par la Société Thoracique Américaine.^{2,42,43} L'exploration fonctionnelle respiratoire inclut la spirométrie recommandée à chaque visite, généralement à tous les 3 mois, en plus d'une mesure des volumes pulmonaires annuellement.^{44,45} Les résultats sont généralement exprimés comme pourcentage de la valeur prédite dérivée d'une population de référence. Le VEMS s'est révélé prédictif de la mortalité dans la FK.⁴⁶ En effet, une étude canadienne a démontré qu'un déclin rapide du VEMS était associé à une mortalité précoce.⁴⁷ Les facteurs de risque associés à une baisse accélérée de la fonction respiratoire étaient le sexe féminin, le statut nutritionnel, le diabète relié à la fibrose kystique, la colonisation par le *Pseudomonas aeruginosa* ou le *Burkholderia cepacia*, et les exacerbations pulmonaires.

1.2 SARM

Depuis sa première identification en 1961, la prévalence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) continue à augmenter dans le monde entier. La résistance à la méthicilline est médiée par l'acquisition d'une protéine liée à la pénicilline (« penicillin-binding protein », PBP) différente de l'ordinaire, notamment la PBP2a, codée par le gène *mecA*.⁴⁸ En effet, les bêta-lactamines agissent contre les staphylocoques en se fixant à des PBP qui sont essentielles à la synthèse de la paroi cellulaire. En conséquence, la pénicilline empêche la synthèse de cette paroi cellulaire et permet la lyse de la bactérie. La PBP2a, elle, a une affinité réduite pour les bêta-lactamines. Ce mécanisme de résistance est celui que l'on retrouve le plus fréquemment; il est responsable de 98 % des isolats résistants.

Il existe également deux autres mécanismes de résistance moins fréquents :⁴⁹

- 1) «Borderline resistant *S. aureus*» (BORSA). Ce mécanisme est médié par une hyperproduction des enzymes bêta-lactamases, processus qui entraîne une résistance limitée à la méthicilline
- 2) Une modification ou surproduction de PBP dont l'affinité de liaison à la pénicilline est inférieure.

1.2.1 Épidémiologie

Le principal mode de transmission du SARM est le contact direct. Les facteurs de risque pour l'acquisition du SARM sont l'hospitalisation, les chirurgies antérieures, l'utilisation d'antibiotiques à large spectre, la présence d'un cathéter par voie centrale, et les maladies chroniques.⁵⁰ À l'origine, le SARM était confiné aux hôpitaux, mais il s'est vite propagé dans la communauté, avec le résultat qu'il y a maintenant deux catégories de SARM, le SARM contracté en milieu hospitalier (HA-MRSA) et le SARM acquis en milieu communautaire (CA-MRSA). Le CA-MRSA se distingue par la présence de l'élément génétique mobile cassette chromosomique staphylococcique *mec* (SCC*mec*) type IV ou V alors que le HA-MRSA contient généralement un élément SCC*mec* type I, II ou III. Certaines souches d'HA-MRSA peuvent cependant, quoique peu

fréquemment, contenir le SCC*mec* type IV.⁵¹ Le SCC*mec* type IV ne serait donc pas unique au CA-MRSA.

Le CA-MRSA est souvent associé à la présence de deux gènes, *lukS-PV* et *lukF-PV*, qui codent pour une toxine, la leucocidine de Panton-Valentine (PVL). Le CA-MRSA est plus sensible que l'HA-MRSA aux antibiotiques non bêtalactames tels la clindamycine, les fluoroquinolones et le triméthoprim-sulfaméthoxazole.⁵²

L'HA-MRSA et le CA-MRSA se distinguent également par leur caractérisation moléculaire.⁵³ Deux techniques de caractérisation sont couramment utilisées, soit le typage moléculaire par « multilocus sequence typing » (MLST) et l'électrophorèse en champ pulsé. Le MLST détermine les changements dans la séquence de sept loci du génome bactérien. Par contre, l'électrophorèse permet de générer une empreinte génétique distincte; les motifs de l'ADN peuvent ensuite être comparés pour établir un lien de parenté génétique.⁵⁴ Cette technique, plus communément utilisée en Amérique du Nord, s'est démontrée plus robuste avec un meilleur pouvoir de discrimination que le MLST. Par exemple, les souches USA300 et USA500 ont deux types d'empreintes différentes par électrophorèse en champ pulsé,⁵⁵ tandis qu'elles partagent le même ST8 lors de l'analyse MLST. Or, USA300, une souche de CA-MRSA, est résistante uniquement aux bêta-lactamines et aux macrolides tandis que la souche USA500 est multirésistante aux antibiotiques et est généralement associée aux infections acquises en milieu hospitalier. Les isolats USA300 sont donc très distincts des isolats USA500 malgré un MLST identique.

Depuis 1995, le Programme canadien de surveillance des infections nosocomiales (PCSIN) assure une surveillance nationale du SARM. Les laboratoires canadiens utilisent un protocole standardisé.⁵⁶ La caractérisation moléculaire des souches est réalisée par électrophorèse en champ pulsé suite à une extraction de l'ADN et une digestion de l'ADN avec l'enzyme de restriction SmaI.⁵⁶ Malgré la large diversité génétique du SARM, la caractérisation moléculaire indique un nombre relativement restreint de souches épidémiques au Canada. Les 10 souches les plus fréquentes ont été répertoriées et classifiées, soit Canadian MRSA (CMRSA) de 1 à 10.⁵¹ La plupart apparaissent aussi au niveau mondial (Tableau 1, page 11). Les deux souches les plus fréquentes au Canada sont le CMRSA-1 et le CMRSA-2.

Tableau I : Souches épidémiques de SARM au Canada

Souches épidémiques de SARM *			
Souches canadiennes	HA ou CA	Souches américaines	Souches pandémiques
CMRSA-1	HA	USA600	Ibérie, Archaïque
CMRSA-2	HA	USA100/800	New York, Japon
CMRSA-3	HA	NA	Brésil, Hongrie
CMRSA-4	HA	USA200	EMRSA-16
CMRSA-5	HA	USA500	NA
CMRSA-6	HA	NA	NA
CMRSA-7	CA	USA400	MW2
CMRSA-8	HA	NA	EMRSA15
CMRSA-9	HA	NA	NA
CMRSA-10	CA	USA300	NA

*CA : CA-MRSA; HA : HA-MRSA; NA: non applicable

Les souches CMRSA-1 à 6, CMRSA-8 et CMRSA-9 sont des souches de HA-MRSA. Les souches CMRSA-7 et CMRSA-10, plus prédominantes aux États-Unis, sont celles communément classifiées comme CA-MRSA.^{55,57}

Au delà des différences marquées au niveau du génotype et de la susceptibilité antibiotique, les infections causées par le CA-MRSA sont généralement plus sévères. Les études expérimentales chez la souris ont constaté que certaines souches de CA-MRSA causaient des infections plus virulentes que des souches particulières de HA-MRSA.⁵⁸ Chez l'être humain, le CA-MRSA a été associé à des infections invasives et rapidement progressives telles les pneumonies nécrosantes, les bactériémies sévères et les fasciites nécrosantes.^{53,59} Dans une étude sur la bactériémie à SARM, le taux de mortalité associé à la souche USA300 (CMRSA-10) était plus élevé que pour la souche USA100 (CMRSA-2).⁶⁰

Une définition épidémiologique a été proposée pour distinguer les deux groupes de SARM. Le PCSIN définit le CA-MRSA comme une infection à SARM chez un patient n'ayant aucun des facteurs de risque suivants : une hospitalisation de plus de 72 heures, des antécédents d'infection ou de colonisation par un SARM, la

présence d'un dispositif médical (ex : cathéter urinaire, cathéter par voie centrale, sonde nasogastrique, trachéostomie, accès de dialyse), une hospitalisation ou une chirurgie au cours de la dernière année, et la résidence en centre de soins de longue durée.⁶¹ Cette définition ressemble étroitement à la définition américaine utilisée par les « Centers for Disease Control and Prevention », sauf pour la durée de l'hospitalisation. Selon la définition américaine, on soupçonnerait un CA-MRSA quand la culture a été prélevée dans les premières 48 heures d'une hospitalisation.⁶²

Toutefois, cette distinction épidémiologique a été remise en question, du fait que le CA-MRSA n'est plus confiné à la communauté. Selon une étude américaine, 34 % des souches de SARM isolées dans le sang des patients hospitalisés étaient des souches USA300, soit le CA-MRSA.⁶³ Le CA-MRSA est devenu cause importante d'infection dans les urgences, les soins intensifs et les unités de néonatalogie.⁵⁰ Actuellement, le CA-MRSA et l'HA-MRSA se retrouvent tous deux aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier.⁶⁴ Dans l'étude de David et al., les auteurs ont relevé que la définition épidémiologique américaine du CA-MRSA sous-estimait le nombre de cultures positives à CA-MRSA.⁶⁵

Au Canada, l'incidence globale de la colonisation par le SARM et de l'infection à SARM était 17 fois plus élevée en 2007 qu'en 1995. Dans une étude menée par le PCSIN, 37 169 patients hospitalisés étaient identifiés comme infectés ou colonisés pour la première fois par un SARM entre 1995 et 2007.⁶⁶ De ce nombre, 32 % avait une infection à SARM définie par la présence de symptômes ou de signes cliniques. Le génotypage démontrait une prédominance de CMRSA-2 (47 %), suivi de CMRSA-1 (19 %). Toutefois, les auteurs ont noté que depuis son apparition en 2001, le CMRSA-10 était celle parmi toutes les souches épidémiques qui avait le plus significativement augmenté. Entre 2005-2008, elle était la souche épidémique la plus fréquente en Alberta.⁶⁷ Nichol et al. confirment une prévalence accrue du CA-MRSA au Canada, passant de 19.5 % en 2007 à 27.6 % en 2008 et à 31.9 % en 2009.⁶⁸ Parmi les souches de CA-MRSA, le CMRSA-10 représentait 73.7 % des isolats et le CMRSA-7, 26.2 %. La moyenne

d'âge des patients porteurs de CA-MRSA était 40.8 ans, un âge bien inférieur à celui des sujets porteurs de HA-MRSA, soit 64.9 ans.

Au niveau international, les données semblent également refléter la prédominance des souches CMRSA-2 (USA100) et CMRSA-10 (USA300). Une étude menée dans huit états américains entre 2005 et 2006 indiquait une prévalence de 53.3 % pour l'USA100 et de 31.5 % pour l'USA300 dans les isolats recueillis chez des patients avec infections invasives à SARM.⁵² Le gène pour la PVL était uniformément présent dans 96.5 % des souches USA300 et dans 66.7 % des souches USA400. Les données pédiatriques seraient comparables aux données chez les adultes. En effet, une étude pédiatrique indique que l'USA300 était responsable de 87 % des infections communautaires chez l'enfant alors que l'USA100 et l'USA600 prédominaient dans les infections hospitalières.⁶⁹

1.2.2 Virulence

Les neutrophiles sont des acteurs importants impliqués dans la défense de l'hôte. Lors d'une infection, ils sont rapidement recrutés au site infecté. S'ensuit la reconnaissance et la phagocytose de la bactérie. Les neutrophiles produisent également de nombreux dérivés microbicides, sous forme d'espèces réactives de l'oxygène, qui contribuent à l'élimination de la bactérie. Toutefois, le *Staphylococcus aureus* a la capacité de générer de nombreuses molécules qui freinent le chimiotaxisme des neutrophiles, séquestrent les anticorps, et causent la lyse des cellules de l'hôte. En effet, le *Staphylococcus aureus* peut échapper à la reconnaissance immunitaire par la production d'une paroi protectrice, à voir les capsules polysaccharides ou le biofilm. De plus, la bactérie produit des molécules spécifiques qui bloquent les compléments ou la fonction du récepteur phagocytaire, réduisant ainsi la phagocytose après l'opsonisation. La staphyloxanthine, pigment caroténoïde caractéristique du *Staphylococcus aureus*, joue un rôle essentiel dans la protection contre les espèces réactives de l'oxygène. Le *Staphylococcus aureus* produit également toute une série de protéines qui permettent d'inhiber ou de bloquer les autres mécanismes microbicides de l'hôte, y compris les peptides antimicrobiens.³²

Conséquemment, le *Staphylococcus aureus* et le SARM sont capables d'échapper au système immunitaire et de causer des infections sévères. Les études *in vitro* ont démontré une survie supérieure chez certaines souches de CA-MRSA telles le USA300 et le USA400 à la phagocytose par les neutrophiles.⁷⁰

Le mécanisme par lequel le SARM causerait l'infection n'est pas encore déterminé. En effet, la bactérie est capable de produire 3 types de facteurs :⁷¹

- 1) Les protéines sécrétées, incluant les superantigènes, les cytotoxines, et les enzymes de dégradation tissulaire.
- 2) Les protéines de surface capables de se lier aux composants de la matrice extracellulaire de l'hôte (« microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules »), dont celles qui se lient au fibrinogène, les adhésines et les anti-opsonines.
- 3) Les protéines de la paroi cellulaire bactérienne, la protégeant de la phagocytose, incluant les capsules polysaccharides et les peptoglycanes.

