



## **CRMR Mucoviscidose et maladies apparentées**

Texte du PNDS

# **Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Evaluation diagnostique et prise en charge des affections liées ou associées à CFTR**

**Novembre 2021**

# Sommaire

Liste des abréviations .....	5
Synthèse du PNDS à destination du médecin traitant.....	7
1. Introduction.....	14
2. Objectifs du PNDS .....	15
3. Diagnostic et évaluation initiale.....	16
3.1 Objectifs .....	16
3.2 Professionnels impliqués (et modalités de coordination).....	17
3.3 Circonstances de découverte/Suspicion de diagnostic .....	17
3.3.1. Les affections liées à CFTR (AL-CFTR).....	17
3.3.2 Les « affections associées à CFTR » (AA-CFTR) .....	19
3.3.3 Le « diagnostic non conclu » (DgNC) au dépistage néonatal (DNN).....	20
3.4 Confirmation du diagnostic d'AL-CFTR .....	21
3.4.1 Test de la sueur.....	22
3.4.2 Analyses génétiques .....	23
3.4.3 Tests fonctionnels.....	28
3.4.3.1 Épithélium nasal : mesure de la différence de potentiel (DDP) .....	28
3.4.3.2 Epithelium rectal : mesure du courant de court-circuit (CCC) trans-épithélial .....	28
3.4.3.3 Glande sudoripare : mesure de la sécrétion de sueur bêta-adrénergique (β-adr) .....	28
4. Démarche diagnostique et algorithmes .....	29
4.1 Affections liées à CFTR (AL-CFTR) .....	29
4.1.1 Infertilité masculine par absence bilatérale des canaux déférents (ABCD).....	29
4.1.1.1 Epidémiologie, Physiopathologie.....	29
4.1.1.2 Contexte du diagnostic.....	30
4.1.1.3 Algorithme du diagnostic.....	31
4.1.1.4 Prise en charge.....	34
4.1.2 Dilatations des bronches idiopathiques (DDB) .....	34
4.1.2.1 Epidémiologie, physiopathologie .....	34
4.1.2.2 Contexte du diagnostic.....	35
4.1.2.3 Algorithme du diagnostic.....	36
4.1.2.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques .....	39
4.1.3 Pancréatites idiopathiques (PI) non héréditaires.....	42
4.1.3.1 Epidémiologie, physiopathologie .....	42
4.1.3.2 Contexte du diagnostic.....	43
4.1.3.3 Algorithme du diagnostic.....	43
4.1.3.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques .....	47

4.1.4 Rhino-sinusites chroniques et polypose naso-sinusienne	49
4.1.4.1 Épidémiologie, physiopathologie	49
4.1.4.2 Contexte du diagnostic	49
4.1.4.3 Algorithme du diagnostic	50
4.1.4.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques	54
4.1.5 Kératodermie palmoplantaire aquagénique (KPPA)	55
4.1.5.1 Épidémiologie, physiopathologie	55
4.1.5.2 Contexte du diagnostic	56
4.1.5.3 Algorithme du diagnostic	56
4.1.5.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques	56
4.2 Affections associées à CFTR (AA-CFTR)	57
4.2.1 Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA)	57
4.2.1.1 Épidémiologie, physiopathologie	57
4.2.1.2 Contexte du diagnostic	57
4.2.1.3 Diagnostic	58
4.2.1.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques	58
4.2.2 Cholangite sclérosante primitive (CSP)	58
4.3 Pédiatrie	59
4.3.1 Les enfants présentant un diagnostic non conclu au DNN (DgNC)	59
4.3.1.1 Contexte du diagnostic	59
4.3.1.2 Algorithme décisionnel	60
4.3.1.3 Prise en charge et suivi	64
4.3.2 Le diagnostic d'AL-CFTR sur symptômes en pédiatrie	69
4.4 Conseil génétique dans les AL-CFTR	69
Annexe 1 : Liste des participants	72
Annexe 2 : Coordonnées des centres de référence, de compétence et des associations de patients	74
Annexe 3 : tableau de gradation des recommandations selon l'HAS	77
Annexe 4 : le test de la sueur (TS)	78
Annexe 5 : Classification des variants du gène <i>CFTR</i> : définitions et exemples	80
Annexe 6 : Caractéristiques des trois bases de données dédiées au gène <i>CFTR</i>	81
Annexe 7 : Liste des principaux variants CFTR-RD et CCV	82
Annexe 8 : Liste des laboratoires spécialisés pour les explorations fonctionnelles épithéliales (technique de DDP et CCC)	87
Annexe 9 : Les tests d'exploration fonctionnelle épithéliale de CFTR	88
Annexe 10 : Recommandations concernant l'antibiothérapie prolongée chez les patients porteurs de Dilatations des Bronches (adapté de Polverino ERJ 2017)	91
Annexe 10bis : Traitement de la primocolonisation à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (adapté de Polverino ERJ 2017)	91

Annexe 11 : Recommandations de différentes sociétés savantes concernant la prise en charge des enfants avec diagnostic non conclu au DNN de la MV .....	92
Annexe 12 : Exemple de lettre de conseil au MT dans le cadre du DgNC au DNN	96
Annexe 13 : Recommandations de différentes sociétés savantes concernant la prise en charge des patients avec dilatation des bronches (DDB) .....	97
Annexe 14 : Recommandations de différentes sociétés savantes concernant la prise en charge des patients avec pancréatite .....	99
Annexe 15 : Démarche diagnostique générale .....	100
Références Bibliographiques.....	101

# Liste des abréviations

ABCD	Absence Bilatérale des Canaux Déférents
ABPA	Aspergillose Broncho Pulmonaire Allergique
AL-CFTR	Affection Liée à CFTR
AA-CFTR	Affection Associée à CFTR
ALD	Affection de Longue Durée
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMP	Aide médicale à la procréation
ARC	Affections RhinoSinusiennes Chroniques
BPCO	Bronchopathie Chronique Obstructive
CCC	Courant de Court-Circuit
CCV	Conséquence Clinique Variable pour un variant
CF	Cystic Fibrosis
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
CFTR-RD	CFTR-Related Disorder
CFSPID	CF Screen Positive Inconclusive Diagnostic
Cl <sup>-</sup>	Ions chlorures
CRCM	Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose
CRMS	CFTR-Related Metabolic Syndrome
CSP	Cholangite Sclérosante Primitive
DDB	Dilatation Des Bronches
DDP	Différence De Potentiel
DgNC	Diagnostic Non Conclu
DNN	Dépistage Néonatal
ECBC	Examen Cylobactériologique des Crachats
EFR	Épreuves Fonctionnelles Respiratoires
HCO3 <sup>-</sup>	Bicarbonates
IPE	Insuffisance Pancréatique Exocrine
IP	Insuffisance Pancréatique
IRCO	Insuffisance Respiratoire Chronique Obstructive
KPPA	Kératodermie Palmoplantaire Aquagénique
MT	Médecin Traitant

MV	Mucoviscidose
NO	Monoxyde d'azote
PA	Pancréatite Aiguë
PAR	Pancréatite Aiguë Récurrente
PC	Pancréatite Chronique
PCI	Pancréatite Chronique Idiopathique
PI	Pancréatite Idiopathique
PNDS	Protocole National de Diagnostic et de Soins
PNS	Polypose Naso-Sinusienne
RSC	Rhino-Sinusite Chronique
SNG	Séquençage de Nouvelle Génération
SP	Suffisant Pancréatique
TIR	Trypsine Immuno-Réactive
TS	Test de la Sueur
VSCI	Variant de Signification Clinique Inconnue

# Synthèse du PNDS à destination du médecin traitant

## 1- Introduction

Le diagnostic biologique de mucoviscidose (MV) est fondé sur la mise en évidence d'une concentration sudorale de chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) supérieure ou égale à 60 mmol/L au test de la sueur (TS) et/ou la présence de deux variants du gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*) associés à la MV, un sur chaque chromosome parental. Cependant il existe des cas pour lesquels l'analyse génétique ne révèle qu'un seul voire aucun variant pathogène et/ou le TS est intermédiaire (30 à 59 mmol/L) ou négatif (inférieur à 30 mmol/L). Ces situations regroupent des entités cliniques spécifiques révélées par des symptômes limités à un seul organe, désignées comme **Affections Liées à CFTR (AL-CFTR)**. Le problème majeur qu'elles posent, et qui justifie ce PNDS, est qu'il est impossible d'en prédire l'évolution. Certains patients développeront une MV classique, d'autres une atteinte plus modérée de meilleur pronostic, MV avec suffisance pancréatique, d'autres enfin ne présenteront pas d'évolution péjorative. Ces situations cliniques ne sont pas figées et un individu présentant une AL-CFTR, peut secondairement développer une atteinte clinique de type MV et le diagnostic sera donc modifié. En France, le nombre de ces patients est probablement sous-estimé car ceux-ci ne sont pas recensés de façon exhaustive dans un registre comme c'est le cas des patients atteints de MV. Pour ces patients, l'étiquette « mucoviscidose » portée à tort pose des problèmes multiples de vie quotidienne, tels que la couverture par l'assurance maladie, l'accès à l'emploi ou l'obtention de crédits. A l'inverse, ne pas reconnaître ces patients et ne pas les prendre en charge de façon adaptée est une perte de chance.

A ces formes symptomatiques, il faut ajouter les **Diagnostics non conclus (DgNC) au dépistage néonatal (DNN)** de la MV. La plupart de ces bébés ne présentera jamais de signes de MV, mais certains, a priori une très faible proportion, développeront une atteinte clinique de type MV ou AL-CFTR souvent révélée à l'adolescence ou à l'âge adulte. Repérer les formes susceptibles d'évoluer vers une forme clinique, même tardivement, est un enjeu important. Pour les parents, l'impossibilité de statuer sur l'avenir de leur enfant génère une angoisse importante et soulève, en cas de désir de nouvelle grossesse, la question de l'éventualité du diagnostic prénatal. Ce dilemme est une question éthique majeure entre "manquer le diagnostic" d'un enfant qui sera diagnostiqué tardivement avec une maladie déjà évoluée et « classer malade » un sujet qui ne développera aucun signe de la maladie.

Enfin, les études génétiques montrent une sur-représentation d'individus hétérozygotes simples pour un variant du gène *CFTR* dans certaines affections respiratoires courantes ou situations cliniques évocatrices de MV. Il est probable que la présence d'un variant pathogène

de *CFTR* sur un seul allèle, diminuant à 50% le niveau fonctionnel de *CFTR*, puisse prédisposer à certaines pathologies, dans un contexte multifactoriel, où interviennent des facteurs environnementaux, d'autres facteurs génétiques ou épigénétiques encore inconnus. Ces affections survenant chez des hétérozygotes sont qualifiées d'**Affections Associées à *CFTR* (AA-CFTR)**.

**La classification des variants *CFTR* la plus utilisée en routine pour le diagnostic est fonction des conséquences cliniques.** Cinq classes de variants sont ainsi reconnues (Annexe 5). Un variant est rangé dans une des catégories ci-dessous en fonction du phénotype observé ou attendu lorsqu'il est à l'état hétérozygote composite avec, sur l'autre chromosome parental, un variant pathogène associé à la MV (sévère), comme la mutation c.1521\_1523del (F508del)

- Variant MV (ou « CF » en anglais), pathogène sévère, observé dans la MV
- Variant CCV pour Conséquences Cliniques Variables (ou « VCC » en anglais), pathogène modéré, observé dans la MV et les AL-CFTR. Certains variants CCV ont une forte pénétrance vis-à-vis de la MV.
- Variant CFTR-RD, observé de façon quasi exclusive chez les patients avec AL-CFTR.
- Variant neutre ou bénin, non pathogène
- VSCI pour Variant de Signification Clinique Incertaine ou Inconnue (ou « VUS » en anglais).

## **2- Description des différentes étapes de la prise en charge des affections liées à *CFTR* (AL-CFTR)**

La démarche diagnostique générale, basée sur le dosage du chlorure sudoral dans le cadre du test de la sueur et l'analyse génétique, est donnée en **Annexe 15**. Si le test de la sueur a une valeur dite intermédiaire entre 30 et 59 mmol/l de chlorure sudoral et que l'analyse génétique est non contributive (aucun ou 1 seul variant du gène *CFTR* retrouvé, ou 2 variants dont 1 n'est pas documenté), des tests de la fonction de la protéine *CFTR* peuvent être réalisés dans des centres spécialisés.

Les AL-CFTR sont typiquement l'infertilité masculine par absence de canaux déférents (ABCD), les dilatations de bronches (DDB) idiopathiques et les pancréatites idiopathiques (PI). Les atteintes rhino-sinusiques chroniques comprenant les rhino-sinusites chroniques (RSC) et les polypes naso-sinusiques (PNS) et la kératodermie palmoplantaire aquagénique (KPPA) en font également partie bien que la proportion de patients avec un diagnostic reconnu d'AL-CFTR soit beaucoup plus faible.

## **2.1. Infertilité masculine par absence bilatérale des canaux déférents (ABCD)**

La présence de deux variants de *CFTR* est retrouvée chez près de 80% des patients qui ont une ABCD bien documentée sans agénésie rénale associée.

Comme pour toutes les AL-CFTR, la découverte de variant de *CFTR* dans le bilan d'ABCD justifie d'une part une prise en charge diagnostique au Centre de Ressources et de Compétence de la Mucoviscidose (CRCM) proche de chez vous afin de déterminer s'il existe d'autres éléments en faveur d'une MV, d'autre part une consultation de conseil génétique qui a pour objectif d'informer le patient sur les risques de transmission des variants à la descendance, de déterminer la pertinence d'une étude génétique chez la conjointe ou le conjoint dans le cadre d'un projet parental, ainsi que chez les apparentés.

## **2.2 Dilatations des bronches idiopathiques (DDB)**

La présence de 2 variants est retrouvée chez 5 à 20 % des patients. La mutation F508del représente selon les séries 8 à 60% des mutations retrouvées.

Certaines particularités doivent retenir l'attention du clinicien et sont fréquemment retrouvées dans une AL-CFTR :

- début des symptômes tôt dans la vie (enfance, adolescence, jeune adulte)
- prédominance des DDB dans les lobes supérieurs
- colonisation à *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia* sp
- présence d'une atteinte rhinosinusienne chronique ou d'une polyposé nasosinusienne
- pancréatites aiguës récurrentes
- infertilité masculine
- stigmates de maldigestion
- antécédents familiaux d'AL-CFTR ou de MV

Dans le cas des DDB liées à *CFTR*, l'évolutivité de l'atteinte pulmonaire, potentiellement analogue à celle de la MV, justifie de proposer à ces patients une prise en charge inspirée de celle proposée aux patients atteints de MV..

## **2.3 Pancréatites idiopathiques non héréditaires (PI)**

Les facteurs de risque impliqués dans les pancréatites i sont multiples et souvent associés, d'origine toxique/métabolique (alcoolisme, tabagisme, exposition médicamenteuse, hypercalcémie, hypertriglycéridémie), obstructive (lithiase biliaire, malformation, tumeur) et auto-immune. Ils doivent être recherchés d'emblée et pourraient jouer un rôle aggravant, même dans le cadre d'une AL-CFTR. Lorsqu'aucun facteur de risque n'est identifié ou qu'un facteur ne semble pas à lui seul pouvoir expliquer la situation, la pancréatite est dite « idiopathique » (PI) et justifie une étude génétique (20-30% des cas).

## 2.4 Rhino-sinusites chroniques et polypose naso-sinusienne

La rhinosinusite chronique (RSC) est définie par une inflammation des voies nasales et des sinus d'une durée minimum de 12 semaines. Elle peut s'associer à une polypose nasosinusienne (PNS). Il faut particulièrement suspecter la présence d'une mutation de *CFTR* chez les patients atteints de RSC si les éléments suivants sont présents : PNS dès l'enfance, pansinusite purulente chronique, hypoplasie des sinus frontaux et maxillaires, atteinte pulmonaire chronique ou infertilité.

## 2.5 Kératodermie palmoplantaire aquagénique (KPPA)

La kératodermie palmo-plantaire aquagénique (KPPA) est une dermatose des paumes et des plantes des pieds dont les symptômes (œdème, majoration des plis, papules blanchâtres) sont déclenchés après quelques minutes d'immersion dans l'eau (signe du sceau). Elle est fréquente chez les patients atteints de mucoviscidose mais survient aussi de façon isolée, le plus souvent chez des femmes jeunes. Sa découverte doit faire évoquer une MV ou une AL-*CFTR* et conduire à rechercher des variants de *CFTR*. Le bilan comprendra la recherche d'autres manifestations cliniques de la MV et un test de la sueur.

## 3- Affections associées à CFTR (AA-CFTR)

Les AA-CFTR concernent des affections pour lesquelles a été observée une fréquence plus élevée de porteurs d'un seul variant *CFTR* par rapport à la population générale. Les patients sont classés dans ce cadre quand ils sont hétérozygotes simples, c'est-à-dire que l'activité de *CFTR* n'est pas suffisante pour expliquer à elle seule les symptômes. Les données encore très rares chez ces patients rapportent en général un TS < 30 mmol/l, a priori l'absence de risque d'évolution vers une MV. Ceci concerne l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) et la cholangite sclérosante primitive (CSP). La frontière est par ailleurs très floue avec les situations « d'hétérozygotie symptomatique », concept émergeant de la prévalence de symptômes rencontrés dans la MV plus importante chez les hétérozygotes que dans la population générale.

## 4- Le diagnostic non conclu au DNN (DgNC)

Les situations « diagnostic non conclu » (DgNC) au dépistage néonatal (DNN) regroupent les nourrissons avec une hypertrypsinémie et présentant :

- (1) un TS entre 30 et 59 mmol/L et au plus un variant du gène *CFTR* associé à la MV ;  
ou
- (2) un TS inférieur à 30 mmol/L et 2 variants du gène *CFTR*, dont au moins un est de pathogénicité indéterminée.

Ces situations ne correspondent pas à une entité diagnostique. Elles ne sont pas révélées par un symptôme mais par une anomalie biologique transitoire, l'hypertrypsinémie.

A l'échelon individuel, ces patients ne développeront ni MV ni AL-CFTR dans l'immense majorité des cas. Une très faible fraction de patients, porteurs de variants rares associés à la MV, non repérés par les kits utilisés lors du dépistage, seront reclassés comme atteints de MV, soit du fait de la mise en évidence de mutations, soit du fait d'une positivation (conversion) du TS. D'autres, porteurs d'un génotype compatible avec une AL-CFTR, sont à risque de développer des symptômes conduisant au diagnostic d'AL-CFTR.

On manque de données longitudinales pour préciser ces évolutions, ce d'autant que dans cette population, on ne peut pas parler d'AL-CFTR proprement dit, mais plutôt de risque évolutif. En effet, ces bébés sont asymptomatiques alors que la classification des AL-CFTR implique une manifestation clinique.

Une prise en charge similaire à la MV dans le cadre du DgNC suite au DNN, n'est pas justifiée. Il repose sur un suivi actif par le médecin traitant et la collaboration avec le CRCM. Le suivi de ces patients visera la recherche d'une évolution infraclinique, en particulier une baisse de l'élastase pancréatique et la mise en évidence d'une bactérie pathogène dans les sécrétions bronchiques.

Le suivi se fera au minimum à 6 mois, 12 mois puis tous les ans jusqu' à 6 ans. La limite de 6 ans est choisie car pour les enfants qui restent asymptomatiques à 6 ans avec une croissance, une fonction respiratoire et un scanner thoracique normaux, le risque d'une conversion du TS est très faible .

- Le suivi se fait dans un CRCM en prenant les précautions rigoureuses de prévention des infections croisées.
- Le suivi est conjoint avec le médecin traitant (MT). Celui-ci sera informé au minimum par courrier. Le médecin de ville recevra un compte rendu précis qui mentionne les signes qui doivent engendrer un contact avec le CRCM, tels qu'une toux persistante voire une prise pondérale insuffisante.
- Les résultats du bilan de 6 ans sont discutés avec les parents, conduisant à une décision partagée concernant le suivi ultérieur.

Soit le suivi a permis de porter un diagnostic de MV ou de reclassification en AL-CFTR du fait de la survenue de symptômes (pancréatites, DDB, sinusite symptomatique...) et/ou de la mise en évidence d'un génotype et/ou d'une dysfonction de CFTR compatibles : poursuite d'un suivi régulier avec un médecin de CRCM

Soit l'enfant est resté asymptomatique : 3 cas peuvent être envisagés en fonction du contexte et de la discussion avec la famille :

- Suivi poursuivi en CRCM à l'identique de ci-dessus

- Arrêt du suivi en CRCM et suivi ultérieur confié au médecin traitant qui restera vigilant en cas de symptômes pour adresser l'enfant au CRCM. Les parents doivent être clairement informés de la nécessité de consulter leur médecin de ville, si l'enfant présente de façon prolongée des symptômes respiratoires ou abdominaux. Ils doivent être également informés que ces symptômes peuvent n'apparaître qu'à l'adolescence ou chez l'adulte
- Arrêt du suivi en CRCM et suivi par le MT mais rendez-vous proposé lorsque l'enfant est adolescent (aux alentours de 14-16 ans). Cela permet de faire le point sur d'éventuelles pathologies et également de s'adresser directement à cette jeune personne pour lui expliquer son histoire médicale.
- Le TS doit être répété. Les patients avec MV présentent une augmentation des valeurs du TS pendant les 5 premières années de vie et il est donc possible qu'en cas de variant pathogène, le TS se positive, ce qui permettra d'affirmer la MV. Après le diagnostic, il est recommandé de contrôler le TS à 24 mois, date où les positivations du TS sont le plus fréquemment rapportées. Deux TS positifs sont exigés pour confirmer un diagnostic de MV. Il est à contrôler au minimum à 6 mois, et 24 mois.
- L'évaluation de la bactériologie des sécrétions bronchiques se fait systématiquement au moment de la consultation annuelle au CRCM et en cas d'exacerbation pulmonaire. Si on n'obtient pas ou peu de sécrétions, le crachat induit est intéressant et sans risque chez les nourrissons
- L'élastase fécale est contrôlée à 1 an en raison de ses fluctuations au cours de la première année de vie. Elle n'est pas répétée systématiquement sauf en cas de symptômes évocateurs de malabsorption et au bilan de 6 ans.
- Un scanner thoracique à basse dose d'irradiation est proposé à l'âge de 6 ans à la recherche d'anomalies radiologiques telles que de discrètes bronchectasies. Une radiographie thoracique sera réalisée si les parents sont réticents à la réalisation du scanner.
- L'exploration de la fonction respiratoire est recommandée à 6 ans (au minimum une spirométrie).

## 5- Place des modulateurs de CFTR

Dans la mucoviscidose, l'avènement des modulateurs de la protéine CFTR a transformé la prise en charge thérapeutique. En fonction du type de mutations de chaque patient, ils visent à remédier en partie au défaut de synthèse (correcteurs) et/ou de fonction (potentiateurs) de la protéine CFTR et à restaurer un certain degré de fonctionnalité de la protéine suffisant pour améliorer la fonction respiratoire (augmentation du VEMS), diminuer le test de la sueur et améliorer la fonction pancréatique.

En cas de génotype compatible avec une AL-CFTR, la discussion de commencer les modulateurs d'emblée ou bien secondairement après l'apparition des symptômes est débattue et ne fait pas l'objet du PNDS.

### 1. Introduction

Le diagnostic biologique de mucoviscidose (MV) est fondé sur la mise en évidence d'une concentration sudorale de chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) supérieure ou égale à 60 mmol/L au test de la sueur (TS) et ou la présence de deux variants alléliques du gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator*) associés à la MV, un sur chaque chromosome parental. Cependant, il existe un certain nombre de cas pour lesquels l'analyse génétique ne révèle qu'un seul voire aucun variant pathogène et/ou le TS est inférieur à 60 mmol/L. Ces situations regroupent des entités cliniques spécifiques révélées par des symptômes limités à un seul organe, désignées comme **affections liées à CFTR (acronyme AL-CFTR)**. La notion de dysfonction de la protéine CFTR est inhérente à leur définition, mais le problème majeur qu'elles posent, qui justifie ce Protocole National de Diagnostic et de soins (PNDS), est qu'il est impossible d'en prédire l'évolution. Certains patients développeront une MV classique, d'autres une atteinte plus modérée, (MV avec suffisance pancréatique, de meilleur pronostic), d'autres enfin ne présenteront pas d'évolution péjorative. Ces situations cliniques ne sont pas figées et un individu présentant une AL-CFTR, peut secondairement développer une atteinte clinique de type MV et le diagnostic sera donc modifié (Pagin 2020, Bell 2020).

L'incertitude à la fois diagnostique et pronostique engendre des difficultés de prise en charge tant pour le suivi clinique, le conseil génétique et dans certains cas l'indications des modulateurs de CFTR, efficaces sur de nombreux variants impliqués dans les AL-CFTR. En effet, la prise en charge de ces patients n'est pas codifiée et un certain nombre d'entre eux restent en errance médicale. D'autres sont suivis comme des sujets atteints de MV ou par des spécialistes de la pathologie d'organe. Enfin, pour les patients, l'étiquette « mucoviscidose » portée à tort pose des problèmes multiples de vie quotidienne, tels que la couverture par l'assurance maladie, l'accès à l'emploi ou l'obtention de crédits.

En France, le nombre de ces patients est probablement sous-estimé car ceux-ci ne sont pas recensés de façon exhaustive dans le registre national de la MV. Dans la base CFTR-France, dédiée à la description des variants rares (19/02/2021 ; <https://cftr.iurc.montp.inserm.fr/cftr/>), 1615 cas, majoritairement des adultes, sont répertoriés, comprenant 968 patients adressés pour infertilité par absence bilatérale des canaux déférents (ABCD), 249 pour pancréatite, 176 pour bronchectasies, 31 pour atteinte rhino-sinusienne chronique, 8 pour kératodermie palmoplantaire aquagénique et 183 pour indications diverses dont des infertilités peu documentées.

A ces formes symptomatiques, il faut ajouter les **diagnostics non conclus (DgNC) au dépistage néonatal (DNN)** de la MV. La plupart de ces bébés ne présentera jamais de signe de MV, mais certains, a priori une très faible proportion, développeront une atteinte clinique souvent révélée à l'adolescence ou à l'âge adulte. Repérer les formes susceptibles d'évoluer vers une AL-CFTR, même tardivement, est un enjeu important. L'impossibilité de statuer sur l'avenir de leur enfant génère une angoisse importante chez les parents et soulève, en cas de désir de nouvelle grossesse, la question de l'éventualité du diagnostic prénatal. Ce dilemme est une question éthique majeure entre "manquer le diagnostic" d'un enfant qui sera diagnostiqué tardivement avec une maladie déjà évoluée et "classer malade" un sujet qui ne développera aucun signe de la maladie.

Enfin, les études génétiques montrent une sur-représentation d'individus hétérozygotes simples pour un variant du gène *CFTR* dans certaines affections respiratoires courantes ou situations cliniques évocatrices de MV. Il est probable que la présence d'un variant pathogène de *CFTR* sur un seul allèle, diminuant à 50% le niveau fonctionnel de *CFTR*, puisse prédisposer à certaines pathologies dans un contexte multifactoriel où interviennent des facteurs environnementaux, d'autres facteurs génétiques ou épigénétiques encore inconnus. Ces affections survenant chez des hétérozygotes sont qualifiées d'**Affection Associée à CFTR (AA-CFTR)** (Noone 2001). Enfin, la mise en évidence chez des hétérozygotes d'une prévalence élevée de symptômes souvent banals aussi rencontrés chez les patients atteints de MV, tels que la constipation ou la rhinite chronique met en lumière le nouveau concept d'**hétérozygote symptomatique** (Miller 2020).

Tout ceci illustre bien le paradigme diagnostique de la MV qui ne se conçoit plus en tout ou rien (génotype associé à la MV : oui ou non) mais en continuum du degré de dysfonction de *CFTR* et en risque de développer la maladie.

## 2. Objectifs du PNDS

L'objectif de ce PNDS est d'expliquer aux professionnels concernés la prise en charge diagnostique, thérapeutique optimale actuelle, le conseil génétique et le parcours de soins dans le cadre des affections liées et associées à *CFTR* et des formes non conclues au dépistage néonatal. Il a pour but d'optimiser et d'harmoniser la prise en charge et le suivi de la maladie rare sur l'ensemble du territoire. Ce PNDS peut servir de référence au médecin traitant (médecin désigné par le patient auprès de la Caisse d'assurance maladie) en concertation avec le médecin spécialiste notamment au moment d'établir le protocole de soins conjointement avec le médecin conseil et le patient, dans le cas d'une demande d'exonération du ticket modérateur au titre d'une affection hors liste. Le PNDS ne peut cependant pas envisager tous les cas spécifiques, toutes les comorbidités ou complications, toutes les

particularités thérapeutiques, tous les protocoles de soins hospitaliers, etc. Il ne peut pas revendiquer l'exhaustivité des conduites de prise en charge possibles, ni se substituer à la responsabilité individuelle du médecin vis-à-vis de son patient.

Le protocole décrit la conduite diagnostique et la prise en charge de référence d'un patient présentant une AL-CFTR, certaines AA-CFTR, et un DgNC au DNN. Il devra être mis à jour en fonction des données nouvelles validées. Le présent PNDS a été élaboré selon la « Méthode d'élaboration d'un protocole national de diagnostic et de soins pour les maladies rares » publiée par la Haute Autorité de Santé en mark méthodologique disponible sur le site de la HAS : [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)). L'analyse de la littérature s'est voulue la plus exhaustive possible et est basée sur l'évaluation recommandée par l HAS (voir **Annexe 3**).

La reconnaissance de ces différentes entités cliniques, distinctes de la MV, alimente les corrélations génotype-phénotype. Ceci permet d'adapter la prise en charge et le conseil génétique des patients.

Ce PNDS soulève également la question de l'utilisation future des modulateurs de CFTR dans ces affections. A l'heure où les modulateurs de CFTR modifient de façon drastique la prise en charge des patients atteints de MV, il est important de repérer les patients avec AL-CFTR, d'en codifier la prise en charge et les indications thérapeutiques pour éviter des pertes de chance et le risque de développer une forme sévère.

## 3. Diagnostic et évaluation initiale

### 3.1 Objectifs

- Décrire la démarche diagnostique visant à confirmer le diagnostic d'AL-CFTR
- Décrire la démarche diagnostique susceptible d'identifier les patients à risque d'évoluer vers une MV parmi les AL-CFTR
- Décrire la prise en charge thérapeutique des AL-CFTR
- Décrire la démarche diagnostique visant à confirmer le diagnostic d'AA-CFTR
- Décrire la prise en charge thérapeutique de certaines AA-CFTR
- Décrire la prise en charge diagnostique et thérapeutique des Dg NC du dépistage néonatal de la MV dans le but de repérer les formes susceptibles d'évoluer vers des formes symptomatiques et en particulier les AL-CFTR
- Identifier les situations nécessitant une prise en charge en conseil génétique

## 3.2 Professionnels impliqués (et modalités de coordination)

Le diagnostic, l'évaluation et la prise en charge initiales sont effectués dans un Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM), dans le cadre d'une hospitalisation programmée ou d'une consultation. Ils nécessitent une prise en charge pluridisciplinaire associant :

- un médecin du CRCM (pédiatre, pneumologue, gastro-entérologue ou interniste)
- d'autres membres du CRCM : kinésithérapeute, infirmier(e) coordonnateur(trice), diététicien (ne), psychologue, assistante sociale, secrétaire, généticien(ne) clinicien(ne), conseiller(ère) en génétique
- d'autres professionnels de santé hospitaliers impliqués dans le suivi clinique (uro-andrologue, hépatologue, ORL, dermatologue) ainsi que le microbiologiste référent
- les professionnels impliqués dans le diagnostic : biologiste responsable du TS, généticien(ne) moléculaire
- les professionnels libéraux impliqués dans la prise en charge du patient : médecin traitant, pédiatre, médecins de spécialité, kinésithérapeute, pharmacien(ne), et infirmier(e) libéral(e) s'il y a lieu.

## 3.3 Circonstances de découverte/Suspicion de diagnostic

### 3.3.1. Les affections liées à CFTR (AL-CFTR)

Les AL-CFTR se définissent comme des entités cliniques liées à une dysfonction de CFTR, mais ne correspondant pas aux critères de diagnostic de la MV (Bombieri 2011).

**Le diagnostic d'AL-CFTR est évoqué devant la présence d'au moins un symptôme évocateur de MV et**

**(1) une concentration sudorale de Cl<sup>-</sup> entre 30 et 59 mmol/L et au plus un variant du gène CFTR associé à la MV**

**ou**

**(2) une concentration sudorale de Cl<sup>-</sup> inférieure à 30 mmol/L et 2 variants du gène CFTR, dont au moins un n'est pas associé à la MV.**

Cette définition est précisée page 14 en y associant des critères supplémentaires basés sur la fonction de CFTR.

L'intérêt d'une telle définition réside dans le fait de reconnaître des situations cliniques différentes de celle de la MV. Celles-ci ne requièrent pas un suivi en CRCM analogue à celui des patients atteints de MV, mais les enjeux de diagnostic moléculaire, de conseil génétique et éventuellement d'indication des modulateurs de CFTR sont proches de la MV. Cette reconnaissance est également importante pour les patients adultes à titre professionnel et pour la couverture par les assurances. Il n'est pas recommandé d'utiliser les termes de MV

« atypique », « mineure » ou « non classique » ou « frontière » comme souligné dans de nombreux articles de consensus et de recommandations professionnelles (Castellani 2008, Bombieri 2011, Sosnay 2017).

Cette définition permet d'envisager le spectre phénotypique en fonction du niveau de défaut d'activité de la protéine CFTR, inhérent à la définition des AL-CFTR. En effet, le diagnostic de MV repose sur l'identification d'un défaut majeur d'activité de CFTR (< 5% a priori) alors que les AL-CFTR sont associées à une activité résiduelle de CFTR. Le seuil d'activité en deçà duquel une AL-CFTR peut se développer est probablement différent d'un organe à l'autre, certains tissus étant plus sensibles au défaut fonctionnel de CFTR. Par exemple, les tissus wolffiens (urogénital), qui produisent constitutivement moins d'ARNm que le tissu respiratoire en raison d'un épissage différentiel, semblent être plus sensibles au dysfonctionnement de CFTR que l'épithélium bronchique (Mak 1997). C'est une des raisons pour lesquelles on identifie plus d'AL-CFTR dans le cas des ABCD (80% des étiologies sont liées à CFTR, avec une minorité de mutations impliquées) alors que le diagnostic d'AL-CFTR n'est posé que chez 10 à 20% des patients avec dilatations des bronches (DDB) avec pourtant beaucoup plus de mutations identifiées et une influence importante de l'environnement. De plus, les variants retrouvés chez les patients avec AL-CFTR ont un spectre très large d'activité résiduelle de CFTR concernant le transport de Cl<sup>-</sup>. Certains présentent un défaut spécifique de transport du bicarbonate, très rarement exploré, qui peut avoir un impact préférentiel sur le pancréas et le canal différent (LaRusch 2014, Bernardino 2013).

Les formes "modérées" de MV (suffisance pancréatique, déclin pulmonaire modéré, atteinte rhino-sinusienne, ABCD chez les hommes) sont observées au-dessus de 4 à 5 % de la fonction CFTR normale (Van Goor 2014, Ramalho 2002, Kerem 1997). 10 % d'activité sont suffisants pour normaliser le transport de Cl<sup>-</sup> *in vitro* et donc potentiellement préserver du phénotype MV (Dannhoffer 2009, Johnson 1992, Farmen 2005). Au-dessus de ce seuil, les AL-CFTR sont fréquemment observées (Wilschanski 2006, Larusch 2014, Pranke 2017). Lorsque l'activité de CFTR dépasse 30% de la normale, les patients sont généralement peu ou pas symptomatiques. En principe, le seuil de 50% d'activité normale évite toute atteinte symptomatique. Toutefois ces tests, principalement réalisés dans les lignées cellulaires, n'exploront que l'activité de transport des ions Cl<sup>-</sup> et surestiment probablement ce qui se passe de façon physiologique à l'échelle de l'épithélium.

Les affections reconnues comme liées à CFTR sont typiquement l'infertilité masculine par ABCD, les DDB idiopathiques et les pancréatites idiopathiques (PI). Les atteintes rhino-sinusiques chroniques comprenant les rhino-sinusites chroniques (RSC) et les polypes naso-sinusiques (PNS) (Dequeker 2009) et la kératodermie palmoplantaire aquagénique (KPPA) (Raynal 2019) peuvent appartenir au spectre AL-CFTR mais la proportion de patients chez qui on observe une dysfonction de CFTR compatible avec une AL-CFTR est très faible.

C'est pourquoi ces affections pourraient également relever des AA-CFTR. Dans l'attente de plus de données, ce PNDS garde la classification de ces entités cliniques comme AL-CFTR. Un débat persiste sur le fait de restreindre les AL-CFTR à des atteintes limitées à un seul organe (Farrell, J Pediatr 2017). Les investigations poussées des patients avec AL-CFTR peuvent de fait révéler des atteintes infra-cliniques d'autres organes. Ainsi, les AL-CFTR recouvrent un spectre phénotypique allant de manifestations affectant un seul organe (souvent le cas des ABCD) à une maladie multi-systémique s'exprimant essentiellement sur un seul organe mais avec des anomalies anatomiques, fonctionnelles d'autres organes mais restant infracliniques ou d'expression clinique très modérée (Bell, 2020). La classification devant une atteinte de plusieurs organes entre une AL-CFTR et une MV avec suffisance pancréatique reste du choix du clinicien.

