

# THE IMPACT OF THE STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTION ON THE EVOLUTION OF CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS FROM A REGIONAL CENTRE IN NORTH-EASTERN ROMANIA

Dana-Teodora Anton-Paduraru<sup>1</sup>, Mihaela Moscalu<sup>2</sup>, Gabriela Coman<sup>3</sup>,  
Laura Florescu<sup>4</sup>, Laura-Mihaela Trandafir<sup>5</sup>

<sup>1,5</sup>3rd Clinic of Pediatrics, "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi

<sup>2</sup>Department of Medical Informatics and Biostatistics,

"Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi

<sup>3</sup>Laboratory, "Sf. Maria" Children Emergency Hospital,

"Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi

<sup>4</sup>Pediatric care, "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi

## ABSTRACT

**Introduction.** Chronic bacterial infections and – often – acute infectious exacerbations are characteristic to the lung disease of the cystic fibrosis (CF). The objective of this study was to identify children with CF and Staphylococcus aureus infection and quantify the impact of this infection on their clinical status.

**Material and methods.** A prospective study was carried out during 3 years on a batch of 37 children with CF registered in the records of the Regional Monitoring Centre of the 3rd Clinic of Pediatrics of Iasi, Romania. In these patients, we searched for the presence of *S. aureus*, the prevalence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains, the impact of the chronic infection with MRSA on the lung function concomitant with the presence of severity elements in CF.

**Results.** 22 of the 37 patients with CF had positive culture for *S. Aureus*; at 9 of them was isolated MRSA and 5 had chronic infection. The MRSA positive group of patients presented significantly lower values of the FEV1, a more poor nutritional status, severe bronchiectases, a larger number of pulmonary exacerbations and implicitly hospitalizations, pancreatic insufficiency in most cases and a higher degree of association with the F508del genotype.

**Conclusions.** *S. aureus* remains an important pathogen in CF. Due to its high pathogeny, *S. aureus* and especially the MRSA strains can contribute to an unfavourable clinical evolution.

**Keywords:** cystic fibrosis, children, Staphylococcus aureus

## INTRODUCTION

Cystic fibrosis (CF) – the most frequent autosomal recessive disorder of the Caucasian population, is a complex disease. Often, the respiratory tract is the most affected and the lung disease is characterized by chronic infections (positive cultures after 6 months of germ isolation) or recurrent infections, inflammation and development of bronchiectases (1).

The lungs of the patients with CF are the home of numerous bacterial infections, *Staphylococcus aureus* being one of the first bacteria detected in the

respiratory tract of these children (2). Increased prevalence of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) during the past decade was associated with the worsening of the evolution of these disease (3). If in 1996 only approximately 2% of the patients included in the patients records of the CF Foundation had one or more positive MRSA cultures, in 2005 the prevalence increased to 17.2% and in 2007 to 21% (1,4). Recent studies reported that the persistent MRSA infection affects the lung function and survival (5,6).

Corresponding author:

Mihaela Moscalu, University of Medicine and Pharmacy "Grigore T. Popa", 16 Universitatii St., 700115 Iasi

E-mail: mmoscalu@yahoo.com

The objective of this study was to identify children with CF and *S. aureus* infection and to quantify the impact of this infection on their clinical status, the MRSA prevalence in these children, as well as the chronic MRSA infection impact on the lung function and the presence of severity elements in CF (bronchiectasis, severe lung disease, poor nutritional status).

## MATERIAL AND METHODS

### Patients

The prospective study between January 2010 and December 2012 was carried out on a lot of 37 children suffering from CF, registered in the records of the Regional CF Monitoring Centre of the 3<sup>rd</sup> Clinic of Pediatrics – “Sf. Maria” Children Clinical Emergency Hospital of Iasi.

All patients with CF were submitted to the micro-bacteriological test of the hypopharyngeal aspirate or the sputum for *S. aureus*. 3 study groups were made up, depending on their methicillin resistance: group 1 – patients with MRSA; group 2 – patients with methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA); group 3 (control) – patients in whom *S. aureus* was not isolated. The presence of minimum three positive cultures a year was considered a chronic MRSA infection. The association of the infection with *Pseudomonas aeruginosa* and the presence of bronchiectasis were also monitored (periodically patients were submitted to a lung CT scan).

All the parents of the children included in the study signed written informed consent.

### Clinical data

In the three study groups made up, we monitored annually: clinical manifestations, nutritional status, pancreatic and lung function, associated infections (especially the association with *P. aeruginosa*).