Certaines études ont suggéré une virulence accrue pour le CA-MRSA,^{60,72,73} qui contribuerait non seulement à la sévérité de la maladie mais également à la persistance et à la transmission de la bactérie. Un des facteurs de virulence le plus étudié est la leucocidine de Pantone-Valentine (PVL). Malgré le répertoire étendu des gènes encodant les toxines du SARM, les gènes de la PVL sont le locus transférable le plus souvent présent parmi les souches CA-MRSA. La PVL appartient à la famille des toxines synergohyménotropiques et est composée de deux protéines désignées S et F.⁷⁴ La protéine S se lie à un récepteur non-identifié sur les neutrophiles; il s'ensuit une dimérisation des deux composantes S et F pour éventuellement s'assembler en heptamère. Cette toxine était désignée 'substance leucocidine' par Van deVelde en 1894 pour sa capacité de perforer la membrane cellulaire des leucocytes et les lyser. Le processus de lyse ou d'apoptose est relié à concentration de PVL. Une haute concentration de PVL cause une lyse neutrophilique alors qu'une faible concentration entraînant une apoptose due à la formation de pores dans la membrane mitochondriale.⁵⁹

In vitro, les solutions purifiées de PVL induisent une libération importante d'histamine, de composés chimiotactiques, et de métabolites oxydatifs. Chez le lapin, les injections intradermiques mènent à des lésions inflammatoires et à des nécroses.⁷⁵ Plusieurs hypothèses ont été avancées sur la pathogénèse de la nécrose, entre autres la libération de granules lysosomales cytotoxiques suivant la lyse des neutrophiles, le déclenchement d'une cascade inflammatoire occasionné par la lyse, ou l'apoptose neutrophilique aboutissant en nécrose.

Chez l'être humain, les premières infections à PVL rapportées se situent au niveau de la peau et des tissus mous. L'étude de Simor et al. a démontré que les isolats porteurs des gènes codant pour la PVL, tous de souches CMRSA-7 ou CMRSA-10, étaient associés plus souvent à l'infection qu'à la colonisation (OR, 1.5 [95 % CI, 1.2-1.8] ; $p < 0.001$).⁶⁶ Or, les infections causées par les souches de SARM-PVL nécessitent plus souvent un drainage chirurgical et occasionnent plus de complications, comparées à celles de souches PVL négatives.⁶⁹ Certains cas de pneumonie avec bactériémie causée par le SARM-PVL ont également été rapportés chez les patients immunocompétents.^{76,77} Gillet et al. ont décrit des pneumonies nécrosantes dont les autopsies révélaient une ulcération de la muqueuse bronchiale et trachéale.⁷⁸ Le parenchyme pulmonaire présentait également une hémorragie alvéolaire massive avec nécrose des septa inter-alvéolaires et de larges agglomérats de cocci Gram positif. Le taux de mortalité chez les patients positifs pour la PVL était plus important que chez les patients dont la souche était PVL négative. Il est toutefois important de préciser que le rôle de la PVL dans la pathogénèse de l'infection à CA-MRSA demeure encore indéterminé. Les résultats des études chez la souris sont contradictoires. En effet, certaines études n'ont pas démontré de différences au niveau de la virulence ou de la lyse neutrophilique entre les souches PVL négatives et PVL positives.^{79,80} L'interprétation des études expérimentales est limitée par la grande variabilité chez les mammifères quant à la susceptibilité des leucocytes à la PVL.⁸¹ Par conséquent, le rôle de la PVL dans la pathogénèse du CA-MRSA ne peut être résolu uniquement sur la base de son activité *in vitro*.

L'élément *SCCmec* de type IV fait partie des sujets de recherche. La délétion complète de la cassette de résistance n'a démontré aucun impact sur la virulence

dans les études effectuées chez le lapin,⁸² suggérant que le SCC*mec* de type IV ne contribuait pas à la virulence du CA-MRSA. D'autres facteurs tels l'élément génétique mobile nommé « arginine catabolic mobile element », ainsi que l'hémolysine alpha et les modulines phénol-solubles, tous retrouvés dans les souches USA300, sont actuellement à l'étude pour expliquer l'émergence et la virulence du CA-MRSA.^{32,83}

1.2.3 Atteinte clinique

Dans la population générale, le SARM est associé à des infections de la peau et des tissus mous, à des pneumonies et à des bactériémies.⁷¹ Huang et al. ont étudié le risque d'infection à SARM chez un groupe d'adultes nouvellement colonisés avec la bactérie.⁸⁴ Chez 29 % des patients, il s'était développé une infection. Parmi ces infections, le tiers était sous forme de bactériémies et 56 % sous forme de pneumonies, d'infections des tissus mous, d'ostéomyélites ou d'arthrites septiques. Les infections à SARM étaient associées à une augmentation de la durée de l'antibiothérapie, à une hospitalisation prolongée et à un coût d'hospitalisation plus élevé.⁸⁵ De plus, une méta-analyse a démontré une augmentation significative de la mortalité associée aux bactériémies à SARM.⁸⁶ Cependant, les données sont contradictoires en ce qui concerne l'impact du SARM dans les pneumonies associées aux ventilateurs.⁸⁷

1.2.4 Traitement

Actuellement, aucune ligne directrice n'a été émise pour l'éradication du SARM chez les patients colonisés avec la bactérie. La résistance des souches HA-MRSA à de nombreux antibiotiques limite l'utilisation de certains agents dans le traitement des infections. Les données canadiennes indiquent que le triméthoprime-sulfaméthoxazole continue à avoir une excellente activité : la susceptibilité du CA-MRSA de 100 % et du HA-MRSA de 86.5 %.⁶⁸ Le traitement de choix pour une infection chez le patient hospitalisé demeure toutefois la vancomycine. Cependant, des données probantes récentes sur une susceptibilité réduite de la bactérie aux glycopeptides, surtout aux États-Unis, ont soulevé beaucoup d'inquiétude.⁸⁵ Au Canada, la proportion des souches HA-MRSA avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) à la vancomycine de 2

$\mu\text{g/mL}$ a augmenté de 1.3 % en 2007 à 4.6 % en 2009. Certaines études ont suggéré que les infections causées par des isolats avec un CMI élevé étaient associées à une faible réponse bactéricide et clinique à la vancomycine.⁸⁵ Afin de refléter ces observations dans la pratique médicale, le ‘Clinical and Laboratory Standards Institute’ a diminué le seuil maximal du CMI pour une bactérie susceptible à la vancomycine de 4 $\mu\text{g/mL}$ à 2 $\mu\text{g/mL}$.⁸⁸ Le linézolide, une oxazolidinone, est un autre choix thérapeutique pour les infections à SARM. Cet agent est cependant coûteux et peut causer une toxicité importante telle une thrombocytopénie, une neuropathie périphérique et une névrite optique.⁸⁵ Ce médicament est donc réservé aux infections plus sévères. En ce qui concerne les pneumonies nosocomiales, une méta-analyse récente n’a pas démontré de supériorité du linézolide comparé aux glycopeptides.⁸⁹ Des nouveaux antibiotiques ont été introduits tels la tigécycline et le daptomycine et d’autres sont présentement à l’étude. En effet, le nitrite sodium acidifié inhibe la croissance des souches USA300 *in vitro*.⁹⁰ Ces traitements sont prometteurs mais occasionnent des effets secondaires non négligeables et les conséquences à long terme ne sont pas encore bien déterminées.

1.3 SARM et la fibrose kystique

En 1995, 0.1 % des patients atteints de FK étaient porteurs de cultures positives à SARM, selon le «Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry» aux États-Unis. Ce chiffre augmente progressivement pour atteindre 23.7 % en 2009.⁹¹ Plusieurs études décrivent la transmission entre patients, que ce soit dans les hôpitaux, la communauté ou dans le même domicile.⁹²⁻⁹⁵ Rappelons que les patients atteints de FK ont plusieurs facteurs de risque pour l’acquisition du SARM, soit l’hospitalisation, la prise d’antibiotiques à large spectre et la présence d’un cathéter par voie centrale lors des traitements intraveineux. Ces facteurs ont été étudiés par Nadesalingam et al.,⁹⁶ qui ont déterminé que le nombre de jours d’hospitalisation au cours des 12 derniers mois était le plus significatif de ceux-ci. Un autre était le nombre de jours d’antibiothérapie par ciprofloxacine orale ou par céphalosporine.

Alors que les infections avec des bactéries telles *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia cepacia* sont clairement associées à une détérioration clinique et une

baisse assez rapide de la fonction pulmonaire, l'impact de la colonisation par un SARM n'est toutefois pas complètement élucidé. Les premières études suggéraient que le SARM n'avait pas d'impact significatif sur l'évolution clinique, fonctionnelle et nutritionnelle des patients.⁹⁷ Par la suite, une étude britannique menée auprès de 26 patients nouvellement colonisés par un SARM entre 1965 et 1997,⁹⁸ a trouvé que 77 % d'entre eux avaient un VEMS inférieur à 40 %. Les auteurs suggèrent qu'une atteinte fonctionnelle respiratoire sévère serait un facteur de risque pour l'acquisition du SARM. En 2001, Miall et al. n'ont cependant pas démontré de différences entre les enfants SARM positifs et négatifs en ce qui concernait le déclin de la fonction respiratoire et le traitement par antibiotiques intraveineux.⁹⁹ Cette étude comportait 10 patients ayant eu au moins une culture positive à SARM et 18 patients également atteints de FK n'ayant jamais eu le SARM. Un déclin de la croissance staturale était pourtant noté chez les patients SARM positifs sans diminution de l'indice de masse corporelle ni du poids. De plus, le score radiologique au moment de l'acquisition du SARM dénotait une atteinte pulmonaire plus sévère. Une étude transversale utilisant les données du 'Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis' (ESCF), étude observationnelle prospective de patients atteints de FK de tout âge en Amérique du Nord, a été réalisée par Ren et al.¹⁰⁰ Le VEMS des patients ayant eu au moins une culture positive à SARM était statistiquement inférieur à celui des patients colonisés par un *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline (SASM). Il y avait 208 et 1626 patients dans les groupes SARM et SASM, respectivement. Les participants du groupe SARM positif étaient également hospitalisés plus fréquemment que ceux du groupe SASM. Il n'y avait cependant pas de différence dans le z-score poids, le z-score taille, et l'indice de masse corporelle. Les auteurs conclurent que l'obstruction respiratoire était plus sévère en présence du SARM que du SASM. D'autre part, durant la période de l'étude, environ 60 % des patients du groupe SARM positif étaient traités par antibiotique en inhalation (aminosides ou colistine) comparativement à environ 30 % dans le groupe SASM. Ceci suggérerait qu'un plus grand nombre de patients dans le groupe SARM étaient également colonisés avec une bactérie Gram négative telle *Pseudomonas aeruginosa*. Par conséquent, il est difficile à dire si l'atteinte pulmonaire plus sévère dans le groupe SARM positif serait associée plus particulièrement au SARM ou à un autre germe tel *Pseudomonas aeruginosa*. En 2008, Sawicki et al.

ont publié une étude longitudinale sur l'impact du SARM sur la fonction respiratoire utilisant eux aussi les données du ESCF.¹⁰¹ L'étude comprenait 593 patients ayant au moins une culture SARM positive et 4497 patients n'ayant jamais eu le SARM. Les VEMS étaient rapportés dans deux ans avant et après l'acquisition du SARM. Les auteurs ont trouvé un taux de déclin du VEMS plus important dans le groupe SARM, autant avant qu'après l'acquisition de la bactérie. Cependant, suite à l'analyse par régression linéaire multiple, les auteurs n'ont noté aucun changement significatif du taux de déclin du VEMS après l'acquisition du SARM par rapport à celui avant l'acquisition. Ils ont également observé que les patients du groupe SARM positif recevaient plus souvent des antibiotiques comparativement au groupe SARM négatif. Les auteurs conclurent que le SARM était marqueur d'une maladie pulmonaire plus sévère chez les patients atteints de FK.