La définition basée sur la dysfonction de CFTR permet une classification simple mais a cependant des limites, la prise en charge et le suivi dans le parcours de soin devant rester adaptés à la situation clinique et la décision du médecin référent. Par exemple, un homme présentant une infertilité isolée par ABCD et un TS  $\geq 60$  mmol/L a un diagnostic de MV selon les critères de la définition, mais sans nécessité de suivi en CRCM. En revanche, une femme suivie pour DDB depuis l'enfance avec insuffisance respiratoire, un TS intermédiaire et deux variants CFTR dont la combinaison n'est pas associée à la MV aura par définition une affection liée à CFTR mais justifiera d'un suivi en CRCM.

### **3.3.2 Les « affections associées à CFTR » (AA-CFTR)**

Les AA-CFTR concernent des affections pour lesquelles a été observée une fréquence plus élevée de porteurs d'un seul variant *CFTR* par rapport à la population générale. Les patients sont classés dans ce cadre quand ils sont hétérozygotes simples, c'est-à-dire que l'activité de CFTR n'est pas suffisante pour expliquer à elle seule les symptômes. Les données encore très rares chez ces patients rapportent en général un TS  $< 30$  mmol/l, a priori l'absence de risque d'évolution vers une MV. Ceci concerne certaines formes d'asthme (Wang 2015, Schulz 2016), l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) (Agarwal 2012), et la cholangite sclérosante primitive (CSP) (Krones 2012, Werlin 2018) c'est-à-dire que l'activité de CFTR n'est pas suffisante pour expliquer à elle seule les symptômes. Les données encore très rares chez ces patients rapportent en général un TS  $< 30$  mmol/l, a priori l'absence de risque d'évolution vers une MV.

La frontière est très floue avec les situations « d'hétérozygotie » symptomatique, concept émergeant de la prévalence de symptômes rencontrés dans la MV plus importante chez les hétérozygotes que dans la population générale (Miller 2020, Fisman 2020, Castellani 2001). Une étude américaine ayant porté sur 19.802 individus hétérozygotes et près de 100.000 contrôles a montré que 57 des 59 symptômes ou atteintes rencontrés dans la MV étaient plus

fréquents chez les hétérozygotes que chez les patients non porteurs de mutations de CFTR (Miller 2020.). Les odds ratio (OR) les plus significatifs concernaient des symptômes en lien avec des AL-CFTR, telles l'infertilité masculine (OR, 5,09; 95% CI, 4,27-6,07), la pancréatite chronique (OR, 6,76; 95% CI, 6,76-8,21) ou les bronchectasies (OR, 5,62; 95% CI, 3,85-8,21). Cette étude comporte des limites. D'une part, à titre individuel, les risques absolus de survenue de symptômes sont faibles. D'autre part, les individus hétérozygotes, étaient issus pour partie du dépistage néonatal de la MV et de consultations en médecine de la reproduction, ce qui biaise le recrutement. Enfin aucune mention n'est faite du type d'étude génétique réalisée et il est possible qu'un deuxième variant n'ait pas été identifié. De telles données, qui sont de nature à remettre en cause le message délivré à l'ensemble des individus porteurs hétérozygotes d'un variant *CFTR*, doivent donc être considérées avec prudence, d'autant que le risque à l'échelon individuel reste très faible.

### 3.3.3 Le « diagnostic non conclu » (DgNC) au dépistage néonatal (DNN)

Plusieurs terminologies sont utilisées pour définir les situations des nourrissons asymptomatiques qui ont présenté une hypertrypsinémie au DNN mais pour lesquels le diagnostic de MV n'a pas pu être posé :

- L'acronyme CRMS (pour *CFTR-related metabolic syndrome*) est le terme utilisé aux Etats-Unis. (Borowitz 2009)
- L'acronyme CFSPID (pour *CF Screen Positive, Inconclusive Diagnosis*) a fait l'objet d'un consensus auprès d'un ensemble d'experts internationaux (Munck 2015).
- Une définition harmonisée commune CRMS/CFSPID a été validée par la fondation américaine (Southern 2019).
- Un consensus français a défini cette situation sur le plan génétique et fonctionnel avec le terme « diagnostic non conclu au dépistage néonatal », selon Sermet et coll. (Sermet 2017).

Ces situations regroupent les nourrissons avec une hypertrypsinémie et présentant :

(1) une concentration sudorale de Cl<sup>-</sup> entre 30 et 59 mmol/L et au plus un variant du gène *CFTR* associé à la MV ;  
ou

(2) une concentration sudorale de Cl<sup>-</sup> inférieure à 30 mmol/L et 2 variants du gène *CFTR*, dont au moins un est de pathogénicité indéterminée (Sermet 2017, Farrell 2019, Southern 2019).

Ces situations ne correspondent pas à une entité diagnostique. Elles ne sont pas révélées par un symptôme mais par une anomalie biologique transitoire, l'hypertrypsinémie. Leur prise en charge a fait l'objet de recommandations nationales (Sermet 2017) et internationales (Borowitz 2009, Mayell 2009, Munck 2015, Barben 2021) spécifiques pour le diagnostic et le suivi des nourrissons.

A l'échelon individuel, ces patients ne développeront ni MV ni AL-CFTR dans l'immense majorité des cas. Une faible fraction de patients, porteurs de mutants rares associés à la MV, non repérés par les kits utilisés lors du dépistage, conduira à les reclasser comme atteints de MV. D'autres, en minorité, porteurs d'un génotype compatible avec une AL-CFTR, pourront développer des symptômes conduisant au diagnostic d'AL-CFTR. Enfin, parmi les enfants ayant un statut d'hétérozygote simple, il n'est pas exclu qu'une très faible fraction développe une AA-CFTR.

En dehors de la question évidente des modalités de diagnostic et de surveillance spécifiques, le suivi de cette cohorte de patients permettra de définir la proportion de patients développant des atteintes cliniques et de répondre à la question importante du seuil d'activité résiduelle qui protège d'une atteinte multi-systémique ou mono-organique. Ceci impose la mise en place d'un registre spécifique.

### **3.4 Confirmation du diagnostic d'AL-CFTR**

**Le diagnostic d'AL-CFTR repose sur la mise en évidence d'une dysfonction de CFTR ; Elle est moindre que celle observée dans la MV. Elle est établie sur des tests fonctionnels (*in vivo*, *ex vivo*) et/ou la mise en évidence de variants pathogènes du gène *CFTR*, dont un au plus est associé à la MV.**

**La dysfonction de CFTR dans les AL-CFTR est définie par un des scénarios suivants :**

**1) dysfonction de CFTR observée dans au moins 2 types de tests fonctionnels de CFTR différents**

**ou**

**2) dysfonction de CFTR observée dans au moins 1 test fonctionnel de CFTR et la présence d'un variant pathogène du gène *CFTR***

**ou**

**3) présence de 2 variants du gène *CFTR* altérant la fonction CFTR, dont au plus 1 est associé à la MV.**

Ainsi, cette nouvelle définition est plus complète que celle établie en 2011 (Bombiéri 2011) : « une entité clinique associée à une dysfonction de CFTR ne satisfaisant pas aux critères de MV ».

Selon les résultats, le diagnostic d'AL-CFTR peut être confirmé, incertain ou improbable (Tableau 1).

Tableau 1 : Critères du diagnostic biologique d'une AL-CFTR

Génotype CFTR			
Dysfonction de CFTR in/ex vivo (< seuil MV)	0 variant	1 variant pathogène	2 variants alléliques pathogènes (au plus 1 MV)
Non	Ecarté	Incertain/Improbable*	Confirmé
Oui, 1 test	Incertain/Improbable*	Confirmé	Confirmé
Oui, au moins 2 tests	Confirmé	Confirmé	Confirmé

\* selon les résultats des explorations fonctionnelles et l'étendue de l'analyse génétique

### 3.4.1 Test de la sueur

La glande sudoripare est constituée d'un globule sudoripare sécrétoire innervé et stimulé principalement par voie cholinergique (CFTR-indépendante) et plus faiblement par voie bêta-adrénergique (CFTR-dépendante). Sa stimulation produit une sueur isotonique aux liquides interstitiels qui passe ensuite dans les canaux sudoripares où les ions  $\text{Cl}^-$  sont réabsorbés via les canaux CFTR. Ainsi, la sueur à la surface cutanée est hypotonique. Un dysfonctionnement du canal CFTR conduit à une production de sueur anormalement chargée en ions  $\text{Cl}^-$  par défaut de transport et d'absorption (Quinton 2007). Les valeurs normales du TS sont inférieures à 30 mmol/L de  $\text{Cl}^-$ . Le TS  $\geq$  60 mmol/L de  $\text{Cl}^-$  permet le diagnostic de MV avec une sensibilité de 98%, une spécificité de 83% et une valeur prédictive positive de 99,5% (Schwachman 66, Lenoir 88, Farrell 96). D'un point de vue pratique, il est réalisé en 3 étapes : i) induction de la sudation par iontophorèse à la pilocarpine (agent cholinergique) ; ii) recueil de la sueur ; iii) dosage des ions  $\text{Cl}^-$  sudoraux et/ou dosage des électrolytes sudoraux totaux. Les ions  $\text{Cl}^-$  sudoraux sont mesurés par des méthodes coulométriques. Le résultat est exprimé en mmol/L  $\text{Cl}^-$ . Une description plus précise du test est en annexe 4.

Les situations décrites dans ce PNDS sont caractérisées par :

- un TS supérieur ou égal 30 et inférieur à 60 mmol/L, dans la majorité des cas
- un TS  $< 30$  mmol/L dans le cas où 2 variants sont détectés parmi lesquels (i) au moins 1 des 2 variants est de pathogénicité inconnue ou (ii) 1 variant est associé à un TS négatif et l'autre variant est associé à une AL-CFTR.

Les variants les plus fréquents ciblés par les trousseaux, concernant les mutants MV ou CCV, pouvant être associés à un TS normal sont : c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T), c.3140-26A>G (3272-26A>G), c.349C>T (R117C), c.617T>G (L206W), c.1040G>A (R347H) et c.3454G>C (D1152H). La majorité des variants associés à une AL-CFTR (CCV ou CFTR-RD) (annexe 7) peuvent être associés à un TS intermédiaire ou négatif.

Dans toutes ces situations le TS doit être répété. En effet, il existe une variabilité intra-individuelle du TS en particulier dans les zones entre 30 et 60 mmol/L, d'environ +/- 20 mmol/L. Dans une cohorte de patients avec un Cl<sup>-</sup> sudoral intermédiaire, (Vermeulen 2017) rapporte que plus de la moitié des patients normalisent le test après un intervalle médian de 3,5 semaines.

La concentration sudorale de Cl<sup>-</sup> varie en fonction du niveau d'activité de CFTR. La gamme de variation est plus élevée dans le bas du spectre d'activité de CFTR. Ainsi une augmentation d'activité de CFTR de 1 à 10%, s'associe à une diminution de 30 mmol/L de Cl<sup>-</sup>. Au-delà, entre 10 et 50% d'activité CFTR, c'est-à-dire le niveau d'activité observé dans les AL-CFTR, la variation est beaucoup plus faible, ce qui suggère que le TS est peu discriminant. Ceci est confirmé dans les rares études incluant des AL-CFTR avec étude précise du TS (Ooi 2014, Wilschanski 2006, Casals 2000). Si le TS différencie bien les patients avec MV, les porteurs sains ont des tests parfois intermédiaires (Ooi 2014, Wilschanski 2006, Casals 2000, Sermet 2006). De plus, pour un même variant chez les patients porteurs d'un génotype AL-CFTR, la variabilité du TS est importante. Ainsi, chez les patients F508del/R117H (Thauvin 2009) 30,5% avaient un TS > 60 mmol/L, 39% un TS intermédiaire et 30,5% un TS négatif sans corrélation évidente avec la sévérité de l'atteinte clinique.

### 3.4.2 Analyses génétiques

La recherche de variants pathogènes les plus fréquents est souvent réalisée dans un premier temps, grâce à différentes trousse commercialisées. Selon les résultats de ce premier test génétique, du TS et de la symptomatologie, la recherche de variants rares est effectuée, incluant les variants introniques enfouis connus et les grandes délétions/insertions (Bienvenu 2020). A l'ère du séquençage de nouvelle génération (SNG), il est fréquent cependant qu'une étude extensive du gène soit réalisée d'emblée.

**La classification des variants CFTR la plus utilisée en routine pour le diagnostic est fonction des conséquences cliniques.** Cinq classes de variants sont ainsi reconnues (Dequeker 2009, Castellani 2008) (Tableau 2 , [Annexe 5](#) ). Un variant est rangé dans une des catégories ci-dessous en fonction du phénotype observé ou attendu lorsqu'il est à l'état hétérozygote composite avec, sur l'autre chromosome parental, un variant pathogène associé à la MV (sévère), comme la mutation c.1521\_1523del (F508del):

- Variant MV (ou « CF » en anglais), pathogène sévère, observé dans la MV
- Variant CCV pour Conséquences Cliniques Variables (ou « VCC » en anglais), pathogène modéré, observé dans la MV et les AL-CFTR. Certains variants CCV ont une forte pénétrance vis-à-vis de la MV.
- Variant CFTR-RD, observé de façon quasi exclusive chez les patients avec AL-CFTR.
- Variant neutre ou bénin, non pathogène

- VSCI pour Variant de Signification Clinique Incertaine ou Inconnue (ou « VUS » en anglais).

**Le tableau 2 ci-dessous décrit les génotypes compatibles avec une AL-CFTR**

Allèle 1	Allèle 2
MV	CCV
MV	CFTR-RD
CCV	CCV
CCV	CFTR-RD
CFTR-RD	CFTR-RD

Cette qualification du génotype est basée sur les notions suivantes.

- Un variant CCV et un variant CFTR-RD impliquent un risque évolutif vers une AL-CFTR
- Un variant CCV est associé à un risque théorique plus important d'évoluer vers une MV en comparaison à un variant CFTR-RD
- La combinaison des allèles module ce risque.

Ainsi, parmi ces génotypes retrouvés chez les AL-CFTR, le risque d'évolution vers une MV peut être gradé selon le génotype MV/CCV > CCV/CCV > CCV/CFTR-RD > CFTR-RD/CFTR-RD. Le génotype CFTR-RD/CFTR-RD a un risque faible d'être associé à une AL-CFTR. Ces risques sont théoriques car on ne dispose que de très peu de données épidémiologiques ou fonctionnelles. Ils combinent la notion de seuil fonctionnel nécessaire pour l'expression clinique d'AL-CFTR (entre 10% et 30% probablement) et la notion de pénétrance. Certains génotypes sont associés à un fort risque évolutif vers la MV (seuil fonctionnel autour de 10%), alors que d'autres sont plus rarement rencontrés chez des patients symptomatiques (faible pénétrance) (activité supérieure à 30% probablement inférieure à 50%). Des symptômes peuvent survenir en contexte de facteur déclenchant. Ces notions théoriques doivent être confirmées par des suivis longitudinaux de cohorte.

La classification s'appuie sur un certain nombre d'arguments : observations des bases de données cliniques CFTR-France et CFTR2 principalement, dont la conception et l'analyse des données sont différentes et complémentaires (annexe 6), les tests fonctionnels de CFTR, les données épidémiologiques, les données d'évaluation bio-informatiques, et des tests *in cellulo* d'impact sur l'épissage, la synthèse et la fonction de la protéine.

La majorité des variants CFTR-RD sont des variants faux-sens (substitution d'un acide aminé par un autre dans la protéine). Les variants rares, les allèles complexes, combinant plusieurs variants sur le même gène parental, et les VSCI sont plus nombreux que dans la MV, ce qui rend difficile les corrélations génotype-phénotype. Une liste des variants CFTR-RD et CCV les plus fréquemment rencontrés dans les AL-CFTR figure en annexe 7.

Le variant CFTR-RD le plus fréquent dans les AL-CFTR est le variant d'épissage c.1210-12T[5] (variant T5) à la fin de l'intron 9 (séquence polyT composée de 5,7 ou 9 Thymidines consécutives) (Claustres 2000). Il altère l'épissage normal de l'exon 10 et conduit à une réduction des transcrits normaux qui augmente avec le nombre de TG adjacents (répétition Thymidine-Guanine de 10 à 13 TG) (Cuppens 1998, Jezequel 2000, Groman 2004). Pour les patients avec un polyT de 7 ou 9 Thymidines (7T ou 9T), plus de 75% de CFTR normal est exprimé dans les cellules épithéliales respiratoires ou des canaux déférents, contre moins de 50% pour le variant T5. Ceci est majoré par l'augmentation des TG. Le variant c.1210-34\_1210-6TG[11]T[5] (TG11T5) conduit à l'expression de moins de ~ 50% de CFTR normal, c.1210-34\_1210-6TG[12]T[5] (TG12T5) ~ 25% de CFTR normal et c.1210-34\_1210-6TG[13]T[5] (TG13T5) < 25%. La découverte d'un variant T5 impose donc à caractériser la séquence complète polyTG-polyT et à rechercher également d'autres variants en *cis* du variant T5 (c'est-à-dire sur le même chromosome) dans le cadre d'allèles complexes connus (Claustres 2017). Le variant CFTR-RD c.350G>A (R117H) est également fréquent, particulièrement dans les infertilités par ABCD (voir section 4.2.1.). Son identification conduit à rechercher en *cis* (sur le même allèle) le variant T5, susceptible d'aggraver l'effet de c.350G>A (R117H) (Thauvin 2013). Cet allèle complexe (R117H;T5) est alors classé MV.

Certains variants sont associés à une pénétrance faible voire très faible pour les AL-CFTR. Il s'agit de variants dont la fréquence dans la population générale peut être supérieure à 1% et qui, en combinaison avec un variant MV en *trans* (c'est-à-dire sur l'autre allèle), sont observés également chez des personnes asymptomatiques. Ainsi, leur présence à l'état isolé chez un patient suspect d'AL-CFTR peut être fortuite, comme le variant d'épissage c.1210-34\_1210-6TG[11]T[5] (TG11T5), c.509G>A (R170H) ou c.1523T>G (F508C).

L'interprétation de l'impact et la classification des variants *CFTR* sont particulièrement importantes pour les patients, afin de confirmer l'implication de CFTR dans leur maladie, pour les couples et leurs familles dans une option de conseil génétique (Bieth 2020), et pour les cliniciens afin de préciser les indications des modulateurs de CFTR. A l'heure actuelle, il est important d'insister sur le fait que seuls les variants MV justifient une recherche chez les apparentés symptomatiques et peuvent être considérés pour un diagnostic prénatal ou un diagnostic préimplantatoire (quand les deux membres d'un couple sont porteurs d'un variant MV).

**Une autre classification des variants, historique et fonctionnelle**, repose sur l'analyse de leur impact sur les différentes étapes conduisant à l'expression et la fonction de la protéine

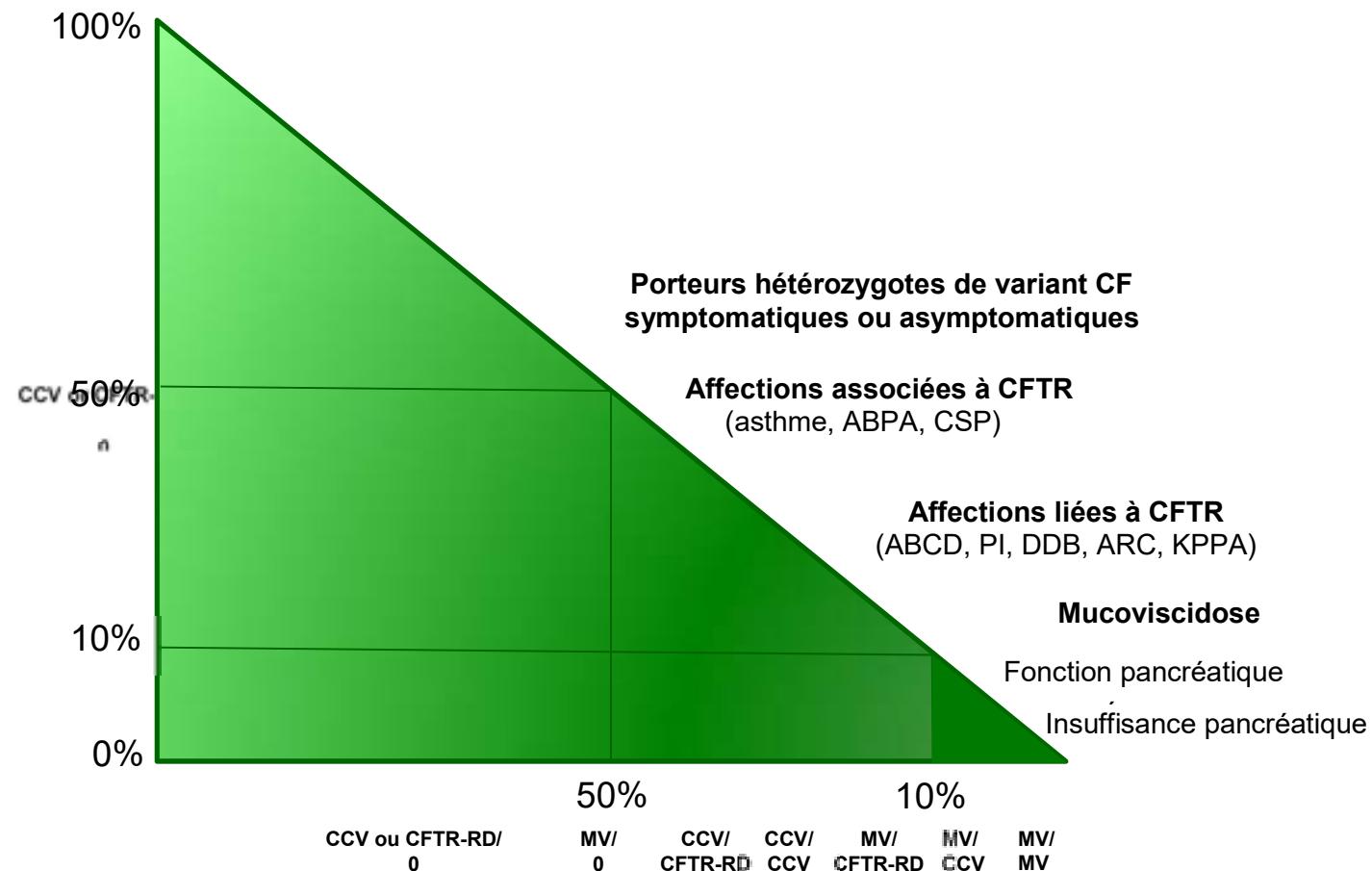
CFTR à la membrane des cellules épithéliales, à savoir : quantité d'ARN messager, qualité de l'épissage des transcrits, synthèse, maturation, localisation cellulaire et activité de la protéine CFTR. Les analyses peuvent être effectuées *in vitro* ou *ex vivo*, c'est-à-dire sur des prélèvements tissulaires de patients (Bareil 2020) et ne sont réalisées que dans des laboratoires très spécialisés. Cette classification a connu un regain d'intérêt avec la mise en place des thérapies ciblant les variants et les génotypes mais les données sont encore très incomplètes. Les variants CFTR-RD, comme de nombreux variants MV, peuvent relever de l'une ou l'autre classe ou de plusieurs classes à la fois (Veit 2016).

Une adaptation de la classification fonctionnelle a été proposée dans un objectif thérapeutique (De Boeck 2016), avec l'émergence plus récente des concepts simplifiés de mutations avec fonction minimale de CFTR et de mutations avec fonction résiduelle de CFTR, qui conduirait à proposer un traitement par modulateurs (Rowe 2017, Han 2018, Veit 2021), les variants CFTR-RD et CCV ayant une fonction résiduelle.

### **Figure 1. Spectre des affections liées à CFTR**

La fonction de CFTR est définie en fonction du génotype qui combine 2 variants. Les affections sont définies en fonction du niveau d'activité de CFTR et du génotype qui combine 2 variants. Si le sujet est porteur d'un variant MV, un sujet hétérozygote a une activité de CFTR à 50% de la normale. Un sujet hétérozygote le plus souvent asymptomatique, peut dans de rares cas présenter des symptômes retrouvés chez les patients atteints de MV, en particulier certaines affections dites associées à CFTR, dans un contexte probablement multifactoriel. La combinaison de 2 variants pathogènes (MV, CCV, CFTR-RD) implique une fonction diminuée de CFTR résultant de la combinaison des 2 variants. Les AL-CFTR sont retrouvées en principe pour une fonction réduite entre 10 et 30 %.

## Fonction de CFTR



MV: Mucoviscidose. CFTR-RD: CFTR-Related Disease. CCV: Conséquence Clinique Variable

ABPA: Aspergillose BronchoPulmonaire Allergique. CSP: Cholangite Sclérosante Primitive. ABCD: Absence Bilatérale des Canaux Déférants. PI: Pancréatite Idiopathique. DDB: Dilatations des Bronches. ARC: Affections RhinoSinusiennes Chroniques. KPPA: Kératodermie Palmoplantaire Aquagénique.

### 3.4.3 Tests fonctionnels

Ces tests fonctionnels sont réalisés dans des laboratoires spécialisés (Masson 2018, Mesbahi 2017, Bienvenu 2020). Ils consistent à explorer l'activité de CFTR. Les laboratoires où ils peuvent être réalisés sont répertoriés en [Annexe 8](#).

#### 3.4.3.1 Épithélium nasal : mesure de la différence de potentiel (DDP)

Ce test consiste à mesurer *in vivo* l'activité des canaux ENaC et CFTR dans l'épithélium nasal des voies respiratoires. Il requiert un tissu épithéial sans inflammation, l'absence de polypes nasaux, d'infection, et surtout la coopération du patient qui doit rester la tête immobilisée pendant les 15 min de l'analyse d'une narine. Le test est réalisé dans les 2 narines. Un niveau d'absorption de sodium ( $\text{Na}^+$ ) élevé et l'absence de sécrétion de  $\text{Cl}^-$  CFTR-dépendante sont observés dans les formes classiques de MV (Solomon 2018). Dans les AL-CFTR, une sécrétion résiduelle de  $\text{Cl}^-$  est observée, parfois à la limite inférieure de la normale et l'hyper-absorption de sodium persiste. Les résultats sont plus détaillés dans l'annexe 9. Si les seuils différenciant un patient avec MV sont établis, le seuil faisant la différence entre une hétérozygotie et une AL-CFTR n'est pas clair.

#### 3.4.3.2 Epithelium rectal : mesure du courant de court-circuit (CCC) trans-épithéial

Ce test *ex-vivo* nécessite une bonne qualité de l'épithélium rectal obtenu par biopsie rectale. Il est plus robuste que la DDP du fait de sa meilleure reproductibilité et l'utilisation d'agents pharmacologiques spécifiques de CFTR non utilisables *in vivo*.

Dans le tissu normal, l'activation dépendante de l'AMPc obtenue par la stimulation par la forskoline, induit une forte réponse sécrétoire de  $\text{Cl}^-$ , absente dans les tissus issus de patients MV. La réduction de la sécrétion cAMP dépendante de  $\text{Cl}^-$  en réponse à la Forskoline est utilisée pour déterminer le niveau de fonction résiduelle du canal CFTR. (Derichs 2011). Les résultats sont plus détaillés dans l'annexe 9.

De la même façon que pour la DDP nasale, les seuils différenciant un patient avec MV sont établis mais le seuil faisant la différence entre une hétérozygotie et une AL-CFTR n'est pas clair.

#### 3.4.3.3 Glande sudoripare : mesure de la sécrétion de sueur bêta-adrénergique ( $\beta$ -adr)

La glande sudoripare est facilement accessible et non affectée par l'inflammation associée à la MV et/ou l'infection. La mesure de la sécrétion de la sueur après stimulation  $\beta$ -adrénergique (stimulus CFTR-dépendante) est informative car elle semble normale chez les hétérozygotes et anormale chez les patients avec une AL-CFTR. En raison d'une très faible quantité de sueur produite, ce test est basé sur l'évaporation de la sueur et est exprimé en kg de perte d'eau / $\text{m}^2/\text{h}$ . (Shamsuddin 2012).

## 4. Démarche diagnostique et algorithmes

### 4.1 Affections liées à CFTR (AL-CFTR)

#### 4.1.1 Infertilité masculine par absence bilatérale des canaux déférents (ABCD)

##### 4.1.1.1 Épidémiologie, Physiopathologie

L'ABCD est définie par l'absence bilatérale des canaux déférents. Elle est responsable d'une azoospermie obstructive. Elle peut être symétrique ou asymétrique, avec dans certains cas persistance d'un cordon fibreux d'un côté, non perméable, faisant poser le diagnostic d'absence unilatérale à la palpation sur le plan anatomique. Cependant, le canal déférent étant atrélique, c'est un équivalent fonctionnel des ABCDs.

Le diagnostic d'ABCD est fondé sur l'absence de palpation des canaux déférents dans leur partie intrascrotale et sur l'imagerie échographique (scrotale et transrectale) qui objective l'absence des 2 canaux déférents, documente l'absence ou la réduction de volume des vésicules séminales et recherche d'éventuelles anomalies urologiques. Dans le cas de l'absence bilatérale de vésicules séminales, le sperme est de faible volume (< 1,5 ml), de pH acide (< 7,0) et montre un effondrement des marqueurs des vésicules séminales (fructose < 15 µmol/éjaculat ; glycérylphosphorylcholine (GPC) < 2 µmol/éjaculat ; alpha-1,4 glucosidase < 20 mUI/éjaculat). Le volume des testicules, la spermatogenèse et le bilan hormonal sont normaux, sauf en cas d'azoospermie d'origine sécrétoire associée. Une anomalie rénale associée plaide en faveur d'une anomalie du développement embryonnaire très précoce, indépendante d'une dysfonction de CFTR. Elle élimine en principe une AL-CFTR. Par opposition, les ABCD par dysfonction de CFTR correspondent à une atrésie des canaux déférents.

CFTR est impliqué dans la régulation de la réabsorption d'eau et du transport ionique (Cl<sup>-</sup> et HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), l'organisation du cytosquelette et certaines voies de signalisation (Bieth 2021), fondamentales pour la morphogenèse et le maintien de l'intégrité épithéliale des voies d'excrétion mâles pendant la vie fœtale et/ou postnatale. D'autres protéines interagissant avec CFTR comme SLC26A3 pourraient également être impliquées (Wedenoja 2017). Le défaut de CFTR n'induirait donc pas seulement une obstruction des voies excrétrices du fait de l'augmentation de la viscosité du fluide de l'épididyme et du canal déférent, mais également des remaniements de l'épithélium avec un défaut de développement du muscle lisse périductal (Plyler 2019). Chez le rat, ces lésions progressent rapidement après la naissance et, en quelques jours, conduisent au sous-développement de l'épididyme et à l'involution des canaux déférents qui finissent par devenir atréiques à maturité (Plyler 2019). Chez l'homme, ce processus commence probablement à la fin du premier trimestre de gestation chez le fœtus mâle porteur d'un génotype MV/MV et se poursuit après la naissance principalement chez les

enfants prépubères (Gaillard 1997, Marcarelles 2012, Valman 1969). L'imputabilité de CFTR dans cette pathologie est parfaitement démontrée par l'étude récente chez le furet G551D, qui montre l'absence d'ABCD des furets nouveaux-nés dont la mère a été traitée par le modulateur de CFTR ivacaftor pendant la gestation et l'absence d'ABCD après la naissance tant que la molécule est maintenue (alors qu'elle se constitue dès que le traitement par ivacaftor est interrompu).

Récemment, le gène *ADGRG2*, codant la protéine Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2, a été identifié à l'origine de 20% des ABCD non liées à *CFTR* (Patat 2016). Ces ABCDs ont les mêmes caractéristiques cliniques que celles liées à une dysfonction de CFTR. Le lien fonctionnel entre CFTR et ADGRG2 n'est pas établi (Bieth 2021).

#### **4.1.1.2 Contexte du diagnostic**

L'ABCD est une affection congénitale de transmission autosomique récessive retrouvée chez environ 1 homme sur 1000, découverte le plus souvent à l'occasion d'un bilan d'infécondité. Elle représente 1 à 2% des cas d'infertilité masculine, et 6% des azoospermies obstructives (Yu 2012). Elle est observée chez 98% des hommes atteints de MV. Dans le registre français de la MV, la stérilité masculine est le mode de révélation de la MV ou d'une autre AL-CFTR dans 6% des cas incidents. Elle peut aussi être découverte fortuitement, à l'occasion d'une vasectomie. L'ABCD isolée représente l'AL-CFTR la plus fréquente. L'étude de *CFTR* identifie deux variants dans environ 80% des cas en France (Bareil 2007, Ratbi 2007), avec le plus souvent un variant MV et un variant CFTR-RD. Des génotypes combinant deux variants CCV ou CFTR-RD sont également observés (Claustres 2017). Les deux variants CFTR-RD les plus fréquemment retrouvés, en *trans* de F508del, sont le variant d'épissage c.1210-12T[5] (variant T5) identifié dans près de 20% des allèles (Claustres 2000), l'allèle TG12T5 étant majoritaire, et le variant c.350G>A (R117H), identifié en France dans près de 4.5% des allèles (Claustres 2000). Ainsi, les génotypes les plus fréquents des ABCD associent F508del au variant T5 (28.44%) ou à R117H (5.6%) (Claustres 2000). Le phénotype clinique peut varier selon la séquence polyTG associée à la séquence polyT. En combinaison avec un variant MV (F508del) une atteinte multi-organes est volontiers observée chez les patients porteurs du variant TG13T5, alors que l'ABCD sera le plus souvent isolée chez ceux porteurs des variants TG12T5 ou TG11T5. Des anomalies de la fonction CFTR sont fréquemment retrouvées chez les hommes présentant une ABCD a priori isolée. Le TS peut être normal, intermédiaire ou positif même sans atteinte respiratoire clinique ou radiologique alors que d'autres tests fonctionnels de CFTR peuvent être perturbés (Gervais 1993, Castellani 1999, Dohle 1999). Dans le cas d'absence unilatérale d'un canal déférent, l'imputabilité causale de CFTR est moins fréquente qu'en cas d'ABCD (43% des cas seulement ont au moins 1 variant) alors que la fréquence d'un contexte malformatif augmente (22% des cas ont une agénésie rénale associée dans l'étude de Cai et al (Cai 2019).

La présence conjointe à l'état hétérozygote simple de variants *CFTR* et de variants «sévères» du gène *ADGRG2* a été décrite mais, dans ces cas, la présence du variant *ADGRG2* est considérée suffisante pour rendre compte de l'ABCD et celle du variant *CFTR* est considérée fortuite (Pagin 2020).

#### 4.1.1.3 Algorithme du diagnostic

Le diagnostic est porté dans un contexte d'infertilité clinique masculine (Huyghe 2021). L'examen clinique consiste en l'évaluation des caractères sexuels secondaires et la palpation des organes génitaux externes. L'examen complémentaire de première intention en cas d'infertilité quel que soit l'examen physique est le spermogramme, réalisé à 2 reprises avec minimum 3 mois d'intervalle. Un bilan hormonal est aussi réalisé. L'échographie scrotale et si possible transrectale est fortement recommandée pour l'analyse précise des organes génitaux et la recherche de cancer testiculaire pouvant être révélé par l'infertilité. Au terme de ce bilan initial est porté le diagnostic d'azoospermie obstructive par absence des canaux déférents. Le bilan est alors complété par une échographie rénale à la recherche d'une agénésie rénale, en faveur d'une origine malformatrice constituant le principal diagnostic différentiel de l'AL-CFTR. L'étude exhaustive du gène *CFTR* est faite d'emblée si l'ABCD sans anomalie rénale est confirmée.

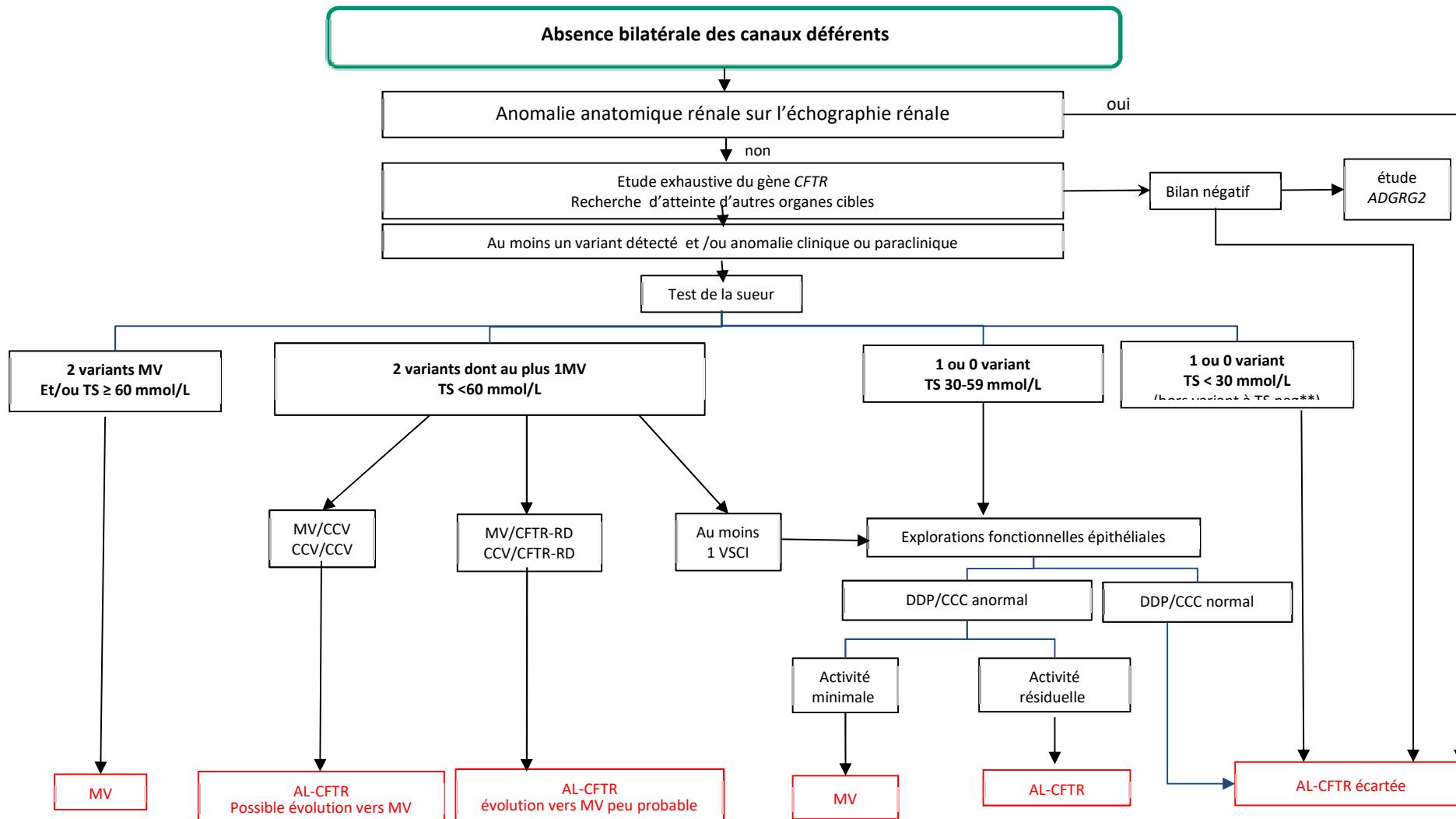
Elle est couplée à un bilan clinique et paraclinique d'autres organes cibles : scanner des sinus, nasofibroscopie à la recherche de sinusite ou de PNS ; ECBC à la recherche de germes pathogènes ; scanner pulmonaire à la recherche de bronchopathie chronique ou de DDB ; et au moindre doute si douleurs abdominales, déficit nutritionnel, échographie abdominale et élastase fécale. En l'absence d'anomalie clinique et génétique, le diagnostic d'AL-CFTR est exclu, et une étude du gène *ADGRG2* est indiquée.