The nutritional status was assessed by measuring weight, height and the Z score. We considered it necessary to use the Z-score for weight and height in assessing the nutritional status, taking into account that the patients' age was not homogenous, as the study included infants (0-12 months), small children (12-36 months) as well as children between 3 and 18 years. For the calculation of the Z score we used LMS values from the 2000 CDC Growth Charts (National Center for HealthStatistisc/Centers for Disease Control and Prevention) (7).

The pancreatic insufficiency was defined by the fecal elastase value under 200 µg/g fecal matter.

The lung function was assessed periodically (at the time of the patients' inclusion in the study – initially, after 6 months, after 12 months) by spirometry in patients over 6 years old, the pathological value being considered the forced expiratory volume/1 second (FEV<sub>1</sub>) under 80%. All patients received antibiotherapy according to the antibiogram and substitutive treatment with pancreatic enzymes.

The CF evolution was assessed based on the nutritional status, the FEV<sub>1</sub> evolution and the presence of bronchiectasis. At early age (0-36 months) and at those who are in the acute phase, unable to perform CT did not allow confirmation or refutation of bronchiectasis in patients at inclusion in the study.

### Bacteriological tests

The sputum or hypopharyngeal aspirate samples were examined microscopically and by insemination on ram blood agar, chocolate agar, selective Chapman, MacConkey medium and for the isolation of the Burkholderia cepacia complex. The *S. aureus* colonies were identified by the Coagulase test (latex-agglutination) and the methicillin resistance was determined by testing sensitiveness to cefoxitin (30 µg) and oxacilin (1 µg) micro-caplets on the Mueller-Hinton medium at 35°C.

### Statistical analysis

The statistics was achieved by means of the SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2011). The statistical study approached two aspects: descriptive statistics and analytical statistics. The descriptive statistics presented the classification and synthesis of the observation data. It concentrates the information existent in the said data by means of certain statistic indicators expressing characteristics and tendencies of the analyzed parameter. Continuous variables were expressed as the mean ± standard deviation (SD) in tables and figures.

Data were compared by means of the Independent Samples T test or T-Test for Dependent Samples (t test pairs). The difference was significant when the value p was < 0.05 (95% – confidence interval, 5% – maximum error probability). In the analysis of the correlation of category variables the Spearman Rank non-parametric correlation test was applied.

The multiple regression analysis was applied in assessing the effect of certain characteristics on an event (a variable defining the patients' evolution).

This test evaluated the odd ratio ( $\exp(\beta) \rightarrow$  OR – oddratio) and the Chi-squared (Wald) statistics testing the relation between the dependent variable and all the co-variables in the model.

## RESULTS

Between 2010 and 2012, 22 (59.46%) of the 37 patients diagnosed with CF presented an *S. aureus* infection. The rest of the participants (15 cases – 40.54%) represented the control group.

MRSA was identified in 9 cases (24.32%), and MSSA in 13 cases (35.14%). The patients' characteristics corresponding to the three groups are described in Table 1.

The medium age of the patients in the three groups was 87.27 months  $\pm$  59.3 SD, with minimum values of 4 months and maximum values of 216 months. No significant differences were registered between the age values ( $p = 0.173512$ , 95%CI) and the gender of the children ( $p = 0.423$ ) corresponding to the three analyzed groups. The chronic *S. aureus* infection was identified in 21.62% (8 cases), of which 13.51% had MRSA and 8.11% had MSSA. Therefore, the prevalence of the chronic MRSA infection in patients with CF was of 13.51%. The Z-score for weight at the time of the inclusion in the study presented negative values significantly lower in children with MRSA ( $-2.34 \pm 1.31$  DS) in comparison with those with MSSA ( $-0.61 \pm 2.03$  DS) ( $p = 0.035599$ ,  $p < 0.05$ , 95%CI) and the control group ( $0.33 \pm 2.2$ SD) ( $p = 0.021091$ ). No significant differences were noticed between the values of Z-score for weight between the MSSA group and the control group ( $p = 0.72874$ ). The values for Z-score for the height were similar to Z-score for weight: the values of the MRSA group ( $-1.82 \pm 1.08$  DS) were significantly lower ( $p = 0.01293$ ) than the values of the control group ( $-0.81 \pm 1.78$  DS), and

than those of the MSSA patients ( $-0.07 \pm 1.8$  DS) ( $p = 0.01563$ ).