Lors d'une exacerbation pulmonaire, les patients sont traités avec des antibiotiques et une intensification des manœuvres respiratoires pour la clairance pulmonaire. Malgré les soins et les traitements prodigués, certains patients ne récupèrent pas la perte de fonction respiratoire associée à l'exacerbation et ainsi ne réussissent pas à atteindre les valeurs de VEMS maximales mesurées avant l'exacerbation. Sanders et al. ont démontré que suite à une exacerbation pulmonaire, le SARM augmentait le risque de ne pas récupérer la fonction respiratoire pré-exacerbation.⁴⁰ Une relation de causalité ne pouvait être inférée étant donné la nature rétrospective de l'étude.

Utilisant les données du «Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry» (CFFPR) entre les années 1996 et 2005, Dasenbrook et al. ont démontré qu'une colonisation persistante avec le SARM chez les patients âgés de 8 à 21 ans était associée à un déclin plus rapide dans les tests de fonction respiratoire.¹⁰² Le taux de déclin était de 43 % plus accéléré chez les patients avec une colonisation persistante au SARM (-2.06 pourcentage du VEMS prédit par an) par rapport aux patients n'ayant jamais isolé le SARM (-1.44 pourcentage du VEMS prédit par an). Une colonisation persistante était définie par la présence d'au moins trois cultures positives durant la période de l'étude. Il est important de noter que le CFFPR est une base de données américaine. Les patients SARM positifs dans l'étude étaient

plus souvent simultanément colonisés avec le *Pseudomonas aeruginosa* et le SARM que les patients SARM négatifs. Une sous-analyse chez les patients âgés de moins de 21 ans démontre que le SARM était associé à un déclin plus rapide de la fonction respiratoire (avant l'acquisition : -1.93 pourcentage du VEMS prédit par an ; après l'acquisition : -2.42 pourcentage du VEMS prédit par an). La différence persistait après les ajustements sur la sévérité de la maladie, la présence de *P. aeruginosa* et d'autres facteurs confondants. Il y avait 1732 patients dans le groupe SARM. Selon les auteurs, la différence était statistiquement mais non cliniquement significative chez les patients de plus de 21 ans. Le même groupe a publié une seconde étude démontrant que la détection du SARM était associée à une augmentation du taux de mortalité.¹⁰³ Le risque de mortalité était 1.27 plus élevé chez les patients SARM positifs que chez les patients SARM négatifs; également, les patients SARM positifs étaient 1.79 plus à risque de décéder que les patients SARM positifs. Ces résultats corroborent ceux des études réalisées chez la population générale suggérant que le SARM était plus virulent et plus dangereux que le SARM.¹⁰⁰

Quoique les premières études^{97,99,101} semblaient suggérer que le SARM n'avait pas d'impact significatif sur l'atteinte respiratoire fonctionnelle des patients atteints de FK, deux études plus récentes^{102,103} avec un plus grand nombre de patients ont démontré un déclin plus rapide du VEMS ainsi qu'une augmentation du taux de mortalité. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces résultats contradictoires, tels les différentes définitions utilisées pour une colonisation à SARM et le manque de puissance statistique. Les deux études récentes de Dasenbrook et al. définissaient le groupe SARM par une colonisation persistante d'au moins 3 cultures alors que les autres études ne nécessitaient que la présence d'une culture positive à SARM. Il est possible qu'une colonisation transitoire à SARM n'entraînerait pas une baisse du VEMS. Effectivement, Dasenbrook et al. n'ont trouvé aucune association entre la colonisation transitoire à SARM et la diminution de la survie.¹⁰³ Il est important de noter que dans les études précédentes, le type de souche n'avait pas été évalué ni identifié.

1.4 Hypothèse et objectifs

Les objectifs de ce mémoire étaient de déterminer l'association entre la colonisation persistante avec le SARM et l'évolution clinique et physiologique des enfants atteints de fibrose kystique et suivis dans un centre spécialisé au Canada. Nous tenions également à étudier les caractéristiques microbiologiques et moléculaires des diverses souches de SARM isolées chez ces patients.

2- MÉTHODOLOGIE ET RÉSULTATS

Une description détaillée de la méthodologie utilisée dans ce projet de recherche, ainsi que des résultats obtenus, se trouve dans l'article présenté à la section suivante.

ARTICLE DE RECHERCHE

Persistent Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Children
with Cystic Fibrosis

Nguyen TTD,¹ Marcotte J-E,¹ Bergeron C,² Ovetchkine P,³ Denis M-H,¹
Lévesque S,⁴ Laberge S¹

¹ Division of Respiratory Medicine, Department of Pediatrics, CHU Ste-Justine,
Université de Montréal, Canada

² Department of Microbiology and Infectious Diseases, Université de Sherbrooke,
Canada

³ Division of Infectious Diseases, Department of Pediatrics, CHU Ste-Justine,
Université de Montréal, Canada

⁴ Laboratoire de santé publique du Québec/Institut national de santé publique du
Québec (LSPQ/INSPQ), Sainte-Anne-de-Bellevue, Canada

(Title: 48 characters including spaces; Abstract: 220 words; Text: 2693 words)

(References: 52; Tables: 3; Figures: 3)

Financial Disclosure Statement: None of the authors has any potential or actual
conflict of interest relevant to the topic discussed in the present manuscript.

Corresponding author:

The Thanh Diem Nguyen, MD, FRCPC

CHU Sainte-Justine

3175 Chemin de la Côte Sainte-Catherine

Montreal, Quebec, Canada, H3T 1C5

ABSTRACT

Background: Over the last several years, the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has increased dramatically among cystic fibrosis patients. Although the exact role of MRSA in the pathogenesis of lung disease has not been fully established, some studies suggested an association between persistent colonization with MRSA and a more rapid rate of decline in lung function.

Objectives: The aims of this study were to determine the effects of persistent MRSA on the clinical status and the lung function in children with cystic fibrosis followed at our clinic and to characterize the MRSA strains in this population.

Methods: In this retrospective study, medical records of CF patients identified with persistent MRSA and followed at our clinic between years 1996 and 2008 were reviewed. Collected data included age at MRSA acquisition, lung function and occurrence of hospitalization for acute respiratory exacerbation 2 years prior to and after MRSA acquisition. The first isolate from each patient was further characterized by pulsed field gel electrophoresis.

Results: Persistent MRSA colonization occurred in 22 patients. There was no significant difference in the rate of lung function decline prior to and after MRSA colonization (-3.8 FEV₁% predicted per year versus -4.8 FEV₁% predicted per year; p=0.628). However MRSA colonization was associated with an increased number of hospitalization (1.6 versus 2.3; p=0.004). Seventeen out of 18 patients were colonized with CMRSA-2 (USA100/USA800), an epidemic clone in Canada.

Conclusion: This study suggests that persistent colonization with CMRSA-2 may affect the clinical outcome of children with cystic fibrosis.

Keywords: Cystic fibrosis, pediatrics, methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, lung function tests, pulse-field gel electrophoresis

INTRODUCTION

Over the last decade, the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has increased dramatically among cystic fibrosis (CF) patients. In 1995, 0.1% of patients reported to the Cystic Fibrosis Foundation patient registry had a MRSA strain recovered from culture. The prevalence increased to 23.7% in 2009.^{1,2} The increase in MRSA colonization parallels the overall increase in community-associated MRSA (CA-MRSA) in the general population.^{3,4} Although the distinction between CA-MRSA and health care-associated MRSA (HA-MRSA) has been questioned,⁵ CA-MRSA strains are generally characterized by the presence of the genetic element designated staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) type IV or V. Presence of *lukS-PV* and *lukF-PV* genes that encode for the Panton-Valentine leukocidin (PVL) are more commonly reported with CA-MRSA than HA-MRSA.⁶ In Canada, national surveillance for MRSA has been conducted by the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program since 1995 and the molecular characterization by pulsed field gel electrophoresis has identified 10 epidemic clones. CMRSA-2 (USA100/USA800), a HA-MRSA strain, is the most prevalent genotype in Canada and affects primarily older age groups.⁴ However, CMRSA-10 (USA300), a CA-MRSA strain, experienced the most rapid increase in prevalence and emerged as the most common clone in Western Canada.⁷ In the general population, this strain has been associated with poorer clinical outcome and necrotising community-onset pneumonia.^{8,9} It is unknown whether the increased MRSA prevalence in CF results from colonization with HA-MRSA or CA-MRSA strains.

Earlier studies found no association between MRSA colonization and accelerated lung function decline^{10,11} or suggested MRSA as marker of severe lung disease.¹² However, recent studies suggested that persistent colonization with MRSA is associated with increased mortality and a more rapid rate of lung function decline.^{13,14} It is uncertain whether all MRSA strains that infect CF patients are clinically important. The aims of this study were to characterize the MRSA strains in CF children followed at our clinic and to determine the impact of the persistent colonization with these strains on the clinical status.

METHODS

Study design

A retrospective study comparing patients before and after MRSA colonization was performed. We included subjects with persistent MRSA followed at the Cystic Fibrosis Clinic at CHU Sainte-Justine between 1996 and 2008. Individuals with at least 2 years of observation before and 2 years after MRSA acquisition, at least 2 cultures per year and at least 3 MRSA positive cultures during follow-up were included in the study. Patients with new acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* or *Burkholderia Cepacia* during the observation period were excluded as these bacteria have been associated with poorer clinical outcome.¹⁵ MRSA status was determined from either sputum, throat swab or broncho-alveolar lavage. Persistent MRSA was defined as three or more MRSA positive cultures during the study period. Information on patients' demographics, pulmonary function testing, respiratory cultures, intravenous antibiotic use, hospital admissions for acute respiratory exacerbation and nutritional status was retrieved through systematic review of medical records. The highest recorded value of the percentage of predicted FEV₁ 2 years before and 2 years after MRSA acquisition (\pm 3 months) was selected and FVC % predicted, FEV₁ % predicted, FEF₂₅₋₇₅ % predicted were used for analysis. Lung function testing was performed in accordance to ATS/ERS guidelines.^{16,17} Predicted values were calculated using Polgar¹⁸ and Zapletal¹⁹ reference values. Nutritional data was expressed as weight z-score, height z-score and body mass index (BMI) z-score.²⁰ All data were collected 2 years prior to and 2 years after MRSA acquisition. This study was approved by the CHU Sainte-Justine's Research Ethics Committee.

Microbiological Methods

A selective media for staphylococci, mannitol salt agar (Becton Dickinson, NJ, USA), was used for all MRSA specimens. Suspicious colonies were identified as *Staphylococcus aureus* by Gram stain, catalase and tube coagulase tests. *Staphylococcus aureus* isolates were screened for oxacillin resistance using a Mueller-Hinton agar supplemented with 6 mg/L of oxacillin and NaCl 4%. Once

resistance to oxacillin confirmed, cefoxitin disk diffusion test was performed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{21,22} All MRSA isolates underwent susceptibility testing for vancomycin using a standard E-test (bioMérieux, St. Laurent, Quebec, Canada). Moreover, antimicrobial susceptibility testing for oxacillin, clindamycin, erythromycin, linezolid and trimethoprim-sulfamethoxazole were determined by an automated system (Vitek, bioMérieux, St. Laurent, Quebec, Canada). All MRSA isolates were stored at -80°C in brain-heart infusion with 15% of glycerol.