Il n'est pas rare à ce stade de découvrir d'autres symptômes cliniques nécessitant une prise en charge thérapeutique possiblement en lien avec la dysfonction de *CFTR* (respiratoires, ORL ou pancréatiques), ce qui peut conduire le clinicien à requalifier le diagnostic en MV suffisante pancréatique.

En cas de mise en évidence d'au moins 1 variant du gène *CFTR* et/ou d'une anomalie clinique, le TS est réalisé.

- 1- Le diagnostic de MV est confirmé, si le TS est  $\geq$  à 60 mmol/L quel que soit le résultat de l'étude génétique et/ou si l'on retrouve 2 variants MV, un sur chaque allèle.
- 2- Le diagnostic de MV est écarté si le TS est < à 30 mmol/L sauf si on détecte un variant associé à un TS négatif (voir page 15)
- 3- Si le TS est <60 mmol/L l'étude génétique peut retrouver plusieurs cas
  - un variant MV à TS négatif en *trans* d'un variant MV permet de poser le diagnostic de MV

- un variant CCV en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une possible évolution vers la MV
- un variant CFTR-RD en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une très faible probabilité d'évolution vers une MV
- 2 variants dont au moins un variant de signification clinique inconnue (VSCI). L'algorithme vise à déterminer le caractère pathogène de ce variant. Dans ce cadre, on peut proposer, si c'est possible, la pratique de tests fonctionnels épithéliaux visant à explorer le transport ionique trans-épithélial (en particulier DDP nasale, CCC sur biopsie rectale). Si les tests sont normaux, le variant est considéré non pathogène et le diagnostic est écarté. Si les tests montrent l'absence d'activité de CFTR (< 5% de la normale), le variant VSCI est reclassé comme MV et le patient est diagnostiqué atteint de MV ; si les tests montrent une activité résiduelle mais < 50% de la normale, le variant VSCI est considéré comme pathogène non MV (CCV ou CFTR-RD), ce qui permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR. Ces tests ne sont proposés que dans des centres ultraspécialisés et restent difficiles d'accès. Si le diagnostic n'est pas clarifié, soit parce que les tests n'ont pas pu être réalisés, soit parce qu'ils ne sont pas concluants, le suivi en CRCM reste recommandé.



**Abbreviations:** MV: mucoviscidose, TS: test de la sueur, CCV: conséquence clinique variable, VSCI: variant de signification clinique inconnue, DDP: différence de potentiel (nasal), CCC: courant de court-circuit (sur biopsie rectale), AL-CFTR: affection liée à CFTR

**Principaux variants MV ou CCV à TS négatifs:** c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T), c.3140-26A>G (3272-26A>G), c.349C>T (R117C), c.617T>G (L206W), c.1040G>A (R347H) et c.3454G>C (D1152H). Autres variants dans l'annexe 7

#### **4.1.1.4 Prise en charge**

L'ABCD est responsable d'une azoospermie excrétoire et la spermatogénèse n'est pas altérée. On peut donc proposer un prélèvement épидidymaire sous anesthésie générale afin de récupérer chez ces patients azoospermes des spermatozoïdes utilisables pour une prise en charge en aide médicale à la procréation (AMP).

La découverte d'anomalie CFTR dans le bilan d'ABCD justifie d'une part une prise en charge diagnostique au CRCM afin de déterminer s'il existe d'autres éléments en faveur d'une MV, d'autre part d'informer le patient sur les risques de transmission des variants à la descendance et donc l'importance d'une étude génétique chez la conjointe dans le cadre de l'AMP, ainsi que d'un conseil génétique chez les apparentés. Dans le contexte de découverte d'autres atteintes cliniques, le diagnostic entre une MV modérée suffisante pancréatique et une AL-CFTR de type ABCD avec atteinte d'autres organes appartient au clinicien. Cette situation pose la question de discuter l'indication des modulateurs, en particulier en présence de F508del ou R117H.

### **4.1.2 Dilatations des bronches idiopathiques (DDB)**

#### **4.1.2.1 Epidémiologie, physiopathologie**

La dilatation des bronches (DDB) est une augmentation permanente et irréversible du calibre bronchique dont les causes peuvent être multiples.

Cette définition « historique » a été consolidée par le scanner thoracique qui a permis d'en affiner la définition chez l'adulte par l'existence des critères suivants :

- un diamètre bronchique supérieur ou égal à une fois et demi le diamètre de l'artère qui accompagne la bronche
- l'absence d'effilement de la bronche vers la périphérie sur au moins 2 cm
- la présence d'une bronche visible en périphérie du poumon (à moins de 1 cm de l'interface pleurale).

Chez l'enfant, on parle de DDB dès que le diamètre de la bronche dépasse celui de l'artère.

On distingue classiquement les DDB localisées (en général liées à un processus évolutif ou séquellaire local) et les DDB diffuses.

Dans le cas particulier des DDB diffuses, le bilan vise à diagnostiquer l'étiologie dont la prise en charge spécifique peut permettre d'améliorer de manière importante la qualité de la prise en charge et le pronostic. C'est le cas des DDB en lien avec une dysfonction de CFTR, dans le cadre d'une AL-CFTR. L'impact du diagnostic est devenu encore plus important depuis la mise à disposition des modulateurs de CFTR (Farley 2021).

Il n'existe actuellement aucune étude concernant les AL-CFTR chez l'enfant ou l'adolescent. A l'instar de ce qui est publié sur les cohortes de bronchectasies dites idiopathiques de l'adulte (dont certaines peuvent être des AL-CFTR) où il est démontré que dans plus de 60% des cas

l'atteinte inflammatoire chronique a commencé dès l'enfance, il est plus que probable que le processus physiopathologique des AL-CFTR débute précocement et pourrait être ralenti s'il était diagnostiqué.

L'évolutivité potentielle de ces atteintes justifie une réflexion sur des prescriptions de modulateurs de CFTR notamment chez les patients les plus sévères (Patel 2020). Ceci pourrait concerner également les atteintes bronchiques chroniques qui précèdent la formation des bronchectasies. Des études récentes suggèrent en effet que la bronchite chronique surinfectée induit un état inflammatoire à l'origine des bronchectasies (Chang 2018, Wurzel 2016).

#### 4.1.2.2 Contexte du diagnostic

Il existe plusieurs recommandations internationales concernant la recherche d'une AL-CFTR en contexte de DDB diffuses de l'adulte (Pasteur 2010, Amorim 2016).

Certaines particularités doivent retenir l'attention du clinicien et sont fréquemment retrouvées dans une AL-CFTR:

- Début des symptômes tôt dans la vie (enfance, adolescence, jeune âge adulte)
- Prédominance des DDB dans les lobes supérieurs
- Colonisation à *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia* sp
- Présence d'une PNS ou d'une RSC
- Pancréatites aiguës récurrentes
- Infertilité masculine
- Stigmates de maldigestion
- Antécédents familiaux d'AL-CFTR ou de MV

Ces critères ne sont cependant pas exclusifs et en pratique, la recherche d'une dysfonction de CFTR doit être réalisée devant la négativité d'un bilan étiologique minimal.

L'incidence des mutations du gène *CFTR* retrouvées dans ce contexte est en augmentation au cours des années du fait de l'augmentation de la sensibilité des tests génétiques et de la meilleure connaissance des variants et des populations ciblées (Bombieri 2011, Bergougnoux 2015).

Sur le plan génétique, au moins 1 variant de *CFTR* est retrouvée chez 10 à 50% des patients et deux variants sont retrouvés dans 5 à 20 % des cas. F508del représente selon les séries 8 à 60% des mutations retrouvées. Cette hétérogénéité est expliquée par des critères de sélection des populations étudiées. Les variants retrouvés sont très divers et, pour un certain nombre d'entre eux, les conséquences fonctionnelles ne sont pas connues (Bergougnoux 2015).

L'allèle c.1210-12T[5] (variant T5) est également retrouvé dans les DDB même si sa fréquence est moindre que dans l'ABCD. Ainsi, la prévalence accrue chez ces patients de la présence d'un variant unique de *CFTR* (Girodon1997), parfois associée à des anomalies de la DDP nasale (Bienvenu 2010) pose la question de variants non identifiés et/ou de l'existence de variants d'autres gènes, qui en combinaison avec la mutation de *CFTR* (transhétérozygotie), pourraient induire une anomalie de la clairance muco-ciliaire. Ceci est le cas des gènes *SCNN* codant le canal sodique épithéial ENaC, (*SCNN1A*, *SCNN1B*, *SCNN1G*) dont des variants gain de fonction pourraient augmenter l'activité de la protéine ENaC et qui ont été retrouvés chez des patients avec DDB (Fajac 2008).

La difficulté du diagnostic peut être illustrée par une étude rétrospective portant sur les dossiers de 601 patients adultes porteurs de DDB sans diagnostic étiologique vus sur une période de 10 ans (Hubert 2004). Dans cette étude, le diagnostic de MV était retenu si un test fonctionnel (TS ou DDP nasale) était anormal ou si on retrouvait des variants de *CFTR*. Chez 46 (7.6%) de ces patients, le diagnostic de MV était porté tardivement (au stade d'insuffisance respiratoire sévère pour 16 d'entre eux) alors qu'ils présentaient des signes respiratoires évoluant souvent depuis l'enfance diagnostiqués comme asthme, BPCO ou « DDB d'étiologie inconnue ». Trente-sept de ces 46 patients étaient requalifiés MV du fait d'un  $TS \geq 60$  mmol/L. Neuf de ces 37 avaient 1 seule mutation de *CFTR* et la DDP nasale était anormale à chaque fois qu'elle était réalisée (7 patients sur 9). Neuf patients avaient un TS normal ou intermédiaire ; 8 d'entre eux ont été requalifiés sur la mise en évidence de 2 variants de *CFTR* ; le dernier n'avait qu'un variant de *CFTR* retrouvé mais une DDP nasale anormale. Ceci permet de calculer une sensibilité croissante selon les tests réalisés : pour TS seul : 80% ; screening génétique avec les 31 mutations les plus fréquentes : 39% ; screening complet du gène : 78% ; combinaisons du TS avec le kit des 31 mutations : 91% ; avec le screening complet du gène : 98%.

#### 4.1.2.3 Algorithme du diagnostic

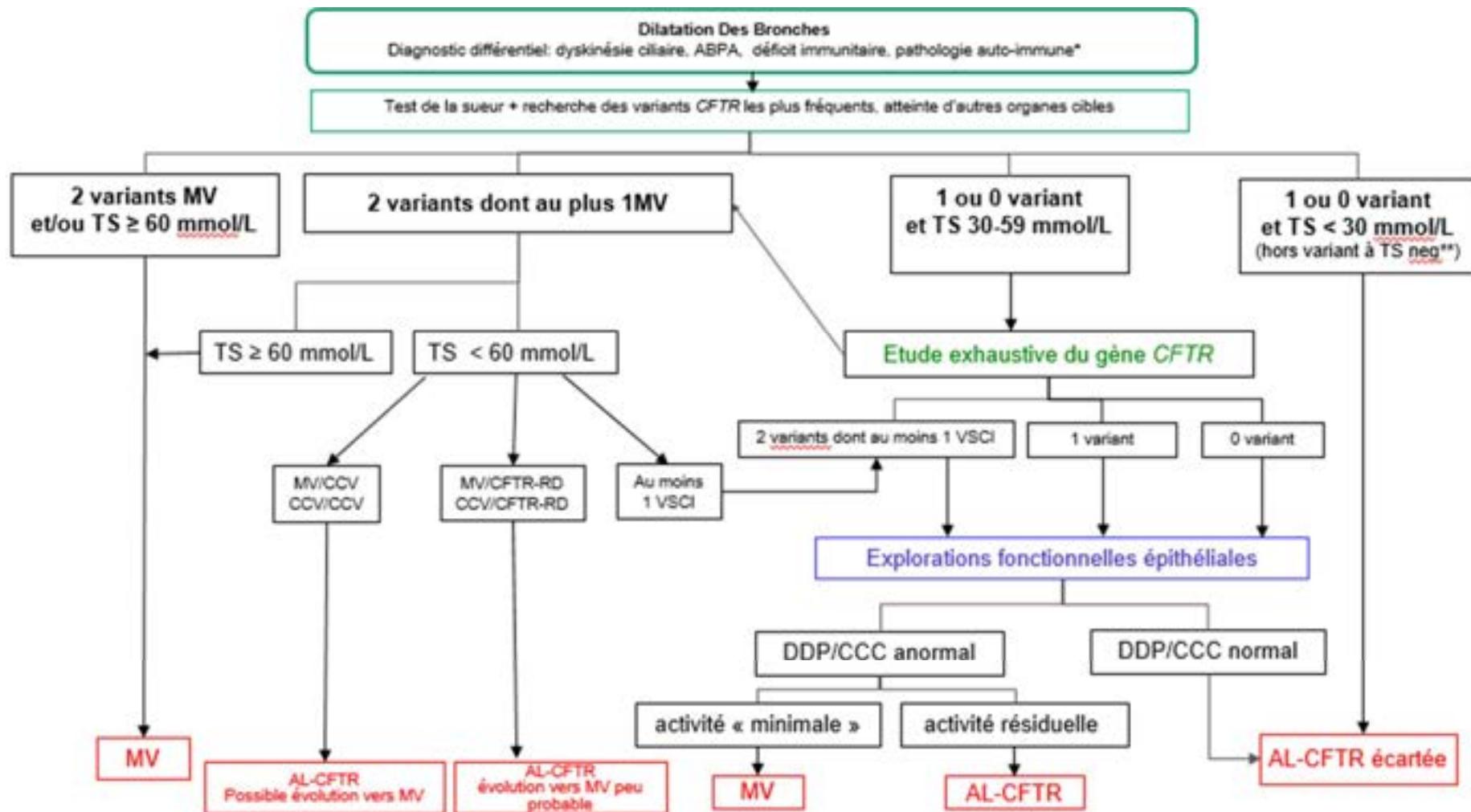
Le diagnostic est porté devant l'imagerie thoracique par scanner et est caractérisé au plan infectieux par un ECBC (bactériologie, mycologie, mycobactéries).

Le diagnostic différentiel vise à éliminer d'autres causes de DDB, en particulier une dyskinésie ciliaire primitive (mesure du monoxyde d'azote (NO) nasal si possible), une ABPA, un déficit immunitaire, une pathologie auto-immune. Il comprend au minimum : NFS plaquettes, électrophorèse des protéines sériques, dosage pondéral des IgG, A, M, sérologie aspergillaire, IgE totales, IgE spécifiques d'aspergillus, sérologie VIH et tout autre test guidé par une anomalie clinique (déficit immunitaire complexe, pathologie auto-immune, etc...). En cas d'absence d'anomalie, on réalise une recherche des mutations les plus fréquentes plus qu'un screening exhaustif. L'étude génétique est couplée à un TS et un bilan clinique et paraclinique

d'autres organes cibles: scanner des sinus et ou nasofibroscopie, à la recherche de sinusite ou de PNS, et au moindre doute si douleurs abdominales ou déficit nutritionnel, échographie abdominale et élastase fécale, et si infertilité masculine, spermogramme et échographie prostatique.

Il n'est pas rare à ce stade de découvrir d'autres symptômes cliniques nécessitant une prise en charge thérapeutique possiblement en lien avec la dysfonction de CFTR (ORL ou pancréatiques), ce qui peut conduire le clinicien à requalifier le diagnostic en MV suffisante pancréatique. La frontière entre une MV suffisante pancréatique, souvent associée également à des mutations résiduelles et une AL-CFTR avec atteinte ORL et TS intermédiaire est floue. En cas de mise en évidence d'au moins 1 variant du gène *CFTR* et ou d'une anomalie clinique, le TS est réalisé.

- 1- Le diagnostic de MV est confirmé, si le TS est  $\geq$  à 60 mmol/L quel que soit le résultat de l'étude génétique et/ou si l'on retrouve 2 variants MV, un sur chaque allèle.
- 2- Le diagnostic de MV est écarté si le TS est < à 30 mmol/L sauf si on détecte un variant associé à un TS négatif (voir page 15)
- 3- Si le TS est > 30 mmol/l et <60 mmol/L l'étude génétique peut retrouver plusieurs cas
  - un variant MV à TS négatif en *trans* d'un variant MV permet de poser le diagnostic de MV
  - un variant CCV en *trans* (c'est à dire sur l'autre allèle) d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une possible évolution vers la MV
  - un variant CFTR-RD en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une très faible probabilité d'évolution vers une MV
  - 2 variants dont au moins un variant de signification clinique inconnue (VSCI). L'algorithme vise à déterminer le caractère pathogène de ce variant. Dans ce cadre, on peut proposer, si c'est possible, la pratique de tests fonctionnels épithéliaux visant à explorer le transport ionique trans-épithélial (en particulier DDP nasale, CCC sur biopsie rectale). Si les tests sont normaux, le variant est considéré non pathogène et le diagnostic est écarté. Si les tests montrent l'absence d'activité de CFTR (< 5% de la normale), le variant VSCI est reclassé comme MV et le patient est diagnostiqué atteint de MV ; si les tests montrent une activité résiduelle mais < 50% de la normale, le variant VSCI est considéré comme pathogène non MV (CCV ou CFTR-RD) ce qui permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR. Ces tests ne sont proposés que dans des centres ultraspecialisés et restent difficiles d'accès. Si le diagnostic n'est pas clarifié, soit parce que les tests n'ont pas pu être réalisés, soit parce qu'ils ne sont pas concluants, le suivi en CRCM reste recommandé.



\* : NFS, EPP, dosage pondéral IgG, A, M, sérologie aspergillaire, IgE totales et spécifiques aspergillus, sérologie VIH

Abbreviations: MV: mucoviscidose, TS: test de la sueur, CCV: conséquence clinique variable, VSCI: variant à signification clinique inconnue, DDP: différence de potentiel (nasal), CCC: courant de court circuit sur biopsie rectale, AL-CFTR: affection liée à CFTR, ABPA: aspergillose broncho-pulmonaire allergique, EPP: électrophorèse des protides, VIH: virus de l'immunodéficience humaine

Principaux variants MV ou CCV à TS négatifs: c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T), c.3140-26A>G (3272-26A>G), c.349C>T (R117C), c.617T>G (L206W), c.1040G>A (R347H) et c.3454G>C (D1152H). Autres variants dans l'annexe 7.

#### **4.1.2.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques**

Dans le cas de DDB/ AL-CFTR, l'évolutivité de l'atteinte pulmonaire, potentiellement analogue à celle de la MV, justifie de proposer à ces patients une prise en charge inspirée de celle proposée aux patients atteints de MV ([HAS PNDS Mucoviscidose 2017](#), Polverino 2017).

Les objectifs de la prise en charge visent à prévenir et détecter précocement les infections pulmonaires (facteur important dans l'évolution de la maladie respiratoire), traiter les symptômes, améliorer la qualité de vie, empêcher la dégradation de la fonction respiratoire, surveiller l'efficacité, la tolérance et l'observance des traitements prescrits, poursuivre l'éducation thérapeutique du patient et/ou de la famille.

Les soins (traitements et rythme suivi) proposés sont adaptés à la gravité de l'atteinte respiratoire et aux besoins individuels de chaque patient.

Les professionnels impliqués sont l'équipe pluridisciplinaire spécialisée du CRCM, en coordination avec les professionnels libéraux et de proximité (médecin généraliste, kinésithérapeute, infirmier(e), prestataires, assistante sociale, etc...)

On propose au moins une évaluation annuelle pour les patients les moins sévères et les moins symptomatiques.

Pour les patients plus sévères, à l'instar des patients atteints de MV, les visites au CRCM ont lieu tous les 2 à 3 mois avec un minimum de 4 visites annuelles systématiques et des visites supplémentaires au besoin.

Un bilan détaillé est réalisé au moins 1 fois par an ou plus si signes d'appel.

Le suivi régulier se fait en consultation, en hospitalisation de jour ou en hospitalisation programmée de courte durée.

Si le bilan initial doit comprendre le dépistage systématique d'atteintes extra-respiratoires, les évaluations suivantes devront associer un bilan respiratoire et infectieux complété par des examens qui seront guidés par d'éventuels points d'appel cliniques.

Les principales recommandations sont regroupées dans le Tableau 3.

**Tableau 3 : Principales recommandations pour la prise en charge des Dilatations Des Bronches (DDB)**

A chaque visite au CRCM :	Une fois par an :	Dans des situations spécifiques
<p>Examen clinique avec mesure de la SaO<sub>2</sub> si besoin</p> <p>Boucle débit/volume +/- test de réversibilité</p> <p>Examen cytobactériologique des expectorations, mycologie</p> <p>Séance de kinésithérapie respiratoire,</p> <p>Entretien avec l'infirmière coordinatrice</p> <p>Et intervention de tout autre professionnel de santé jugé nécessaire</p>	<p>Examen clinique avec mesure de la SaO<sub>2</sub>,</p> <p>Bilan respiratoire :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Courbe débit/volume +/- test de réversibilité, pléthysmographie,</li> <li>-Test de marche si VEMS &lt; ou égal à 60%</li> <li>-Radio ou scanner thoracique</li> <li>-Examen cytobactériologique des expectorations, mycologie et recherche de mycobactéries</li> <li>-Séance de kinésithérapie respiratoire,</li> <li>Bilan biologique :</li> <li>-Recherche d'ABPA (NFS, IgE totales, IgE spécifiques d'aspergillus, sérologie aspergillaire)</li> <li>-Ionogramme sanguin, fonction rénale, bilan hépatique</li> <li>-Hémostase</li> <li>-Albumine, pré-albumine, électrophorèse des protéines sériques</li> <li>-Dosage des vitamines A, D, E, K</li> <li>-Glycémie à jeun</li> <li>Entretien avec l'infirmière coordinatrice</li> <li>Intervention de la diététicienne</li> <li>Intervention de la psychologue proposée</li> <li>Intervention de l'assistante sociale proposée</li> <li>Séances individuelles ou collectives d'éducation thérapeutique proposées.</li> </ul>	<p>En cas d'IRCO sévère :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-gaz du sang,</li> <li>-oxymétrie nocturne,</li> <li>-échographie cardiaque</li> </ul> <p>Dépistage de l'ostéoporose en cas d'IRCO sévère ou de corticothérapie prolongée</p> <p>L'endoscopie bronchique et les prélèvements per-endoscopiques n'ont pas de place systématique dans le suivi et doivent être réservés à des situations particulières (anomalies à l'imagerie, patient non secrétant présentant un événement infectieux respiratoire particulier, etc...)</p>

IRCO: insuffisance Respiratoire Chronique Obstructiv

Traitements de fond de la maladie respiratoire :

La prise en charge de la maladie respiratoire hors évènement aigu comprend un certain nombre de recommandations communes à toutes les pathologies respiratoires chroniques : sevrage tabagique, vaccinations (grippe annuelle, pneumocoque, COVID), maintien d'une activité physique adaptée.

La kinésithérapie respiratoire est réalisée régulièrement selon les besoins du patient par un professionnel qui intègre si besoin des aides instrumentales et est l'acteur principal de l'appropriation par le patient des techniques de désencombrement, et participe par l'éducation thérapeutique à une meilleure compréhension de la maladie et des traitements notamment inhalés.

L'antibiothérapie au long cours ( $\geq 3$  mois) est recommandée par l'ERS chez les patients présentant au moins 3 exacerbations par an (Chang 2018, Hill 2019) (**Annexe 10** ):

- Antibiothérapie inhalées (Colimycine, Tobramycine et Aztreonam) avec indications « hors AMM » en cas d'infection chronique à *Pseudomonas aeruginosa*
- Traitement au long cours par azithromycine à dose anti-inflammatoire en cas de colonisation chronique à *P.aeruginosa* et l'impossibilité d'une antibiothérapie inhalée (contre-indication, intolérance, etc...)
- Association antibiothérapie inhalée et azithromycine en cas de colonisation chronique à *P.aeruginosa* et d'exacerbations fréquentes
- Antibiothérapie orale au long cours (selon antibiogramme et tolérance) en cas de colonisation à *P.aeruginosa* chez des patients présentant une contre-indication aux macrolides
- Antibiothérapie inhalée au long cours même en l'absence de colonisation chronique à *P.aeruginosa* si antibioprophylaxie per os impossible

Les recommandations concernant l'éradication des bactéries en primo colonisation ne concernent que *P.aeruginosa* avec un libre choix laissé au clinicien concernant les modalités: fluoroquinolones per os seules ou en association à une antibiothérapie inhalée, antibiothérapie intraveineuse (annexe 10 bis).

La durée de traitement des exacerbations doit être, comme dans la MV, de 14 jours.

L'utilisation d'anti-inflammatoires (corticothérapie inhalée) n'est pas recommandée sauf en présence d'un asthme ou d'une BPCO associée.

Les traitements muco actifs au long cours ( $\geq 3$  mois) sont recommandés chez les patients ayant des difficultés à expectorer et une mauvaise qualité de vie et chez qui les techniques habituelles de drainage ne sont pas suffisamment efficaces. L'utilisation de la rhDNase (Pulmozyme°) n'est pas recommandée sur les données d'une étude montrant un effet négatif de ce traitement sur le VEMS (O'Donnell 1998). Dans des cas très particuliers, elle peut être prescrite hors AMM.

Les bronchodilatateurs de longue durée d'action seront proposés en cas d'association à un asthme ou une BPCO, de dyspnée et/ou avant la prise de traitement mucolytiques ou les séances de kinésithérapie.

La place des modulateurs de CFTR dans ce contexte n'est pas encore clairement définie.

## 4.1.3 Pancréatites idiopathiques (PI) non héréditaires

### 4.1.3.1 Épidémiologie, physiopathologie

La pancréatite est une inflammation avec autodigestion du pancréas secondaire à une activation inappropriée des enzymes pancréatiques. Longtemps considérées comme des entités distinctes, la pancréatite aigüe (PA), la pancréatite aigüe récurrente (PAR) et la pancréatite chronique (PC) sont reconnues comme formant un continuum de la maladie pancréatique dont la progression est fortement influencée par de multiples facteurs de risque extrinsèques et intrinsèques. La PA est définie par au moins 2 des 3 critères suivants : douleur abdominale compatible, lipasémie  $\geq 3$  fois la normale et résultats d'imagerie abdominale compatibles. On parle de PAR à partir de 2 épisodes de PA. La PC est la répétition d'épisodes inflammatoires responsables d'une fibrose avec destruction irréversible du tissu pancréatique. Les principales complications de la PC sont des douleurs abdominales, une insuffisance pancréatique exocrine avec maldigestion et malnutrition, et un diabète par insuffisance pancréatique endocrine. La PC est définie par des anomalies morphologiques du pancréas, identifiées en imagerie abdominale (IRM en particulier) associées à 1 ou plusieurs des complications citées. Elle expose également à un risque accru d'adénocarcinome du pancréas.

Les pancréatites sont plus fréquentes chez l'adulte que chez l'enfant. L'incidence de la PC est évaluée selon les études entre 4 à 24,7 cas pour 100 000 chez l'adulte (Lévy 2014) contre 0,5 à 2/100 000 chez l'enfant (Aliye 2019, Sellers 2018).

Les pancréatites sont souvent d'origine multifactorielle. Des facteurs génétiques sont impliqués dans les pancréatites « idiopathiques ». Le gène *PRSS1* (gène du trypsinogène cationique) est le gène majeur impliqué dans les pancréatites héréditaires, notamment les formes familiales, avec une pénétrance allant jusqu'à 90% mais variable selon les variants. Parmi les facteurs génétiques impliqués dans les PI non héréditaires, le gène *CFTR* est le plus fréquent, devant *SPINK1* (gène de l'inhibiteur de la trypsine), *CTRC* (gène de la chymotrypsine C) et *CPA1* (gène de la Carboxypeptidase A1) (Hegyi 2020). Les variants de ces gènes, retrouvés le plus souvent à l'état hétérozygote, constituent plus un rôle favorisant que causal des PI. Dans certains cas, sont retrouvés des variants de plusieurs gènes (Masson 2013).

Ainsi, l'association en trans-hétérozygotie de variants de *CFTR* avec un variant du gène *SPINK1* augmente le risque de pancréatite chronique lié à *SPINK1*, suggérant un rôle de gène modificateur ou facilitateur de ces variants de *CFTR* (Masson 2017, Schneider 2011).

Le gène *CFTR* est considéré comme un facteur prédisposant aux pancréatites même en l'absence de MV patente. Selon Oii et al (Oii 2011), le dysfonctionnement de *CFTR* entraîne un défaut de sécrétion de bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) responsable de la précipitation des enzymes pancréatiques produites par les acini, entraînant une obstruction intraluminale. Le risque de PA existe lorsqu'il y a une production acinaire résiduelle et une obstruction canalaire. C'est le cas chez les suffisants

pancréatiques (SP) alors qu'il est peu probable chez les insuffisants pancréatiques (IP) qui ont une production enzymatique nulle (Oii 2012). Cependant, le rôle exact de *CFTR* dans la survenue des PI n'est pas clair et différents facteurs de risque pourraient interagir.

#### **4.1.3.2 Contexte du diagnostic**

L'insuffisance pancréatique exocrine (IPE) est présente chez la majorité des patients atteints de MV, souvent dès la naissance. Toutefois, 15% des patients conservent une suffisance pancréatique avec une digestion normale. Il s'agit habituellement des patients porteurs d'au moins 1 variant modéré associé à une fonction résiduelle de *CFTR* (Ahmed 2003). La pancréatite est une complication rare de la MV, rapportée chez 1 à 2% des patients (De Boeck 2005, Durno 2019). Elle survient chez environ 15% des patients suffisants pancréatiques (De Boeck 2005, Durno 2019). Tous les patients suffisants pancréatiques ne présentent donc pas de pancréatite, ce qui suggère l'implication d'autres facteurs dans la genèse de la maladie, génétiques autres, toxiques, métaboliques ou environnementaux. Très rarement, une pancréatite a été rapportée chez des patients MV avec IPE qui avaient probablement une fonction pancréatique résiduelle (De Boeck 2005). La première poussée de PA survient habituellement chez le grand enfant ou l'adulte jeune (De Boeck 2005, Gaitch 2016). Elle peut précéder ou révéler le diagnostic de MV (Cohn 1998, Castellani 2001, Munck 2004).

Le lien entre PI et *CFTR* est démontré depuis 1998 par une sur-représentation de variants du gène *CFTR* chez des patients avec PC idiopathique (PCI). Un variant de *CFTR* est identifié chez environ 30% de ces patients contre 3% dans la population générale (Cohn 1998, Dray 2003, Sharer 1998, Bishop 2005), et 2 variants sont retrouvés dans 10% des cas (Cohn 1998, Bishop 2005, Audrezet 2002). Le développement des techniques d'analyse génétique a permis l'identification de variants rares dont certains sont inconstamment décrits comme associés aux pancréatites, habituellement de classe CCV ou CFTR-RD et associé à une sécrétion de Cl- résiduelle mais un défaut de sécrétion de HCO3- (LaRusch 2014, Martinez 2014, Gomez 2000). Il s'agit en particulier de : R74Q, R75Q, R170H, L967S, R1162L L997F, D1152H, et R117H. L'analyse exhaustive du gène *CFTR* peut être complétée dans certaines études par les tests fonctionnels. Ainsi, Bishop a retenu le diagnostic de MV chez 12 des 56 patients présentant une PI grâce aux résultats du TS (n=5) et/ou de la DDP (n=7) qui ont identifié la dysfonction de *CFTR* (Bishop 2005).

#### **4.1.3.3 Algorithme du diagnostic**

Les principaux facteurs de risque impliqués dans les PAR et PC, multiples et souvent associés, sont d'origine toxique/métabolique (alcoolisme, tabagisme, exposition médicamenteuse, hypercalcémie, hypertriglycéridémie), obstructive (lithiase biliaire, malformation, tumeur) et auto-immune. Ils doivent être recherchés d'emblée et pourraient jouer un rôle aggravant, même dans une AL-CFTR. Lorsqu'aucun facteur de risque n'est identifié ou qu'un facteur ne semble pas à lui seul pouvoir expliquer la situation, la pancréatite est dite « idiopathique » et justifie une étude génétique (20-30%

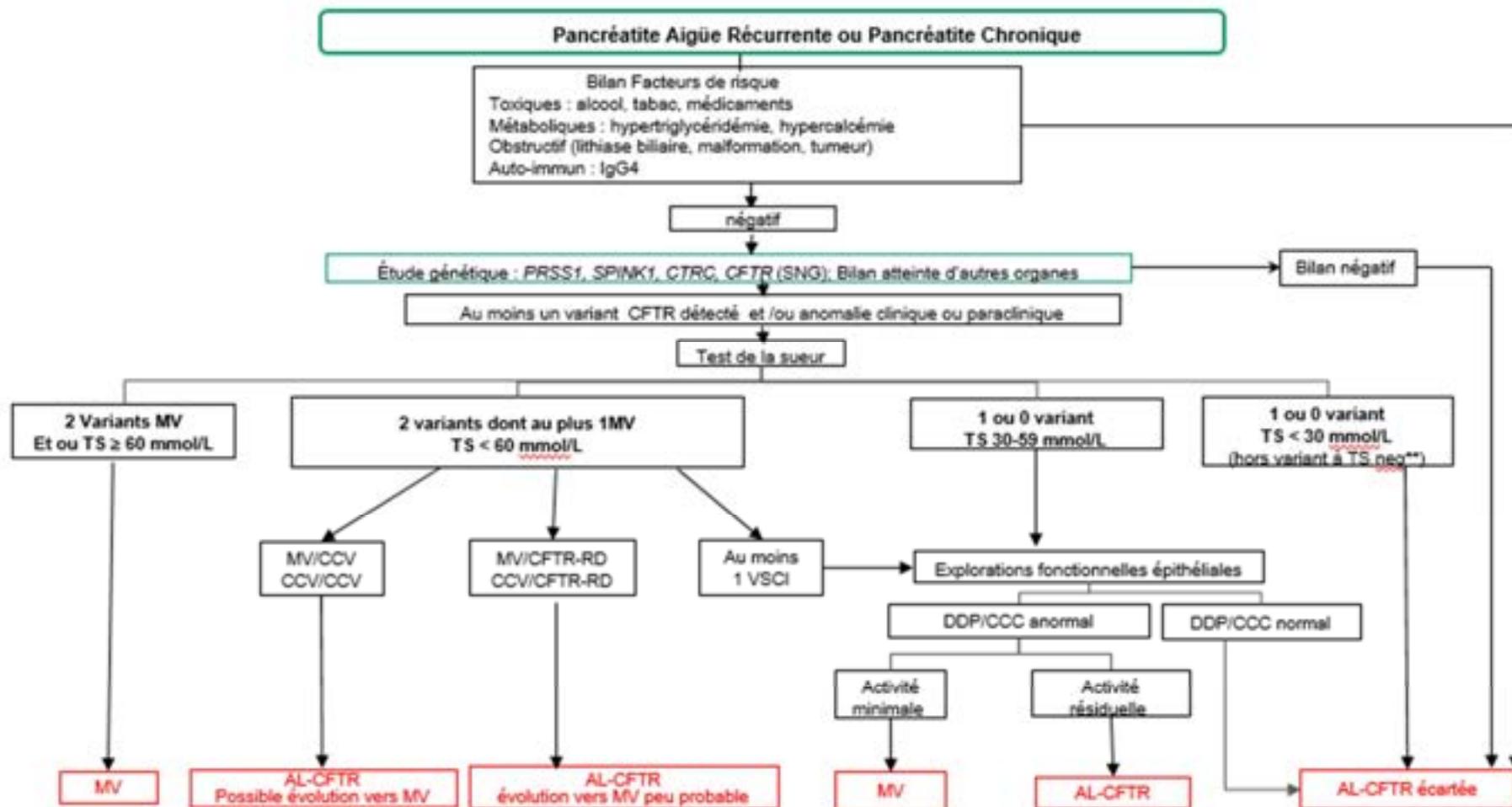
des cas). La fréquence des facteurs de risque est différente selon l'âge, avec une forte prévalence des facteurs génétiques chez l'enfant et de l'alcoolisme chez l'adulte. L'analyse spécifique du gène *PRSS1* est indiquée dès la 1<sup>ère</sup> poussée de PA avec antécédents familiaux de PCI au 1<sup>er</sup> et/ou au 2<sup>ème</sup> degré (PNDS pancréatite héréditaire, HAS 2020). Dans les autres cas, on étudie volontiers de façon systématique un panel de gènes comprenant *a minima* *CFTR* en screening exhaustif, *PRSS1*, *SPINK1*, *CTRC* et *CPA1* ; *CASR* et *TRPV6* ont également été impliqués. La démarche diagnostique comporte également la recherche d'atteinte d'autres organes impactés par *CFTR* (manifestations respiratoires et DDB, rhino-sinusite, polyposé naso-sinusienne, hypofertilité masculine par ABCD). En cas de mise en évidence d'au moins 1 variant du gène *CFTR* et/ou d'une anomalie clinique compatible avec une MV ou une AL-*CFTR*, le test de la sueur est réalisé.