The association of *S. aureus* (MRSA, MSSA) with *P. aeruginosa* was not statistically significant ( $\chi^2 = 3.780261$ ,  $p = 0.15106$ ). Other microbial species (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Branhamella catarrhallis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aspergillus fumigatus*) were present in all studied groups in relatively equal proportions (MRSA – 13.51%, MSSA – 10.81%, control – 8.11%) ( $\chi^2 = 3.27$ ,  $p = 0.19492$ ). The spirometry performed at the beginning of the study revealed significantly lower FEV<sub>1</sub> values ( $p = 0.012086$ ) in patients with MRSA ( $72.8 \pm 5.26$  SD) in comparison to the values registered in the control group ( $84.45 \pm 8.23$  SD). In patients with MSSA, the FEV<sub>1</sub> values were slightly lower than the pathological values ( $78.64 \pm 6.53$  SD), but they were not significantly different from the statistical point of view in comparison to the FEV<sub>1</sub> values of the control group ( $p = 0.08109$ ).

The evolutive aspects of patients with CF after 12 months and 24 months are presented in Table 2.

FEV<sub>1</sub> values in the group of patients with MRSA presented significant decreases ( $p = 0.03486$ ) in comparison with the initial time ( $72.8 \pm 5.26$  SD). The mean values of FEV<sub>1</sub> after 12 months were  $65.2 \pm 9.88$  SD, and they remained low after 24 months ( $63 \pm 13.27$  SD) under eradication treatment according to the antibiogram. In patients with MSSA the FEV<sub>1</sub> values remained at the same level, the variations being insignificant ( $p = 0.6568$ ): initially:  $78.64 \pm 6.53$  SD, after 12 months:  $77.73 \pm 6.37$  SD, 24 months:  $77.54 \pm 7.89$  SD. Significant improvement of the FEV<sub>1</sub> ( $p = 0.000454$ ) was registered by patients in the control group (initial:  $84.45 \pm 8.23$  SD, after 12 months:  $89 \pm 5.81$  SD, 24 months:  $93.39 \pm 4.17$  SD).

**TABLE 1.** Patients' characteristics at the beginning of the study

Characteristics	All patients (n = 37)	MRSA (n = 9-24.32%)	MSSA (n = 13-35.14%)	Control (n = 15-40.54%)	p-value t test-pairs
Age (month)	87.27 $\pm$ 59.3SDS	71.78 $\pm$ 65.41SD	112.08 $\pm$ 63.69SD	75.07 $\pm$ 47.29SD	0.17351
Gender (male/female)	24/13 (64.9%/35.1%)	6/3 (66.7%/33.3%)	10/3 (76.9%/23.1%)	8/7 (53.3%/46.7%)	0.4237
Z Score Weight-for-age	-0.9 $\pm$ 2.08SD	-2.34 $\pm$ 1.31SD	-0.61 $\pm$ 2.03SD	-0.33 $\pm$ 2.2SD	0.0392
Z Score Length-for-age	-0.80 $\pm$ 1.74SD	-1.85 $\pm$ 1.08SD	-0.07 $\pm$ 1.8SD	-0.81 $\pm$ 1.78SD	0.0178
Chronic <i>S. aureus</i>	8 (21.62%)	5 (13.51%)	3 (8.11%)	-	0.00589
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (21.62%)	3 (8.11%)	4 (10.81%)	1 (2.7%)	0.15106
Associated infections n (%)	12 (32.43%)	5 (13.51%)	4 (10.81%)	3 (8.11%)	0.1949
FEV <sub>1</sub> (% pred)	79.93 $\pm$ 8.11SD	72.8 $\pm$ 5.26SD	78.64 $\pm$ 6.53SD	84.45 $\pm$ 8.23SD	0.01619

\*Mean  $\pm$  SD (standard deviation)