The first isolate from each patient was sent to the Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) for confirmatory identification and molecular typing. MRSA isolates were subcultured to trypticase soy agar with sheep blood agar to ensure viability and purity and stock cultures were stored at -70°C in trypticase soy broth with 10 % of glycerol. The presence of *nuc* gene was detected using polymerase chain reaction (PCR) with the following primers: SN1 5'-CGAAAGGGCAATACGCAAAG-3' and SN2 5'ATCAGCGTTGTCTTCGCTCC-3'. The presence of *mecA* genes was detected using PCR as previously described.²³ Susceptibility confirmation was done by the LSPQ according to the CLSI standards.^{21,22} Oxacillin resistance was confirmed by microdilution with cation-supplemented Mueller-Hinton broth with 2% NaCl. Cefoxitin susceptibility was assessed by disk diffusion using Mueller-Hinton agar. All isolates were tested for vancomycin susceptibility using brain-heart infusion agar (BHI) supplemented with 6 mg/L vancomycin. The presence of PVL genes, *lukS-PV* and *lukF-PV*, were assessed by PCR amplification as previously described.²⁴ Molecular characterization by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) with the *SmaI* restriction enzyme was done according to the standardized Canadian protocol²⁵ and DNA profiles were analyzed with BioNumerics software version 6.5 (Applied Maths). Cluster analysis was performed by the unweighted pair-group method using arithmetic average (UPGMA) and DNA relatedness was calculated on the Dice coefficient. All fingerprints were compared to the ten known Canadian epidemic strains.²⁶ Fingerprints were assigned to a respective strain if they showed fewer than seven bands difference to the reference strain.²⁷ Isolates was designated as unmatched when PFGE pattern differed by seven bands or more from the epidemic clones.

Statistical analysis

A descriptive analysis was done with calculation of means, standard deviation and medians for continuous variable at the time of MRSA acquisition. Statistical comparison of continuous variable was performed using paired *t* test. Excluded for lung function analysis were children younger than 6 years of age as spirometric measurements were judged unreliable in this age group. A two-sided *P* value of less than 0.05 was considered statistically significant for all analysis. Analyses were performed using PASW Statistics18.

RESULTS

Between 1996 and 2008, 430 patients were followed at our CF clinic. Thirty individuals had at least one positive culture for MRSA. Among those, 22 patients had persistent MRSA colonization and met our inclusion criteria. The first patient was identified in 1998 (Figure 1). The baseline characteristics of the 22 subjects at the time of their first MRSA positive culture are shown in Table 1. In four out of 22 patients, spirometric data were not reported as they were younger than 6 years of age. The youngest was 1.7 years old at the time of first acquisition of MRSA. Most patients (90.9%) were colonized with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) in the 2 years prior to MRSA acquisition. However MSSA was not found at the time of first detection of MRSA in all cases.

Lung function and clinical status data 2 years prior to and 2 years after MRSA acquisition are shown in Table 2 and Figure 2. No significant difference was observed for the rate of lung function decline prior to and after MRSA colonization, for the numbers of days of intravenous antibiotics treatment and weight and height z-scores. However persistent colonization with MRSA was associated with an increased number of hospital admissions for respiratory exacerbation and a decline in BMI z-score.

The microbiological characteristics of the MRSA isolates are illustrated in Table 3. Seventeen out of 18 patients were colonized with CMRSA-2 (USA100/USA800) and 1 isolate was unmatched strain. Of the CMRSA-2

lineage, 35% (6/17) had an indistinguishable PFGE pattern from the CMRSA-2 reference strain. All isolates were Panton-Valentine-Leukocidin negative. None of the isolates was resistant to vancomycin. The effects of CMRSA-2 colonization on the clinical status of our CF patients were further analyzed. CMRSA-2 acquisition was associated with a significant increase in the number of hospital admissions (prior: 1.6 ± 2.3 vs after: 2.6 ± 2.3 ; $p=0.003$).

DISCUSSION

In 2001, Ren et al. analyzed data collected from the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis (ESCF) and found that MRSA was associated with lower FEV₁ % predicted and increased hospitalizations and antibiotics used when compared to MSSA.²⁹ However a significantly higher percentage in the MRSA positive group was treated with inhaled colistin or aminoglycosides which led to the speculation of concomitant colonization with gram negative bacteria.³⁰ Sawicki et al. performed a longitudinal study using data from the ESCF between 1999 and 2005.¹² The authors showed that MRSA positive patients had a higher rate of decline of FEV₁ % predicted both before and after MRSA acquisition. MRSA was associated with increased antibiotics usage prior to and after MRSA acquisition. Therefore, the authors suggested that MRSA is a marker for more severe lung disease. Dasenbrook et al. using data from the Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry, found that persistent colonization was associated with a more rapid rate of decline in lung function and worse survival.^{13,14} However, there was no difference in mortality rate between individuals who cleared MRSA within 1 year and those who never had a positive culture for MRSA. In a recent report, MRSA was associated with a higher risk of failing to recover to baseline FEV₁ after a pulmonary exacerbation.³¹

Few studies have investigated the molecular characteristics of MRSA isolates that colonized CF patients. The detected MRSA genotypes usually belonged to the epidemic clones widespread in their respective country.^{32,33} Although CMRSA-10 has become highly prevalent in Canada, this strain was not found in our CF population. Leahy et al. reported in a preliminary form the molecular characterization of MRSA strains in CF patients followed at the Hospital for Sick

Children in Toronto between years 1992 and 2007 and found only 3 CMRSA-10 (USA300) strains out of 25 isolates.³⁴ All CMRSA-10 were PVL positive. CMRSA-2 (USA100/USA800) was the most common MRSA genotype and was found in 10 patients. In their study, the comparison of data from one year before and 3 years after MRSA acquisition demonstrated increased number of hospital admissions, increased respiratory exacerbations and days of IV antibiotics following MRSA acquisition. However, similar to our study, the authors did not find an increased rate of decline in FEV₁ % predicted. Goodrich investigated the frequency with which CA-MRSA was found in their CF population.³⁵ Between 2005 and 2007, 10% of the MRSA isolates recovered were CA-MRSA. Among these isolates, 89% of the CA-MRSA positive patients were USA300 and 5% were USA400. In contrast, Stone et al. performed a molecular typing of MRSA isolates found in CF patients and their household contacts. Among the isolates tested, none were USA300 or USA400.³⁶ Thus, there is variability in the prevalence of CA-MRSA strains, namely CMRSA-10 (USA300) and CMRSA-7 (USA400), between cystic fibrosis centers.²⁶

In order to avoid the confounding effect of other pathogens, patients with new acquisition of *P. aeruginosa* or *B. Cepacia* during the 4-year observation period were excluded from the study. We did not find that persistent colonization with MRSA was associated with short-term effect on lung function. However, persistent colonization with MRSA was associated with increased number of hospitalization for pulmonary exacerbation. A previous study showed increased courses of intravenous antibiotics and a worsening of height z-score after MRSA acquisition.¹¹ There was no significant change in nutritional outcomes before and after MRSA acquisition in our study. Of interest, 1 strain could not be assigned to the ten known epidemic strains. This patient had the most severe clinical evolution and died 4 years after MRSA acquisition from a severe pulmonary infection complicated by multiple organ failure. Whether the more severe outcomes in this patient could be specifically attributed to this unmatched clone is unclear.

CMRSA-2 (USA100/USA800), which was found in the majority of our patients, has been associated with transmission in hospitals.^{4,37,38} This genotype is the predominant strain in Canada and has been associated with a variety of infections

in the general population.^{3,4} Unlike CA-MRSA, HA-MRSA genotypes are generally resistant to non β -lactams agents.³⁹ Our CMRSA-2 strains were resistant to clindamycin and erythromycin. However, they were all susceptible to trimethoprim-sulfamethoxazole. This finding is consistent with previous Canadian data which demonstrated that trimethoprim-sulfamethoxazole has an excellent activity against MRSA with 100% susceptibility in CA-MRSA genotypes and 86.5% susceptibility for HA-MRSA genotypes.^{4,40}

The mechanisms by which MRSA may worsen the clinical outcome of CF patients are imprecise. MRSA produces a variety of virulence factors which may play a role in lung pathogenesis. Previous studies suggested enhanced virulence in CA-MRSA.^{8,41,42} Enhanced virulence contributes not only to disease severity but also to persistent disease, hence a higher risk of transmission. Therefore there has been effort over the past few years to determine the molecular basis of CA-MRSA virulence.^{6,43} PVL, a cytolytic toxin that forms pores in the membrane of leucocytes, has been associated with necrotizing pneumonia in immunocompetent patients.⁴⁴ In CF, Elizur et al. found that PVL positive MRSA was associated with focal pulmonary infiltrate on chest X-Ray and a greater decline in FEV₁ at the time of MRSA detection.⁴⁵ Glikman et al. collected MRSA isolates from two urban tertiary care children's hospitals. Ten of 34 MRSA positive patients (29.4%) were PVL positive and none had focal lung infiltrate, necrotizing pneumonia or lung abscess.⁴⁶ There are currently insufficient data to establish whether PVL contributes to the widespread dissemination and enhanced virulence of USA300 and USA400. In this study, none of our patients was PVL positive. Therefore, we were unable to examine the effect of this toxin on lung function since all our isolates were PVL negative.

Consistent with the epidemiology of MRSA in Canada,³ we found that MRSA colonization has increased in our CF population since 2001. In 1996, none of our patients was colonized with MRSA. In 2008, the prevalence of MRSA among our population was 6.2%. The increase in prevalence was not due to a change in detection methods for MRSA as these techniques have remained the same since 1996. Transmission of MRSA between patients, within the community and within households has been described.^{35,36,47} MRSA acquisition was found to be most

associated with the number of in-patient days.⁴⁸ Prevention of MRSA infection may be the most important clinical issue due to the multi-drug resistance and the increased morbidity and mortality associated with these bacteria. In line with infection control guidelines in CF,⁴⁹ our MRSA positive patients attend separate outpatient clinics and are routinely admitted in a single patient room that does not share common facilities. Routine decolonization of MRSA is not currently practiced at our center. Consensus protocols regarding MRSA eradication in CF patients have not been established. Many protocols have been described, mostly as case reports, with variable rate of success and secondary effects.⁵⁰⁻⁵² Further studies are required to investigate the risk and benefits of these protocols.

This study has several limitations. The power of the study is limited by the small sample of patients. We collected data for a 2 year period after MRSA acquisition, which may not reflect the long term impact of MRSA on lung pathogenesis. Furthermore, molecular typing was only performed for the first MRSA isolates. This study was not able to truly assess whether the same MRSA genotypes persistently colonized our CF patients. However, previous studies suggested that CF patients retained the same strain of MRSA over time.^{32,35,51}

CONCLUSION

MRSA is rapidly spreading in the CF community. Recent studies have provided overall convincing evidence of the deleterious impact of MRSA on lung function and survival. However, it has not yet been established whether different MRSA strains will have the same impact on lung function. Consistent to the Canadian data, we found that CMRSA-2 predominates in our pediatric CF patients. This strain was associated with increased severe respiratory exacerbations. A short-term decline in lung function was not found. The paucity of data on the clinical outcome of CF patient colonized with the epidemic genotypes suggests a need for a prospective multicenter study to determine the impact of MRSA strains on the lung function of CF patients.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Dr. Céline Laferrière for advice and assistance regarding microbiological testing.

Reference List

1. Patient Registry Annual Data Report 2009. Cystic Fibrosis Foundation; 2009.
2. Hauser AR, Jain M, Bar-Meir M, McColley SA. Clinical significance of microbial infection and adaptation in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:29-70.
3. Simor AE, Gilbert NL, Gravel D, Mulvey MR, Bryce E, Loeb M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization or infection in Canada: National Surveillance and Changing Epidemiology, 1995-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31:348-356.
4. Nichol KA, Adam HJ, Hussain Z, Mulvey MR, McCracken M, Mataseje LF, et al. Comparison of community-associated and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canada: results of the CANWARD 2007-2009 study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;69:320-325.
5. McCarthy NL, Sullivan PS, Gaynes R, Rimland D. Health care-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: A comparison of definitions. *Am J Infect Control.* 2010;38:600-606.
6. Graves SF, Kobayashi SD, DeLeo FR. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* immune evasion and virulence. *J Mol Med.* 2010;88:109-114.
7. Kim J, Ferrato C, Golding GR, Mulvey MR, Simmonds KA, Svenson LW, et al. Changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Alberta, Canada: population-based surveillance, 2005-2008. *Epidemiol Infect.* 2010;1-10.