L'interprétation est faite dans le contexte de l'étude du panel de gènes impliqués dans les pancréatites, la présence de variants *CFTR* pouvant confirmer une MV, une AL-*CFTR* et/ou constituer un facteur de risque de la pancréatite, dans un contexte multifactoriel.

En cas de mise en évidence d'au moins 1 variant du gène *CFTR* et/ou d'une anomalie clinique, le TS est réalisé.

- 1- Le diagnostic de MV est confirmé, si le TS est  $\geq$  à 60 mmol/L quel que soit le résultat de l'étude génétique et/ou si l'on retrouve 2 variants MV, un sur chaque allèle.
- 2- Le diagnostic de MV est écarté si le TS est  $<$  à 30 mmol/L sauf si on détecte un variant associé à un TS négatif (voir page 15)
- 3- Si le TS est  $<60$  mmol/L l'étude génétique peut retrouver plusieurs cas
  - un variant MV à TS négatif en *trans* d'un variant MV permet de poser le diagnostic de MV
  - un variant CCV en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-*CFTR* avec une possible évolution vers la MV
  - un variant CFTR-RD en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-*CFTR* avec une très faible probabilité d'évolution vers une MV
  - 2 variants dont au moins un variant de signification clinique inconnue (VSCI). L'algorithme vise à déterminer le caractère pathogène de ce variant. Dans ce cadre, on peut proposer, si c'est possible, la pratique de tests fonctionnels épithéliaux visant à explorer le transport ionique trans-épithélial (en particulier DDP nasale, CCC sur biopsie rectale). Si les tests sont normaux, le variant est considéré non pathogène et le diagnostic est écarté. Si les tests montrent l'absence d'activité de *CFTR* ( $< 5\%$  de la normale), le variant VSCI est reclassé comme MV et le patient est diagnostiqué atteint de MV ; si les tests montrent une activité résiduelle mais  $< 50\%$  de la normale, le variant VSCI est considéré comme pathogène non MV (CCV ou CFTR-RD) ce qui permet de poser le diagnostic d'AL-*CFTR*. Ces tests ne sont proposés que dans des centres ultraspecialisés et restent difficiles d'accès. Si le diagnostic n'est pas clarifié, soit parce que les tests n'ont

pas pu être réalisés, soit parce qu'ils ne sont pas concluants, le suivi en CRCM reste recommandé.



**Abréviations:** MV: mucoviscidose, TS: test de la sueur, CCV: conséquence clinique variable, VSCI: variant à signification clinique inconnue, DDP: différence de potentiel (nasal), CCC: courant de court circuit (sur biopsie rectale) AL-CFTR: affection liée à CFTR. SNG : Séquençage de Nouvelle Génération

**Principaux variants MV ou CCV à TS négatifs:** c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T), c.3140-26A>G (3272-26A>G), c.349C>T (R117C), c.617T>G (L206W), c.1040G>A (R347H) et c.3454G>C (D1152H). Autres variants dans l'annexe 7.

#### 4.1.3.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques

La prise en charge de base combine :

- Des règles hygiéno-diététiques : sevrage ou prévention alcool et tabac, régime alimentaire normal pour maintenir un bon état nutritionnel et éviter les carences alimentaires,
- Le traitement de l'IPE :
  - Le diagnostic positif repose sur la diminution de l'élastase fécale < 200 µg/g de selles ; une stéatorrhée >6g de graisses dans les selles par 24h après une charge orale en graisses de 100 grammes par jour pendant trois jours reflète une malabsorption des graisses et une IPE déjà sévère.
  - Le traitement repose sur la prise d'extraits pancréatiques à chaque repas, adaptée à la prise alimentaire, à laquelle on associe une substitution en vitamines ADEK et le traitement d'un déficit en zinc ou en vitamine B12.
  - En cas d'IPE mal contrôlée et après avoir éliminé une mauvaise compliance au traitement substitutif, un traitement par inhibiteur de la pompe à protons peut améliorer l'efficacité des extraits pancréatiques.
- Le traitement de la douleur chronique : n'est pas du ressort de ce PNDS mais est traité dans le PNDS pancréatite héréditaire (HAS 2020).
- Dans certains cas, des traitements invasifs endoscopiques et chirurgicaux (sphinctérotomie pancréatique, dilatation de sténose canalaire, prothèses pancréatiques, extraction de calculs ...) peuvent être indiqués en cas d'échec des traitements médicaux et après avis auprès d'un centre expert (Dominguez-Munoz 2018, Dumonceau 2018).

La prise en charge de la PA liée à CFTR est identique à celle de tout épisode de PA. Des recommandations existent chez l'adulte (Crockett 2018) mais aussi chez l'enfant (Párnuczky 2018, Abu-El-Haija 2018). Le traitement de la PA dépend de sa sévérité et repose principalement sur le remplissage vasculaire si besoin, la correction des désordres hydro-électrolytiques, la reprise alimentaire précoce possible par nutrition entérale et le contrôle de la douleur. Une attention particulière doit être portée sur l'hydratation intra-veineuse de ces patients qui ont un risque plus important de déshydratation (Munck 2015). Le traitement des poussées aiguës au cours de la PC ne diffère pas de celui de l'épisode de PA initial. Aucun traitement n'a fait la preuve de son efficacité pour prévenir les poussées aiguës des PAR ou de la PC d'origine génétique. Néanmoins, la place des modulateurs de CFTR reste à déterminer dans le cadre des PAR ou PC liées à CFTR (voir paragraphe spécifique).

Un suivi régulier, annuel, est recommandé dans le but d'évaluer la qualité de vie des patients, de dépister des douleurs chroniques, ou des complications à type d'IPE, de dénutrition, de diabète ou d'ostéoporose. La PC est connue pour augmenter le risque de développer un cancer du pancréas. Ce dernier semble plus fréquent chez les patients atteints de MV que dans la population générale (Maisonneuve 2017) et les variants de CFTR ont été associés à un risque accru de cancer du

pancréas (McWilliams 2010, Hamoir 2013). Ces observations n'ont pas été confirmées dans cette étude rétrospective, réalisée entre 2002 et 2016, sur 1092 patients ayant eu une étude génétique pour PAR et PCI. Chez 240 patients porteurs d'un ou plusieurs variants de *CFTR* (sans variant des gènes *PRSS1* et *SPINK1*), il n'a pas été mis en évidence de sur-risque significatif de cancer du pancréas par rapport à un groupe témoin de patients avec PCI sans aucun variant détecté (Dermine, 2017).

Si la nécessité du dépistage du cancer du pancréas est clairement établie pour la PH liée à *PSSR1*, ce n'est donc pas le cas pour les PC liées à *CFTR*. Néanmoins, le médecin doit rester attentif aux symptômes d'alerte que sont les troubles abdominaux inexpliqués (douleur, ictere et/ou déclin nutritionnel) chez ces patients et rechercher un cancer du pancréas au moindre doute.

## Place des modulateurs

L'amélioration de la fonction pancréatique exocrine d'enfants et d'adolescents MV porteurs de mutations à fonction résiduelle de *CFTR* sous traitement par le modulateur de *CFTR* ivacaftor est démontrée dans plusieurs études par l'augmentation de l'élastase fécale associée à une diminution du trypsinogène, marqueur du stress pancréatique (Davies 2016, Nichols 2017, Rosenfeld 2018). L'étude de Rosenfeld, révèle également la diminution de la lipasémie et de l'amylasémie qui sont des marqueurs de l'inflammation pancréatique. L'ivacaftor pourrait agir en augmentant la sécrétion de  $\text{HCO}_3^-$  dans les canaux pancréatiques et donc l'activité des enzymes (Gelfond 2017)

Il a été constaté que, chez certains patients MV porteurs de mutations générant des défauts d'activation de *CFTR* ou à fonction résiduelle de *CFTR*, l'utilisation de l'ivacaftor pourrait être associée à une fréquence et à un taux de récidive réduits de PAR. Dans une étude rétrospective multicentrique, Carrion et al ont rapporté les cas de 6 patients CF, âgés de 11 à 65 ans, porteurs d'une mutation F508del et d'une mutation gating, et ayant des antécédents de PAR (entre 1 et 5 épisodes au cours des 12 mois précédents). Après initiation d'un traitement par ivacaftor, aucun des patients n'a présenté de récidive de PA dans les 3 à 12 mois suivant la mise en route du traitement (Carrion 2018). Une autre étude rétrospective rapporte les cas de 15 patients adultes CF, avec un âge moyen de 44 ans, dont 6 avaient présenté dans les 24 mois précédent l'initiation du modulateur *CFTR* (ivacaftor seul ou associé à tezacaftor ou lumacaftor) au moins 1 épisode de PA avec une médiane de 2 épisodes. Aucun des patients traités n'a eu d'épisode de PA durant la période de suivi dont la durée moyenne était de 36,7 mois (Akshintala 2019). Une autre étude a rapporté que l'utilisation de l'ivacaftor chez un patient porteur des mutations R117H/F508del souffrant de pancréatites récurrentes sans aucun symptôme respiratoire a montré une efficacité avec disparition des poussées de PA dès les 3 premiers mois de traitement (Johns 2019). A contrario, des cas de PA ont été rapportés chez certains patients MV traités par ivacaftor (Megalaa 2019, Petrocheilou 2020, Gould 2019) probablement du fait de la restauration partielle de la sécrétion pancréatique, exposant au risque de pancréatite.

Le rôle des modulateurs de CFTR comme traitement de la PAR en rapport avec une AL-CFTR ne peut être analysé aujourd’hui qu’à partir d’études ayant recruté des patients MV. Elles sont peu nombreuses et le nombre de patients inclus est faible compte tenu de la rareté de la PAR dans la MV, la plupart des patients étant IP. Néanmoins, toutes suggèrent que l’ivacaftor pourrait jouer un rôle thérapeutique en diminuant les PAR chez certains patients AL-CFTR porteurs de mutations de CFTR à fonction résiduelle en améliorant la conductance ionique canalaire. Mais seules des études prospectives incluant ce type de patients pourraient confirmer cette hypothèse.

#### **4.1.4 Rhino-sinusites chroniques et polypose naso-sinusienne**

##### **4.1.4.1 Epidémiologie, physiopathologie**

La rhinosinusite chronique (RSC) définie par une inflammation des voies nasales et des sinus d'une durée minimum de 12 semaines. Elle peut s'associer à une polypose nasosinusienne (PNS). Elle se manifeste par au moins deux des symptômes suivants : drainage mucopurulent antérieur et/ou postérieur ; obstruction nasale ; algie faciale ou céphalées, sensation de pression et/ou de plénitude ; diminution de l'odorat. L'origine de cette atteinte est multifactorielle : en lien avec des facteurs intrinsèques (anomalie mucociliaire comme la MV, la dyskinésie ciliaire primitive, anatomique par ex la déviation septale, immunologiques, auto-immuns) et des facteurs extrinsèques (infection, tabagisme, pollution aérienne, toxique).

La prévalence de la RSC atteint 14% dans la population générale mais elle est constitutive chez tous les patients atteints de MV, même si l'incidence des symptômes rhinologiques rapportés spontanément par les patients reste faible (10 %) alors que lors de l'interrogatoire les patients rapportent une obstruction nasale (62 %), des troubles de l'odorat (12 %), des céphalées (32 %) et une rhinorrhée (64 %) (Prulières-Escabasse 2019, Watelet 2000). Elle est liée à la synthèse d'un mucus anormal générant une altération de la clairance muco-ciliaire ce qui favorise son infection et une inflammation locale avec obstruction des méats. Dans 2/3 des cas, une PNS s'associe à la RSC (Feuillet-Fieux 2011) alors qu'elle ne touche que 4% de la population générale.

##### **4.1.4.2 Contexte du diagnostic.**

Cette symptomatologie est rapportée dans différentes cohortes qui distinguent plusieurs cadres nosologiques : d'authentiques cas de MV ; des formes reliées à CFTR, en lien avec une dysfonction de CFTR mais dont le niveau n'atteint pas celui associé à une MV (AL-CFTR) ; des formes associées à CFTR, dans le cadre d'une pathologie multifactorielle (AA-CFTR), possiblement, en lien avec d'autres mutations génétiques (SCNN1, SLC26A9....) ; des formes retrouvées chez des hétérozygotes symptomatiques suggérant que la mutation sur un seul allèle peut créer une prédisposition à cette pathologie, peut être en lien avec des facteurs environnementaux (hétérozygotie symptomatique).

En effet, les patients porteurs d'une seule mutation *CFTR* rapportent plus fréquemment des symptômes rhinosinusiens que la population générale (36% vs 14% p<0,05) et ils sont sur

représentés dans la population de patients atteints de RSC (7% vs 2% p<0,04) (Wang 2000, Wang 2005]. La plupart ont un TS normal et une DDP nasale identique aux patients non atteints de MV. Ceci les classe parmi les AA-CFTR.

La présence d'une PNS depuis l'enfance, une pansinusite chronique purulente, la surinfection chronique des polypes nasaux, et au scanner l'hypoplasie des sinus frontaux et maxillaires, et la surinfection avec des germes comme *Pseudomonas.aeruginosa* sont évocateurs de MV ou d'une AL-CFTR et réalisent un tableau de « sinusite chronique atypique » (ACS), (Coste 2004, Calton 2017, Raman 2002, Wang 2000).

L'étude pédiatrique de Raman note une prévalence de variants de *CFTR* supérieure à celle de la population générale (12,1% vs 3%) suggérant que la présence d'1 seul variant pathogène est suffisante pour diminuer la clairance muco-ciliaire et favoriser l'atteinte rhino-sinusienne. Par ailleurs, dans cette étude, 3 enfants parmi les 58 enfants sans variant retrouvé sur un panel de 87 mutations avaient un TS intermédiaire, laissant à penser qu'ils étaient possiblement porteurs d'un autre variant *CFTR*, non recherché dans le panel. (Raman 2002).

En parallèle, une étude de prévalence chez l'adulte retrouve 11 patients sur 147 porteurs d'une mutation classique de la MV soit 7% de la cohorte. Parmi ces patients, 1 est diagnostiqué atteint de MV devant un tableau typique, génétique, fonctionnel et clinique. Deux autres, présentaient un 2eme variant compatible avec une AL-CFTR après séquençage complet du gène *CFTR*. Onze autres étaient porteurs du variant c.1210-12T[5] (T5) mais avec TS et DDP nasale normaux. Ces études montrent qu'il y a donc un vrai intérêt à pousser les explorations en cas de symptôme évocateur même si le TS est normal, par séquençage du gène *CFTR* et exploration fonctionnelle de *CFTR* afin de ne pas méconnaître un AL-CFTR ou même une MV. La normalité du TS et l'absence d'atteinte multi-organes comme dans la MV amène à sous diagnostiquer ces patients (Johnson 2020).

#### **4.1.4.3 Algorithme du diagnostic**

La rhinoscopie antérieure recherche une hypertrophie des cornets, une déviation septale. La nasofibroscopie permet la recherche de polypes nasosinusiens et recherche une congestion des méats moyens, zone de drainage des sinus ethmoïdes et maxillaires.

Il est recommandé de pratiquer un prélèvement à visée bactériologique au niveau des méats en cas de sécrétions purulentes, à la recherche notamment de germes évocateurs comme *P. Aeruginosa* ou *S. aureus*.

La TDM des sinus est l'examen de référence pour caractériser l'atteinte sinusienne, notamment avant chirurgie. Elle évalue l'existence d'épaississements muqueux, des opacités avec parfois niveau liquide et des érosions osseuses, voire la présence de mucocèles.

Il faut particulièrement suspecter la présence d'une mutation de *CFTR* chez les patients atteints de RSC si les éléments suivants sont présents : PNS dès l'enfance, pansinusite purulente chronique,

hypoplasie des sinus frontaux et maxillaires, atteinte pulmonaire chronique ou infertilité (Coste 2004, Calton 2017).

Le diagnostic différentiel a pour objectif d'éliminer d'autres causes de RSC et/ou de polyposé nasosinusien. Par définition, ces pathologies ont en commun une maladie inflammatoire multifactorielle auto-entretenue avec des facteurs étiologiques intrinsèques et extrinsèques : en particulier la dyskinésie ciliaire primitive, un déficit immunitaire, une hypothyroïdie, une origine autoimmune comme la granulomatose avec polyangéite, une vascularite type Churg et Strauss, et une cause allergique comme le syndrome de Widal.

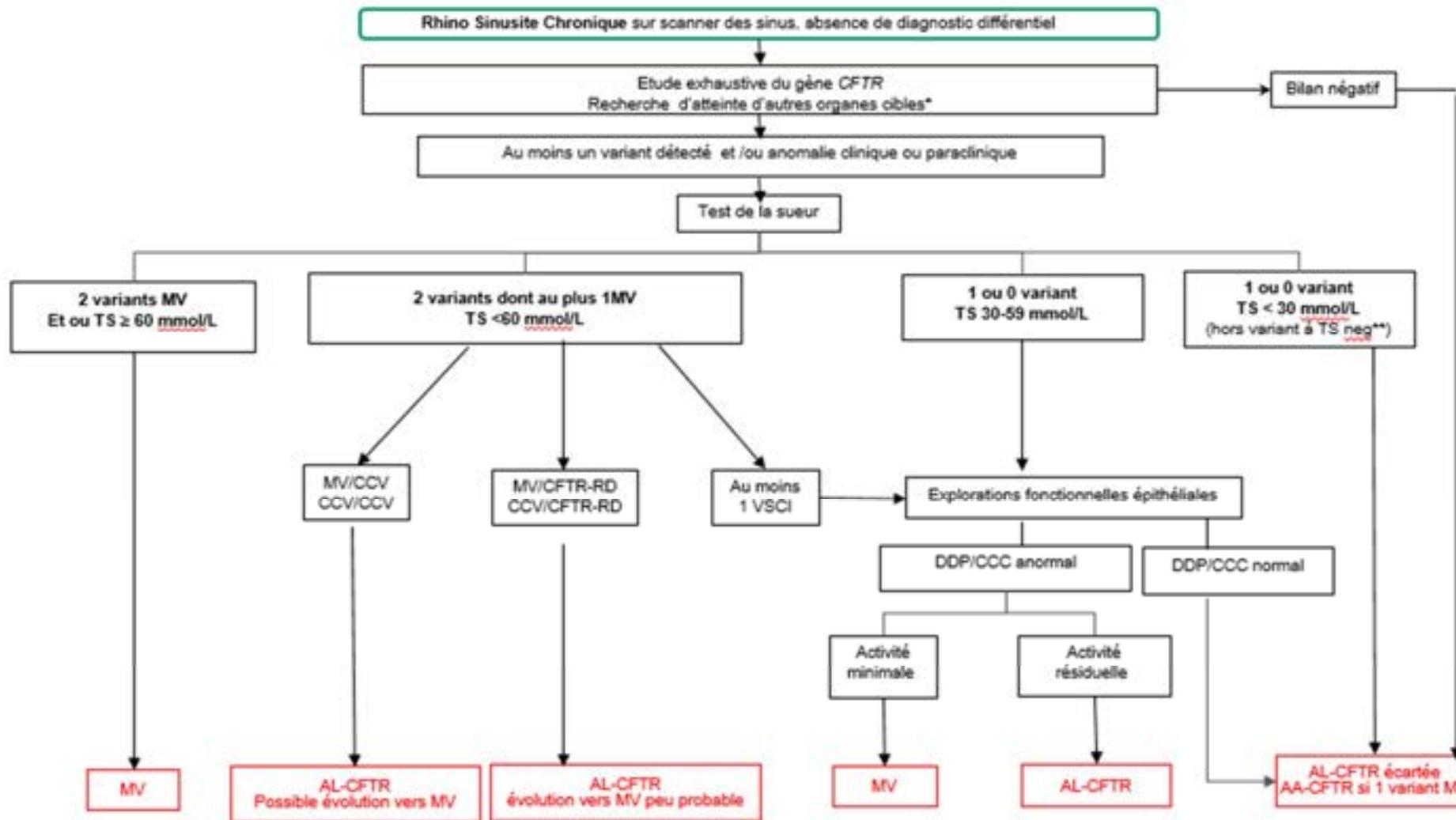
Les facteurs extrinsèques comprennent une atteinte infectieuse chronique, une atteinte fongique allergique, le tabac, la pollution aérienne ou toxique.

En l'absence d'anomalie, on réalise une étude exhaustive du gène *CFTR*, qui est couplée à un TS et à un bilan clinique et paraclinique à la recherche d'une atteinte des autres organes cibles potentiellement atteints (scanner thoracique à la recherche de DDB, ECBC) et sur point d'appel, recherche de pathologie pancréatique (échographie abdominale et dosage élastase fécale) ou urologique (spermogramme, échographie prostatique).

En cas de mise en évidence d'au moins 1 variant du gène *CFTR* et/ou d'une anomalie clinique, le TS est réalisé.

- 1- Le diagnostic de MV est confirmé, si le TS est  $\geq$  à 60 mmol/L quel que soit le résultat de l'étude génétique et/ou si l'on retrouve 2 variants MV, un sur chaque allèle.
- 2- Le diagnostic de MV est écarté si le TS est  $<$  à 30 mmol/L sauf si on détecte un variant associé à un TS négatif (voir page 15)
- 3- Si le TS est  $<60$  mmol/L l'étude génétique peut retrouver plusieurs cas
  - un variant MV à TS négatif en *trans* d'un variant MV permet de poser le diagnostic de MV
  - un variant CCV en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une possible évolution vers la MV
  - un variant CFTR-RD en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une très faible probabilité d'évolution vers une MV
  - 2 variants dont au moins un variant de signification clinique inconnue (VSCI). L'algorithme vise à déterminer le caractère pathogène de ce variant. Dans ce cadre, on peut proposer, si c'est possible, la pratique de tests fonctionnels épithéliaux visant à explorer le transport ionique trans-épithélial (en particulier DDP nasale, CCC sur biopsie rectale). Si les tests sont normaux, le variant est considéré non pathogène et le diagnostic est écarté. Si les tests montrent l'absence d'activité de CFTR ( $< 5\%$  de la normale), le variant VSCI est reclassé comme MV et le patient est diagnostiqué atteint de MV ; si les tests montrent une activité résiduelle mais  $< 50\%$  de la normale, le variant VSCI est considéré comme pathogène non MV (CCV ou CFTR-RD) ce qui permet de poser le

diagnostic d'AL-CFTR. Ces tests ne sont proposés que dans des centres ultraspécialisés et restent difficiles d'accès. Si le diagnostic n'est pas clarifié, soit parce que les tests n'ont pas pu être réalisés, soit parce qu'ils ne sont pas concluants, le suivi en CRCM reste recommandé.



**Abréviations:** CRS: rhino-sinusite chronique, MV: mucoviscidose, TS: test de la sueur, CCV: conséquence clinique variable, VSCI: variant à signification clinique inconnue, DDP: différence de potentiel (nasal), CCC: courant de court-circuit (rectal), AL-CFTR: affection liée à CFTR

**Principaux variants MV ou CCV à TS négatifs:** c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T), c.3140-26A>G (3272-26A>G), c.349C>T (R117C), c.617T>G (L206W), c.1040G>A (R347H) et c.3454G>C (D1152H). Autres mutants dans l'annexe 7.

#### 4.1.4.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques

La prise en charge de l'atteinte rhinosinusienne chronique a pour but d'améliorer le drainage mucociliaire, de limiter la colonisation bactérienne des sinus, premier site de colonisation et de réservoir, et d'améliorer la symptomatologie notamment l'obstruction nasale.

##### Prise en charge médicale

Les lavages de nez sont essentiels. Ils permettent d'améliorer le drainage muco-ciliaire.

Ils sont réalisés au sérum physiologique ou à l'eau de mer avec un volume suffisant de 30 à 60 ml par fosse nasale, une à deux fois par jour voire plus en cas d'encombrement. Une étude montre cependant que même après chirurgie, les lavages de sérum physiologiques n'irriguaient pas les sinus frontaux et sphénoïdaux et que moins de 50% des atteintes maxillaires diminuaient de volume après lavages (Anaes 2018).

Les rhinocorticoïdes diminuent la PNS et améliorent l'aspect endoscopique rhinosinusien mais leur effet sur la diminution des symptômes reste encore discuté. (Safi 2019).

Les antibiotiques topiques ou nébulisés par voie nasale (Tobramycine, Colistine) permettent de lutter contre l'infection. Une étude contrôlée randomisée a montré la diminution de la charge bactérienne sinusienne après aérosols de tobramycine versus placebo et l'amélioration significative du score SNOT-20 (20-item Sino-Nasal Outcome Test évaluant la qualité de vie sur les symptômes rhinosinusiens). (Mainz 2014). La réalisation de lavages nasaux avec tobramycine après chirurgie sinusienne (classique ou par voie endoscopique) diminue par ailleurs le risque de réopérer à 1 an (Moss 1995).

La Dornase alpha permettrait de diminuer significativement les symptômes rhinosinusiens. Cependant une seule étude prospective contrôlée en double aveugle de petite taille a été réalisée (23 patients). Le SNOT-20 s'améliore significativement en comparaison du groupe placebo ( $p=0,017$ ) (Mainz 2014).

##### Prise en charge chirurgicale

La chirurgie sinusienne s'effectue par voie endoscopique (méatotomie moyenne, évidemment ethmoïdale) et est proposée lorsque les méats sinusiens sont obstrués par des polypes qui ne permettent pas l'accès de ces régions.

La chirurgie sinusienne doit être accompagnée d'un traitement local régulier au long cours.

##### Place des modulateurs de CFTR

2 études observationnelles et plusieurs case reports ont démontré une amélioration de l'atteinte rhinosinusienne sous Ivacaftor. La première étude notait une amélioration du SNOT-20 dans ses dimensions rhinologiques (rhinorrhée, écoulement nasal postérieur, sécrétions épaisses), psychologiques (fatigue, troubles de la concentration, tristesse) et sur la qualité du sommeil à 1, 3

et 6 mois du début du traitement chez 129 patients porteurs de la mutation G551D (McCormick 2019).

La seconde étude, prospective, évaluait l'amélioration des paramètres scanographiques avant et à 1 an de l'initiation d'Ivacaftor chez 12 patients porteurs de la mutation G551D. On constatait une amélioration significative pour tous les patients sauf 1 dont l'aspect TDM était déjà normal avant traitement. 7/12 patients présentaient une atteinte sévère avant Ivacaftor et plus aucun à 1 an post traitement (Sheikh 2015).

D'autres case reports relataient même une résolution complète de la RSC voire une disparition complète des symptômes (Chang 2015, Hayes 2014). Ceci est conforté par une étude prospective monocentrique observationnelle plus récente de 2020, étudiant également l'impact d'Ivacaftor dans une cohorte de 8 patients rapportant l'amélioration de l'aspect scanographique, du NO nasal, des symptômes cliniques et de l'aspect endoscopique (Gostelie R 2020).

Seules 2 études ont étudié l'impact de la trithérapie modulatrice sur l'atteinte rhinosinusienne de la MV. DaMango et al a étudié de manière prospective 43 patients. La qualité de vie (CFQ-R) et les symptômes rhinosinusiens s'amélioraient de manière significative après 3 mois de traitement (DiMango 2021). Ces résultats sont confirmés chez des patients atteints de MV F508del homozygotes ou hétérozygotes F508del/autre mutation, et préalablement déjà traités par d'autres modulateurs. Il semblerait même que l'amélioration soit plus significative en cas de traitement par modulateurs auparavant (Douglas 2021).

Ces résultats montrent l'intérêt des modulateurs du CFTR dans l'atteinte rhinosinusienne de la MV. On pourrait extrapoler leur intérêt chez des patients porteurs d'une dysfonction du CFTR avec retentissement clinique limité (AL-CFTR franchement symptomatique), afin de mieux contrôler les symptômes et d'éviter une dégradation clinique et fonctionnelle ultérieure. Le prix des molécules reste un frein à l'élargissement de leur utilisation.

#### **4.1.5 Kératodermie palmoplantaire aquagénique (KPPA)**

##### **4.1.5.1 Epidémiologie, physiopathologie**

La kératodermie palmoplantaire aquagénique (KPPA) est une affection rare caractérisée lors de l'examen histopathologique par une orthohyperkératose avec coloration anormale de la couche cornéenne, une acrosyringie dilatée et cutanée, une hyperplasie des glandes eccrines, et une augmentation des capillaires autour et adjacents aux glandes eccrines. Les lésions touchent exclusivement les paumes et les plantes des pieds. Les patients sont généralement des jeunes femmes (~90%) et après quelques minutes d'exposition à l'eau, une fine éruption papuleuse blanche apparaît sur les paumes, accompagnée ou non d'œdèmes, de prurit, de brûlures et de douleurs. Contrairement aux autres kératodermies palmoplantaires, les paumes et les plantes retrouvent un aspect normal à l'arrêt de l'immersion.

#### **4.1.5.2 Contexte du diagnostic**

La description initiale de cette affection date du début des années 1970, Elliott RB observant que les patients atteints de MV développent une kératodermie palmoplantaire induite par une brève exposition à l'eau tiède (Elliott 1974). Cette observation resta anecdotique jusqu'au début des années 2000 où plusieurs équipes observèrent que plus de la moitié des patients atteints de MV présentaient une KPPA lorsque celle-ci était recherchée (Lowes 2000, Katz 2005, Garçon-Micel 2010, Arkin 2012, Weil 2013). Plus récemment, des patients atteints de MV avec un génotype *CFTR* identifié ont été décrits comme présentant cette affection de la couche cornée palmo-plantaire avec apparition de papules translucides lors d'une exposition brève à l'eau tiède (Tchernev 2014, D'Erme 2014, Nadal 2015, Cabrol 2016). Cette association entre MV et KPPA a amené des équipes à évoquer l'implication de la protéine *CFTR* dans la survenue de la KPPA isolée (Rongioletti 2012). Une étude portant sur 112 patients atteints de KPPA a montré que 37 (soit 33%) d'entre eux/elles étaient porteurs/euses d'au moins un variant du gène *CFTR*, et que ~6% d'entre eux/elles étaient hétérozygotes composites, associant alors un variant pathogène sévère à un variant pathogène modéré (Raynal 2019, Martin Carmona 2020). Cet excès d'hétérozygotes simples pour des variants *CFTR* suggère que ces variants constituaient des facteurs de prédisposition à la KPPA. Les quelques observations rapportant des variants du gène *CFTR* à l'état hétérozygote composite peuvent alors conduire à poser le diagnostic d'AL-*CFTR*. En général, ces patients ne présentent pas d'autres symptômes évocateurs de MV. Le gène *CFTR* est à ce jour le seul gène connu impliqué dans les KPP strictement aquagéniques.

#### **4.1.5.3 Algorithme du diagnostic**

Le diagnostic de KPPA doit être posé en consultation de dermatologie spécialisée, avec recherche de signes dermatologiques en dehors d'une immersion dans l'eau et interrogatoire à la recherche d'autres cas familiaux. Ces éléments ne seraient alors pas évocateurs d'une atteinte liée à *CFTR*. Devant une KPPA hors contexte de MV ou autre AL-*CFTR* connue, le patient doit être adressé en consultation de CRCM afin que d'autres signes évocateurs de MV soient recherchés et qu'un TS soit pratiqué. Une étude approfondie du gène *CFTR* est alors prescrite.

#### **4.1.5.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques**

Le traitement des KPPA repose essentiellement sur des soins locaux avec l'utilisation de topiques kératolytiques. De façon intéressante, cependant, les thérapies ciblées par les modulateurs de *CFTR*, qui améliorent l'atteinte respiratoire des patients atteints de MV, vont jusqu'à la résolution de la KPPA chez ces patients (Torres-Laboy 2021).

## 4.2 Affections associées à CFTR (AA-CFTR)

### 4.2.1 Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA)

#### 4.2.1.1 Épidémiologie, physiopathologie

L'Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) est une pathologie respiratoire chronique secondaire à une réaction d'hypersensibilité complexe (type 1, 2 et 4), décrite initialement par Hinson (Hinson 1952) en 1952, survenant le plus souvent sur des terrains prédisposés (asthme, MV) et liée à la présence dans l'arbre trachéo-bronchique d'un champignon ubiquitaire *Aspergillus fumigatus*. La dysfonction CFTR affecterait la cellule épithéliale et la clairance des spores d'*Aspergillus* dans les voies aériennes inférieures (Miller 1996) et favoriserait également une réponse inflammatoire Th2 excessive (Chaudhary 2021).

La présentation clinique varie selon les individus associant un asthme réfractaire à des critères biologiques et d'imagerie définis en 2013 par Argawal :

- 2 critères obligatoires :
  - la présence d'une hypersensibilité immédiate au test cutané « prick test » (peu utilisés en pratique)
  - ou des IgE spécifiques aspergillaires  $> 0,35 \text{ KUA/l}$  et des IgE totales  $> 1000 \text{ UI/ml}$
- Au moins 2 sur 3 autres critères :
  - la présence d'anticorps précipitants ou d'IgG positifs envers *Aspergillus fumigatus* ;
  - la présence d'anomalies radiologiques évocatrices (impactions mucoïdes, bronchectasies centrales, infiltrats) ;
  - la présence d'une hyperéosinophilie  $> 500/\text{mm}^3$  en l'absence de corticoïdes en cours ou préalable.

La présence d'*Aspergillus* dans les crachats n'apparaît pas dans cette définition.

La présence de mucus hyperdense accessible aussi bien en TDM non injecté qu'en IRM, est un nouveau critère radiologique, plus récemment proposé avec une spécificité de 100% mais une sensibilité de 30% (Argawal 2010, Patterson 2016).

#### 4.2.1.2 Contexte du diagnostic

La prévalence de l'ABPA en France est de 145/100 000 habitants (Gangneux 2016), elle complique l'évolution de 6 à 18% des patients atteints de MV (Armstead 2014) et plus de la moitié des adultes sont colonisés à *Aspergillus fumigatus* (Liu 2013).

Une méta-analyse rapporte un risque 10 fois plus élevé de porter une mutation de CFTR chez les patients avec ABPA par rapport à la population générale et 5 fois plus élevé par rapport aux asthmatiques (Argawal 2010). Dans l'étude de Gamaletsou le screening génétique de 156 patients avec ABPA repère au moins 1 mutation de CFTR chez de 11.5% d'entre eux. Dans cette étude, 7.5% des patients sont hétérozygotes F508del et présentent une plus grande fréquence de rhino-sinusite. Le lien entre CFTR et les formes graves ou cortico-dépendantes d'ABPA n'est pas

formellement établi et les études publiées restreintes en nombre et en effectif ne permettent pas de le démontrer. (Gameletsou 1989, Eaton 2002). Les mutations retrouvées sont principalement F508del et R117H avec la mise en évidence de mutations plus rares de lorsque le screening est plus complet. Le TS, chez les patients hétérozygotes, est intermédiaire dans 38,5% des cas (5.5% entre 40 et 59 mmol/L et 33% entre 30 et 39 mmol/L (Lebecque 2010)

#### **4.2.1.3 Diagnostic**

Le diagnostic d'ABPA se base sur les critères cliniques, biologiques et d'imagerie précédemment cités. Devant le diagnostic d'ABPA hors contexte de MV ou AL-CFTR connue, la présence d'une rhino-sinusite chronique, ou une forme grave et/ou cortico-dépendante doit faire réaliser un TS et adresser le patient à un CRCM où un screening génétique est réalisé.

#### **4.2.1.4 Prise en charge, aspects thérapeutiques**

La prise en charge thérapeutique de l'ABPA n'est pas consensuelle (Tompkins 2021) et repose sur

- Les mesures de préventions et d'éviction avec l'aide dans la mesure du possible d'un conseiller médical en environnement intérieur ;
- le drainage bronchique reposant sur la kinésithérapie, l'hydratation, les nébulisations de bronchodilatateurs et d'agents mucolytiques, et plus rarement l'ablation des moules bronchiques *in situ* par fibroscopie notamment en pédiatrie et enfin les traitements médicamenteux.
- La corticothérapie systémique est le traitement de référence en phase initiale et lors des exacerbations avec plusieurs schémas thérapeutiques publiés. La place des antifongiques azolés oraux est plus débattue (Stevens 2003). D'autres options thérapeutiques comme les biothérapies notamment l'omalizumab (anticorps anti IgE) et plus récemment le mépolizumab (anticorps anti IL5) ont fait l'objet d'études observationnelles et pourraient dans l'avenir représenter une alternative dans les formes cortico dépendantes. (Eaton 2002)

Concernant les modulateurs de CFTR (Bercusson 2021), leur intérêt dans le traitement de l'ABPA dans la MV n'est pas clair à ce jour, majoré par le problème d'interactions avec les azolés via CYP3A. Toutefois, des études de registre ont démontré une diminution de la colonisation et de la prévalence *d'Aspergillus fumigatus* chez les patients sous Ivacaftor avec un génotype G551D et une étude récente (Bui 2021) a démontré un effet immunomodulateur de ivacaftor, du lumacaftor et l'association des deux dans la réaction inflammatoire induite par *Aspergillus*.