TABLE 2. Evolutive aspects in patients with CF per groups: MRSA/MSSA/control

Characteristics	Group	initial	12months	24months	p-value T test-pairs
FEV <sub>1</sub> (% pred)*	MRSA	72.8 ± 5.26SD	65.2 ± 9.88SD	63 ± 13.27SD	<b>0.0348634</b>
	MSSA	78.64 ± 6.53SD	77.73 ± 6.37SD	77.54 ± 7.89SD	<b>0.6568177</b>
	Control	84.45 ± 8.23SD	89 ± 5.81SD	93.39 ± 4.17SD	<b>0.0004544</b>
<b>p-value (Independent Samples T test)</b>		<b>0.016194</b>	<b>0.000004</b>	<b>0.00000061</b>	
Z Score* Weight-for-age	MRSA	-2.34 ± 1.30SD	-1.98 ± 1.13SD	-1.80 ± 1.30SD	<b>0.342155</b>
	MSSA	-0.60 ± 2.02SD	0.11 ± 2.25SD	0.37 ± 2.36SD	<b>0.003203</b>
	Control	-0.32 ± 2.2SD	0.14 ± 1.62SD	0.57 ± 1.70SD	<b>0.000533</b>
<b>p-value (Independent Samples T test)</b>		<b>0.052484</b>	<b>0.014574</b>	<b>0.018117</b>	
Z Score* Length-for-age	MRSA	-1.85 ± 1.08SD	-1.46 ± 1.12SD	-1.19 ± 1.17SD	<b>0.06248</b>
	MSSA	-0.52 ± 1.80SD	0.14 ± 1.67SD	0.68 ± 1.70SD	<b>0.00014</b>
	Control	0.07 ± 1.78SD	0.41 ± 1.57SD	0.72 ± 1.45SD	<b>0.05134</b>
<b>p-value (Independent Samples T test)</b>		<b>0.058041</b>	<b>0.046988</b>	<b>0.051252</b>	
Bronchiectasis n(%)	MRSA (n = 9)		6 (16.22%)	8 (21.62%)	
	MSSA (n = 13)		5 (13.51%)	7 (18.92%)	
	Control (n = 15)		3(8.11%)	6 (16.22%)	
<b>Spearman correlation: p-value</b>			<b>0.02503</b>	<b>0.04503</b>	
Pulmonary exacerbation* Allgroup: 4.72±2.24SD	MRSA (n = 9)			6.33 ± 1.87SD	
	MSSA (n = 13)			4.67 ± 2.5SD	
	Control (n = 15)			3.8 ± 1.74SD	
<b>p-value (Independent Samples T test)</b>				<b>0.02207</b>	
Death (3 cases/8.11%)	MRSA			3 (8.11%)	
	MSSA			-	
	Control			-	
<b>Spearman correlation: p-value</b>				<b>0.01042</b>	

\*Mean ± SD (standard deviation)

The nutritional status assessed depending on the values of Z-score for weight and age improved in the MSSA group ( $p = 0.003203$ ): initially:  $-0.60 \pm 2.02$  SD, 12 months:  $0.11 \pm 2.25$  SD, 24 months:  $0.37 \pm 2.36$  SD and the control group ( $p = 0.000533$ ): initially:  $-0.32 \pm 2.2$  SD, 12 months:  $0.14 \pm 1.62$  SD, 24 months:  $0.57 \pm 1.70$  SD. In the MRSA group, the values of the Z-score for weight and age increased insignificantly ( $p = 0.342155$ ): initially:  $-2.34 \pm 1.30$  SD, 12 months:  $-1.98 \pm 1.13$  SD, 24 months:  $-1.80 \pm 1.30$  SD.

The values of the Z-score for height and age in the MRSA group did not improve significantly ( $p = 0.6248$ ). Moreover, these presented negative means (small height for their age): initially:  $-1.85 \pm 1.08$  SD, after 12 months:  $-1.46 \pm 1.12$  SD, 24 months:  $-1.19 \pm 1.17$  SD. In exchange, a significant increase in the mean values registered in the MSSA group ( $p = 0.00014$ ): initially:  $-0.52 \pm 1.80$  SD, after 12 months:  $0.14 \pm 1.67$  SD, 24 months:  $0.68 \pm 1.70$  SD, and in the control group the changes in the mean values were insignificant ( $p = 0.05134$ ): initially:  $0.07 \pm 1.78$  SD, after 12 months:  $0.41 \pm 1.57$  SD, 24 months:  $-0.72 \pm 1.45$  SD – Fig. 1.

The prevalence of bronchiectasis after 12 months from the study initiation in the MRSA

group was of 16.22% (6 cases), in the MSSA group of 13.51% (5 cases), and in the control group of 8.11% (3 cases). These results demonstrated the significant association between the presence of bronchiectasis and MRSA ( $\chi^2 = 5.289019$ ,  $p = 0.2503$ ). After 24 months there was an increase in the prevalence of bronchiectasis in all analyzed groups (MRSA: 21.62%, MSSA: 18.92%, control: 16.22%), the significant inter-group differences remaining the same ( $\chi^2 = 6.200989$ ,  $p = 0.04503$ ).

At the end of the study period, the number of pulmonary exacerbations and the number of hospitalizations were assessed. In the MRSA group this number (mean:  $6.33 \pm 1.87$  DS) was significantly higher in comparison with the MSSA group (mean:  $4.67 \pm 2.5$  DS) and in comparison to the control group (mean:  $3.8 \pm 1.74$  DS).

During the past 24 months of monitoring, there were 3 deaths (8.11%) due to acute respiratory distress, all of them belonging to the MRSA group.