8. Kempker RR, Farley MM, Ladson JL, Satola S, Ray SM. Association of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) USA300 genotype with mortality in MRSA Bacteremia. *J Infect.* 2010;61:372-381.
9. Hidron AI, Low CE, Honig EG, Blumberg HM. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300 as a cause of necrotising community-onset pneumonia. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:384-392.
10. Thomas SR, Gyi KM, Gaya H, Hodson ME. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: impact at a national cystic fibrosis centre. *J Hosp Infect.* 1998;40:203-209.
11. Miall LS, McGinley NT, Brownlee KG, Conway SP. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* 2001;84:160-162.
12. Sawicki GS, Rasouliyan L, Pasta DJ, Regelman WE, Wagener JS, Waltz DA, et al. The impact of incident methicillin resistant *Staphylococcus aureus* detection on pulmonary function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2008;43:1117-1123.
13. Dasenbrook EC, Merlo CA, Diener-West M, Lechtzin N, Boyle MP. Persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and rate of FEV1 decline in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178:814-821.
14. Dasenbrook EC, Checkley W, Merlo CA, Konstan MW, Lechtzin N, Boyle MP. Association between respiratory tract methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and survival in cystic fibrosis. *JAMA.* 2010;303:2386-2392.
15. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:918-951.

16. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, et al. General considerations for lung function testing. *European Respiratory Journal*. 2005;26:153-161.
17. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *European Respiratory Journal*. 2005;26:319-338.
18. Polgar G, Promadhat V. Pulmonary Function Testing in Children: Techniques and Standards. Philadelphia: W B Saunders ; 1971.
19. Zapletal A, Paul T, Samanek M. [Significance of contemporary methods of lung function testing for the detection of airway obstruction in children and adolescents (author's transl)]. *Z Erkr Atmungsorgane*. 1977;149:343-371.
20. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Mei Z, et al. 2000 CDC Growth Charts for the United States: methods and development. *Vital Health Stat 11*. 2002;1-190.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. M2-A10. Wayne, PA. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. 2009.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement M100-S19. Wayne, PA. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. 2009.
23. Geha DJ, Uhl JR, Gustaferra CA, Persing DH. Multiplex PCR for identification of methicillin-resistant staphylococci in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*. 1994;32:1768-1772.
24. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis*. 1999;29:1128-1132.

25. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 2001;39:3481-3485.
26. Golding GR, Campbell JL, Spreitzer DJ, Veyhl J, Surynicz K, Simor A, et al. A preliminary guideline for the assignment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to a Canadian pulsed-field gel electrophoresis epidemic type using spa typing. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2008;19:273-281.
27. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2233-2239.
28. Cystic Fibrosis Consensus Conference. Microbiology and Infectious Disease in Cystic Fibrosis. *Bethesda, MD, Cystic Fibrosis Foundation.* 1994;Volume V, Section 1:1-26.
29. Ren CL, Morgan WJ, Konstan MW, Schechter MS, Wagener JS, Fisher KA, et al. Presence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in respiratory cultures from cystic fibrosis patients is associated with lower lung function. *Pediatr Pulmonol.* 2007;42:513-518.
30. Taccetti G, Neri AS, Festini F, Galici V, Cocchi P, Campana S. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis [Lett]. *Pediatr Pulmonol.* 2008;43:309.
31. Sanders DB, Bittner RC, Rosenfeld M, Hoffman LR, Redding GJ, Goss CH. Failure to recover to baseline pulmonary function after cystic fibrosis pulmonary exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182:627-632.

32. Kidd TJ, Coulter C, Bell SC. Epidemiological analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from adult patients with cystic fibrosis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27:201-203.
33. Vergison A, Denis O, Deplano A, Casimir G, Claeys G, DeBaets F, et al. National survey of molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* colonization in Belgian cystic fibrosis patients. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:893-899.
34. Leahy TR, Yau Y, Ratjen F, Corey M, Waters V. MRSA in a pediatric CF clinic population: clinical and molecular epidemiology, risk factors for colonization, and impact on disease progression [Abst]. *Pediatr Pulmonol Suppl.* 2008;43:356-357.
35. Goodrich JS, Sutton-Shields TN, Kerr A, Wedd JP, Miller MB, Gilligan PH. Prevalence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2009;47:1231-1233.
36. Stone A, Quittell L, Zhou J, Alba L, Bhat M, DeCelie-Germana J, et al. *Staphylococcus aureus* nasal colonization among pediatric cystic fibrosis patients and their household contacts. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28:895-899.
37. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5113-5120.
38. Tenover FC, McDougal LK, Goering RV, Killgore G, Projan SJ, Patel JB, et al. Characterization of a strain of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* widely disseminated in the United States. *J Clin Microbiol.* 2006;44:108-118.
39. Limbago B, Fosheim GE, Schoonover V, Crane CE, Nadle J, Petit S, et al. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

isolates collected in 2005 and 2006 from patients with invasive disease: a population-based analysis. *J Clin Microbiol.* 2009;47:1344-1351.

40. Simor AE, Louie L, Watt C, Gravel D, Mulvey MR, Campbell J, et al. Antimicrobial susceptibilities of health care-associated and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospitalized patients in Canada, 1995 to 2008. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2265-2268.
41. Kreisel KM, Stine OC, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell MD, Lesse AJ, et al. USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and the risk of severe sepsis: is USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with more severe infections? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70:285-290.
42. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med.* 2006;355:666-674.
43. DeLeo FR, Diep BA, Otto M. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2009;23:17-34.
44. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Pantón-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet.* 2002;359:753-759.
45. Elizur A, Orscheln RC, Ferkol TW, Atkinson JJ, Dunne WM, Jr., Buller RS, et al. Pantón-Valentine Leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in patients with cystic fibrosis. *Chest.* 2007;131:1718-1725.
46. Glikman D, Siegel JD, David MZ, Okoro NM, Boyle-Vavra S, Dowell ML, et al. Complex molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with cystic fibrosis in the

era of epidemic community-associated methicillin-resistant *S aureus*. *Chest*. 2008;133:1381-1387.

47. Givney R, Vickery A, Holliday A, Pegler M, Benn R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a cystic fibrosis unit. *J Hosp Infect*. 1997;35:27-36.
48. Nadesalingam K, Conway SP, Denton M. Risk factors for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2005;4:49-52.
49. Saiman L, Siegel J. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24:S6-52.
50. Macfarlane M, Leavy A, Mccaughan J, Fair R, Reid AJ. Successful decolonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in paediatric patients with cystic fibrosis (CF) using a three-step protocol. *J Hosp Infect*. 2007;65:231-236.
51. Garske LA, Kidd TJ, Gan R, Bunting JP, Franks CA, Coulter C, et al. Rifampicin and sodium fusidate reduces the frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation in adults with cystic fibrosis and chronic MRSA infection. *J Hosp Infect*. 2004;56:208-214.
52. Solis A, Brown D, Hughes J, Van Saene HK, Heaf DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with cystic fibrosis: An eradication protocol. *Pediatr Pulmonol*. 2003;36:189-195.

TABLE 1. Baseline characteristics at time of MRSA acquisition

	N	Mean± SD
Age, years	22	11.6 ± 4.3
Weight z-score	22	-0.7 ± 1.0
Height z-score	22	-0.8 ± 0.9
BMI z-score	21	-0.3 ± 1.1
FEV ₁ % predicted	18	77.6 ± 20.9
FVC % predicted	18	94.3 ± 22.2
FEF ₂₅₋₇₅ % predicted	18	50.6 ± 25.4
		N (%)
Gender, female	22	10 (45.5)
ΔF508 Homozygous	22	13 (59.1)
CF-related Diabetes	22	2 (9.1)
Allergic bronchopulmonary aspergillosis	22	4 (18.2)
Colonization		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	16 (72.7)
Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	22	2 (9.1)
<i>Burkholderia cepacia</i>	22	0
MSSA	22	0

* Multidrug-resistant defined as resistance to all of the agents in two or more classes of antibiotics such as β-lactam, aminoglycoside and quinolone agents.^[28]

TABLE 2. Lung function and clinical outcomes 2 years prior to and 2 years after MRSA acquisition

	N	2 years period before MRSA*	2 years period after MRSA*	Δ (95% CI)	p
Number of hospital admissions	21	1.6 \pm 2.2	2.3 \pm 2.3	0.8 (0.3–1.3)	0.004
Days of antibiotics	21	36.0 \pm 55.7	44.3 \pm 43.0	8.2 (-4.5–20.9)	0.19
Change in weight z-score	21	0 \pm 0.5	-0.2 \pm 0.5	-0.2 (-0.5–0.1)	0.26
Change in height z-score	21	0 \pm 0.4	-0.1 \pm 0.4	-0.1 (-0.4–0.1)	0.23
Change in BMI z-score	21	0 \pm 0.5	-0.3 \pm 0.5	-0.3 (-0.6–0.03)	0.08
Change in FEV ₁ % predicted †	18	-3.8 \pm 5.6	-4.8 \pm 4.3	-1.0 (-5.3–3.3)	0.63
Change in FVC % predicted †	18	-2.5 \pm 4.9	-1.6 \pm 5.0	0.9 (-2.6–4.4)	0.59
Change in FEF ₂₅₋₇₅ % predicted †	18	-4.6 \pm 11.1	-6.5 \pm 7.7	-1.9 (-10.6–6.8)	0.65

*Data expressed as mean \pm SD

† Decline in lung function was calculated as the change in FEV₁ %, FVC % and FEF₂₅₋₇₅% predicted values per year

TABLE 3. Microbiologic characteristics of MRSA isolates

Isolate	Year	<i>mecA</i> PCR	<i>nuc</i> PCR	Oxacillin MIC (mg/L)*	Cefoxitin zone size (mm) [†]	Clindamycin ‡	Erythromy cin [‡]	TMP- SMX [‡]	Vancomycin [‡]	Linezolid ‡	PVL	CMRSA strain	Pulsovars
1	2001	Pos	Pos	256	8	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A
2	2001	Pos	Pos	256	10	R	R	S	S	-	Neg	CMRSA-2	A
3	2002	Pos	Pos	256	10	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A2
4	2002	Pos	Pos	256	11	R	R	S	S	-	Neg	CMRSA-2	A2-a
5	2003	Pos	Pos	256	6	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A
6	2004	Pos	Pos	256	8	R	R	S	S	S	Neg	unmatched	B
7	2004	Pos	Pos	32	10	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A2-b
8	2005	Pos	Pos	256	16	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A
9	2005	Pos	Pos	256	12	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A5
10	2005	Pos	Pos	256	12	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A2
11	2006	Pos	Pos	256	12	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A2-c
12	2006	Pos	Pos	256	10	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A2
13	2006	Pos	Pos	256	10	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A
14	2007	Pos	Pos	64	11	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A2-b
15	2008	Pos	Pos	256	11	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A
16	2008	Pos	Pos	256	6	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A3-a
17	2008	Pos	Pos	256	11	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A3
18	2008	Pos	Pos	256	6	R	R	S	S	S	Neg	CMRSA-2	A3-a

* Oxacillin MIC susceptible ≤ 2 mg/L, MIC: minimum inhibitory concentration

[†] Cefoxitin susceptible zone size ≥ 22 mm, resistant ≤ 21 mm

[‡] TMP-SMX: trimethoprim-sulfamethoxazole, S: susceptible, R: resistant

FIGURE LEGENDS

- Figure 1** New cases of MRSA between 1996 and 2008
- Figure 2** FEV₁ % predicted values 2 years before and 2 years after MRSA acquisition. Time 0 represents time of first MRSA acquisition.
- Figure 3** PFGE pattern and phylogenetic tree of the 18 MRSA isolates. The scale indicates the level of pattern similarity. Pulsovars nomenclature was designated by letters. The epidemic strain CMRSA-2 was designated by the letter A. Numbers indicate the number of band differences compared to the reference strain. For example, pulsovar A2 has a 2-band difference from pulsovar A.