#### **4.2.2 Cholangite sclérosante primitive (CSP)**

La CSP est caractérisée par une atteinte inflammatoire et fibrosante des voies biliaires intra- et extra-hépatiques, dont le diagnostic repose sur la mise en évidence d'irrégularités des voies biliaires à la cholangiographie. Si la CSP d'origine auto immune est vraisemblablement la forme la plus fréquente de CSP, dont l'incidence a été estimée à 0.23/ 100.000 enfants et 6 à 10/100 000 chez les adultes

(Deneau 2017). Plusieurs études suggèrent qu'une anomalie de fonction de la protéine CFTR pourrait favoriser le développement d'une CSP, et plus particulièrement chez ceux porteurs d'une colite inflammatoire (Pall 2003). Une étude récente portant sur 38 patients (âge  $46 \pm 13$  ans) porteurs d'une CSP démontre la mise en évidence de variants *CFTR* chez 19% et de polymorphismes *CFTR* chez 50% d'entre eux (Werlin 2018). Seize pour cent des patients avaient un TS pathologique et 55% un test intermédiaire et 12% un test de DDP anormal. Un patient était porteur d'une pancréatite chronique et présentait une infertilité. Ces résultats sont à confirmer car le recrutement de l'étude est probablement biaisé. Ils indiquent au minimum que *CFTR* est potentiellement un facteur favorisant dans la genèse de la CSP.

Le pronostic de la CSP associée à *CFTR* reste inconnu et il n'est pas démontré qu'il soit plus sévère que pour une autre étiologie.

### **Diagnostic et recommandations pour la prise en charge**

Le diagnostic de CSP est évoqué devant tout signe d'atteinte hépatique clinique ou biologique avec, à l'échographie, une dilatation irrégulière des voies biliaires extra- ou intra-hépatiques, ou un épaississement pariétal irrégulier de la voie biliaire principale. La cholangio-IRM permet de confirmer le diagnostic. Le diagnostic de CS peut être suggéré à l'histologie du foie lorsqu'elle met en évidence un aspect de cholangite inflammatoire des petits canaux biliaires ou une fibrose concentrique péri-canalaire, mais l'absence de signes d'atteinte biliaire à l'histologie du foie ne permet pas d'exclure le diagnostic de CSP.

La recherche de l'association d'une autre atteinte d'organe est justifiée ainsi que la réalisation d'un TS. La recherche de variants *CFTR* n'est recommandée qu'en cas de TS  $> 30$  mmol/L. Elle comportera un screening exhaustif du gène car les mutations retrouvées associées à la CSP sont rares.

L'objectif du traitement, qu'il soit médicamenteux ou endoscopique est d'éviter la cholestase. L'acide ursodésoxycholique (UDSC) est l'unique médicament disponible. Il stimulerait la sécrétion de bile et possèderait une action anti-inflammatoire et protectrice des cellules biliaires. La transplantation hépatique en dernier recours est indiquée en cas d'hypertension portale ou d'insuffisance hépatique.

## **4.3 Pédiatrie**

### **4.3.1 Les enfants présentant un diagnostic non conclu au DNN (DgNC)**

#### **4.3.1.1 Contexte du diagnostic**

Depuis la mise en place du programme national de DNN de la MV en 2002, la très grande majorité des diagnostics de MV est posée chez des nourrissons asymptomatiques ou pauci-symptomatiques à la suite d'un résultat positif au dépistage néonatal. Toutefois, des nourrissons présentant un diagnostic non conclu au DNN sont également rapportés. Leur prévalence est variable selon les populations et l'algorithme utilisé, allant de 1 à 6% en Australie et au Canada et jusqu'à 21% en

Californie (Kharrazi 2015). En France, depuis le retrait de la mutation R117H du kit du DDN, ce ratio est de 11% (Audrezet *et al.* 2020).

Le tableau 6 du document « argumentaire PNDS » synthétise les données de 5 études rétrospectives publiées à ce jour (Kharrazi 2015, Groves 2015, Levy 2016, Terlizzi 2019), dont une émanant du registre américain (Ren 2015) et 2 études prospectives (Ooi 2015, Munck 2020). Globalement, ces enfants deviennent exceptionnellement symptomatiques et restent suffisants pancréatiques pour l'immense majorité des cas (Rock 2020). Certains seront reclassés sur la base d'un TS positif et/ou l'identification ou la reclassification de variants MV (c'est-à-dire pathogène sévère, observé dans la MV, voir définition page 16). Cependant ces études sont difficilement comparables en raison d'une disparité des critères de définition des nouveau-nés ayant un DgNC et de définition de la conversion vers la MV. En effet, en dehors de la positivation du TS au-delà de 60 mmol/l, l'exhaustivité de l'analyse génétique n'est pas forcément précisée, et la durée de suivi n'est pas comparable, certains patients étant perdus de vue. Par ailleurs, la petite taille de certaines cohortes et le caractère rétrospectif de l'analyse limitent les conclusions.

A l'échelon individuel, il n'est pas clair de pouvoir prédire ceux qui vont développer une MV (Ooi 2015, Ooi 2019). Les nourrissons avec un TS initial intermédiaire semblent plus à risque de développer une MV par rapport à ceux qui ont un TS normal (Munck 2020, Kharrazi 2015).

Aucune étude n'a à ce jour caractérisé le risque de ces enfants d'évoluer vers une AL-CFTR bien que certains bébés présentent des génotypes compatibles. Ainsi sur 2441 enfants dépistés positifs en France entre 2002 et 2017, 273 ont un génotype compatible avec une AL-CFTR (comportant un variant CCV ou CFTR-RD en *trans* d'un variant MV, CCV ou CFTR-RD).

Cette classification est d'autant plus compliquée que dans cette population, on ne peut pas parler d'AL-CFTR proprement dit, mais plutôt de risque évolutif. En effet, ces bébés sont asymptomatiques alors que la classification des AL-CFTR implique une manifestation clinique. Ainsi l'algorithme décisionnel présenté ci-dessous vise à préciser le risque évolutif ultérieur (probablement à l'âge adulte) vers une AL-CFTR, et parmi ceux-ci ceux qui sont à plus haut risque de développer une atteinte pluri-organe symptomatique dans le cadre d'une MV

#### 4.3.1.2 Algorithme décisionnel

Les recommandations américaines publiées en 2009 (Borowitz 2009) européennes publiées en 2009 (Mayell 2009) actualisées en 2015 (Munck 2015) et nationales en 2017 (Sermet 2017) proposent de réaliser pour ces enfants une évaluation diagnostique initiale dans un CRCM. Les cas qui rentrent dans l'algorithme diagnostique visant à préciser le risque vers une AL-CFTR chez, après la recherche des variants fréquents du panel de DNN, sont les patients dont le génotype comporte au plus un variant MV et ayant soit un TS intermédiaire entre 30 et 59 mmol/L soit un test < 30 mmol/L avec un variant associé à un TS négatif. **En effet ces patients sont asymptomatiques et ne rentrent pas dans la définition d'une AL-CFTR proprement dite, mais il faut évaluer leur risque de le devenir.** Ces patients doivent avoir un bilan qui inclut :

- un examen clinique et une évaluation anthropométrique
- la recherche de manifestations infra cliniques : par un dosage de l'élastase fécale et, au moindre doute, par un examen des sécrétions bronchiques par crachat induit en l'absence de sécrétions
- l'étude exhaustive du gène *CFTR*.

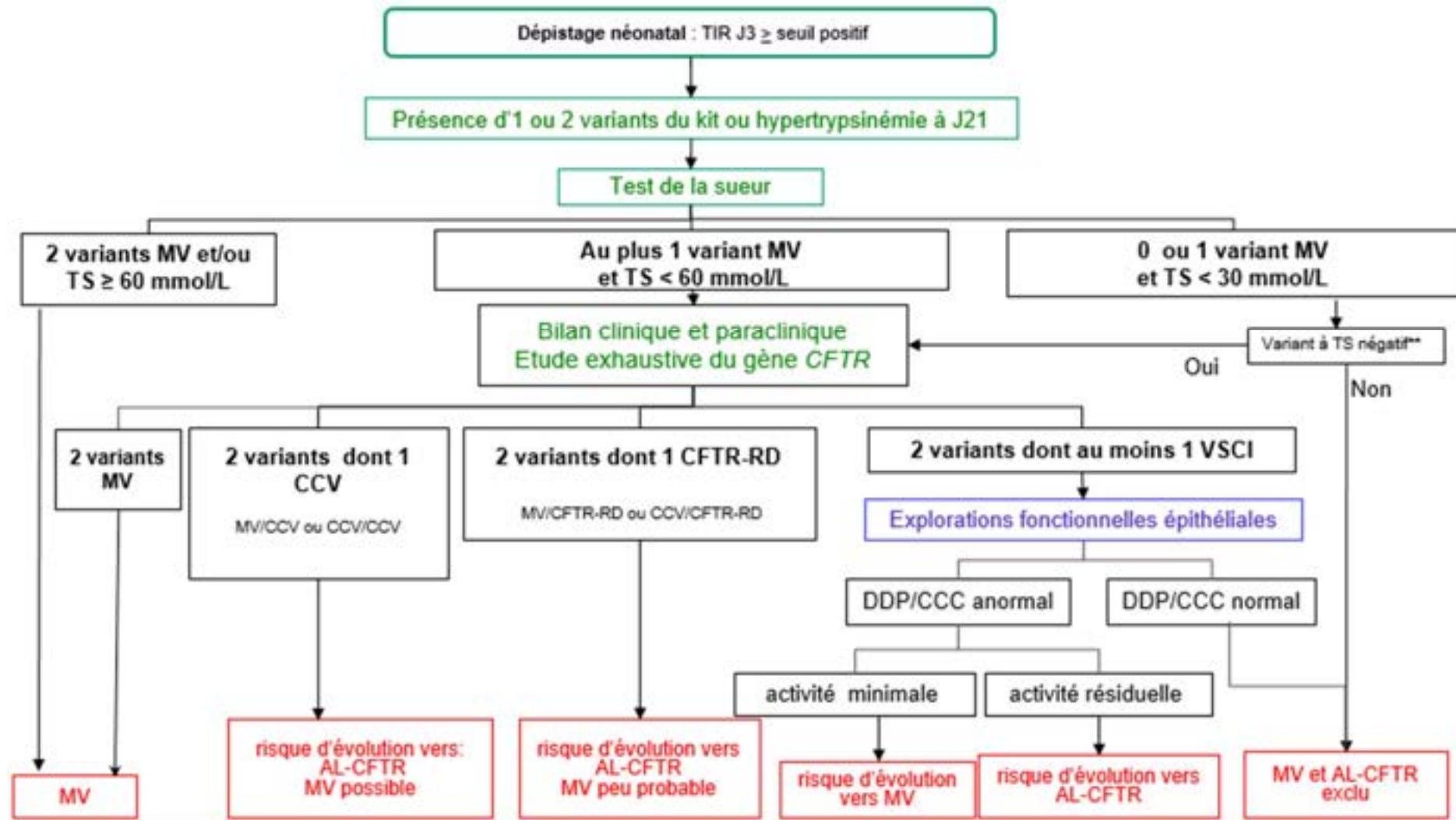
La stratégie de diagnostic ultérieure est détaillée dans l'algorithme selon les cas suivants :

- Le diagnostic de MV est écarté si le TS est < à 30 mmol/L, et qu'au plus 1 variant est identifié (en dehors du cas d'un variant MV associé à un TS négatif qui renvoie au cas n°3 (voir page 15))
- Le diagnostic est confirmé si le TS se positive ( $\geq$  à 60 mmol/L) quel que soit le résultat de l'étude génétique, ou si on retrouve 2 variants MV, un sur chaque allèle.
- En l'absence de conclusion (TS entre 30 et 59 mmol/L), l'étude génétique peut retrouver plusieurs cas qui permettent d'anticiper un risque théorique.
  - (i) Un génotype associant un variant CCV en *trans* d'un variant MV ou CCV permet d'anticiper un risque d'AL-CFTR avec une possible évolution vers la MV dans des proportions inconnues (d'emblée ou après développement d'une AL-CFTR)
  - (ii) Un génotype associant un variant CFTR-RD en *trans* d'un variant MV ou CCV permet d'anticiper un risque d'AL-CFTR avec une très faible probabilité d'évolution, vers une MV. C'est le cas des enfants porteurs du génotype F508del/R117H-7T, mais ils ont également un très faible risque d'évolution vers une AL-CFTR compte tenu de la faible pénétrance de R117H-7T pour une AL-CFTR.
  - (iii) Un génotype comportant au moins un variant de signification clinique inconnue (VSCI). L'algorithme vise à déterminer le caractère pathogène de ce variant. On peut proposer de réaliser si c'est possible, des tests fonctionnels épithéliaux visant à explorer le transport ionique trans-épithélial (DDP nasale, CCC sur biopsie rectale). Si les tests sont normaux, le variant est considéré non pathogène et le diagnostic est écarté. Si les tests montrent l'absence d'activité de CFTR (< 5% de la normale), le 2<sup>ème</sup> variant est reclassé comme MV (pathogène sévère) et le patient est considéré à haut risque évolutif vers une MV ; si les tests montrent une activité résiduelle mais < 50% de la normale, le 2<sup>ème</sup> variant est considéré comme pathogène non MV (CCV ou CFTR-RD). Le patient est alors considéré à risque évolutif vers une AL-CFTR. Ces tests ne sont proposés que dans des centres ultraspecialisés et restent difficiles d'accès. Si le diagnostic n'est pas clarifié, le suivi en CRCM reste recommandé.

A ce stade, l'information aux parents doit être la plus complète sur les possibilités évolutives et sur la coordination de prise en charge en CRCM. Dans le contexte de l'identification des patients à risque de développer une AL-CFTR, objet du PNDS, l'information doit viser à expliquer l'information génétique, sur quoi elle est basée ainsi que ses incertitudes. Elle doit leur faire comprendre les évolutions possibles et les modalités de suivi, les signes d'alerte potentiels et pourquoi un suivi est

important au CRCM, mais aussi conjointement avec le médecin traitant. Le médecin traitant doit être informé pour ce suivi combiné.

Un conseil génétique doit être proposé lors de l'identification d'un ou plusieurs variants du gène *CFTR*, afin d'en expliquer les conséquences pour la prise en charge tant au niveau individuel que pour l'ensemble de la famille.



**Abbreviations:** TIR: Trypsine Immuno Réactive, MV: mucoviscidose, TS: test de la sueur, CCV: conséquence clinique variable, VSCI: variant à signification clinique inconnue, DDP: différence de potentiel (nasal), CCC: courant de court circuit (rectal), AL-CFTR: affection liée à CFTR ; AA-CFTR: affection associée à CFTR  
**Principaux variants MV ou CCV à TS négatifs:** c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T), c.3140-26A>G (3272-26A>G), c.349C>T (R117C), c.617T>G (L206W), c.1040G>A (R347H) et c.3454G>C (D1152H). Autres variants dans l'annexe 7.

#### 4.3.1.3 Prise en charge et suivi

Une prise en charge similaire à la MV dans le cadre du DgNC à la suite du DNN, n'est pas justifiée. Le suivi de ces patients visera la recherche d'une évolution infraclinique en particulier une baisse de l'élastase pancréatique, et la mise en évidence d'une bactérie dans les sécrétions bronchiques. Le suivi de nourrissons présentant un DgNC (CRMS/CFSPID) a fait l'objet de recommandations nationales françaises (Sermet 2017), américaines (Borowitz 2009) et européennes (Mayell 2009, Munck 2015, Barben 2016, Barben 2021). Les recommandations sur le suivi de ces CRMS/CFSPID publiées entre 2009 et 2021 sont synthétisées dans l'annexe 11. Elles recommandent toutes un suivi par un médecin formé à la MV avec une visite à l'âge de 2-3 mois, à 6 mois, à 12 mois puis annuellement, en adaptant ce rythme à la clinique. Seules les recommandations les plus récentes (Barben 2021) discutent du suivi des enfants au-delà de 6 ans et des adolescents. Aucune de ces recommandations ne précise le suivi des enfants au-delà de 6 ans ou des adolescents (Barben 2021). Après le diagnostic, il est recommandé de contrôler le Cl<sup>-</sup> sudoral. Tous les consensus soulignent l'importance d'une adaptation du suivi à la clinique, avec avis du médecin spécialiste si signes digestifs ou respiratoires trainants. Les recommandations divergent sur : la réalisation des examens cyto-bactériologiques des crachats : elles sont demandées systématiquement à chaque visite pour Borowitz et Sermet mais à la demande pour Munck, Mayelle et Barben.

**Le bilan initial** est habituellement fait entre 1 et 3 mois (en fonction de la réalisation du dépistage et du bilan génétique complémentaire). Il comporte un interrogatoire précis sur l'état respiratoire, une évaluation nutritionnelle, un dosage de l'élastase fécale, et de façon conjointe à l'évaluation kinésithérapeutique de l'encombrement et une bactériologie des sécrétions, qui peut être réalisée par crachat induit.

Les parents rencontrent l'infirmière coordinatrice et, s'ils le souhaitent, la diététicienne, la psychologue et l'assistante sociale. Les autres évaluations sont fonction de cas particulier : imagerie pulmonaire, ionogramme urinaire si test de la sueur intermédiaire, Il leur est proposé de rencontrer un conseiller en génétique pour que leur soit expliquée la portée des résultats, si une grossesse ultérieure est envisagée et pour leurs apparentés majeurs.

**Le suivi recommandé par le PNDS** est détaillé en tableau 4. Il est basé sur les principes suivants: Le suivi se fera au minimum à 6 mois, 12 mois puis tous les ans jusqu'à 6 ans. La limite de 6 ans est choisie car pour les enfants qui restent asymptomatiques à 6 ans avec une croissance, une fonction respiratoire et un scanner thoracique normaux, associé à un TS <30 mmol/l, le risque d'une conversion de diagnostic en MV est très faible (Munck 2020).

- 1) Le suivi se fait dans un CRCM en prenant les précautions rigoureuses de prévention des infections croisées (Munck 2015, Borowitz 2009, Barben 2021). Il se fera autant que possible dans des consultations dédiées, hors consultation pour MV.

2) Le suivi est conjoint avec le médecin traitant (MT).

Celui-ci sera informé au minimum par courrier (annexe 12). Le médecin de ville recevra un compte rendu précis qui mentionne les signes qui doivent engendrer un contact avec le CRCM, tels qu'une toux persistante voire une prise pondérale insuffisante.

3) Les résultats du bilan de 6 ans sont discutés avec les parents, conduisant à une décision partagée concernant le suivi ultérieur.

- Soit le suivi a permis de porter un diagnostic de MV ou de reclassification en AL-CFTR du fait de la survenue de symptômes pancréatites, DDB, sinusite symptomatique...) et de la mise en évidence d'un génotype et ou d'une dysfonction de CFTR compatibles, poursuite d'un suivi régulier avec un médecin de CRCM
- Soit l'enfant est resté asymptomatique, 3 cas peuvent être envisagés en fonction du contexte et à discuter avec la famille (Barben 2021).

(i) suivi poursuivi en CRCM à l'identique de ci-dessus

(ii) arrêt du suivi en CRCM et suivi ultérieur confié au médecin traitant qui restera vigilant en cas de symptômes pour adresser l'enfant au CRCM. Les parents doivent être clairement informés de la nécessité de consulter leur médecin de ville, si l'enfant présente de façon prolongée des symptômes pulmonaires ou abdominaux. Ils doivent être également informés que ces symptômes peuvent n'apparaître qu'à l'adolescence ou chez l'adulte. Il faut également les informer que chez le garçon il y a un risque d'infertilité par ABCD qui peut amener à recourir à la procréation médicale assistée. Un document d'information est rédigé pour la famille et le médecin traitant (Annexe 12).

(iii) arrêt du suivi en CRCM et suivi par le médecin traitant mais rendez-vous proposé lorsque l'enfant est adolescent (aux alentours de 14-16 ans). Cela permet de faire le point sur d'éventuelles pathologies et également de s'adresser directement à cette jeune personne pour lui expliquer son histoire médicale.

4) Le TS doit être répété. Les patients avec MV présentent une augmentation du chlorure sudoral pendant les 5 premières années de vie (Collaco 2016) et il est donc possible qu'en cas de variant pathogène, le TS se positive, ce qui permettra d'affirmer la MV. Après le diagnostic, il est recommandé de contrôler le TS à 24 mois, date où les positivations du TS sont le plus fréquemment rapportées. Deux TS positifs sont exigés pour confirmer un diagnostic de MV. Il est à contrôler au minimum à 6 mois et 24 mois si il reste intermédiaire.

5) L'évaluation de la bactériologie des sécrétions bronchiques se fait systématiquement au moment de la consultation annuelle au CRCM et en cas d'exacerbation pulmonaire. Si on n'obtient pas ou peu de sécrétions, le crachat induit est intéressant et sans risque chez les nourrissons.

- 6) L'élastase fécale est contrôlée à la visite des 1 an en raison de ses fluctuations au cours de la première année de vie (O'Sullivan 2013), elle n'est pas répétée systématiquement sauf en cas de symptômes évocateurs de malabsorption et au bilan 6 ans.
- 7) Une imagerie thoracique par scanner sans sédation avec des coupes inspiratoires à basse dose d'irradiation (irradiation équivalente à 3-5 radios de thorax) est proposée à 6 ans. Une alternative si le scanner est refusé par les parents est la réalisation d'une radio de thorax de référence.
- 8) L'étude de la fonction respiratoire est recommandée à 6 ans (au minimum une spirométrie). La technique de l'index de clairance pulmonaire (Downing 2016) peut être utile. Sa pratique reste limitée du fait de l'accès au test et de la difficulté de réaliser un test fiable chez l'enfant non-coopérant.

La question de la prescription des modulateurs chez ces patients n'est pas résolue. En cas de génotype compatible avec une AL-CFTR, la discussion de commencer les modulateurs d'emblée ou bien secondairement après l'apparition des symptômes est débattue et ne fait pas l'objet du PNDS.

**Tableau 4: Suivi recommandé pour les enfants dont le diagnostic n'est pas conclu au dépistage néonatal de la mucoviscidose (PNDS 2021)**

	Initial	3-6 mois	12 mois	2 ans	3 ans	4 ans	5 ans	6 ans*
<b>DIAGNOSTIC</b>								
Trypsinémie	X							
Test de la sueur	X	X	O	X	O	O	O	X
Génétique exhaustive de <i>CFTR</i>	X							
Elastase fécale 1	X	O	X	O	O	O	O	X
<b>CONSULTATION</b>								
Médicale	X	X	X	X	X	X	X	X
Infirmière coordinatrice	X	X	X	X	X	X	X	X
Kinésithérapeute	X	X	X	X	X	X	X	X
Diététique	O	O	O	O	O	O	O	O
Psychologue	O	O	O	O	O	O	O	O
Assistante sociale	O	O	O	O	O	O	O	O
<b>SUIVI</b>								

Expliquer la situation clinique au médecin traitant et actualiser si diagnostic change	X	O	O	O	O	O	O	X
Conseil génétique	X							
Evaluation respiratoire et kinésithérapeute	X	X	X	X	X	X	X	X
Evaluation nutritionnelle	X	X	X	X	X	X	X	X
Bactériologie des sécrétions bronchiques et si exacerbation	X	X	X	X	X	X	X	X
Radiologie (Scanner thoracique ultra low dose)	O	O	O	O	O	O	O	X
Index de clearance pulmonaire								O
Spirométrie								X

(X) indispensable ou fortement recommandé ; (O) en fonction du statut clinique ou à la demande de la famille ou à proposer à la famille ;

\*Evaluation à 6 ans pour discuter du suivi ultérieur avec la famille.

#### 4.3.2 Le diagnostic d'AL-CFTR sur symptômes en pédiatrie

La généralisation du DNN en 2002 fait en sorte que les enfants nés en métropole, DOM et TOM bénéficient tous de ce dépistage. Cela implique que le diagnostic d'AL-CFTR sur symptômes cliniques en pédiatrie ne concerne que les enfants ayant présenté un résultat négatif du DNN, ou les enfants nés hors du territoire national. Ces formes principalement diagnostiquées chez le grand enfant ou l'adolescent ont une présentation similaire à celles de l'adulte.

Ainsi, dans *CFTR-France* (date d'accès : 1<sup>er</sup> septembre 2021) 94 enfants non repérés au dépistage ont un diagnostic avant 17 ans (dont 64 nés avant 2002). 50 sont classés MV, sur la base de 2 variants MV, 30 ont un génotype compatible avec une AL-CFTR et une clinique de type AL-CFTR (DDB, pancréatites, symptômes ORL) ; 10 n'ont pas de diagnostic définitif ; 4 sont déclarés hétérozygotes asymptomatiques.

### 4.4 Conseil génétique dans les AL-CFTR

Le conseil génétique consiste, dans les AL-CFTR, à délivrer une information sur le risque pour le patient et son couple d'avoir un enfant atteint de MV, à accompagner de façon non directive les couples à risque dans leurs choix pour les grossesses ultérieures, et à sensibiliser les patients porteurs d'un variant MV ou CCV sur l'importance de transmettre l'information à leurs apparentés majeurs. L'impact modéré des variants CFTR-RD ne justifie généralement pas de les rechercher chez les apparentés majeurs asymptomatiques. Un(e) patient(e) atteint(e) d'AL-CFTR et porteur(se) d'un variant MV ou CCV a le risque de le transmettre à sa descendance, ce qui conduit à proposer une étude du gène *CFTR* chez son(sa) conjoint(e). L'identification de variants MV ou CCV chez les deux membres du couple amène à discuter des options de diagnostic prénatal, invasif ou non invasif, ou bien préimplantatoire. Les aspects génétiques, incluant le mode de transmission, pouvant être complexes selon les AL-CFTR, sont expliqués aux patients.

Pour les parents d'un enfant avec un DgNC, le conseil génétique consiste à les éclairer sur les résultats du test génétique chez leur enfant et à prescrire chez eux un test génétique pour déterminer le(s) variant(s) portés chez chacun d'eux. Cela permettra : (1) de confirmer un statut d'hétérozygote composite ou d'homozygote chez l'enfant ; (2) d'identifier le parent éventuellement porteur d'un variant MV ou CCV. Cela conditionnera également l'information à transmettre aux apparentés majeurs du parent porteur. Le temps de la consultation de conseil génétique pour les parents doit être dissocié du temps de l'annonce du diagnostic. Si l'enfant est porteur d'un génotype compatible avec une AL-CFTR et une MV, la discussion des options de diagnostic prénatal, invasif ou non invasif, ou bien préimplantatoire, doit être éclairée de la connaissance des corrélations génotype-phénotype.

Toute prescription d'étude génétique doit être accompagnée d'une information génétique adaptée.

Le conseil génétique doit être délivré par un praticien formé au conseil génétique ou un conseiller en génétique.

Le conseil génétique doit être suivi d'un compte-rendu écrit adressé au patient adulte ou aux parents du patient mineur et, s'il y a lieu, au médecin adressant le patient ou les parents.

Le conseil génétique doit informer les patients, les parents d'un patient mineur et toute personne majeure porteuse d'au moins un variant MV ou CCV sur leur obligation d'informer les membres de leur famille, raisonnablement jusqu'aux cousins issus de germains, du risque de transmission d'un variant MV et de la possibilité, grâce à un test génétique, de préciser ce risque (Loi de bioéthique 2021-1017 du 2 août 2021). En particulier, si une personne « ne souhaite pas transmettre elle-même l'information aux membres de sa famille potentiellement concernés, elle peut demander au médecin de porter à leur connaissance l'existence d'une information susceptible de les concerter ».

Lorsqu'un variant identifié chez un patient est de signification clinique inconnue ou incertaine, les difficultés d'interprétation du résultat génétique doivent être exposées au patient ou aux parents du patient.

## Annexes

## Annexe 1 : Liste des participants

Ce travail a été coordonné par le Pr Isabelle SERMET-GAUDELUS, Centre de Référence Maladie Rares Constitutif Mucoviscidose et Maladies apparentées, Paris (Necker)

Ont participé à la rédaction du PNDS (par ordre alphabétique) :

- Dr Marie Pierre Audrezet, généticienne moléculaire, Brest
- Dr Katia Bessaci Kabouya, pneumo-pédiatre, Reims
- Dr Anne-Sophie Bonnel, pneumo-pédiatre, Versailles-Paris
- Pr Jacques Brouard, pneumo-pédiatre, Caen
- Dr Bérangère Coltey, pneumologue, Marseille
- Dr Laure Couderc, pneumo-pédiatre, Rouen
- Pr Dominique Debray, hépato-pédiatre, Paris
- Dr Sandra de Miranda, pneumologue, Suresnes
- Dr Eric Deneuville, pneumo-pédiatre, Rennes
- Dr Emmanuelle Girodon, généticienne moléculaire, Paris
- Dr Cathy Llerena, pneumo-pédiatre, Grenoble
- Dr Julie Macey, pneumologue, Bordeaux
- Dr Julie Mankikian, pneumologue, Tours
- Dr Clémence Martin, pneumologue, Paris
- Dr Marie Mittaine, pneumo-pédiatre, Toulouse
- Dr Anne Munck, gastro-pédiatre, Paris
- Dr Thao Nguyen-Khoa, biochimiste, Paris
- Dr Caroline Raynal, généticienne moléculaire, Montpellier
- Dr Natacha Remus, pneumo-pédiatre, Créteil
- Pr Isabelle Sermet-Gaudelus, pneumo-pédiatre, Paris
- Dr Nathalie Wizla, pédiatre, Lille
- Dr Laurence Weiss, pneumo-pédiatre, Strasbourg

## Groupe de travail multidisciplinaire

Ont participé à la relecture du PNDS (par ordre alphabétique) :

- Dr Laure Cosson, Pneumo-pédiatre, Tours
- Dr Bérénice Colas, Médecin généraliste, Reims
- Dr Isabelle Danner-Boucher, Pneumologue, Nantes
- Martine Karoubi, Représentante de l'association Vaincre la Mucoviscidose, Paris
- Hélène Lecomte, Infirmière coordinatrice, Lille
- Dr Bruno Ravoninjatovo, Pneumologue, Reims

- Pr Philippe Reix, Pneumo-pédiatre, Lyon
- Estelle Ruffier, Représentante de l'association Vaincre la Mucoviscidose, Paris
- Dr Guillaume Thouvenin, Pneumo-pédiatre, Paris

### **Gestion des intérêts déclarés**

Tous les participants à l'élaboration du PNDS sur évaluation diagnostique et prise en charge des maladies apparentées à CFTR ont rempli une déclaration d'intérêt disponible sur le site internet du centre de référence (CRMR mucoviscidose).

Les déclarations d'intérêt ont été analysées et prises en compte, en vue d'éviter les conflits d'intérêts, conformément au guide HAS « Guide des déclarations d'intérêts et de gestion des conflits d'intérêts » (HAS, 2010).

### **Modalités de concertation du groupe de travail multidisciplinaire**

Réunion physique : le 20 nov 2019

Visioconférences : 10

2020 : 20 février, 29 avril, 13 mai, 04 juin, 02 juillet, 8 octobre, 5 novembre.

2021 : 29 juin, 01 sept, 24 sept.

## Annexe 2 : Coordonnées des centres de référence, de compétence et des associations de patients

Région	Ville	Adresse	Responsable
Hauts-de-France	CRCM Mixte Amiens	CHU Amiens Picardie Service de pneumologie Site Sud D 408 80054 AMIENS Cedex 1	Dr Cinthia RAMES 03 22 08 76 85
Pays-de-la-Loire	CRCM Mixte Angers	Centre Hospitalier d'Angers 4 Rue Larrey 49033 ANGERS Cedex 1	Dr Françoise TROUSSIER 02 41 35 49 87
Bourgogne-Franche-Comté	CRCM Pédiatrique Besançon	Centre Hospitalier Jean Minjoz Bât. Vert Niveau 0 - CRCM Enfant 3 Boulevard A. Fleming 25030 BESANÇON Cedex	Dr Marie-Laure DALPHIN 03 81 21 84 28
Bourgogne-Franche-Comté	CRCM Adulte Besançon	Centre Hospitalier Jean Minjoz Service de pneumologie Bât. Orange 3 Boulevard A. Fleming 25030 BESANÇON Cedex	Dr Bénédicte RICHAUD-THIRIEZ 03 81 66 86 46
Nouvelle-Aquitaine	CRCM Pédiatrique Bordeaux	Groupe Hospitalier Pellegrin Hôpital des Enfants 4 Place Amélie Raba Léon 33076 BORDEAUX	Dr Stéphanie BUI 05 56 79 87 37
Nouvelle-Aquitaine	CRCM Adulte Bordeaux	Hôpital Haut-Lévêque Groupe Hospitalier Sud - CHU de BORDEAUX Centre François Magendie Avenue de Magellan 33600 PESSAC	Dr Julie MACEY 05 57 65 65 81
Normandie	CRCM Mixte Caen	CHU Côte de Nacre Avenue Côte de Nacre 14 033 CAEN	Dr Muriel LAURANS 02 31 27 27 87
Auvergne-Rhône-Alpes	CRCM Mixte Clermont-Ferrand	CHU Estaing 1 Place Lucie et Raymond Aubrac 63003 CLERMONT-FERRAND Cedex	Dr Marie-Christine HERAUD 04 73 75 00 29
Ile-de-France	CRCM Mixte Créteil	Centre Hospitalier Intercommunal 40 Avenue de Verdun 94010 CRETEIL	Pr Ralph EPAUD 01 57 02 20 71
Bourgogne-Franche-Comté	CRCM Mixte Dijon	CHU Dijon Bourgogne Hôpital des Enfants 14 Rue Paul Gaffarel BP 77908 21079 DIJON Cedex	Pr Frédéric HUET 03 80 29 33 59
Hauts-de-France	CRCM Mixte Dunkerque	Centre Hospitalier de Dunkerque 130 Avenue Louis Herbeaux CS 76367 59385 DUNKERQUE Cedex 1	Dr Manuela SCALBERT 03 28 28 54 40
Provence-Alpes-Côte d'Azur	CRCM Mixte Giens	Hôpital Renée Sabran Unité de soin pour mucoviscidose 556 Boulevard Edouard-Herriot 83406 GIENS	Dr Laurent MELY 04 94 38 17 40
Auvergne-Rhône-Alpes	CRCM Pédiatrique Grenoble	Hôpital de Grenoble Pôle Couple/ Enfant Quai Yermoloff 38700 LA TRONCHE	Dr Catherine LLERENA 04 76 76 93 83
Auvergne-Rhône-Alpes	CRCM Adulte Grenoble	Hôpital de La Tronche Service de Pneumologie Boulevard de la Chantourne 38700 LA TRONCHE	Dr Rébecca HAMIDFAR 04 76 76 75 93
Hauts-de-France	CRCM Pédiatrique Lille	Hôpital Jeanne de Flandre Clinique de Pédiatrie 2 Avenue Oscar Lambret 59037 LILLE Cedex	Dr Nathalie WIZLA 03 20 44 68 85
Hauts-de-France	CRCM Adulte Lille	Institut Cœur Poumons Rez-de-chaussée Nord-Est Boulevard Jules Leclercq 59037 LILLE Cedex	Dr Olivier LE ROUZIC 03 20 44 69 12
Nouvelle-Aquitaine	CRCM Mixte Limoges	CHU Limoges 2 Avenue Martin Luther King 87042 LIMOGES Cedex	Dr Jane LANGUEPIN 05 55 05 86 69