Figure 1

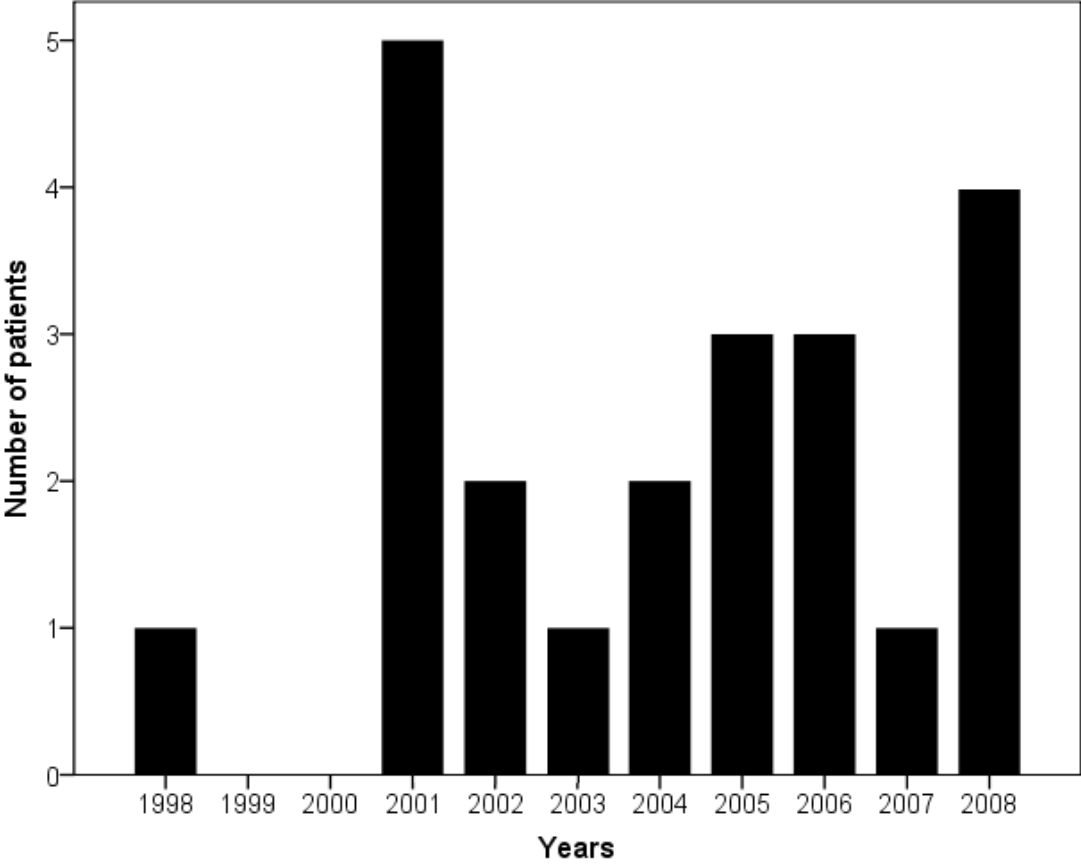


Figure 2

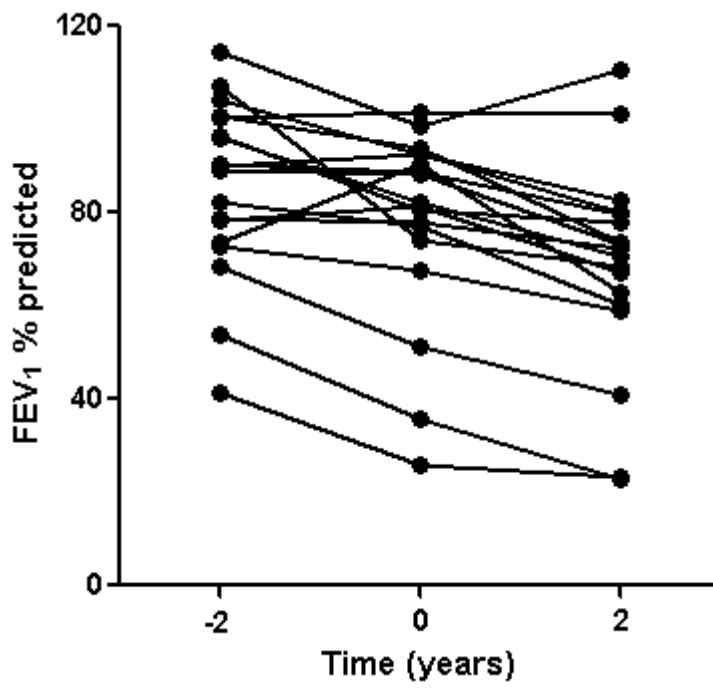
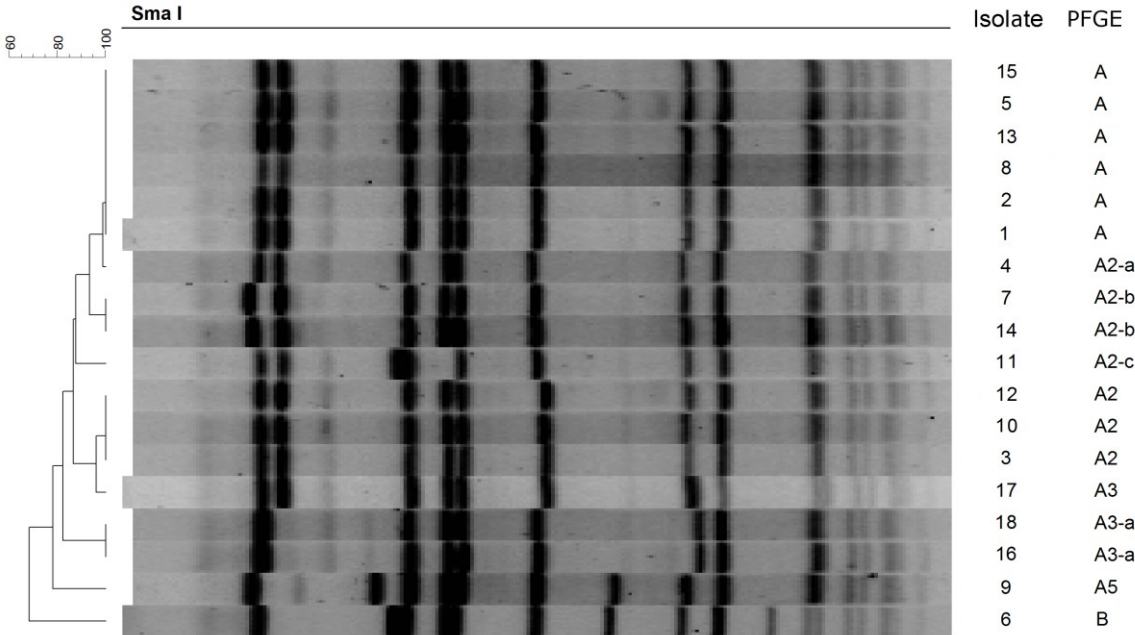


Figure 3



3- DISCUSSION

L'augmentation de la prévalence du SARM chez les personnes atteintes de FK a suscité beaucoup d'intérêt scientifique. Or, selon certaines données récentes, le SARM jouerait un rôle dans la progression de l'atteinte pulmonaire chez cette population.^{102,103} Nous savons que le SARM regroupe plusieurs souches distinctes, et également, que pour certaines bactéries qui colonisent les patients atteints de FK, tel le complexe *Burkholderia cepacia*, différentes souches sont associées à une virulence et une transmissibilité augmentées.²³ En ce qui concerne le SARM, le rôle précis de ses souches particulières ainsi que les mécanismes sous-jacents du déclin de la fonction respiratoire ne sont toujours pas déterminés. Cependant, la distinction entre les différentes souches du SARM et leurs rôles respectifs dans la pathogenèse de l'atteinte pulmonaire seront importants pour le choix de stratégies de prévention et de traitement à l'avenir. Certaines études, mais non toutes,⁶⁴ ont suggéré que les souches CA-MRSA étaient plus virulentes que les souches HA-MRSA.^{53,60}

Un consensus sur la définition d'une colonisation persistante au SARM n'a pas encore été établi. Dans notre étude, nous avons utilisé la même définition que Dasenbrook et al.^{102,103} Vu les recherches récentes suggérant la persistance du SARM et non l'acquisition transitoire comme facteur de risque de morbidité et de mortalité, nous avons tenté de déterminer si la persistance de certaines souches de SARM affecterait l'évolution clinique de notre population pédiatrique. Afin d'éviter l'effet confondant des autres pathogènes, nous avons exclu de notre étude les patients avec une nouvelle colonisation à *P. aeruginosa* ou à *B. cepacia*.

Peu d'études ont examiné l'augmentation de la prévalence du SARM chez les patients atteints de FK, à savoir si elle était due à l'acquisition de souches communautaires ou hospitalières. Goodrich et al.⁹⁴ ont noté que sur 470 isolats de SARM recueillis en Caroline du Nord entre 2005 à 2007, 19 % provenaient de souches communautaires ; parmi celles-ci, plus de la moitié étaient PVL positives. Chez les enfants atteints de FK, une étude américaine a trouvé que 26.5 % des isolats de SARM recueillis étaient des souches CA-MRSA et que la majorité

comprenaient les gènes codant pour la PVL.¹⁰⁴ Il a été démontré que dans la FK, une même souche de SARM pouvait persister pendant des années chez un même individu.¹⁸

À notre connaissance, une seule étude a évalué l'impact des caractéristiques moléculaires du SARM sur la progression de la maladie respiratoire dans la FK.¹⁰⁵ Les auteurs ont retrouvé 4 souches épidémiques: USA-100, USA-600, CMRSA-4 et USA-300, dont trois souches USA-300 étaient positives pour les gènes encodant la PVL. La détection d'au moins une culture positive à SARM était associée à une augmentation de la durée de l'hospitalisation, du nombre d'exacerbations pulmonaires et de la durée des traitements avec antibiotiques intraveineux. Tout comme dans notre étude, les auteurs n'ont pas observé de déclin accéléré de la fonction respiratoire.

Quoique le SARM soit endémique dans certains pays d'Europe et d'Amérique, il est important de noter que la prévalence du SARM ainsi que de ses différentes souches varient d'un pays à l'autre. Selon le Registre canadien de la Fondation de la fibrose kystique, 3.2% des patients avaient au moins 1 culture positive à SARM en 2008.¹ Diverses études épidémiologiques ont démontré que la prévalence fluctuait selon le temps et variait entre les différents centres de référence. Ainsi que pour les autres centres nord-américains, la prévalence du SARM dans notre centre pédiatrique a augmenté dans la dernière décennie. En 1996, aucun de nos patients n'était colonisé par le SARM. En 2010, la prévalence était de 6.2%. L'augmentation n'était pas secondaire à un changement dans les méthodes de détection puisque les techniques étaient demeurées inchangées depuis 1996. Le CMRSA-2, une souche HA-MRSA, prédominait. Cela correspond d'ailleurs à la souche isolée le plus fréquemment dans les hôpitaux canadiens. Il est important de noter que nous n'avons pas évalué si, dans notre institution, les mêmes souches de SARM persistaient avec le temps. En ce qui concerne la rapidité du déclin de la fonction respiratoire, nous n'avons pas trouvé d'association avec le SARM. Cependant, nous avons noté une augmentation des admissions pour des exacerbations pulmonaires suite à une colonisation persistante par un SARM. Puisque notre étude était rétrospective, il est impossible d'établir un lien de causalité. De plus, nous ne pouvons exclure la possibilité que la baisse de l'indice

de masse corporelle associée à la colonisation au SARM explique un plus grand nombre d'hospitalisation. Une de nos patientes était colonisée par une souche autre que les 10 souches épidémiques canadiennes. Elle décéda d'une infection pulmonaire fulminante 4 ans après l'acquisition du SARM.

Certaines études ont suggéré que comparées aux HA-MRSA, les souches de CA-MRSA, notamment CMRSA-10 (USA300) et CMRSA-7 (USA400), étaient associées à une virulence augmentée⁷⁰ et à des infections plus sévères.^{60,72,73} Quoique la prévalence de la souche CMRSA-10 (USA300) a le plus augmenté parmi les souches épidémiques de SARM,^{66,68} cette souche n'a toutefois pas été isolée chez nos patients.

Les analyses microbiologiques de nos isolats ont démontré une résistance à la clindamycine et à l'érythromycine. Ces résultats n'étaient pas inattendus, vu les études antérieures indiquant généralement que l'HA-MRSA était résistant à de nombreux agents non bêtalactames.⁵⁵ La plupart de nos isolats étaient sensibles au triméthoprim-sulfaméthoxazole. Nos résultats concordent donc avec les données d'études épidémiologiques plus étendues, qui suggéraient que le triméthoprim-sulfaméthoxazole conservait une excellente activité contre le SARM avec 100% de susceptibilité pour les souches de CA-MRSA et 86.5% de susceptibilité pour les souches d'HA-MRSA.^{68,106}

La multirésistance aux antibiotiques est un des plus grands défis associés au traitement des infections à SARM. Heureusement, aucun de nos isolats n'était résistant à la vancomycine et au linézolide. Cette étude renforce une fois de plus l'importance de la prévention. En plus des précautions standards recommandées pour la FK, les patients atteints de SARM devraient être isolés des autres patients lors des suivis ambulatoires aussi bien que lors des hospitalisations. Le lavage des mains est un élément clé. Une hospitalisation en chambre privée sans partage de salle de bain en est un autre.^{18,107} En accord avec les directives publiées, nos patients étaient suivis en clinique externe séparée et hospitalisés, le cas échéant, dans des chambres privées. Malgré nos efforts pour limiter la transmission du SARM, les résultats de notre étude ont démontré que la majorité de nos patients étaient colonisés par le CMRSA-2 et ce, à quelques différences près au niveau de

l’empreinte génétique. Nous ne pouvons exclure la possibilité de transmission entre patients. Cependant, avec la propagation des souches d’HA-MRSA dans la communauté, il est impossible de déterminer la source de l’acquisition.

Plusieurs protocoles ont été proposés pour l’éradication du SARM chez les personnes atteintes de FK. Ces protocoles varient d’un centre à l’autre mais aucun ne s’est démontré particulièrement supérieur. L’éradication est compliquée par la persistance du SARM chez les membres de la famille. De plus, les diverses définitions du concept « éradication » utilisées dans les protocoles limitent la comparaison entre les études. La majorité des protocoles comportent un traitement topique combiné à un traitement inhalé ou oral. Solis et al. ont observé une éradication du SARM chez 55 % des enfants participant. Leur protocole, d’une durée de 5 jours, consistait du bain avec de la chlorhexidine et d’une antibiothérapie avec de la vancomycine topique et en nébulisation.¹⁰⁸ Un autre groupe britannique a suggéré un protocole en trois étapes combinant un traitement à la mupirocine topique, à l’acide fusidique, à la chlorhexidine et à la rifampicine orale.¹⁰⁹ La première étape, d’une durée de 5 jours, permettait l’éradication du SARM chez 47% des patients atteints. Les taux de succès augmentaient à 70% avec la répétition de la première étape. En dernier lieu, un traitement intraveineux à la teicoplanine permettait la décolonisation chez 94% des patients affectés. Aucun effet secondaire n’a été rapporté. Garske et al. ont proposé un protocole de 6 mois d’acide fusidique et de rifampicine.¹¹⁰ Le SARM était enrayé chez 5 patients sur 7, mais plusieurs d’entre eux avaient également reçu un traitement intraveineux anti-staphylococcique durant la période de l’étude. Trois patients éprouvaient des effets secondaires gastro-œsophagiens dont l’un nécessitait la cessation du protocole. Finalement, la décolonisation du SARM avec un traitement oral de linézolide a été également décrite.¹¹¹

Aucune étude randomisée n’a été menée à ce jour. Les traitements mentionnés comportent un risque significatif d’échec, occasionnent la possibilité d’effets secondaires et sèment une inquiétude légitime concernant l’émergence de résistance aux antibiotiques. Avant l’adoption de tels protocoles, il est nécessaire d’effectuer des études supplémentaires avec une attention particulière à l’effet

toxique médicamenteux. À date, l'éradication de routine du SARM n'est pas pratiquée dans notre institution.

3.1 La PVL

Des cas d'abcès pulmonaire ont été rapportés chez certains patients atteints de FK qui avaient une culture positive à SARM dont la souche comportait les gènes *lukS-PV* et *lukF-PV*.¹¹² En effet, la PVL était associée à un déclin important de la fonction respiratoire lors de la détection de la bactérie, à la présence d'infiltrats pulmonaires focalisés et à une leucocytose. D'un autre côté, Glikman et al. n'ont pas démontré de rapport entre les exacerbations pulmonaires et la présence du CA-MRSA.¹⁰⁴ Parmi les patients PVL positifs, aucun n'avait d'infiltrat pulmonaire, de pneumonie nécrosante ni d'abcès pulmonaire. Il est toutefois important de mentionner que le nombre de patients dans ces études est relativement limité. Il nous est actuellement impossible de tirer de conclusions quant à l'impact de la PVL dans l'atteinte respiratoire de la FK. Également, dans la présente étude, aucun des patients n'était PVL positif. Il nous était donc impossible d'examiner les effets de la toxine sur la fonction respiratoire.

3.2 Limites de l'étude

Cette étude comporte plusieurs limitations. En premier lieu, le petit échantillon de patients limitait la puissance statistique. Deuxièmement, malgré le recueil de données sur les deux années qui précédaient et qui suivaient l'acquisition du SARM, ces données risquaient de ne pas refléter suffisamment l'impact à long terme sur la pathogenèse de l'atteinte respiratoire. La décision de ne recueillir que deux VEMS, l'un 2 ans avant la colonisation et l'autre 2 ans après, était inspirée par la méthodologie des études antérieures sur le SARM. Il est fort possible que l'analyse de multiples VEMS, aussi bien avant qu'après la colonisation, nous aurait rapporté des informations supplémentaires sur l'atteinte fonctionnelle respiratoire. En troisième lieu, cette étude ne permettait pas d'évaluer si une même souche de SARM colonisait la voie respiratoire de façon persistante. Cependant, selon les études antérieures, les patients conserveraient la même souche au fil des ans.^{94,110,113}

La question principale de cette étude était de déterminer l'association entre la colonisation persistante par un SARM et l'évolution clinique et physiologique de la FK. Par conséquent, nous avons jugé que la comparaison des patients avant et après la colonisation par un SARM nous permettait de répondre à cette question. Nous avons trouvé une augmentation significative des admissions pour exacerbations pulmonaires suite à la colonisation par un SARM. Toutefois, nous ne pouvons exclure que cette augmentation ne soit causé par un changement de prise en charge thérapeutique, faute d'un groupe témoin de patients atteints de FK qui soient SARM négatifs.

4- CONCLUSION

La présente étude suggère que la souche épidémique CMRSA-2 pourrait affecter l'évolution clinique des enfants atteints de FK. Cette recherche a également permis de dresser le portrait du SARM dans une des plus importantes cliniques pédiatriques de FK du Canada. Avec l'augmentation inquiétante de la prévalence du SARM dans le pays, il serait souhaitable de poursuivre cette recherche à partir des résultats présentement obtenus en impliquant la participation multicentrique et pancanadienne de nombreuses cliniques de FK.

References

1. Canadian Patient Data Registry Report 2008. Cystic Fibrosis Canada; 2008.
2. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:918-951.
3. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science.* 1989;245:1066-1073.
4. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2005;352:1992-2001.
5. Castellani C, Cuppens H, Macek M, Jr., Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros.* 2008;7:179-196.
6. Flume PA, Mogayzel PJ, Jr., Robinson KA, Rosenblatt RL, Quittell L, Marshall BC. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: pulmonary complications: hemoptysis and pneumothorax. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182:298-306.
7. Chow CW, Landau LI, Taussig LM. Bronchial mucous glands in the newborn with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr.* 1982;139:240-243.
8. Sturgess J, Imrie J. Quantitative evaluation of the development of tracheal submucosal glands in infants with cystic fibrosis and control infants. *Am J Pathol.* 1982;106:303-311.
9. Ratjen FA. Cystic fibrosis: pathogenesis and future treatment strategies. *Respir Care.* 2009;54:595-605.
10. Chmiel JF, Davis PB. State of the art: why do the lungs of patients with cystic fibrosis become infected and why can't they clear the infection? *Respir Res.* 2003;4:8.

11. Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB, Carzino R, Gutierrez JP, Hull J, et al. Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:1197-1204.
12. Muhlebach MS, Stewart PW, Leigh MW, Noah TL. Quantitation of inflammatory responses to bacteria in young cystic fibrosis and control patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:186-191.
13. Rosenfeld M, Gibson RL, McNamara S, Emerson J, Burns JL, Castile R, et al. Early pulmonary infection, inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2001;32:356-366.
14. Zahm JM, Gaillard D, Dupuit F, Hinnrasky J, Porteous D, Dorin JR, et al. Early alterations in airway mucociliary clearance and inflammation of the lamina propria in CF mice. *Am J Physiol.* 1997;272:C853-C859.
15. Bonfield TL, Konstan MW, Burfeind P, Panuska JR, Hilliard JB, Berger M. Normal bronchial epithelial cells constitutively produce the anti-inflammatory cytokine interleukin-10, which is downregulated in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995;13:257-261.
16. Flume PA, Robinson KA, O'Sullivan BP, Finder JD, Vender RL, Willey-Courand DB, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: airway clearance therapies. *Respir Care.* 2009;54:522-537.
17. Rosenfeld M, Emerson J, Accurso F, Armstrong D, Castile R, Grimwood K, et al. Diagnostic accuracy of oropharyngeal cultures in infants and young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1999;28:321-328.
18. Saiman L, Siegel J. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24:S6-52.
19. Lipuma JJ. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23:299-323.

20. Saiman L, Prince A. *Pseudomonas aeruginosa* pili bind to asialoGM1 which is increased on the surface of cystic fibrosis epithelial cells. *J Clin Invest.* 1993;92:1875-1880.
21. Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, Schwab U, Cekici A, Meyer KC, et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest.* 2002;109:317-325.
22. Hentzer M, Teitzel GM, Balzer GJ, Heydorn A, Molin S, Givskov M, et al. Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *J Bacteriol.* 2001;183:5395-5401.
23. Hauser AR, Jain M, Bar-Meir M, McColley SA. Clinical significance of microbial infection and adaptation in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:29-70.
24. Isles A, Maclusky I, Corey M, Gold R, Prober C, Fleming P, et al. *Pseudomonas cepacia* infection in cystic fibrosis: an emerging problem. *J Pediatr.* 1984;104:206-210.
25. Proesmans M, Balinska-Miskiewicz W, Dupont L, Bossuyt X, Verhaegen J, Hoiby N, et al. Evaluating the "Leeds criteria" for *Pseudomonas aeruginosa* infection in a cystic fibrosis centre. *European Respiratory Journal.* 2006;27:937-943.
26. Esther CR, Jr., Henry MM, Molina PL, Leigh MW. Nontuberculous mycobacterial infection in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2005;40:39-44.
27. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculous mycobacteria. This official statement of the American Thoracic Society was approved by the Board of Directors, March 1997. Medical Section of the American Lung Association. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:S1-25.
28. Abman SH, Ogle JW, Harbeck RJ, Butler-Simon N, Hammond KB, Accurso FJ. Early bacteriologic, immunologic, and clinical courses of young infants

- with cystic fibrosis identified by neonatal screening. *J Pediatr.* 1991;119:211-217.
29. Emerson J, McNamara S, Buccat AM, Worrell K, Burns JL. Changes in cystic fibrosis sputum microbiology in the United States between 1995 and 2008. *Pediatr Pulmonol.* 2010;45:363-370.
 30. Kahl BC. Impact of *Staphylococcus aureus* on the pathogenesis of chronic cystic fibrosis lung disease. *Int J Med Microbiol.* 2010;300:514-519.
 31. Goerke C, Wolz C. Adaptation of *Staphylococcus aureus* to the cystic fibrosis lung. *Int J Med Microbiol.* 2010;300:520-525.
 32. DeLeo FR, Diep BA, Otto M. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2009;23:17-34.
 33. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis.* 2001;32 Suppl 2:S114-S132.
 34. Navarro J, Rainisio M, Harms HK, Hodson ME, Koch C, Mastella G, et al. Factors associated with poor pulmonary function: cross-sectional analysis of data from the ERCF. European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *European Respiratory Journal.* 2001;18:298-305.
 35. Liou TG, Adler FR, Fitzsimmons SC, Cahill BC, Hibbs JR, Marshall BC. Predictive 5-year survivorship model of cystic fibrosis. *Am J Epidemiol.* 2001;153:345-352.
 36. McCaffery K, Olver RE, Franklin M, Mukhopadhyay S. Systematic review of antistaphylococcal antibiotic therapy in cystic fibrosis. *Thorax.* 1999;54:380-383.