<i>Auvergne-Rhône-Alpes</i>	CRCM Pédiatrique Lyon	Hôpital Femme Mère Enfant Service de Pneumologie / Allergologie 59 Boulevard Pinel 69677 BRON	Pr Philippe REIX 04 72 85 62 11
<i>Auvergne-Rhône-Alpes</i>	Centre de Référence Constitutif Adulte Lyon	Centre Hospitalier Lyon Sud Service de médecine interne 165 Chemin du Grand Revoyet 69310 PIERRE-BENITE	Pr Isabelle DURIEU 04 78 86 15 44
<i>Provence-Alpes-Côte d'Azur</i>	CRCM Pédiatrique Marseille	Hôpital d'Enfants de la Timone Service de pédiatrie 14e étage 264 Rue Saint-Pierre 13385 MARSEILLE	Pr Jean-Christophe DUBUS 04 91 38 43 09
<i>Provence-Alpes-Côte d'Azur</i>	CRCM Adulte Marseille	Hôpital Nord Service de pneumologie 83-85 Chemin des Bourrelly 13015 MARSEILLE	Pr Martine REYNAUD-GAUBERT 04 91 96 61 45
<i>Occitanie</i>	CRCM Mixte Montpellier	Hôpital Arnaud de Villeneuve 371 Av. du Doyen Gaston Giraud 34090 MONTPELLIER	Dr Raphaël CHIRON 04 67 33 61 15
<i>Grand-Est</i>	CRCM Pédiatrique Nancy	Hôpital d'Enfants de Nancy Service de médecine infantile Rue du Morvan 54500 VANDOEUVRE-LES-NANCY	Dr Aurélie TATOPOULOS 03 83 15 79 47
<i>Grand-Est</i>	CRCM Adulte Nancy	Hôpital de Brabois Service de pneumologie - Bât. philippe Canton 5 Rue du Morvan 54500 VANDOEUVRE-LES-NANCY	Dr Yves BILLON 03 83 15 33 95
<i>Pays-de-Loire</i>	CRCM Pédiatrique Nantes	Hôpital Mère - Enfant 38 Boulevard Jean Monnet 44000 NANTES	Dr Tiphaine BIHOUEE 02 40 08 31 72
<i>Pays-de-Loire</i>	CRCM Adulte Nantes	Hôpital Laënnec Boulevard Professeur Jacques Monod 44093 NANTES Cedex 1	Dr Isabelle DANNER-BOUCHER 02 40 16 52 31
<i>Provence-Alpes-Côte d'Azur</i>	CRCM Mixte Nice	CHU de Nice Hôpital Pasteur 1 Pavillon H RDC 30 Voie Romaine 06001 NICE	Dr Sylvie LEROY 04 92 03 85 80
<i>Ile-de-France</i>	Centre de Référence Constitutif Pédiatrique Paris Necker	Hôpital Necker Enfants Malades Service de pneumologie et allergologie 149 Rue de Sèvres 75730 PARIS	Pr Isabelle SERMET-GAUDELUS 01 44 49 55 86
<i>Ile-de-France</i>	CRCM Pédiatrique Paris Robert Debré	Hôpital Robert Debré Pneumologie et Mucoviscidose 48 Boulevard Séurier 75019 PARIS	Dr Michèle GERARDIN 01 40 03 47 88
<i>Ile-de-France</i>	CRCM Pédiatrique Paris Trousseau	Hôpital Trousseau Service de pneumologie pédiatrique 26 Avenue du Docteur Arnold Netter 75571 PARIS	Pr Harriet CORVOL 01 44 73 68 77
<i>Ile-de-France</i>	Centre de Référence Coordinateur Adulte Paris Cochin	Hôpital COCHIN Service de pneumologie 27 Rue du Faubourg Saint Jacques 75679 PARIS	Pr Pierre-Régis BURGEL 01 58 41 43 62
<i>Grand-Est</i>	CRCM Mixte Reims	American Memorial Hospital 47 Rue de Cognacq-Jay 51092 REIMS	Pr Michel ABELY 03 26 78 70 07
<i>Bretagne</i>	CRCM Pédiatrique Rennes	Hôpital Sud 16 Boulevard de Bulgarie 35200 RENNES	Dr Eric DENEUVILLE 02 99 26 86 93
<i>Bretagne</i>	CRCM Adulte Rennes	Centre Hospitalier Universitaire Pontchaillou Centre de Cardio-pneumologie 2 Henri Le Guilloux Centre Cardio-Pneumologique 35033 RENNES Cedex 9	Dr Chantal BELLEGUIC 02 99 28 24 83

<i>Bretagne</i>	Centre de Référence Constitutif Mixte Roscoff	Fondation Ildys Route de Perhardy 29680 ROSCOFF	Dr Sophie RAMEL 02 98 29 39 73
<i>Normandie</i>	CRCM Mixte Rouen	Centre Hospitalier Universitaire de Rouen Hôpital Charles Nicolle 1 Rue de Germont 76000 ROUEN	Pr Christophe MARGUET 02 32 88 82 16
<i>Réunion</i>	CRCM Pédiatrique Saint-Denis	CHU Félix - Guyon Allée des Topazes - CS 11021 97400 SAINT DENIS - LA REUNION	Dr Nathalie ALLOU 02 62 90 63 24
<i>Réunion</i>	CRCM Mixte Saint-Pierre	CHU Réunion - Site de St Pierre Avenue du Président Mitterrand BP 350 97448 SAINT PIERRE - LA REUNION	Dr Caroline PERISSON 02 62 35 90 00
<i>Grand-Est</i>	CRCM Pédiatrique Strasbourg	Hôpital de Hautepierre Service de pédiatrie niveaux 1 et 2 1 Avenue Molière 67098 STRASBOURG	Dr Laurence WEISS 03 88 12 83 31
<i>Grand-Est</i>	CRCM Adulte Strasbourg	Nouvel Hôpital Civil Service de pneumologie 1 place de l'Hôpital 67098 STRASBOURG	Pr Romain KESSLER 03 69 55 03 76
<i>Ile-de-France</i>	Centre de Référence Constitutif Adulte Suresnes	Hôpital Foch Service de pneumologie 40 Rue de Worth 92151 SURESNES	Dr Dominique GRENET 01 46 25 53 83
<i>Occitanie</i>	CRCM Pédiatrique Toulouse	Hôpital des Enfants Pneumo/Allergo - TSA 70034 330 Avenue de Grande Bretagne 31059 TOULOUSE Cedex 9	Dr Marie MITTAINE 05 34 55 87 37
<i>Occitanie</i>	CRCM Adulte Toulouse	Hôpital Larrey Service de pneumologie 24 Chemin de Pourvourville 31059 TOULOUSE Cedex 9	Dr Marlène MURRIS-ESPIN 05 67 77 18 51
<i>Centre-Val-de-Loire</i>	CRCM Pédiatrique Tours	Hôpital de Clocheville 49 Boulevard Béranger 37044 TOURS	Dr Laure COSSON 02 47 47 38 19
<i>Centre-Val-de-Loire</i>	CRCM Adulte Tours	Hôpital Bretonneau Service de pneumologie 2 Boulevard Tonnellé 37044 TOURS	Dr Julie MANKIKIAN 02 47 47 38 78
<i>Bretagne</i>	CRCM Mixte Vannes	Centre Hospitalier Prosper Chubert Boulevard du Général Guillaudot 56017 VANNES Cedex	Dr Baptiste ARNOUAT 02 97 01 44 37
<i>Ile-de-France</i>	CRCM Pédiatrique Versailles	Hôpital André Mignot Service de Pédiatrie / Néonatalogie 177 Rue de Versailles 78157 LE CHESNAY	Dr Asma GABSI 01 39 63 91 67

### **Société Française de Mucoviscidose (SFM)**

Hôpital Mère-Enfant  
59 boulevard Pinel  
69677 Bron Cedex  
04 27 85 50 43

### **Vaincre La Mucoviscidose (VLM)**

181 rue de Tolbiac  
75013 Paris  
01 40 78 91 91  
<https://www.vaincrelamuco.org>

### Annexe 3 : tableau de gradation des recommandations selon l'HAS

Grade des recommandations	Niveau de preuve scientifique fourni par la littérature
A Preuve scientifique établie	Niveau 1 - essais comparatifs randomisés de forte puissance ; - méta-analyse d'essais comparatifs randomisés ; - analyse de décision fondée sur des études bien menées.
B Présomption scientifique	Niveau 2 - essais comparatifs randomisés de faible puissance ; - études comparatives non randomisées bien menées ; - études de cohortes.
C Faible niveau de preuve scientifique	Niveau 3 - études cas-témoins. Niveau 4 - études comparatives comportant des biais importants ; - études rétrospectives ; - séries de cas ; - études épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale).

## Annexe 4 : le test de la sueur (TS)

Le TS consiste à déterminer la concentration des ions chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) et/ou des ions sudoraux.

Il comporte trois étapes :

- 1) la stimulation de la sudation par iontophorèse à la pilocarpine ;
- 2) la collection de sueur ;
- 3) le dosage des ions  $\text{Cl}^-$  (par coulométrie ou potentiométrie directe à l'électrode sélective) et/ou des ions totaux (par conductimétrie).

### 1/ Bonnes pratiques du TS

Les procédures sont standardisées selon les recommandations internationales. Il est établi que le TS rendu en concentration sudorale d'ions  $\text{Cl}^-$  permet de poser le diagnostic de mucoviscidose (MV). Le TS est réalisé par un personnel habilité et avec un matériel marqué CE ; le recueil de la sueur à l'aide d'un collecteur Macrōduct® (ELITech) est à encourager car il préserve la qualité de l'échantillon avant l'analyse ; la durée de la collection de sueur est de 30 minutes pour une production correcte de la sueur et < 1h lorsque la sueur reste en contact avec la surface cutanée (Exsupatch®) pour éviter la réabsorption de la sueur ; un contrôle de qualité interne et un externe inter-laboratoires doivent être régulièrement pratiqués ; sur le compte rendu du TS figurent les méthodes du recueil de sueur, du dosage des ions  $\text{Cl}^-$  et les valeurs seuils du TS.

### 2/ Valeurs seuil du TS

Depuis 2017 et selon les recommandations internationales, les valeurs usuelles sont les mêmes quel que soit l'âge du sujet : valeurs normales < 30 mmol/L  $\text{Cl}^-$  ; pathologiques  $\geq 60$  mmol/L  $\text{Cl}^-$ . Il est à noter que d'autres pathologies à risque d'augmenter les  $\text{Cl}^-$  sudoraux doivent être éliminées avant de poser le diagnostic de MV (tableau ci-dessous). Pour des valeurs intermédiaires entre 30 et 59 mmol/L  $\text{Cl}^-$ , le TS doit être renouvelé dans un délai < 3 mois. Des explorations épithéliales de CFTR pourront être proposées si le TS reste intermédiaire.

### 3/ Remarques

Les difficultés de réalisation du TS sont d'ordre pratique : faible production de sueur des peaux colorées, petit poids. Le TS peut être réalisé à partir de 3 kg et/ou 15 jours de vie. Le système d'iontophorèse le plus adapté aux nourrissons est le Macrōduct Advanced® (ELITech) qui utilise des électrodes et un collecteur de forme concave pour s'appliquer au mieux aux petits membres. De plus, ce système comporte une interface qui permet le guidage vidéo du

processus et la traçabilité des données. Si le TS est réalisé successivement sur les 2 bras, les 2 échantillons de sueur ne doivent pas être mélangés.

**Tableau : principales causes pouvant entraîner un résultat de TS faussement négatif ou positif**

TS faussement positif	TS faussement négatif
Causes techniques - Contamination de l'échantillon de sueur (doigts de l'opérateur, sels en solution, etc...) - Evaporation de l'échantillon de sueur	Cause technique - Dilution de l'échantillon de sueur
Etat nutritionnel : malnutrition sévère ; anorexie	Etat nutritionnel : hypoprotidémie Etat hydro-électrolytique : œdèmes, déshydratation
Qualité de la peau testée : eczéma, dysplasie ectodermique	Qualité de la peau testée : peau sèche
Médicaments : Topiramate	Médicaments : minéralocorticoïdes
Causes endocriniennes - hypoparathyroïdie, pseudo-hypoaldostéronisme, insuffisance surrénalienne - hypothyroïdie non traitée - syndrome de Mauriac	
Troubles métaboliques : fucosidose, déficit en Glucose-6-phosphatase	
Autres : diabète insipide ; syndrome de Klinefelter ; syndrome hyper cholestatique familial	Certaines mutations de <i>CFTR</i> (liste non exhaustive) : R117H, A455E, G551S, 3849 + 10kbC>T

## Annexe 5 : Classification des variants du gène *CFTR* : définitions et exemples

Classes de variants	Définition	Conséquences pour le conseil génétique	Exemples
<b>A. Associés à la MV (« CF » en anglais)</b>	Variants dont l'effet délétère est démontré ou supposé et qui, à l'état hétérozygote composite avec un autre variant MV, sont observés chez des patients atteints de MV.	A considérer pour le DPN/DPI* ou le test chez des apparentés majeurs asymptomatiques.	- microdélétion c.1521_1523del (F508del) - non-sens (stop) c.3846G>A (W1282X) - épissage (site invariant) c.1585-1G>A (1717-1G>A) - décalant le cadre de lecture c.2051_2052delinsG (2183AA>G) - grande délétion c.54-5940_273+10250del (CFTRdele2.3(21kb)).
<b>B. Associés aux affections liées à CFTR ou « CFTR-RD »</b>	Variants dont l'effet délétère est supposé modéré ou mineur et qui, sans autre mutation en <i>cis</i> , et à l'état hétérozygote composite avec un variant MV, n'ont pas été identifiés chez des patients atteints de MV.	Ne pas considérer pour le DPN/DPI* ou le test chez des apparentés majeurs asymptomatiques.	- variant d'épissage c.1210-12T[5] (variant T5 de l'intron 8) - faux-sens c.350G>A (R117H), c.2991G>C (L997F) - certains allèles complexes faux-sens c.[220C>T;601G>A ;3808G>A] ([R74W;V201M ;D1270N]), c.[1327G>T;1727G>C;2002C>T] ([D443Y ; G576A;R668C;])
<b>A/B. Associés à un large spectre phénotypique ou CCV (conséquences cliniques variables, « VCC en anglais)</b>	Variants retrouvés, à l'état hétérozygote composite avec un variant MV, à la fois chez des patients atteints de MV présentant une atteinte clinique modérée (voire très modérée), avec conservation de la fonction pancréatique et des patients adultes atteints de formes mono-symptomatiques.	La discussion d'un DPN/DPI* ou d'un test chez les apparentés majeurs asymptomatiques doit tenir compte du caractère modéré des phénotypes associés.	- faux-sens :c.617T>G (L206W), c.3454G>C (D1152H) - épissage : c.3874-4522A>G
<b>C. Neutres</b>	Variations de séquence sans effet pathogène supposé d'après plusieurs arguments, notamment la présence en <i>trans</i> d'une mutation MV chez un individu asymptomatique.	Pas de conséquence pour le conseil génétique	c.224G>A (R75Q), c.743+40A>G (875+40A/G),c.1408G>A (M470V), c.1584G>A (E528E), c.2562T>G (T854T), c.3870A>G (P1290P)
<b>D. De signification clinique incertaine ou inconnue ou VSCI (« VUS » en anglais)</b>	Variations exoniques ou introniques potentiellement pathogènes, nouvelles ou connues mais dont la description antérieure apporte peu d'éléments en faveur ou défaveur d'un caractère délétère.	L'incertitude doit être expliquée en conseil génétique. Un DPN/DPI ainsi que la recherche chez les apparentés majeurs asymptomatiques sont à discuter au cas par cas.	Nombreuses mutations faux-sens ou d'épissage

\*DPN/DPI : diagnostic prénatal/diagnostic préimplantatoire Les variants sont cités selon les recommandations internationales (nomenclature HGVS), les noms traditionnels étant indiqués entre parenthèses.

## Annexe 6 : Caractéristiques des trois bases de données dédiées au gène *CFTR*

Outil	Description	Avantages	Limites
CFTR1 (ou CFMDB)	Collecte de variants du gène <i>CFTR</i> : soumission directe de nouveaux variants par les laboratoires	Base de données la plus complète dédiée au <i>CFTR</i> : <b>2092 variants décrits</b>	Description initiale de chaque variant uniquement : pas de données de fréquence, pas de corrélation génotype-phénotype possible Pas de vérification des données
CFTR2 <a href="https://cftr2.org/">https://cftr2.org/</a>	Collecte des données de registres nationaux de la MV : <b>88.000 patients</b> <b>432 variants</b>	Caractéristiques cliniques détaillées sur des larges cohortes de patients. Résultats de <b>tests fonctionnels <i>in vitro</i></b> pour tous les variants	Patients atteints de MV uniquement : biais dans l'analyse du spectre phénotypique. <b>Non conçue pour les variants rares</b>
CFTR-France <a href="https://cftr.iircモンtp.inserm.fr/cftr">https://cftr.iircモンtp.inserm.fr/cftr</a>	Collecte des données de 10 laboratoires experts français. Dédier aux variants rares : <b>5189 individus</b> <b>860 variants</b>	Grand nombre de <b>variants rares</b> , non rapportées à CFTR2 Collecte de <b>tous les phénotypes</b> : analyse des relations génotype/phénotype. Collaboration Registre français : vérification, mise à jour des données.	Représentativité incomplète de la population française de patients (pas de données de fréquence) <b>Données cliniques parfois incomplètes</b>

## Annexe 7 : Liste des principaux variants CFTR-RD et CCV

Nom usuel	Nom (NM_000492.3)	HGVS	Nom (protéine)	HGVS	Numéro rs	Fréquence allélique gnomAD	Fonction CFTR (%WT, données CFTR2) *	Nombre de patients dans CFTR- France (version du 19/02/2021)	Classe phénotypiqu e
P5L	c.14C>T		p.Pro5Leu		rs193922501	0,00005429	22,5	5	CCV
R31C	c.91C>T		p.Arg31Cys		rs1800073	0,0012	105,3	15	CFTR-RD
R74W (allèle complexe avec V201M et D1270N)	c.220C>T		p.Arg74Trp		rs115545701	0,0043	44	61	CFTR-RD
R117G	c.349C>G		p.Arg117Gly		rs77834169	2,79E-05	34,7	3	CFTR-RD
R117H;T7	c.350G>A		p.Arg117His		rs78655421	0,0016	32.9 ± 6.5	202	CFTR-RD
621+3A>G	c.489+3A>G		Pas de nom protéique		rs377729736	0,0002	épissage	5	CFTR-RD
711+3A>G	c.579+3A>G		Pas de nom protéique		rs397508761	0,00003111	épissage	12	CCV

V201M (allèle complexe avec R74W et D1270N)	c.601G>A	p.Val201Met	rs138338446	0,0005	47,5	37	<b>CFTR-RD</b>
L206W	c.617T>G	p.Leu206Trp	rs121908752	0,0005362	5,7	108	<b>CCV</b>
Q237E	c.709C>G	p.Gln237Glu	rs397508784	0,00009799	12,5	4	<b>CCV</b>
R258G	c.772A>G	p.Arg258Gly	rs191456345	0,0009042	16,5	4	<b>CCV</b>
1002-1113_1002-1110del	c.870-1113_870-1110del	Pas de nom protéique	rs397508809	0	épissage	28	<b>CCV</b>
T338I	c.1013C>T	p.Thr338Ile	rs77409459	0,00006201	1	10	<b>CCV</b>
R352W	c.1054C>T	p.Arg352Trp	rs193922497	6,98E-05	11,3	5	<b>CFTR-RD</b>
5T;TG11	c.1210-34_1210-6TG[11]T[5]	Pas de nom protéique	non rapporté	0,0427	épissage	162	<b>CFTR-RD</b>
5T;TG12	c.1210-34_1210-6TG[12]T[5]	Pas de nom protéique	non rapporté	0,0098	épissage	408	<b>CFTR-RD</b>
5T;TG13	c.1210-34_1210-6TG[13]T[5]	Pas de nom protéique	non rapporté	0,0008	épissage	81	<b>CFTR-RD</b>

D443Y (allèle complexe avec G576A et R668C)	c.1327G>T	p.Asp443Tyr	rs147422190	0,0003	53,2	61	<b>CFTR-RD</b>
C491R	c.1471T>C	p.Cys491Arg	rs397508213	0	Non testé	5	<b>CCV</b>
F508C	c.1523T>G	p.Phe508Cys	rs74571530	0,001827	114	33	<b>CFTR-RD</b>
G576A (allèle complexe avec D443Y et R668C)	c.1727G>C	p.Gly576Ala	rs1800098	0,0051	147	111	<b>CFTR-RD</b>
D614G	c.1841A>G	p.Asp614Gly	rs201124247	0,0001392	18	6	<b>CCV</b>
G622D	c.1865G>A	p.Gly622Asp	rs121908759	0,0008515	18,2	23	<b>CCV</b>
R668C (allèle complexe avec D443Y et G576A)	c.2002C>T	p.Arg668Cys	rs1800100	0,0061	57,6	115	<b>CFTR-RD</b>
P750L	c.2249C>T	p.Pro750Leu	rs140455771	0,0004	48,6	6	<b>CFTR-RD</b>
2789+2insA	c.2657+2_2657+3insA	Pas de nom protéique	rs397508414	0,0001316	épissage	6	<b>CCV</b>
R933G	c.2797A>G	p.Arg933Gly	rs397508436	0	Non testé	5	<b>CCV</b>

V938G	c.2813T>G	p.Val938Gly	rs193922511	0,00003517	Non testé	7	<b>CCV</b>
M952I	c.2856G>C	p.Met952Ile	rs151048781	7,68E-05	Non testé	10	<b>CFTR-RD</b>
S977F (allèle complexe avec 5T;TG12)	c.2930C>T	p.Ser977Phe	rs141033578	0,00009925	6,7	18	<b>CCV</b>
I980K	c.2939T>A	p.Ile980Lys	rs397508463	2,79E-05	Non testé	12	<b>CFTR-RD</b>
L997F	c.2991G>C	p.Leu997Phe	rs1800111	0,0021	22,4	92	<b>CFTR-RD</b>
Y1032C	c.3095A>G	p.Tyr1032Cys	rs144055758	0,0001637	20,6	7	<b>CCV</b>
F1052V	c.3154T>G	p.Phe1052Val	rs150212784	0,0004	87	9	<b>CFTR-RD</b>
G1069R	c.3205G>A	p.Gly1069Arg	rs200321110	0,0002	122	8	<b>CFTR-RD</b>
R1070W	c.3208C>T	p.Arg1070Trp	rs202179988	0,000085	8,9	18	<b>CCV</b>
D1152H	c.3454G>C	p.Asp1152His	rs75541969	0,002606	77,8	104	<b>CCV</b>
V1153E	c.3458T>A	p.Val1153Glu	rs397508567	2,79E-05	18,7	6	<b>CFTR-RD</b>
R1162L	c.3485G>T	p.Arg1162Leu	rs1800120	0,001329	130,2	12	<b>CFTR-RD</b>

D1270N (allèle complexe avec R74W et V201M)	c.3808G>A	p.Asp1270Asn	rs11971167	0,0044	53,2	53	<b>CFTR-RD</b>
Aucun	c.3874-4522A>G	Pas de nom protéique	rs895394181	3,49E-05	épissage	5	<b>CCV</b>
N1303I	c.3908A>T	p.Asn1303Ile	rs397508636	6,28E-05	Non testé	10	<b>CFTR-RD</b>
Q1352H(G>C)	c.4056G>C	p.Gln1352His	rs113857788	0,0004	30	10	<b>CFTR-RD</b>
Q1476X	c.4426C>T	p.Gln1476X	rs374705585	2,09E-05	Non testé	11	<b>CFTR-RD</b>

Variant CCV : variant associé à des conséquences cliniques variables si en trans d'un variant pathogène MV

Variant CFTR-RD : variant associé aux AL- CFTR si en trans d'un variant pathogène MV

\* Les données fonctionnelles de CFTR2 sont des données expérimentales obtenues *in vitro* sur cellules de thyroïde de rat (FRT), ou des lignées de cellules bronchiques humaines qui peuvent être éloignées des conditions physiologiques, ou de cellules bronchiques humaines (CFBE). Seuls les effets sur la synthèse, la maturation et la fonction du canal chlore sont explorés. Un niveau de fonction élevé n'implique donc pas l'absence d'impact sur une autre fonction, notamment le transport de Bicarbonate. Cet aspect n'est pour l'instant pas évalué pour les variants CCV et CFTR-RD.

HGVS : Human Genome Variation Society, gnomAD : Genom Aggregation Database, rs : reference sequence

## **Annexe 8 : Liste des laboratoires spécialisés pour les explorations fonctionnelles épithéliales (technique de DDP et CCC)**

- Différence de potentiel nasal**

Service de Physiologie-Explorations Fonctionnelles Respiratoires.

Pr Isabelle Fajac

Hôpital Cochin

AP-HP Centre-Université de Paris

27 rue du Faubourg Saint-Jacques

75014 Paris

- Différence de potentiel nasal et courant de court circuit sur biopsie rectale et évaporimétrie de la sueur**

Centre de Référence Constitutif pour la Mucoviscidose

Pr Isabelle Sermet

Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades

149 rue de Sèvres

75015 Paris

## Annexe 9 : Les tests d'exploration fonctionnelle épithéliale de CFTR

### 1. Transport transépithélial des ions

L'une des principales caractéristiques des cellules épithéliales est leur polarité. Elles sont entourées par 2 membranes distinctes délimitées par des jonctions serrées : une membrane apicale face à la lumière de l'organe et une membrane basolatérale du côté de la circulation sanguine. Les membranes diffèrent par leur composition en protéines impliquées dans les gradients électrochimiques déterminant le flux ionique transépithélial. CFTR est un canal anionique (principalement  $\text{Cl}^-$  et  $\text{HCO}_3^-$ ) situé à la membrane apicale, activable par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et régulé par la liaison et l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP). CFTR contrôle aussi négativement l'absorption du sodium ( $\text{Na}^+$ ) au niveau apical *via* le canal sodique épithélial sensible à l'amiloride (ENaC). Dans les tissus exprimant CFTR, la concentration intracellulaire élevée des  $\text{Cl}^-$  produit un gradient électrochimique favorisant la sécrétion des  $\text{Cl}^-$  *via* CFTR. La sécrétion active des ions  $\text{Cl}^-$  crée ainsi une force motrice favorisant la sortie des molécules d'eau. En cas de dysfonction de CFTR, l'absence d'inhibition du canal ENaC entraîne une hyperabsorption de  $\text{Na}^+$  largement responsable de l'hyperviscosité des sécrétions observées dans la MV. L'absorption de  $\text{Na}^+$  et la sécrétion de  $\text{Cl}^-$  sont ainsi explorées dans les épithéliums nasal et rectal.

### 2. Épithélium nasal : mesure *in vivo* de la différence de potentiel nasal (DDP)

Ce test requiert un tissu nasal sans inflammation, l'absence de polypes nasaux, d'infection et la collaboration du patient qui doit rester avec la tête immobilisée pendant les 30 min de la durée du test. En pratique, la DPN est mesurée entre 2 électrodes actives dont l'une est en contact direct avec le pôle basal des cellules épidermiques, cette valeur étant prise comme référence, l'autre avec le pôle apical de l'épithélium cilié nasal, grâce à un cathéter nasal [1]. La différence de potentiel (ddp) est continuellement enregistrée ((Lab-Chart software, AD instruments). La ddp basale est mesurée sur le plancher du cornet inférieur où prédominent les cellules ciliées. Puis une épreuve pharmacodynamique est réalisée afin d'individualiser les principaux transports ioniques: 1) celui du  $\text{Na}^+$  passant par ENaC, est testé à l'aide d'une solution de Ringer contenant de l'Amiloride (100  $\mu\text{M}$ ) ; 2) celui des  $\text{Cl}^-$  passant par CFTR, avec des solutions dépourvues de  $\text{Cl}^-$  (les  $\text{Cl}^-$  de la solution de Ringer sont remplacés par le gluconate) et contenant de l'Amiloride (100  $\mu\text{M}$ ) et de l'Isoprotérénol (10  $\mu\text{M}$ ) (agoniste  $\beta$ -adrénergique, activateur de CFTR) ; 3) finalement, celui des  $\text{Cl}^-$  passant par la voie  $\text{Ca}^{2+}$  dépendante, avec de l'ATP (100  $\mu\text{M}$ ). Le critère principal déterminant l'activité CFTR est donné par le transport total des  $\text{Cl}^-$  (ddp mesurée en 2).

Un haut niveau d'absorption de  $\text{Na}^+$  et l'absence de sécrétion des  $\text{Cl}^-$  dépendante de CFTR sont observés dans les formes classiques de MV (figure 1).

### **3. Épithélium rectal : mesure *ex vivo* du courant de court-circuit transépithélial (CCC)**

En pratique, une biopsie rectale ( $\varnothing$  2-3 mm) est réalisée à l'aide d'une pince à biopsie. La procédure est sûre et peu invasive, effectuée rapidement ( $\sim 5$  min), applicable à tous les âges, bébés inclus, et ne nécessite pas de sédation ou de préparation spéciale [3]. Les contre-indications sont les anomalies de l'hémostase et les antécédents d'hémorroïdes.

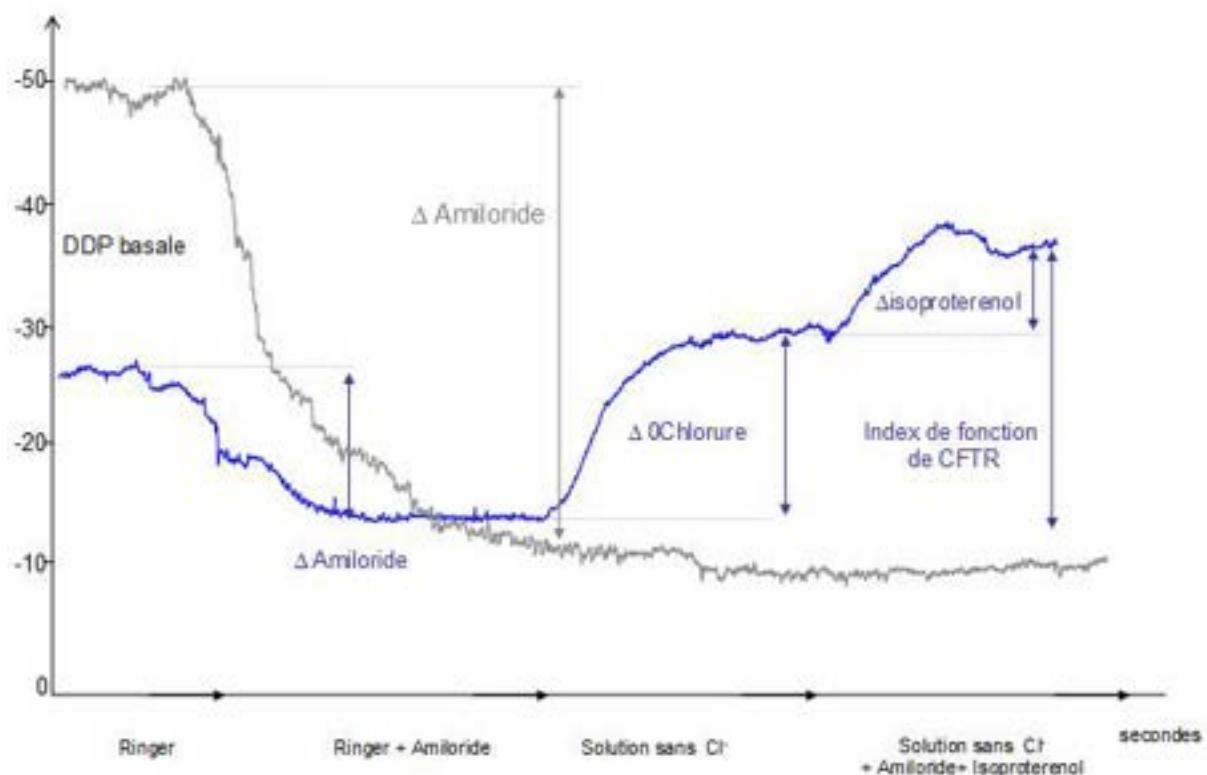
Il est impératif que la biopsie soit analysée dans les 2h qui suivent le prélèvement. Le tissu est maintenu en vie au sein de la chambre de Ussing, composée de 2 hémichambres perfusées avec une solution de Ringer maintenue thermostatée à  $37^\circ\text{C}$  et oxygénée (95%  $\text{O}_2$ /5%  $\text{CO}_2$ ). Des électrodes sont disposées de part et d'autre du tissu et les ddp sont enregistrées (Lab-Chart software). L'application d'un courant à travers l'épithélium, en sens inverse du potentiel transépithélial, supprime tout transport passif transmembranaire : le tissu est en quelque sorte court-circuité. Ainsi, toute variation de ce courant dit « de court-circuit » (Isc pour short-circuit current) ne reflète que le transport actif. Le test repose sur la mesure de la ddp qui résulte du transport des  $\text{Cl}^-$  et du courant nécessaire pour annuler ce potentiel.

Après avoir inhibé le transport du  $\text{Na}^+$  par l'Amiloride (100  $\mu\text{M}$ , apical) et l'activation endogène de CFTR par l'Indométhacine (0,01 mM, apical et basolatéral), l'aptitude de l'épithélium à sécréter des  $\text{Cl}^-$  est explorée : 1) par la réponse à la Forskoline (10  $\mu\text{M}$ , basolatéral), activateur de l'adénylate cyclase (augmentation de l'AMPc, principal agent activateur de CFTR) ; 2) par la réponse au Carbachol (100  $\mu\text{M}$ , basolatéral), reflet de la voie cholinergique  $\text{Ca}^{2+}$  dépendante qui permet une activation indirecte de CFTR ; 3) par la réponse à l'Histamine (500  $\mu\text{M}$ , basolatéral), activateur de l'adénylate cyclase *via* le récepteur couplé à la protéines G. Chez le patient atteint de MV, la réponse à la Forskoline est nulle et la sécrétion de  $\text{Cl}^-$  en réponse au Carbachol n'excède jamais plus de 30% de la réponse des sujets témoins (figure 2). Une augmentation du niveau de transport du  $\text{Na}^+$  sensible à l'Amiloride et une réduction de la sécrétion cholinergique de  $\text{Cl}^-$  (Carbachol) sont utilisées pour déterminer l'activité résiduelle de CFTR.

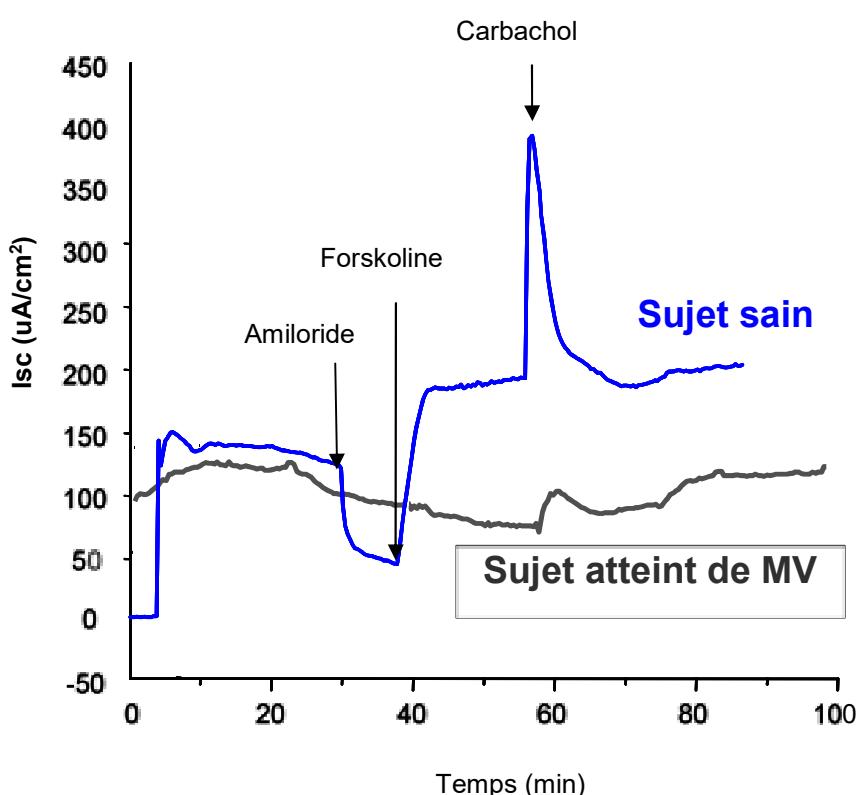
### **4. Choix des tests fonctionnels de CFTR**

Ces tests fonctionnels sont réalisés par des personnels expérimentés. Ils sont complémentaires en fonction des situations. La mesure de l'activité résiduelle de CFTR permet d'orienter le diagnostic de MV dans les cas non conclus (test de la sueur intermédiaire, génétique non informative) [5], mais également de mesurer l'efficacité des thérapies ciblées sur CFTR.