37. Stutman HR, Lieberman JM, Nussbaum E, Marks MI. Antibiotic prophylaxis in infants and young children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial. *J Pediatr*. 2002;140:299-305.
38. Ratjen F, Doring G. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2003;361:681-689.
39. Britto MT, Kotagal UR, Hornung RW, Atherton HD, Tsevat J, Wilmott RW. Impact of recent pulmonary exacerbations on quality of life in patients with cystic fibrosis. *Chest*. 2002;121:64-72.
40. Sanders DB, Bittner RC, Rosenfeld M, Hoffman LR, Redding GJ, Goss CH. Failure to recover to baseline pulmonary function after cystic fibrosis pulmonary exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:627-632.
41. 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;151:134-9, 139.
42. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, et al. General considerations for lung function testing. *European Respiratory Journal*. 2005;26:153-161.
43. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *European Respiratory Journal*. 2005;26:319-338.
44. Kerem E, Conway S, Elborn S, Heijerman H. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. *J Cyst Fibros*. 2005;4:7-26.
45. Counil FP, Karila C, Le BM, Matecki S, Lebras MN, Couderc L, et al. [Cystic fibrosis: how to use pulmonary function tests]. *Rev Mal Respir*. 2007;24:691-701.
46. Kerem E, Reisman J, Corey M, Canny GJ, Levison H. Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 1992;326:1187-1191.

47. Corey M, Edwards L, Levison H, Knowles M. Longitudinal analysis of pulmonary function decline in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1997;131:809-814.
48. Kaye KS, Engemann JJ, Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infect Dis Clin North Am.* 2004;18:467-511, viii.
49. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:781-791.
50. Rehm SJ, Tice A. Staphylococcus aureus: methicillin-susceptible S. aureus to methicillin-resistant S. aureus and vancomycin-resistant S. aureus. *Clin Infect Dis.* 2010;51 Suppl 2:S176-S182.
51. Christianson S, Golding GR, Campbell J, Mulvey MR. Comparative genomics of Canadian epidemic lineages of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1904-1911.
52. Limbago B, Fosheim GE, Schoonover V, Crane CE, Nadle J, Petit S, et al. Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates collected in 2005 and 2006 from patients with invasive disease: a population-based analysis. *J Clin Microbiol.* 2009;47:1344-1351.
53. Hidron AI, Low CE, Honig EG, Blumberg HM. Emergence of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus strain USA300 as a cause of necrotising community-onset pneumonia. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:384-392.
54. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2233-2239.
55. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant

- Staphylococcus aureus isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol.* 2003;41:5113-5120.
56. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant Staphylococcus aureus using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 2001;39:3481-3485.
 57. Tenover FC, McDougal LK, Goering RV, Killgore G, Projan SJ, Patel JB, et al. Characterization of a strain of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus widely disseminated in the United States. *J Clin Microbiol.* 2006;44:108-118.
 58. Voyich JM, Braughton KR, Sturdevant DE, Whitney AR, Said-Salim B, Porcella SF, et al. Insights into mechanisms used by Staphylococcus aureus to avoid destruction by human neutrophils. *J Immunol.* 2005;175:3907-3919.
 59. Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Lab Invest.* 2007;87:3-9.
 60. Kempker RR, Farley MM, Ladson JL, Satola S, Ray SM. Association of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) USA300 genotype with mortality in MRSA Bacteremia. *J Infect.* 2010;61:372-381.
 61. MRSA Surveillance Protocol: Surveillance for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in CNISP health care facilities. 2006.
 62. Morrison MA, Hageman JC, Klevens RM. Case definition for community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Hosp Infect.* 2006;62:241.
 63. Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG, Halvosa SJ, Wang YF, King MD, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis.* 2006;42:647-656.

64. McCarthy NL, Sullivan PS, Gaynes R, Rimland D. Health care-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: A comparison of definitions. *Am J Infect Control*. 2010;38:600-606.
65. David MZ, Glikman D, Crawford SE, Peng J, King KJ, Hostetler MA, et al. What is community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*? *J Infect Dis*. 2008;197:1235-1243.
66. Simor AE, Gilbert NL, Gravel D, Mulvey MR, Bryce E, Loeb M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization or infection in Canada: National Surveillance and Changing Epidemiology, 1995-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31:348-356.
67. Kim J, Ferrato C, Golding GR, Mulvey MR, Simmonds KA, Svenson LW, et al. Changing epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Alberta, Canada: population-based surveillance, 2005-2008. *Epidemiol Infect*. 2010;1-10.
68. Nichol KA, Adam HJ, Hussain Z, Mulvey MR, McCracken M, Mataseje LF, et al. Comparison of community-associated and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canada: results of the CANWARD 2007-2009 study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;69:320-325.
69. Abdel-Haq N, Al-Tatari H, Chearskul P, Salimnia H, Asmar BI, Fairfax MR, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitalized children: correlation of molecular analysis with clinical presentation and antibiotic susceptibility testing (ABST) results. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28:547-551.
70. Graves SF, Kobayashi SD, DeLeo FR. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* immune evasion and virulence. *J Mol Med*. 2010;88:109-114.
71. Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. *Int J Infect Dis*. 2010;14 Suppl 4:S19-S22.

72. Kreisel KM, Stine OC, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell MD, Lesse AJ, et al. USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and the risk of severe sepsis: is USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with more severe infections? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70:285-290.
73. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med.* 2006;355:666-674.
74. Prevost G, Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, Cribier B, et al. Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med Microbiol.* 1995;42:237-245.
75. Ward PD, Turner WH. Identification of staphylococcal Pantone-Valentine leukocidin as a potent dermonecrotic toxin. *Infect Immun.* 1980;28:393-397.
76. Torell E, Molin D, Tano E, Ehrenborg C, Ryden C. Community-acquired pneumonia and bacteraemia in a healthy young woman caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying the genes encoding Pantone-Valentine leukocidin (PVL). *Scand J Infect Dis.* 2005;37:902-904.
77. Magira EE, Zervakis D, Routsis C, Kontogiorgi M, Roussos C, Nanas S, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Pantone-Valentine leukocidin genes: a lethal cause of pneumonia in an adult immunocompetent patient. *Scand J Infect Dis.* 2007;39:466-469.
78. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Pantone-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet.* 2002;359:753-759.
79. Voyich JM, Otto M, Mathema B, Braughton KR, Whitney AR, Welty D, et al. Is Pantone-Valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? *J Infect Dis.* 2006;194:1761-1770.

80. Bubeck WJ, Palazzolo-Ballance AM, Otto M, Schneewind O, DeLeo FR. Panton-Valentine leukocidin is not a virulence determinant in murine models of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease. *J Infect Dis.* 2008;198:1166-1170.
81. DeLeo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 2010;375:1557-1568.
82. Diep BA, Stone GG, Basuino L, Graber CJ, Miller A, des Etages SA, et al. The arginine catabolic mobile element and staphylococcal chromosomal cassette mec linkage: convergence of virulence and resistance in the USA300 clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis.* 2008;197:1523-1530.
83. Wang R, Braughton KR, Kretschmer D, Bach TH, Queck SY, Li M, et al. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nat Med.* 2007;13:1510-1514.
84. Huang SS, Platt R. Risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after previous infection or colonization. *Clin Infect Dis.* 2003;36:281-285.
85. Ippolito G, Leone S, Lauria FN, Nicastrì E, Wenzel RP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the superbug. *Int J Infect Dis.* 2010;14 Suppl 4:S7-11.
86. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2003;36:53-59.
87. Zahar JR, Clec'h C, Tafflet M, Garrouste-Org, Jamali S, Mourvillier B, et al. Is methicillin resistance associated with a worse prognosis in *Staphylococcus aureus* ventilator-associated pneumonia? *Clin Infect Dis.* 2005;41:1224-1231.
88. Tenover FC, Moellering RC, Jr. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration

- interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1208-1215.
89. Walkey AJ, O'Donnell MR, Wiener RS. Linezolid vs Glycopeptide Antibiotics for the Treatment of Suspected Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nosocomial Pneumonia: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Chest*. 2011;139:1148-1155.
 90. Major TA, Panmanee W, Mortensen JE, Gray LD, Hoglen N, Hassett DJ. Sodium nitrite-mediated killing of the major cystic fibrosis pathogens *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Burkholderia cepacia* under anaerobic planktonic and biofilm conditions. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:4671-4677.
 91. Patient Registry Annual Data Report 2009. Cystic Fibrosis Foundation; 2009.
 92. Givney R, Vickery A, Holliday A, Pegler M, Benn R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a cystic fibrosis unit. *J Hosp Infect*. 1997;35:27-36.
 93. Jones AM, Webb AK. Recent advances in cross-infection in cystic fibrosis: *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas aeruginosa*, MRSA and *Pandora* spp. *J R Soc Med*. 2003;96 Suppl 43:66-72.
 94. Goodrich JS, Sutton-Shields TN, Kerr A, Wedd JP, Miller MB, Gilligan PH. Prevalence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1231-1233.
 95. Stone A, Quittell L, Zhou J, Alba L, Bhat M, DeCelle-Germana J, et al. *Staphylococcus aureus* nasal colonization among pediatric cystic fibrosis patients and their household contacts. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:895-899.
 96. Nadesalingam K, Conway SP, Denton M. Risk factors for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2005;4:49-52.

97. Boxerbaum B, Jacobs MR, Cechner RL. Prevalence and significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1988;4:159-163.
98. Thomas SR, Gyi KM, Gaya H, Hodson ME. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: impact at a national cystic fibrosis centre. *J Hosp Infect.* 1998;40:203-209.
99. Miall LS, McGinley NT, Brownlee KG, Conway SP. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* 2001;84:160-162.
100. Ren CL, Morgan WJ, Konstan MW, Schechter MS, Wagener JS, Fisher KA, et al. Presence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in respiratory cultures from cystic fibrosis patients is associated with lower lung function. *Pediatr Pulmonol.* 2007;42:513-518.
101. Sawicki GS, Rasouliyan L, Pasta DJ, Regelman WE, Wagener JS, Waltz DA, et al. The impact of incident methicillin resistant *Staphylococcus aureus* detection on pulmonary function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2008;43:1117-1123.
102. Dasenbrook EC, Merlo CA, Diener-West M, Lechtzin N, Boyle MP. Persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and rate of FEV1 decline in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178:814-821.
103. Dasenbrook EC, Checkley W, Merlo CA, Konstan MW, Lechtzin N, Boyle MP. Association between respiratory tract methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and survival in cystic fibrosis. *JAMA.* 2010;303:2386-2392.
104. Glikman D, Siegel JD, David MZ, Okoro NM, Boyle-Vavra S, Dowell ML, et al. Complex molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with cystic fibrosis in the era of epidemic community-associated methicillin-resistant *S aureus*. *Chest.* 2008;133:1381-1387.

105. Leahy TR, Yau Y, Ratjen F, Corey M, Waters V. MRSA in a pediatric CF clinic population: clinical and molecular epidemiology, risk factors for colonization, and impact on disease progression [Abst]. *Pediatr Pulmonol Suppl.* 2008;43:356-357.
106. Simor AE, Louie L, Watt C, Gravel D, Mulvey MR, Campbell J, et al. Antimicrobial susceptibilities of health care-associated and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospitalized patients in Canada, 1995 to 2008. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:2265-2268.
107. Saiman L, Siegel J. Infection control in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:57-71.
108. Solis A, Brown D, Hughes J, Van Saene HK, Heaf DP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with cystic fibrosis: An eradication protocol. *Pediatr Pulmonol.* 2003;36:189-195.
109. Macfarlane M, Leavy A, Mccaughan J, Fair R, Reid AJ. Successful decolonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in paediatric patients with cystic fibrosis (CF) using a three-step protocol. *J Hosp Infect.* 2007;65:231-236.
110. Garske LA, Kidd TJ, Gan R, Bunting JP, Franks CA, Coulter C, et al. Rifampicin and sodium fusidate reduces the frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation in adults with cystic fibrosis and chronic MRSA infection. *J Hosp Infect.* 2004;56:208-214.
111. Serisier DJ, Jones G, Carroll M. Eradication of pulmonary methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in cystic fibrosis with linezolid. *J Cyst Fibros.* 2004;3:61.
112. Elizur A, Orscheln RC, Ferkol TW, Atkinson JJ, Dunne WM, Jr., Buller RS, et al. Panton-Valentine Leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in patients with cystic fibrosis. *Chest.* 2007;131:1718-1725.

113. Kidd TJ, Coulter C, Bell SC. Epidemiological analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from adult patients with cystic fibrosis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27:201-203.