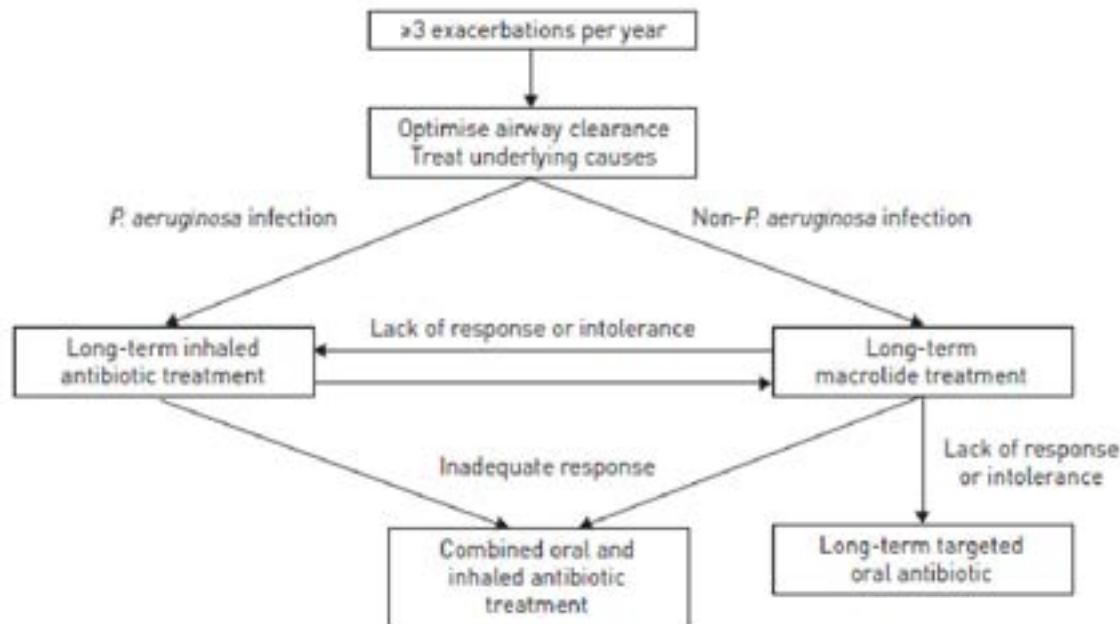
Tracés de différence de potentiel nasal (DDP) d'un sujet non atteint (bleu) et d'un sujet atteint de MV (gris)



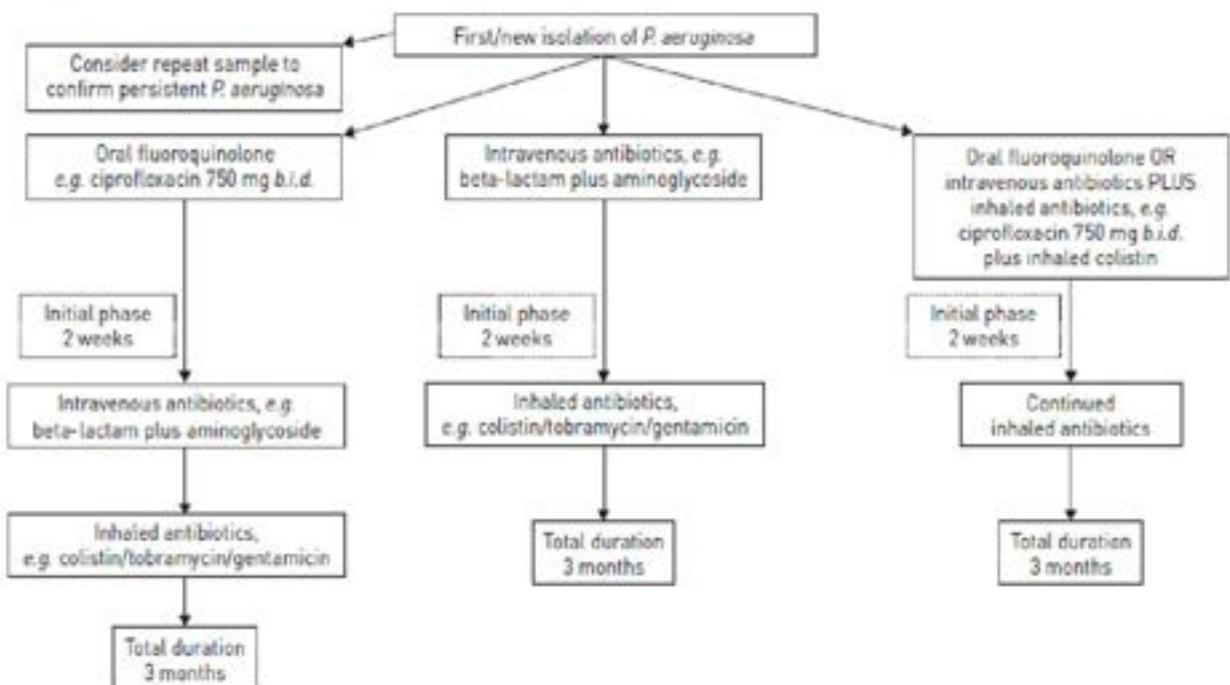
Tracés de courant de court-circuit (CCC) sur biopsie rectale d'un sujet sain (bleu) et d'un sujet atteint de MV (gris).



## Annexe 10 : Recommandations concernant l'antibiothérapie prolongée chez les patients porteurs de Dilatations des Bronches (adapté de Polverino ERJ 2017)



## Annexe 10bis : Traitement de la primocolonisation à *Pseudomonas aeruginosa* (adapté de Polverino ERJ 2017)



## Annexe 11 : Recommandations de différentes sociétés savantes concernant la prise en charge des enfants avec diagnostic non conclu au DNN de la MV

Auteur Année	Borowitz D1 2009	Mayell S2 2009	Barben 2021	Munck A3 2015	Sermet I4 2017
Pays	USA	Europe	Europe	International	France
Diagnostic	CRMS	0-1 mutation + TS intermédiaire ou 2 mutations dont 1 non MV + TS normal	CRMS/CFSPID	CFSPID Groupe A : TS normal +2 mutations dont 1 non CF Groupe B : TS intermédiaire et 0-1 mutations CF	Diagnostic non conclu au dépistage
Modalités de suivi					
Fréquence du suivi	2-6-12 mois puis annuel	Non précisé	6-12 mois puis annuel jusqu'à 6 ans. Discussion partagée avec les parents selon les données du bilan des 6 ans	Groupe A : au diagnostic, à 6-12 mois puis annuel Groupe B : tous les 3 mois puis selon clinique (au minimum annuellement)	3-6-12 mois puis annuel
Lieu de suivi	CRCM	CRCM	CRCM	CRCM ou médecin formé sur la MV	CRCM
Intervenants	Médecin du CRCM. Autres intervenants si besoin	Non abordé	Médecin du CRCM, et l'équipe multi disciplinaire si indiqué	Médecin du CRCM ou intéressé par la MV	Médecin CRCM. Kinésithérapeute pas systématique
Coordination avec le médecin traitant	Contact entre le médecin du CRCM et MT avec des recommandations sur les signes cliniques.	Non abordé	Information initiale puis courriers annuels	Familles et médecin traitant doivent contacter le CRCM si signes digestifs ou respiratoires	Information du MT et coordination avec le CRCM

Prise en charge sociale	Codage spécifique	Non abordé	Non abordé	Non abordé	Déclaration longue maladie au cas par cas
Durée de suivi	Consensus pour nourrisson. Au-delà vigilance du MT toute la vie sur survenue de symptômes digestifs ou respiratoires	Non abordé	Jusqu'à 6 ans puis selon les données cliniques et du bilan, puis discussion partagée avec les parents. Consultation à l'adolescence	Non précisé	Jusqu'à 6 ans. Au-delà non précisé
<b>Examens complémentaires de suivi</b>					
Chlore sudoral	A 2 mois et 6 mois	Un deuxième test en CRCM puis à 6-12 mois	A 6, 24 mois et 6 ans. Dans l'intervalle à considérer au cas par cas	A 6-12 mois puis à envisager la deuxième année de vie	Deux tests à 3 mois d'intervalle puis à .6, 12 et 24 mois
Elastase fécale	Au diagnostic puis selon la clinique	Au diagnostic Pas d'indication pour le suivi.	Au diagnostic et à 12 mois. Puis selon la clinique au cas par cas.	Selon la clinique	Au diagnostic puis selon la clinique
Imagerie	Selon clinique	Radio de thorax au diagnostic Scanner selon la clinique	Une évaluation avec un scanner thoracique au bilan des 6 ans. Précédemment à considérer au cas par cas.	Selon la clinique	Pas de consensus
Biologie	Pas de consensus	Selon la clinique	Pas de recommandations	Selon la clinique	Pas de consensus
Bactériologie des sécrétions bronchiques	A chaque visite	Au diagnostic Pas de données de suivi	A chaque visite à considérer selon la clinique	Groupe A : Pas de consensus. Groupe B : annuellement + si exacerbation	A chaque visite
Génotypage complet CFTR	Après un test intermédiaire		Au diagnostic	Après un 2eme test intermédiaire	Au diagnostic

Tests fonctionnels du CFTR	Non abordé	Si 1 mutation + TS intermédiaire	Non abordé	Non abordé	Si 2 mutations CFTR dont au moins une de conséquence indéterminée
Conseil génétique	Au diagnostic puis selon l'évolution	Non abordé	Initial et à rediscuter en fonction de la réactualisation des données	Oui Le médecin du CRCM regarde régulièrement la mise à jour de CFTR2	Oui
<b>Recommandations de suivi clinique</b>					
Recommandations si signes digestifs	Elastase fécale et avis du médecin de CRCM	Non abordé	Avis du CRCM	Avis du CRCM	Selon la clinique
Recommandations si exacerbation respiratoire	Si toux grasse plus de 2 semaines : antibiothérapie Si symptomatologie récurrente ou prolongée : kinésithérapie Si primo-infection à <i>P aeruginosa</i> : traitement à visée d'éradication	Non abordé	Pas d'indication de prise en charge d'éradication notamment lors d'identification de <i>P aeruginosa</i>	Groupe B : si toux. : antibiothérapie Si toux plus de 2 semaines : CRCM pour ECBC et évaluation	Idem patients MV
Recommandations d'hygiène	Eviter les infections croisées au CRCM. Eviction du tabagisme passif	Non abordé	Prévention des infections croisées	Eviter les infections croisées au CRCM. Eviction du tabagisme passif	Idem patients MV
Recommandations pour l'apport de sel / nutrition	Si CI sudoral intermédiaire haut : 1/8 cuillère à café de sel/jour	Non abordé	Non abordé	Groupe B : indication à ne pas restreindre l'apport sodé en période d'augmentation sudation	Supplément de sel si chlore sudoral > 30 mmol/L et lors de chaleur

Recommandations pour les activités physiques et sportives		Non abordé	Vie saine	Selon recommandations nationales	Non abordé
Vaccin anti-grippal	Oui	Non abordé	Non abordé	Pour le groupe B mais pas pour le groupe A	Oui
Modulateurs du CFTR	Non abordé	Non abordé	Non abordé	Non abordé	Non abordé
Recommandations pour l'information sur la fertilité masculine	Non abordé	Non abordé	Abordé lors de la consultation proposée à l'adolescence	Non abordé	Non abordé
Critères d'arrêt du suivi spécialisé en CRCM	Consensus pour poursuivre le suivi jusqu'à 3 ans	Consensus pour diagnostic seulement	Modalités selon le bilan réalisé à 6 ans. Discussion partagée avec les parents	Non abordé	suivi jusqu'à 6 ans
<b>Divers</b>					
Database	Oui	Oui	Oui	Oui	Non abordé
Informations aux parents	Information des parents sur les aspects particuliers de ce diagnostic		Oui avec une mise au point à chaque visite de toute nouvelle information	Information des parents sur les aspects particuliers de ce diagnostic	Information des parents sur les aspects particuliers de ce diagnostic

## Annexe 12 : Exemple de lettre de conseil au MT dans le cadre du DgNC au DNN

Cher confrère

Vous allez suivre l'enfant XX

Le dépistage néonatal chez l'enfant ... né le ..... n'a pas permis d'éliminer avec certitude le diagnostic de mucoviscidose . En effet, cet enfant dont la trypsinémie était élevée à la naissance est actuellement asymptomatique. Son test de la sueur a détecté un chlorure sudoral < 60 mmol/L de sueur et l'étude du gène CFTR n'a pas retrouvé un génotype compatible avec le diagnostic de Mucoviscidose.

Cette situation ne correspond pas à une entité diagnostique et devra être réévaluée périodiquement. Dans ce cadre, nous vous proposons de voir votre patient en consultation, au Centre de Ressources et de Compétence pour la Mucoviscidose, à 3 mois, 6 mois, 12 mois, 24 mois puis annuellement en alternance avec votre suivi habituel jusqu'à l'âge de 6 ans. Le test de la sueur sera contrôlé entre 3 mois et 6 mois, à 2 ans et à 6 ans et en cas de doute, à 1 an, 3 ans, 4 ans ou 5 ans.

A l'âge de 6 ans un bilan complet sera réalisé avec notamment une étude de la fonction respiratoire et un scanner thoracique. Le suivi ultérieur sera décidé en fonction des résultats de ce bilan.

Durant cette période, il sera important de rester attentif à la survenue de manifestations cliniques respiratoires ou digestives évocatrices de mucoviscidose. En cas de signes respiratoires tels que toux et encombrement bronchique traînant plus de 15 jours, même sans fièvre, il est recommandé de prescrire une antibiothérapie orale type amoxicilline-acide clavulanique. Devant l'apparition de signes digestifs tels que douleurs abdominales, selles grasses, retard de croissance, il est recommandé de contrôler l'élastase fécale. Dans chacune de ces situations, nous vous remercions de prendre contact avec le CRCM pour avis. La vaccination antigrippale est recommandée chaque automne, ainsi que l'éviction du tabac.

Cependant, même si le diagnostic de mucoviscidose devait être définitivement écarté, il est possible qu'apparaisse ultérieurement une affection en rapport avec une dysfonction de CFTR. Ces affections peuvent apparaître tardivement à l'adolescence ou à l'âge adulte. Il faut rester vigilant au possible développement de dilatations de bronches, d'insuffisance pancréatique exocrine, d'atteinte ORL chronique (rhino-sinusite, polypose naso-sinusienne), de pancréatite. Une infertilité masculine par absence bilatérale des canaux déférents est également possible. (cf PNDS MV et maladies apparentées)

Nous restons à votre disposition pour plus d'informations complémentaires

Coordonnées du CRCM :

## Annexe 13 : Recommandations de différentes sociétés savantes concernant la prise en charge des patients avec dilatation des bronches (DDB)

Référence	Définition Clinique	TS	Etude Génétique	Commentaires
Polverino 2017	DDB Adultes	non	NA	Recommandations ERS : ne concerne que le traitement, pas le diagnostic étiologique. Aucune référence à la MV.
Pasteur 2010	DDB adultes et enfants	NA	NA	Recommandations Britanniques Propose TS x2, Analyse CFTR (non précisée), Bactério (Sa, Hi, Pa, Bc)
Gramagna 2018	DDB adultes	NA	NA	Recommandations italiennes Propose TS, Etude génétique « progressive », DDP nasale et CCC
Bombieri 2011	AL-CFTR	NA	Etude complète du gène	Recommandations internationales et avis d'experts Propose TS, Etude de CFTR « progressive », DDP nasale CCC
Pagin A 2020	AL-CFTR	NA	NA	Avis d'experts Propose TS, étude génétique « progressive kit/complète selon R », DDP nasale et CCC

Vendrell 2008	AL-CFTR	NA	NA	Recommandations Espagnoles Propose TS, Etude CFTR (sans précision), DDP nasale et spermogramme pour DDB inexpliquée
Amorim 2016	AL-CFTR	NA	NA	Recommandations portugaises Propose TS, Etude CFTR (sans précision) DDP nasale et Bacterio (slmt Sa et Bc !) pour DDB inexpliquée
<a href="https://www.has-sante.fr/portail/uploads/docs/application/pdf/2017-09/pnds_2017_vf1.pdf">https://www.has-sante.fr/portail/uploads/docs/application/pdf/2017-09/pnds_2017_vf1.pdf</a>	NA	NA	NA	PNDS MV, pas une étude
Patel 2020	NA	NA	NA	Revue de la littérature sur dysfonction CFTR dans les pathologies respiratoires chroniques non MV
<a href="https://anpgm.fr/media/documents/ANPGM_074-v3-CFTR.pdf">https://anpgm.fr/media/documents/ANPGM_074-v3-CFTR.pdf</a>	NA	NA	NA	Recommandation de bonnes pratiques
Chang 2018	NA	NA	NA	Revue de la littérature et recommandations

## Annexe 14 : Recommandations de différentes sociétés savantes concernant la prise en charge des patients avec pancréatite

Référence		TS	Etude génétique	Commentaires
Dominguez-Munoz 2018	Guidelines pour le diagnostic et le traitement de la PC	Non	Non	Recommandations de la Société européenne de gastroentérologie (ESGE)
Dumonceau 2018	Guidelines pour le traitement endoscopique des complications de la PC	Non	Non	Recommandations de la Société européenne de gastroentérologie (ESGE)
Crockett 2018	Guidelines pour la prise en charge de la PA	Non	Non	Recommandations américaines pour la prise en charge de la PA chez l'adulte
Abu-El-Haija 2018	Recommandations pour la prise en charge de la PA de l'enfant	Non	Non	Recos de la société Nord-américaine de gastro-entérologie et nutrition pédiatriques
Munck 2015	PEC des complications digestives chez l'adulte MV	Non	Non	Recos françaises

## Annexe 15 : Démarche diagnostique générale

Devant une AL-CFTR il est recommandé de réaliser une étude génétique de CFTR, un TS et de rechercher des manifestations infracliniques de la maladie. Il n'est pas rare à ce stade de découvrir d'autres symptômes cliniques nécessitant une prise en charge thérapeutique possiblement en lien avec la dysfonction de CFTR (ORL ou pancréatiques, pulmonaires, ABCD), ce qui peut conduire le clinicien à requalifier le diagnostic en MV suffisante pancréatique.

En cas de mise en évidence d'au moins 1 variant du gène *CFTR* et/ou d'une anomalie clinique, le TS est réalisé.

- 1) Le diagnostic de MV est confirmé, si le dosage du Cl<sup>-</sup> sudoral est  $\geq$  à 60 mmol/L quel que soit le résultat de l'étude génétique et/ou si l'on retrouve 2 variants MV, un sur chaque allèle.
- 2) Le diagnostic de MV est écarté si le Cl<sup>-</sup> sudoral est < à 30 mmol/L sauf si on détecte un variant associé à un TS négatif (voir page 15)
- 3) Si le TS est <60 mmol/L l'étude génétique peut retrouver plusieurs cas :
  - un variant MV à TS négatif en *trans* d'un variant MV permet de poser le diagnostic de MV
  - un variant CCV en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une possible évolution vers la MV
  - un variant CFTR-RD en *trans* d'un variant MV ou CCV permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR avec une très faible probabilité d'évolution vers une MV
  - 2 variants dont au moins un variant de signification clinique inconnue (VSCI). L'algorithme vise à déterminer le caractère pathogène de ce variant. Dans ce cadre, on peut proposer, si c'est possible, la pratique de tests fonctionnels épithéliaux visant à explorer le transport ionique trans-épithélial (en particulier DDP nasale, CCC sur biopsie rectale). Si les tests sont normaux, le variant est considéré non pathogène et le diagnostic est écarté. Si les tests montrent l'absence d'activité de CFTR (< 5% de la normale), le variant VSCI est reclassé comme MV et le patient est diagnostiqué atteint de MV ; si les tests montrent une activité résiduelle mais < 50% de la normale, le variant VSCI est considéré comme pathogène non MV (CCV ou CFTR-RD), ce qui permet de poser le diagnostic d'AL-CFTR. Ces tests ne sont proposés que dans des centres ultraspécialisés et restent difficiles d'accès. Si le diagnostic n'est pas clarifié, soit parce que les tests n'ont pas pu être réalisés, soit parce qu'ils ne sont pas concluants, le suivi en CRCM reste recommandé.

## Références Bibliographiques

- Abu-El-Haija M., Kumar S., Quiros J.A., Balakrishnan K., Barth B., Bitton S., Eisses J.F., Foglio E.J., Fox V., Francis D., et al.** Management of acute pancreatitis in the pediatric population: A clinical report from the North American society for pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition pancreas committee. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2018;66:159–176.
- Agarwal R, Khan A, Aggarwal AN, Gupta D.** Link between CFTR mutations and ABPA: a systematic review and meta-analysis. *Mycoses.* 2012 Jul; 55(4):357-65.
- Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R, Moss R, Denning DW; ABPA complicating asthma ISHAM working group.** Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy.* 2013 Aug;43(8):850-73.
- Ahmed N, Corey M, Forstner G, Zielenski J, Tsui LC, Ellis L, Tullis E, Durie P.** Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut.* 2003 Aug;52(8):1159-64.
- Akshintala VS, Kamal A, Faghih M, Cutting GR, Cebotaru L, West NE, Jennings MT, Dezube R, Whitcomb DC, Lechtzin N, Merlo CA, Singh VK.** Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators reduce the risk of recurrent acute pancreatitis among adult patients with pancreas sufficient cystic fibrosis. *Pancreatology.* 2019 Dec; 19(8):1023-1026
- Aliye Uc, Sohail Z Husain.** Pancreatitis in Children. *Gastroenterology.* 2019 May;156(7):1969-1978
- Amorim A.** Pulmonology Portuguese Society Bronchiectasis Study Group. Recommendations for aetiological diagnosis of bronchiectasis. *Rev Port Pneumol* (2006). 2016 Jul-Aug;22(4):222-35.
- Arkin LM, Flory JH, Shin DB, Gelfand JM, Treat JR, Allen J, Rubenstein RC, Yan AC.** High prevalence of aquagenic wrinkling of the palms in patients with cystic fibrosis and association with measurable increases in transepidermal water loss. *Pediatr Dermatol.* 2012 Sep-Oct;29(5):560-6.
- Armstead J, Morris J, Denning DW.** Multi-country estimate of different manifestations of aspergillosis in cystic fibrosis. *PLoS One.* 2014 Jun 10;9(6):e98502.
- Aron Y, Bienvenu T, Hubert D, Dusser D, Dall'Ava J, Polla BS.** HLA-DR polymorphism in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol.* 1999 Oct;104(4 Pt 1):891-2.
- Audrézet MP, Chen JM, Le Maréchal C, Ruszniewski P, Robaszkiewicz M, Raguénès O, Quéré I, Scotet V, Férec C.** Determination of the relative contribution of three genes—the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene, the cationic trypsinogen gene, and the pancreatic secretory trypsin inhibitor gene—to the etiology of idiopathic chronic pancreatitis. *Eur J Hum Genet.* 2002 Feb;10(2):100-6.
- Audrézet MP, Munck A.** Newborn screening for CF in France: An exemplary national experience. *Arch Pediatr.* 2020 Feb;27 Suppl 1:eS35-eS40.
- Barben J.** First description of cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2021 Jan; 20(1):183.
- Barben J, Castellani C, Munck A, et al.** Updated guidance on thebarben management of children with cystic fibrosis transmenbrane regulator metabolic syndrome/cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CRMS/CFSPID). *J Cyst Fibrosis* 2021 (20)810-819.
- Barben J, Southern KW.** Why Do We Screen Newborn Infants for Cystic Fibrosis? *Int J Neonatal Screen.* 2020 Jul 8; 6(3):56.
- Barben J, Southern KW.** Cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2016 Nov; 22(6):617-22.
- Bareil C, Bergougnoux A.** CFTR gene variants, epidemiology and molecular pathology. *Arch Pediatr.* 2020 Feb;27 Suppl 1:eS8-eS12.

**Bareil C**, Guittard C, Altieri JP, Templin C, Claustres M, des Georges M. Comprehensive and rapid genotyping of mutations and haplotypes in congenital bilateral absence of the vas deferens and other cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related disorders. *J Mol Diagn.* 2007 Nov; 9(5):582-8.

**Bell SC**, Mall MA, Gutierrez H, Macek M, Madge S, Davies JC, Burgel PR, Tullis E, Castaños C, Castellani C, Byrnes CA, Cathcart F, Chotirmall SH, Cosgriff R, Eichler I, Fajac I, Goss CH, Drevinek P, Farrell PM, Gravelle AM, Havermans T, Mayer-Hamblett N, Kashirskaya N, Kerem E, Mathew JL, McKone EF, Naehrlich L, Nasr SZ, Oates GR, O'Neill C, Pypops U, Raraigh KS, Rowe SM, Southern KW, Sivam S, Stephenson AL, Zampoli M, Ratjen F. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med.* 2020 Jan; 8(1):65-124.

**Bercusson A**, Jarvis G, Shah A. CF Fungal Disease in the Age of CFTR Modulators. *Mycopathologia.* 2021 Apr 4.

**Bergougnoux A**, Viart V, Miro J, Bommart S, Molinari N, des Georges M, Claustres M, Chiron R, Taulan-Cadars M. Should diffuse bronchiectasis still be considered a CFTR-related disorder? *J Cyst Fibros.* 2015 Sep;14(5):646-53.

**Bernardino RL**, Jesus TT, Martins AD, Sousa M, Barros A, Cavaco JE, Socorro S, Alves MG, Oliveira PF. Molecular basis of bicarbonate membrane transport in the male reproductive tract. *Curr Med Chem.* 2013; 20(32):4037-49.

**Bienvenu T**, Lopez M, Girodon E. Molecular Diagnosis and Genetic Counseling of Cystic Fibrosis and Related Disorders: New Challenges. *Genes (Basel).* 2020 Jun 4;11(6):619.

**Bienvenu T**, Sermet-Gaudelus I, Burgel PR, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator channel dysfunction in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181(10):1078-84.

**Bieth E**, Hamdi SM, Mieusset R. Genetics of the congenital absence of the vas deferens. *Hum Genet.* 2021 Jan; 140(1):59-76.

**Bieth E**, Nectoux J, Girardet A, Gruchy N, Mitre H, Laurans M, Guenet D, Brouard J, Gerard M. Genetic counseling for cystic fibrosis: A basic model with new challenges. *Arch Pediatr.* 2020 Feb;27 Suppl 1:eS30-eS34.

**Bishop MD**, Freedman SD, Zielenski J, Ahmed N, Dupuis A, Martin S, Ellis L, Shea J, Hopper I, Corey M, Kortan P, Haber G, Ross C, Tzountouris J, Steele L, Ray PN, Tsui LC, Durie PR. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene and ion channel function in patients with idiopathic pancreatitis. *Hum Genet.* 2005 Dec;118(3-4):372-81

**Bombieri C**, Claustres M, De Boeck K, Derichs N, Dodge J, Girodon E, Sermet I, Schwarz M, Tzetis M, Wilschanski M, Bareil C, Bilton D, Castellani C, Cuppens H, Cutting GR, Drevínek P, Farrell P, Elborn JS, Jarvi K, Kerem B, Kerem E, Knowles M, Macek M Jr, Munck A, Radojkovic D, Seia M, Sheppard DN, Southern KW, Stuhrmann M, Tullis E, Zielenski J, Pignatti PF, Ferec C. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros.* 2011 Jun;10 Suppl 2:S86-102.

**Borowitz D**, Parad RB, Sharp JK, Sabadosa KA, Robinson KA, Rock MJ, Farrell PM, Sontag MK, Rosenfeld M, Davis SD, Marshall BC, Accurso FJ. Cystic Fibrosis Foundation practice guidelines for the management of infants with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome during the first two years of life and beyond. *J Pediatr* 2009, 155(6 Suppl), S106-116.

**Borowitz D**, Robinson KA, Rosenfeld M, Davis SD, Sabadosa KA, Spear SL, Michel SH, Parad RB, White TB, Farrell PM, Marshall BC, Accurso FJ. Cystic Fibrosis Foundation evidence-based guidelines for management of infants with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2009 Dec; 155(6 Suppl):S73-93.

**Bui S**, Dournes G, Fayon M, Bouchet S, Burgel PR, Macey J, Murris M, Delhaes L. Aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA) et mucoviscidose : mécanismes, diagnostic et alternatives thérapeutiques [Allergic Broncho-Pulmonary Aspergillosis (ABPA) in cystic fibrosis: Mechanisms, diagnosis and therapeutic options]. *Rev Mal Respir.* 2021 May;38(5):466-476

**Cabrol C**, Bienvenu T, Ruaud L, Girodon E, Noacco G, Delobeau M, Fanian F, Richaud-Thiriez B, Van Maldergem L, Aubin F. Aquagenic Palmoplantar Keratoderma as a CFTR-related Disorder. *Acta Derm Venereol*. 2016 Aug 23; 96(6):848-9.

**Cai H**, Qing X, Niringiyumukiza JD, Zhan X, Mo D, Zhou Y, Shang X. CFTR variants and renal abnormalities in males with congenital unilateral absence of the vas deferens (CUAVD): a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Genet Med*. 2019 Apr;21(4):826-836.

**Calton JB**, Korpella PC, Willis AL, Le CH, Chiu AG, Chang EH. Paranasal sinus size is decreased in CFTR heterozygotes with chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017 Mar;7(3):256-260.

**Carrión**. Reduction of Recurrence Risk of Pancreatitis in Cystic Fibrosis With Ivacaftor: Case Series. *JPGN*. 2018 Mar, 66 (3)451-454

**Casals T**, Bassas L, Egoscue S, Ramos MD, Giménez J, Segura A, Garcia F, Carrera M, Larriba S, Sarquella J, Estivill X. Heterogeneity for mutations in the CFTR gene and clinical correlations in patients with congenital absence of the vas deferens. *Hum Reprod*. 2000 Jul; 15(7):1476-83.

**Castellani C**, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhrmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros*. 2008 May;7(3):179-96.

**Castellani C**, Gomez Lira M, Frulloni L, Delmarco A, Marzari M, Bonizzato A, Cavallini G, Pignatti P, Mastella G. Analysis of the entire coding region of the cystic fibrosis transmembrane regulator gene in idiopathic pancreatitis. *Hum Mutat*. 2001 Aug;18(2):166.

**Castellani C**, Quinzii C, Altieri S, Mastella G, Assael BM. A pilot survey of cystic fibrosis clinical manifestations in CFTR mutation heterozygotes. *Genet Test*. 2001 Fall; 5(3):249-54.

**Castellani C**, Bonizzato A, Pradal U, Filicori M, Foresta C, La Sala GB, Mastella G. Evidence of mild respiratory disease in men with congenital absence of the vas deferens. *Respir Med*. 1999 Dec; 93(12):869-75.

**Chang AB** , Bush A, Grimwood K. Bronchiectasis in children: diagnosis and treatment. *Lancet*. 2018 Sep 8; 392(10150):866-879.

**Chang EH**, Tang XX, Shah VS, Launspach JL, Ernst SE, Hilkin B, Karp PH, Abou Alaiwa MH, Graham SM, Hornick DB, Welsh MJ, Stoltz DA, Zabner J. Medical reversal of chronic sinusitis in a cystic fibrosis patient with ivacaftor. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2015 Feb;5(2):178-81.

**Chaudhary N**, Datta K, Askin FB, Staab JF, Marr KA. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator regulates epithelial cell response to Aspergillus and resultant pulmonary inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Feb 1;185(3):301-10.

**Claustres M**, Thèze C, des Georges M, Baux D, Girodon E, Bienvenu T, Audrezet MP, Dugueperoux I, Férec C, Lalau G, Pagin A, Kitizis A, Thoreau V, Gaston V, Bieth E, Malinge MC, Reboul MP, Fergelot P, Lemonnier L, Mekki C, Fanen P, Bergougnoux A, Sasorith S, Raynal C, Bareil C. CFTR-France, a national relational patient database for sharing genetic and phenotypic data associated with rare CFTR variants. *Hum Mutat*. 2017 Oct; 38(10):1297-1315.

**Claustres M**, Guittard C, Bozon D, Chevalier F, Verlingue C, Ferec C, Girodon E, Cazeneuve C, Bienvenu T, Lalau G, Dumur V, Feldmann D, Bieth E, Blayau M, Clavel C, Creveaux I, Malinge MC, Monnier N, Malzac P, Mitre H, Chomel JC, Bonnefont JP, Iron A, Chery M, Georges MD. Spectrum of CFTR mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum Mutat*. 2000;16(2):143-56.

**Claustres M**, Guittard C, Bozon D, Chevalier F, Verlingue C, Ferec C, Girodon E, Cazeneuve C, Bienvenu T, Lalau G, Dumur V, Feldmann D, Bieth E, Blayau M, Clavel C, Creveaux I, Malinge MC, Monnier N, Malzac P, Mitre H, Chomel JC, Bonnefont JP, Iron A, Chery M, Georges MD. Spectrum of CFTR mutations in cystic fibrosis and in congenital absence of the vas deferens in France. *Hum Mutat*. 2000; 16(2):143-56.

**Cohn JA**, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med*. 1998 Sep 3;339(10):653-8.

**Collaco JM**, Blackman SM, Raraigh KS, Corvol H, Rommens JM, Pace RG, et al. Sources of variation in sweat chloride measurements in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;194:1375–1382.

**Coste A**, Girodon E, Louis S, Prulière-Escabasse V, Goossens M, Peynègre R, Escudier E. Atypical sinusitis in adults must lead to looking for cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia. *Laryngoscope*. 2004 May;114(5):839-43.

**Crockett S.D.**, Wani S., Gardner T.B., Falck-Ytter Y., Barkun A.N., American Gastroenterological Association Institute Clinical Guidelines Committee American gastroenterological association institute guideline on initial management of acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2018;154:1096–1101

**Cuppens H**, Lin W, Jaspers M, Costes B, Teng H, Vankeerberghen A, Jorissen M, Droogmans G, Reynaert I, Goossens M, Nilius B, Cassiman JJ. Polyvariant mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. The polymorphic (Tg)m locus explains the partial penetrance of the T5 polymorphism as a disease mutation. *J Clin Invest*. 1998 Jan 15; 101(2):487-96.

**Dannhoffer L**, Blouquit-Laye S, Regnier A, Chinet T. Functional properties of mixed cystic fibrosis and normal bronchial epithelial cell cultures. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2009;40: 717–723.

**Davies JC**, Cunningham S, Harris WT, Lapey A, Regelmann WE, Sawicki GS, Southern KW, Robertson S, Green Y, Cooke J, Rosenfeld M; KIWI Study Group. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of ivacaftor in patients aged 2-5 years with cystic fibrosis and a CFTR gating mutation (KIWI): an open-label, single-arm study. *Lancet Resp Med* 2016 Feb; 4(2):107-15

**De Boeck K**, Amaral MD. Progress in therapies for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016 Aug;4(8):662-674.

**De Boeck K**, Weren M, Proesmans M, Kerem E. Pancreatitis among patients with cystic fibrosis: correlation with pancreatic status and genotype. *Pediatrics*. 2005 Apr;115(4):e463-9.

**Deneau MR**, et al. The natural history of primary sclerosing cholangitis in 781 children: A multicenter, international collaboration. *Hepatology* 2017;66:518-527

**Dequeker E**, Stuhrmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, Cuppens H, des Georges M, Ferec C, Macek M, Pignatti PF, Scheffer H, Schwartz M, Witt M, Schwarz M, Girodon E. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. *Eur J Hum Genet*. 2009 Jan; 17(1):51-65.

**Derichs N**, de Jonge H, Hug MJ. European Cystic Fibrosis Society-Clinical Trials Network (ECFS-CTN) and Diagnostic Working Group. Standard Operating Procedure: ion transport in rectal biopsies for diagnosis and clinical trials in cystic fibrosis (intestinal current measurement, ICM) 2011 available upon request on ECFS-CTN@uzleuven.be.

**D'Erme AM**, Braggion C, de Martino M, Greco A. Aquagenic palmoplantar keratoderma: a sign of cystic fibrosis early in life. *Int J Dermatol*. 2014 Nov; 53(11): e536-8.

**Dermine S**, E. Girodon-Boulandet, P. Calame, M.P. Vullierme, T. Bienvenu, P. Ruszniewski, P. Lévy, V. Rebours. Rôle des mutations du gène CFTR au cours des pancréatites : histoire naturelle, relation génotype-phénotype et impact des facteurs associés. <https://www.snfge.org/content/Rôle des mutations du gène CFTR au cours des pancréatites : histoire naturelle, relation génotype-phénotype et impact des facteurs associés>.

**Di Mango E**, Overdevest J, Keating C, Francis SF, Dansky D, Gudis D. Effect of highly effective modulator treatment on sinonasal symptoms in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2021 May;20(3):460-463.

**Dohle GR**, Veeze HJ, Overbeek SE, van den Ouwendijk AM, Halley DJ, Weber RF, Niermeijer MF. The complex relationships between cystic fibrosis and congenital bilateral absence of the vas deferens: clinical, electrophysiological and genetic data. *Hum Reprod*. 1999 Feb;14(2):371-4.

**Dominguez-Munoz JE.** Recommendations from the United European Gastroenterology evidence-based guidelines for the diagnosis and therapy of chronic pancreatitis. *Pancreatology*. Volume 18, Issue 8, December 2018, Pages 847-854

**Douglas JE**, Civantos AM, Locke TB, Sweis AM, Hadjiliadis D, Hong G, Dorgan DJ, Kohanski MA, Palmer JN, Adappa ND. Impact of novel CFTR modulator on sinonasal quality of life in adult patients with cystic fibrosis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2021 Feb;11(2):201-203.

**Downing B**, Irving S, Bingham Y, Fleming L, Bush A, Saglani S. Feasibility of lung clearance index in a clinical setting in pre-school children. *Eur Respir J*. 2016 Oct;48(4):1074-1080.

**Dray X**, Marteau P, Bienvenu T, Dusser D, Hubert D. Discussion on genotype and phenotype correlations in patients with cystic fibrosis and pancreatitis. *Gastroenterology*. 2003 Oct;125(4):1286.

**Dumonceau JM**, Delhaye M, Tringali A, Arvanitakis M, Sanchez-Yague A, Vaysse T, Aithal GP, Anderloni A, Bruno M, Cantú P, Devière J, Domínguez-Muñoz JE, Lekkerkerker S, Poley JW, Ramchandani M, Reddy N, van Hooft JE. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline - Updated August 2018. *Endoscopy*. 2019 Feb;51(2):179-193

**Durno C**, Corey M, Zielenski J, Tullis E, Tsui LC, Durie P. Genotype and phenotype correlations in patients with cystic fibrosis and pancreatitis. *Gastroenterology*. 2002 Dec;123(6):1857-64.

**Eaton TE**, Weiner Miller P, Garrett JE, Cutting GR. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations: do they play a role in the aetiology of allergic bronchopulmonary aspergillosis? *Clin Exp Allergy*. 2002 May;32(5):756-61.

**Elliott RB**. Letter: Wrinkling of skin in cystic fibrosis. *Lancet*. 1974 Jul 13;2(7872):108.

**Fajac I**, Viel M, Sublemontier S, Hubert D, Bienvenu T. Could a defective epithelial sodium channel lead to bronchiectasis? *Respir Res*. 2008; 9:46.

**Farley H**, Poole S, Chapman S, Flight W. Diagnosis of cystic fibrosis in adulthood and eligibility for novel CFTR modulator therapy. *Postgrad Med J*. 2021

**Farmen, S.L.**, Karp, P.H., Ng, P., Palmer, D.J., Koehler, D.R., Hu,J., Beaudet, A.L., Zabner, J., and Welsh, M.J. Gene transfer of CFTR to airway epithelia: low levels of expression are sufficient to correct Cl- transport and overexpression can generate basolateral CFTR. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005 ; 289, L1123-L1130.

**Farrell PM**, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, Howenstine M, McColley SA, Rock M, Rosenfeld M, Sermet-Gaudelus I, Southern KW, Marshall BC, Sosnay PR. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr*. 2017 Feb;181S:S4-S15.e1.

**Farrell PM**, Koscik RE. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. *Pediatrics*. 1996 Apr; 97(4):524-8.

**Feuillet-Fieux MN**, Lenoir G, Sermet I, Elie C, Djadi-Prat J, Ferrec M, Magen M, Couloigner V, Manach Y, Lacour B, Bonnefont JP. Nasal polyposis and cystic fibrosis(CF): review of the literature. *Rhinology*. 2011 Aug;49(3):347-55.

**Fisman D**. Cystic fibrosis heterozygosity: Carrier state or haploinsufficiency? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Feb 11; 117(6):2740-2742.

**Gaillard DA**, Carré-Pigeon F, Lallemand A. Normal vas deferens in fetuses with cystic fibrosis. *J Urol*. 1997 Oct; 158(4):1549-52.

**Gaitch N**, Hubert D, Gameiro C, Burgel PR, Houriez F, Martinez B, Honoré I, Chapron J, Kanaan R, Dusser D, Girodon E, Bienvenu T. CFTR and/or pancreatitis susceptibility genes mutations as risk factors of pancreatitis in cystic fibrosis patients? *Pancreatology*. 2016 Jul-Aug;16(4):515-22.

**Gamaletsou MN**, Hayes G, Harris C, Brock J, Muldoon EG, Denning DW. F508del CFTR gene mutation in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Asthma*. 2018 Aug;55(8):837-843.

**Gangneux JP**, Bougnoux ME, Hennequin C, Godet C, Chandenier J, Denning DW, Dupont B; LIFE program, the Société française de mycologie médicale SFMM-study group. An estimation of burden of serious fungal infections in France. *J Mycol Med.* 2016 Dec;26(4):385-390.

**Garçon-Michel N**, Roguedas-Contios AM, Rault G, Le Bihan J, Ramel S, Revert K, Dirou A, Misery L. Frequency of aquagenic palmoplantar keratoderma in cystic fibrosis: a new sign of cystic fibrosis? *Br J Dermatol.* 2010 Jul;163(1):162-6

**Gelfond D**, Heltshe S, Ma C, Rowe SM, Frederick C, Uluer A, Sicilian L, Konstan M, Tullis E, Christine Roach RN, Griffin K, Joseloff E, Borowitz D. Impact of CFTR Modulation on Intestinal pH, Motility, and Clinical Outcomes in Patients With Cystic Fibrosis and the G551D Mutation. *Clin Transl Gastroenterol.* 2017 Mar; 8(3): e81

**Gervais R**, Dumur V, Rigot JM, Lafitte JJ, Roussel P, Claustres M, Demaille J. High frequency of the R117H cystic fibrosis mutation in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med.* 1993 Feb 11;328(6):446-7.

**Girodon E**, Cazeneuve C, Lebargy F, et al. CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Eur J Hum Genet* 1997; 5(3):149-55.

**Gomez Lira M**, Benetazzo MG, Marzari MG, Bombieri C, Belpinati F, Castellani C, Cavallini GC, Mastella G, Pignatti PF. High frequency of cystic fibrosis transmembrane regulator mutation L997F in patients with recurrent idiopathic pancreatitis and in newborns with hypertrypsinemia. *Am J Hum Genet.* 2000 Jun;66(6):2013-4.

**Gostelie R**, Stegeman I, Berkers G, Bittermann J, Ligtenberg-van der Drift I, Kipshagen PV, de Winter-de Groot K, Speleman L. The impact of ivacaftor on sinonasal pathology in S1251N-mediated cystic fibrosis patients. *PLoS One.* 2020 Jul 20;15(7):e0235638.

**Gould M J**, Ratjen F, Gonska T. Pancreatitis in a previously pancreatic insufficient patient with cystic fibrosis after treatment with lumacaftor/ivacaftor combination therapy. *J Can Assoc Gastroenterol.* 2019 Mar; 2(Suppl 2): 361–362.

**Groman JD**, Hefferon TW, Casals T, Bassas L, Estivill X, Des Georges M, Guittard C, Koudova M, Fallin MD, Nemeth K, Fekete G, Kadasi L, Friedman K, Schwarz M, Bombieri C, Pignatti PF, Kanavakis E, Tzetis M, Schwartz M, Novelli G, D'Apice MR, Sobczynska-Tomaszewska A, Bal J, Stuhrmann M, Macek M Jr, Claustres M, Cutting GR. Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign. *Am J Hum Genet.* 2004 Jan;74(1):176-9.

**Groves T**, Robinson P, Wiley V, Fitzgerald DA. Long-term outcomes of children with intermediate sweat chloride values in infancy. *J Pediatr.* 2015 Jun;166(6):1469-74.e1-3.

**Hamoir C**, Pepermans X, Piessevaux H, Jouret-Mourin A, Weynand B, Habyalimana J-B. Clinical and morphological characteristics of sporadic genetically determined pancreatitis as compared to idiopathic pancreatitis: higher risk of pancreatic cancer in CFTR variants. *Digestion* 2013; 87:229–39.

**Han ST**, Rab A, Pellicore MJ, Davis EF, McCague AF, Evans TA, Joynt AT, Lu Z, Cai Z, Raraigh KS, Hong JS, Sheppard DN, Sorscher EJ, Cutting GR. Residual function of cystic fibrosis mutants predicts response to small molecule CFTR modulators. *JCI Insight.* 2018 Jul 26;3(14):e121159.

**Hayes D Jr**, McCoy KS, Sheikh SI. Improvement of sinus disease in cystic fibrosis with ivacaftor therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Aug 15;190(4):468.

**Hegyi P**, Párnoczky A, Lerch MM, Sheel ARG, Rebours V, Forsmark CE, Del Chiaro M, Rosendahl J, de-Madaria E, Szűcs Á, Takaori K, Yadav D, Gheorghe C, Rakonczay Z Jr, Molero X, Inui K, Masamune A, Fernandez-Del Castillo C, Shimosegawa T, Neoptolemos JP, Whitcomb DC, Sahin-Tóth M; Working Group for the International (IAP – APA – JPS – EPC) Consensus Guidelines for Chronic Pancreatitis. International Consensus Guidelines for Risk Factors in Chronic Pancreatitis. Recommendations from the working group for the international consensus guidelines for chronic pancreatitis in collaboration with the International Association of Pancreatology, the American Pancreatic Association, the Japan Pancreas Society, and European Pancreatic Club. *Pancreatology.* 2020 Jun;20(4):579-585

**Hill AT**, Sullivan AL, Chalmers JD, De Soyza A, Elborn SJ, Floto AR, Grillo L, Gruffydd-Jones K, Harvey A, Haworth CS, Hiscocks E, Hurst JR, Johnson C, Kelleher PW, Bedi P, Payne K, Saleh H, Screaton NJ, Smith M, Tunney M, Whitters D, Wilson R, Loebinger MR. British Thoracic Society Guideline for bronchiectasis in adults. *Thorax*. 2019 Jan;74(Suppl 1):1-69.

**Hinson** KF, Moon AJ, Plummer NS. Broncho-pulmonary aspergillosis; a review and a report of eight new cases. *Thorax*. 1952 Dec;7(4):317-33.

**Hubert D**, Fajac I, Bienvenu T, Desmazes-Dufeu N, Ellaffi M, Dall'ava-Santucci, Daniel Dusser J. Diagnosis of Cystic Fibrosis in Adults With Diffuse Bronchiectasis. *J Cyst Fibros* 2004 Mar; 3(1):15-22.

**Huyghe E**, Boitrelle F, Methorst C, Mieusset R, Ray PF, Akakpo W, Koscinski I, Chalas C, Rives N, Plotton I, Robin G, El Osta R, Hennebicq S, Eustache F, Marcelli F, Lejeune H. Recommandations de l'AFU et de la SALF concernant l'évaluation de l'homme infertile [AFU and SALF recommendations for the evaluation of male infertility]. *Prog Urol*. 2021 Mar;31(3):131-144. French.

**Jézéquel P**, Dubourg C, Le Lannou D, Odent S, Le Gall JY, Blayau M, Le Treut A, David V. Molecular screening of the CFTR gene in men with anomalies of the vas deferens: identification of three novel mutations. *Mol Hum Reprod*. 2000 Dec; 6(12):1063-7.

**Johns JD**, Rowe SM. The effect of CFTR modulators on a cystic fibrosis patient presenting with recurrent pancreatitis in the absence of respiratory symptoms: a case report. *BMC Gastroenterol* 2019.

**Johnson**, L.G., Olsen, J.C., Sarkadi, B., Moore, K.L., Swanstrom, R., and Boucher, R.C. Efficiency of gene transfer for restoration of normal airway epithelial function in cystic fibrosis. *Nat. Genet.* 1992 ; 2, 21-25.

**Jones MM**, Seilheimer DK, Pollack MS, Curry M, Crane MM, Rossen RD. Relationship of hypergammaglobulinemia, circulating immune complexes, and histocompatibility antigen profiles in patients with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis*. 1989 Dec;140(6):1636-9.

**Kasi AS**, Wee CP, Keens TG, Salinas DB. Abnormal Lung Clearance Index in Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CFSPID) Children with Otherwise Normal FEV<sub>1</sub>. *Lung*. 2020 Feb; 198(1):163-167.

**Katz KA**, Yan AC, Turner ML. Aquagenic wrinkling of the palms in patients with cystic fibrosis homozygous for the delta F508 CFTR mutation. *Arch Dermatol*. 2005 May;141(5):621-4.

**Kerem, E.**, Rave-Harel, N., Augarten, A., Madgar, I., Nissim-Rafinia, M., Yahav, Y., Goshen, R., Bentur, L., Rivlin, J., Aviram, M. et al. A Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator splice variant with partial penetrance associated with variable cystic fibrosis presentations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997 ; 155, 1914–1920

**Kharrizi M**, Yang J, Bishop T, Lessing S, Young S, Graham S, Pearl M, Chow H, Ho T, Currier R, Gaffney L, Feuchtbaum L; California Cystic Fibrosis Newborn Screening Consortium. Newborn Screening for Cystic Fibrosis in California. *Pediatrics*. 2015 Dec;136(6):1062-72.

**Kilinc AA**, Alishbayli G, Taner HE, Cokugras FC, Cokugras H. Clinical characteristics and genetic analysis of cystic fibrosis transmembrane conductance reseptor-related disease. *Pediatr Int*. 2020 May;62(5):629-633.

**Krones E**, Graziadei I, Trauner M, Fickert P. Evolving concepts in primary sclerosing cholangitis. *Liver Int*. 2012 Mar; 32(3):352-69.

**LaRusch J**, Jung J, General IJ, Lewis MD, Park HW, Brand RE, Gelrud A, Anderson MA, Banks PA, Conwell D, Lawrence C, Romagnuolo J, Baillie J, Alkaade S, Cote G, Gardner TB, Amann ST, Slivka A, Sandhu B, Aloe A, Kienholz ML, Yadav D, Barmada MM, Bahar I, Lee MG, Whitcomb DC; North American Pancreatitis Study Group. Mechanisms of CFTR functional variants that impair regulated bicarbonate permeation and increase risk for pancreatitis but not for cystic fibrosis. *PLoS Genet*. 2014 Jul 17;10(7):e1004376

**LaRusch** J, Jung J, General IJ, Lewis MD, Park HW, et al. Mechanisms of CFTR Functional Variants That Impair Regulated Bicarbonate Permeation and Increase Risk for Pancreatitis but Not for Cystic Fibrosis. *PLoS Genet* 2014 ; 10(7): e1004376.

**Lenoir** G. *La Mucoviscidose*. Ed. Doin (Paris), 1988.

**Levy** H, Nugent M, Schneck K, Stachiw-Hietpas D, Laxova A, Lakser O, Rock M, Dahmer MK, Biller J, Nasr SZ, Baker M, McColley SA, Simpson P, Farrell PM. Refining the continuum of CFTR-associated disorders in the era of newborn screening. *Clin Genet* 2016 89(5), 539-549. doi: 10.1111/cge.12711

**Lévy** P, Domínguez-Muñoz E, Imrie C, Löhr M, Patrick Maisonneuve. Epidemiology of chronic pancreatitis: burden of the disease and consequences. *United European Gastroenterol J*. 2014 Oct;2(5):345-54

**Liu** JC, Modha DE, Gaillard EA. What is the clinical significance of filamentous fungi positive sputum cultures in patients with cystic fibrosis? *J Cyst Fibros* 2013;12:187—93.

**Lowes** MA, Khaira GS, Holt D. Transient reactive papulotranslucent acrokeratoderma associated with cystic fibrosis. *Australas J Dermatol*. 2000 Aug;41(3):172-4.

**Mainz** JG, Schädlich K, Schien C, Michl R, Schelhorn-Neise P, Koitschev A, Koitschev C, Keller PM, Riethmüller J, Wiedemann B, Beck JF. Sinonasal inhalation of tobramycin vibrating aerosol in cystic fibrosis patients with upper airway *Pseudomonas aeruginosa* colonization: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Drug Des Devel Ther*. 2014 Feb 10;8:209-17.

**Mainz** JG, Schien C, Schiller I, Schädlich K, Koitschev A, Koitschev C, Riethmüller J, Graepler-Mainka U, Wiedemann B, Beck JF. Sinonasal inhalation of dornase alfa administered by vibrating aerosol to cystic fibrosis patients: a double-blind placebo-controlled cross-over trial. *J Cyst Fibros*. 2014 Jul;13(4):461-70

**Mak** V, Jarvi KA, Zielenski J, Durie P, Tsui LC. Higher proportion of intact exon 9 CFTR mRNA in nasal epithelium compared with vas deferens. *Hum Mol Genet*. 1997 Nov; 6(12):2099-107.

**Marcorelles** P, Gillet D, Friocourt G, Ledé F, Samaison L, Huguen G, Férec C. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein expression in the male excretory duct system during development. *Hum Pathol*. 2012 Mar; 43(3):390-7..

**Martín Carmona** J, Gómez Moyano E, Gómez Huelgas R, Martínez Pilar L. Aquagenic keratoderma and cystic fibrosis screening. *Med Clin (Barc)*. 2020 Sep 19:S0025-7753(20)30509-1.

**Martinez** B, Heller M, Gaitch N, Hubert D, Burgel PR, Levy P, Girodon E, Bienvenu T. p.Arg75Gln, a CFTR variant involved in the risk of CFTR-related disorders? *J Hum Genet*. 2014 Apr;59(4):206-10.

**Masson** A, Schneider-Futschik EK, Baatallah N, et al. Predictive factors for lumacaftor/ivacaftor clinical response. *J Cyst Fibros* 2018: S1569-1993(18)30821.

**Masson** E, Chen JM, Audrézet MP, Cooper DN, Férec C. A conservative assessment of the major genetic causes of idiopathic chronic pancreatitis: data from a comprehensive analysis of PRSS1, SPINK1, CTRC and CFTR genes in 253 young French patients. *PLoS One*. 2013 Aug 8;8(8):e73522

**Masson** E, Cédric Le Maréchal, Philippe Levy, Nadia Chuzhanova, Philippe Ruszniewski, David N Cooper, Jian-Min Chen, Claude Férec. Co-inheritance of a novel deletion of the entire SPINK1 gene with a CFTR missense mutation (L997F) in a family with chronic pancreatitis. *Mol Genet Metab*. Sep-Oct 2007;92(1-2):168-75

**Mayell** SJ, Munck A, Craig JV, Sermet I, Brownlee KG, Schwarz MJ, Castellani C, Southern KW; European Cystic Fibrosis Society Neonatal Screening Working Group. A European consensus for the evaluation and management of infants with an equivocal diagnosis following newborn screening for cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2009 Jan; 8(1):71-8.

**McCormick** J, Cho DY, Lampkin B, Richman J, Hathorne H, Rowe SM, Woodworth BA. Ivacaftor improves rhinologic, psychologic, and sleep-related quality of life in G551D cystic fibrosis patients. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2019 Mar;9(3):292-297.

**McWilliams RR, Petersen GM, Rabe KG, Holtegaard LM, Lynch PJ, Bishop MD, et al.** Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations and risk for pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 2010;116:203-9

**Megalaa R, Gopalareddy V, Champion E, Goralski JL.** Time for a gut check : Pancreatic sufficiency resulting from CFTR modulator use. *Pediatr Pulmonol*. 2019, 54, E16-E18

**Mesbahi M, Shtenberg M, Wilschanski M, et al.** Changes of CFTR functional measurements and clinical improvements in cystic fibrosis patients with non p.Gly551Asp gating mutations treated with ivacaftor. *J Cyst Fibros* 2017; 16(1):45-8.

**Miller AC, Comellas AP, Hornick DB, Stoltz DA, Cavanaugh JE, Gerke AK, Welsh MJ, Zabner J, Polgreen PM.** Cystic fibrosis carriers are at increased risk for a wide range of cystic fibrosis-related conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Jan 21;117(3):1621-1627.

**Miller PW, Hamosh A, Macek M Jr, Greenberger PA, MacLean J, Walden SM, et al.** 1996

**Moss RB, King VV.** Management of sinusitis in cystic fibrosis by endoscopic surgery and serial antimicrobial lavage. Reduction in recurrence requiring surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1995 May;121(5):566-72.

**Munck A, Bourmaud A, Bellon G, Picq P, Farrell PM; DPAM Study Group.** Phenotype of children with inconclusive cystic fibrosis diagnosis after newborn screening. *Pediatr Pulmonol* 2020 Jan 9

**Munck A, Languepin J, Debray D, Lamireau T, Abely M, Huet F, Maudinas R, Michaud L, Mas E.** Management of pancreatic, gastrointestinal and liver complications in adults cystic fibrosis. *Rev Mal Resp* 2015, 32, 566-585

**Munck A, Mayell SJ, Winters V, Shawcross A, Derichs N, Parad R, Barben J, Southern KW; ECFS Neonatal Screening Working Group.** Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CFSPID): A new designation and management recommendations for infants with an inconclusive diagnosis following newborn screening. *J Cyst Fibros*. 2015 Nov; 14(6):706-13.

**Munck A.** Heat wave and acute pancreatitis: very unusual cystic fibrosis presentation. *Pediatrics*. 2004 Jun;113(6):1846

**Nadal M, Laudier B, Malinge MC, Binois R, Estève E.** Kératodermie aquagénique palmaire chez une patiente hétérozygote pour la mutation c.3197G>C du gène CFTR [Aquagenic palmar keratoderma in a patient heterozygous for the mutation c.3197G>C in the CFTR gene]. *Ann Dermatol Venereol*. 2015 Mar;142(3):201-5.

**Nichols AL, Davies JC, Jones D, Carr SB.** Restoration of exocrine pancreatic function in older children with cystic fibrosis on ivacaftor. *Pediatric Respiratory review*. Volume 35, September 2020, Pages 99-102

**Nick JA, Chacon CS, Brayshaw SJ, Jones MC, Barboa MC, St Clair CG, Young RL, Nichols DP, Janssen JS, Huitt GA, Iseman MD, Daley CL, Taylor-Cousar JL, Accurso FA, Saavedra MT, Sontag MK.** Effects of Gender and Age at Diagnosis on Disease Progression in Long-Term Survivors of Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Sep 1; 182(5):614-26.

**Noone PG, Knowles MR.** 'CFTR-opathies': disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. *Respir Res*. 2001; 2(6):328-32.

**O'Donnell AE, Barker AF, Ilowite JS, Fick RB.** Treatment of idiopathic bronchiectasis with aerosolized recombinant human DNase I. *rhDNase Study Group*. *Chest*. 1998 May; 113(5):1329-34.

**Ooi CY, Sutherland R, Castellani C, Keenan K, Boland M, Reisman J, Bjornson C, Chilvers MA, van Wylick R, Kent S, Price A, Mateos-Corral D, Hughes D, Solomon M, Zuberbuhler P, Brusky J, Durie PR, Ratjen F, Gonska T.** Immunoreactive trypsinogen levels in newborn screened infants with an inconclusive diagnosis of cystic fibrosis. *BMC Pediatr* 2019, 19(1), 369

**Ooi CY, Castellani C, Keenan K, Avolio J, Volpi S, Boland M, Kovesi T, Bjornson C, Chilvers MA, Morgan L, van Wylick R, Kent S, Price A, Solomon M, Tam K, Taylor L, Malitt KA, Ratjen F, Durie PR, Gonska T.** Inconclusive diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening. *Pediatrics* 2015, 135(6), e1377-1385.

**Ooi CY, Dupuis A, Gonska T, Ellis L, Ni A, Jarvi K, Martin S, Ray P, Steele L, Kortan P, Dorfman R, Solomon M, Zielenski J, Corey M, Tullis E, Durie P.** Does integration of various ion channel

measurements improve diagnostic performance in cystic fibrosis? *Ann Am Thorac Soc.* 2014 May; 11(4):562-70.

**Ooi CY**, Dorfman R, Cipolli M, et al. Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. *Gastroenterology*, 2011, 140: 153- 161.

**Ooi CY**, Dorfman R, Cipolli M, Gonska T, Castellani C, Keenan K, Freedman SD, Zielinski J, Berthiaume Y, Corey M, Schibli S, Tullis E, Durie PR. Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. *Gastroenterology*. 2011 Jan;140(1):153-61.

**O'Sullivan BP**, Baker D, Leung KG, Reed G, Baker SS, Borowitz D. Evolution of pancreatic function during the first year in infants with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2013 Apr;162(4):808-812.e1.

**Pagin A**, Bergougnoux A, Girodon E, Reboul MP, Willoquaux C, Kesteloot M, Raynal C, Bienvenu T, Humbert M, Lalau G, Bieth E. Novel ADGRG2 truncating variants in patients with X-linked congenital absence of vas deferens. *Andrology*. 2020 May;8(3):618-624.

**Pagin A**, Sermet-Gaudelus I, Burgel PR. Genetic diagnosis in practice: From cystic fibrosis to CFTR-related disorders. *Arch Pediatr.* 2020 Feb;27 Suppl 1: eS25-eS29.

**Pall H**, et al. Primary sclerosing cholangitis in childhood is associated with abnormalities in cystic fibrosis-mediated chloride channel function. *J Pediatr* 2007; 151: 255-9

**Párnoczky A**, Abu-El-Haija M, Husain S, Lowe M, Oracz G, Sahin-Tóth M, Szabó FK, Uc A, Wilschanski M, Witt H, Czakó L, Grammatikopoulos T, Rasmussen IC, Sutton R, Hegyi P. EPCHPSG evidence-based guidelines for the management of pediatric pancreatitis. *Pancreatology*. 2018 Mar;18(2):146-160

**Pasteur MC**, Bilton D, Hill AT; British Thoracic Society Bronchiectasis non-CF Guideline Group. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. *Thorax*. 2010 Jul;65 Suppl 1:i1-58.

**Patat O**, Pagin A, Siegfried A, Mitchell V, Chassaing N, Faguer S, Monteil L, Gaston V, Bujan L, Courtade-Saïdi M, Marcelli F, Lalau G, Rigot JM, Mieusset R, Bieth E. Truncating Mutations in the Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene ADGRG2 Cause an X-Linked Congenital Bilateral Absence of Vas Deferens. *Am J Hum Genet.* 2016 Aug 4; 99(2):437-42.

**Patel SD**, Bono TR, Rowe SM, Solomon GM. CFTR targeted therapies: recent advances in cystic fibrosis and possibilities in other diseases of the airways. *Eur Respir Rev.* 2020 Jun 16; 29(156):190068.

**Patterson TF**, Thompson GR 3rd, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, Morrison VA, Nguyen MH, Segal BH, Steinbach WJ, Stevens DA, Walsh TJ, Wingard JR, Young JA, Bennett JE. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016 Aug 15;63(4):e1-e60.

**Petrocheilou A**, Kaditis AG, Loukou I. Pancreatitis in A Patient with Cystic Fibrosis Taking Ivacaftor. *Children (Basel)*. 2020 Jan; 7(1): 6.

**Plyler ZE**, Birket SE, Schultz BD, Hong JS, Rowe SM, Petty CF, Crowley MR, Crossman DK, Schoeb TR, Sorscher EJ. Non-obstructive vas deferens and epididymis loss in cystic fibrosis rats. *Mech Dev.* 2019 Feb; 155:15-26

**Polverino E**, Goeminne PC, McDonnell MJ, Aliberti S, Marshall SE, Loebinger MR, Murris M, Cantón R, Torres A, Dimakou K, De Soyza A, Hill AT, Haworth CS, Vendrell M, Ringshausen FC, Subotic D, Wilson R, Vilaró J, Stallberg B, Welte T, Rohde G, Blasi F, Elborn S, Almagro M, Timothy A, Ruddy T, Tonia T, Rigau D, Chalmers JD. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. *Eur Respir J.* 2017 Sep 9; 50(3):1700629.

**Pranke, I.M.**, Hatton, A., Simonin, J. et al. Correction of CFTR function in nasal epithelial cells from cystic fibrosis patients predicts improvement of respiratory function by CFTR modulators. *Sci Rep* 2017 ; 7, 7375.

**Quinton PM**. Cystic fibrosis: lessons from the sweat gland. *Physiology (Bethesda)*. 2007 Jun; 22:212-25.

**Ramalho AS**, Beck S, Meyer M, Penque D, Cutting GR, Amaral MD. Five percent of normal cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA ameliorates the severity of pulmonary disease in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27:619-627.

**Raman V**, Clary R, Siegrist KL, Zehnbauer B, Chatila TA. Increased prevalence of mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in children with chronic rhinosinusitis. *Pediatrics*. 2002 Jan;109(1): E13.

**Ratbi I**, Legendre M, Niel F, Martin J, Soufir JC, Izard V, Costes B, Costa C, Goossens M, Girodon E. Detection of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene rearrangements enriches the mutation spectrum in congenital bilateral absence of the vas deferens and impacts on genetic counselling. *Hum Reprod*. 2007 May; 22(5):1285-91.

**Raynal C**, Girodon E, Audrezet MP, Cabet F, Pagin A, Reboul MP, Dufernez F, Fergelot P, Bergougnoux A, Fanen P, Ferec C, Bienvenu T. CFTR gene variants: a predisposition factor to aquagenic palmoplantar keratoderma. *Br J Dermatol*. 2019 Nov; 181(5):1097-1099.

**Ren CL**, Fink AK, Petren K, Borowitz DS, McColley SA, Sanders DB, Rosenfeld M, Marshall BC. Outcomes of infants with indeterminate diagnosis detected by cystic fibrosis newborn screening. *Pediatrics* 2015, 135(6), e1386-1392.

**Rock MJ**. How to define CRMS/CFSPID conversion to CF. *Pediatr Pulmonol*. 2020 Jul; 55(7):1548-1549.

**Rongioletti F**, Tomasini C, Crovato F, Marchesi L. Aquagenic (pseudo) keratoderma: a clinical series with new pathological insights. *Br J Dermatol*. 2012 Sep; 167(3):575-82.

**Rosenfeld M**, Wainwright CE, Higgins M, Wang LT, McKee C, Campbell D, Tian S, Schneider J, Cunningham S, Davies. Ivacaftor treatment of cystic fibrosis in children aged 12 to <24 months and with a CFTR gating mutation (ARRIVAL): a phase 3 single-arm study. *Lancet Resp Med* July 2018 ; 6(7) : 545-553.

**Rowe SM**, Daines C, Ringshausen FC, Kerem E, Wilson J, Tullis E, Nair N, Simard C, Han L, Ingenito EP, McKee C, Lekstrom-Himes J, Davies JC. Tezacaftor-Ivacaftor in Residual-Function Heterozygotes with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med*. 2017 Nov 23;377(21):2024-2035.

**Safi C**, Zheng Z, Dimango E, Keating C, Gudis DA. Chronic Rhinosinusitis in Cystic Fibrosis: Diagnosis and Medical Management. *Med Sci (Basel)*. 2019 Feb 22;7(2):32.

**Schneider A**, Larusch J, Sun X, Aloe A, Lamb J, Hawes R, Cotton P, Brand RE, Anderson MA, Money ME, Banks PA, Lewis MD, Baillie J, Sherman S, Disario J, Burton FR, Gardner TB, Amann ST, Gelrud A, George R, Rockacy MJ, Kassabian S, Martinson J, Slivka A, Yadav D, Oruc N, Barmada NM, Frizzell R, Whitcomb DC. Combined bicarbonate conductance-impairing variants in CFTR and SPINK1 variants are associated with chronic pancreatitis in patients without cystic fibrosis. *Gastroenterology*. 2011 Jan;140(1):162-71

**Schulz A**, Tümmeler B. Non-allergic asthma as a CFTR-related disorder. *J Cyst Fibros*. 2016 Sep;15(5):641-4.

**Sellers ZM**, Donna MacIsaac, Helen Yu, Melody Dehghan, Ke-You Zhang, Rachel Bensen, Jessie J Wong, Cindy Kin, K T Park. Nationwide Trends in Acute and Chronic Pancreatitis Among Privately Insured Children and Non-Elderly Adults in the United States, 2007-2014. *Gastroenterology*. 2018 Aug;155(2):469-478

**Sermet-Gaudelus** Guidelines for the clinical management and follow-up of infant with inconclusive diagnosis through newborn screening. *Arch de Ped* 2017; 24:e1-e24

**Sermet-Gaudelus I**, Brouard J, Audrezet MP, Couderc Kohen L, Weiss L, Wizla N, Vrielynck S, LLerena K, Le Bourgeois M, Deneuville E, Remus N, Nguyen-Khoa T, Raynal C, Roussey M, Girodon E. Guidelines for the clinical management and follow-up of infants with inconclusive cystic fibrosis diagnosis through newborn screening. *Arch Pediatr*. 2017 Dec; 24(12):e1-e14.

**Sermet-Gaudelus I**, Roussel D, Bui S, Deneuville E, Huet F, Reix P, Bellon G, Lenoir G, Edelman A. The CF-CIRC study: a French collaborative study to assess the accuracy of cystic fibrosis diagnosis in neonatal screening. *BMC Pediatr*. 2006 Oct 3;6:25.

**Shamsuddin AK**, Quinton PM. Surface fluid absorption and secretion in small airways. *J Physiol*. 2012 Aug 1;590(15):3561-74. doi: 10.1113/jphysiol.2012.230714. Epub 2012 Apr 30. PMID: 22547637; PMCID: PMC3547270.

**Sharer N, Schwarz M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, Braganza J.** Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med.* 1998 Sep 3;339(10):645-52.

**Sheikh SI, Long FR, McCoy KS, Johnson T, Ryan-Wenger NA, Hayes D Jr.** Ivacaftor improves appearance of sinus disease on computerised tomography in cystic fibrosis patients with G551D mutation. *Clin Otolaryngol.* 2015 Feb;40(1):16-21.

**Sheth S, et al.** Increased prevalence of CFTR mutations and variants and decreased chloride secretion in primary sclerosing cholangitis. *Hum Genet* 2003; 113: 286-92

**Shwachman H, and Mahmoodian A:** Pilocarpine iontophoresis sweat testing. Results of seven years' experience. Fourth International Conference Berne/Grindewald 1966, Part I, *Mod Probl Pediatr* 10:158, 1967.

**Solomon GM, Bronsveld I, Hayes K, et al.** Standardized Measurement of Nasal Membrane Transepithelial Potential Difference (NPD). *J Vis Exp* 2018; 13:139.

**Sosnay PR, Salinas DB, White TB, Ren CL, Farrell PM, Raraigh KS, Girodon E, Castellani C.** Applying Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Genetics and CFTR2 Data to Facilitate Diagnoses. *J Pediatr.* 2017 Feb;181S:S27-S32.e1.

**Southern KW, Barben J, Gartner S, Munck A, Castellani C, Mayell SJ, Davies JC, Winters V, Murphy J, Salinas D, McColley SA, Ren CL, Farrell PM.** Inconclusive diagnosis after a positive newborn bloodspot screening result for cystic fibrosis; clarification of the harmonised international definition. *J Cyst Fibros.* 2019 Nov; 18(6):778-780.

**Stevens DA, Moss RB, Kurup VP, et al.** Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis—state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference. *Clin Infect Dis.* 2003; 37(suppl 3):S225-S264.

**Tchernev G, Semkova K, Cardoso JC, Ananiev JJ, Wollina U.** Aquagenic keratoderma. Two new case reports and a new hypothesis. *Indian Dermatol Online J.* 2014 Jan; 5(1):30-3.

**Terlizzi V, Mergni G, Buzzetti R, Centrone C, Zavataro L, Braggion C.** Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): Experience in Tuscany, Italy. *J Cyst Fibros* 2019, 18(4), 484-490.

**Thauvin-Robinet C, Munck A, Huet F, de Becdelièvre A, Jimenez C, Lalau G, et al.; collaborating working group on p.Arg117His.** CFTR p.Arg117His associated with CBAVD and other CFTR-related disorders. *J Med Genet.* 2013 Apr;50(4):220-7.

**Thauvin-Robinet C, Munck A, Huet F, Génin E, Bellis G, Gautier E, et al.; Collaborating Working Group on R117H, Girodon E.** The very low penetrance of cystic fibrosis for the R117H mutation: a reappraisal for genetic counselling and newborn screening. *J Med Genet.* 2009 Nov;46(11):752-8.

**Tompkins MG, Pettit R.** Beyond the Guidelines: Treatment of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in Cystic Fibrosis. *Ann Pharmacother.* 2021 Jun

**Torres-Laboy PM, Melendez-Montañez JM, De Jesús-Rojas W.** Aquagenic Wrinkling of the Palm: A Rare Diagnostic Clue of Cystic Fibrosis and the Response to CFTR- Modulating Therapy. *Cureus.* 2021 Apr 11;13(4):e14425.

**Valman HB, France NE.** The vas deferens in cystic fibrosis. *Lancet.* 1969 Sep 13; 2(7620):566-7

**Van Goor F, Yu H, Burton B, Hoffman BJ.** Effect of ivacaftor on CFTR forms with missense mutations associated with defects in protein processing or function. *J Cyst Fibros.* 2014 Jan; 13(1):29-36.

**Veit G, Avramescu RG, Chiang AN, Houck SA, Cai Z, Peters KW, Hong JS, Pollard HB, Guggino WB, Balch WE, Skach WR, Cutting GR, Frizzell RA, Sheppard DN, Cyr DM, Sorscher EJ, Brodsky JL, Lukacs GL.** From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: expanded classification of cystic fibrosis mutations. *Mol Biol Cell.* 2016 Feb 1;27(3):424-33.

**Veit G, Velkov T, Xu H, Vadeboncoeur N, Bilodeau L, Matouk E, Lukacs GL.** A Precision Medicine Approach to Optimize Modulator Therapy for Rare CFTR Folding Mutants. *J Pers Med.* 2021 Jul 7;11(7):643.

- Vermeulen** F, Lebecque P, De Boeck K, Leal T. Biological variability of the sweat chloride in diagnostic sweat tests: A retrospective analysis. *J Cyst Fibros.* 2017 Jan; 16(1):30-35.
- Wang** W, Ji HL. Epithelial Sodium and Chloride Channels and Asthma. *Chin Med J (Engl).* 2015 Aug 20; 128(16):2242-9.
- Wang** X, Kim J, McWilliams R, Cutting GR. Increased prevalence of chronic rhinosinusitis in carriers of a cystic fibrosis mutation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005 Mar;131(3):237-40
- Wang** X, Moylan B, Leopold DA, Kim J, Rubenstein RC, Togias A, Proud D, Zeitlin PL, Cutting GR. Mutation in the gene responsible for cystic fibrosis and predisposition to chronic rhinosinusitis in the general population. *JAMA.* 2000 Oct 11;284(14):1814-9.
- Watelet** JB, Van Cauwenberge P, Bachert C. Rhinological aspects of cystic fibrosis. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2000 Dec; 55(6):475-7.
- Wedenoja** S, Khamaysi A, Shimshilashvili L, Anbtawe-Jomaa S, Elomaa O, Toppari J, Höglund P, Aittomäki K, Holmberg C, Hovatta O, Tapanainen JS, Ohana E, Kere J. A missense mutation in SLC26A3 is associated with human male subfertility and impaired activation of CFTR. *Sci Rep.* 2017 Oct 27;7(1):14208.
- Weil** B, Chaillou E, Troussier F, Pelatan C, Chiffolleau M, Darviot E, Chevalier MC, Martin L, Giniès JL. Kératodermie palmoplantaire aquagénique chez l'enfant mucoviscidosique [Aquagenic palmoplantar keratoderma in children with cystic fibrosis]. *Arch Pediatr.* 2013 Dec; 20(12):1306-9.
- Werlin** S, et al. Primary sclerosing cholangitis is associated with abnormalities in CFTR. *J Cyst Fibros* 2018; 127(5): 666-671
- Werlin** S, Scotet V, Uguen K, Audrezet MP, Cohen M, Yaakov Y, Safadi R, Ilan Y, Konikoff F, Galun E, Mizrahi M, Slae M, Sayag S, Cohen-Cymberknob M, Wilschanski M, Ferec C. Primary sclerosing cholangitis is associated with abnormalities in CFTR. *J Cyst Fibros.* 2018 Sep; 17(5):666-671.
- Wilschanski** M, Dupuis A, Ellis L, Jarvi K, Zielenski J, Tullis E, Martin S, Corey M, Tsui LC, Durie P. Mutations in the cystic fibrosis transmembrane regulator gene and in vivo transepithelial potentials. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Oct 1; 174(7):787-94.
- Wurzel** DF, Marchant JM, Yerkovich ST, Upham JW, Petsky HL, Smith-Vaughan HL, Brent Masters B, Helen Buntain H, Chang AB. Protracted Bacterial Bronchitis in Children: Natural History and Risk Factors for Bronchiectasis. *Chest.* 2016 Nov; 150(5):1101-1108.
- Yu** J, Chen Z, Ni Y, Li Z. CFTR mutations in men with congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD): a systemic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2012 Jan;27(1):25-35.