The CF evolution depending on the impact of the *S. aureus* infection was assessed by means of the multivariate test, using a multiple regression (stepwise regression) analysis model offering a useful means for the modelling of the dependence of a response variable (dependent variable) to sev-



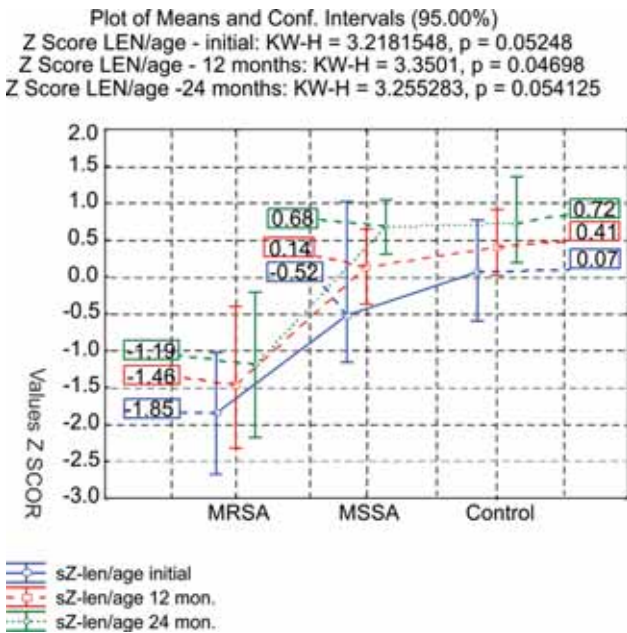
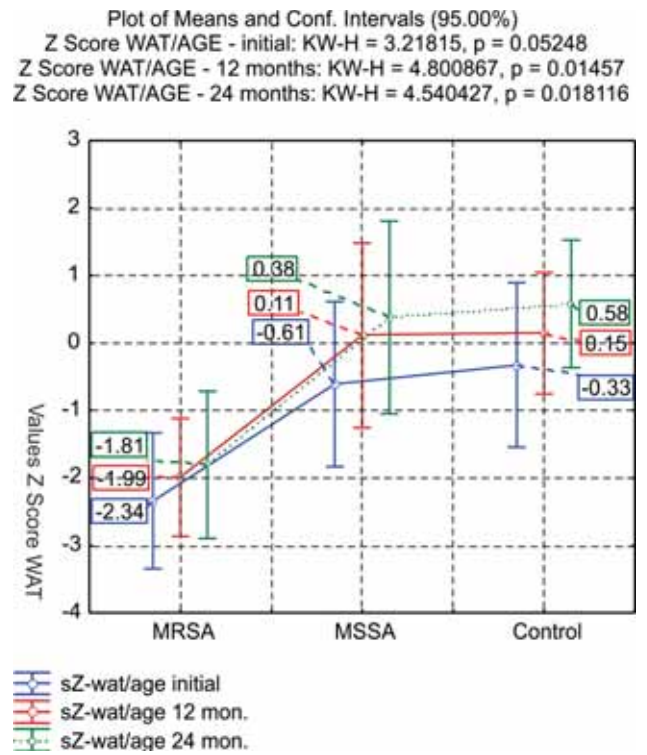
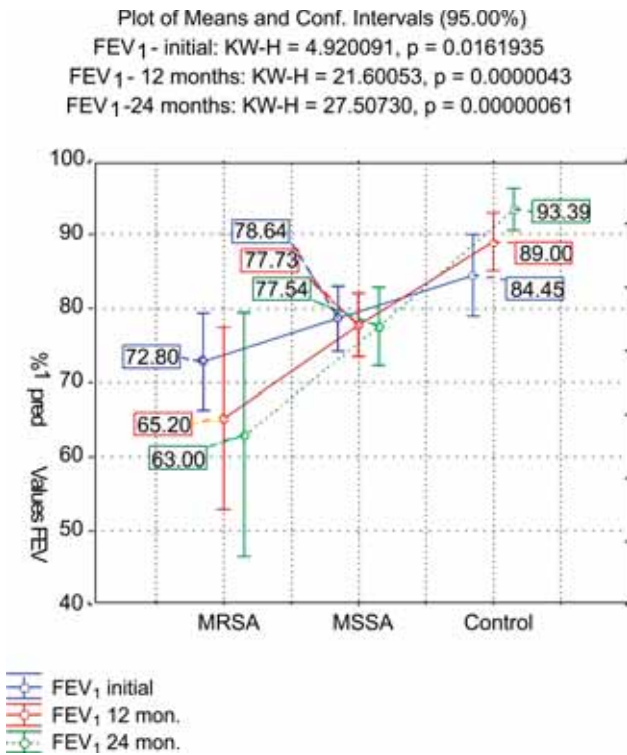


FIGURE 1. FEV<sub>1</sub> evolution, Z Score Weight-for-age, Z Score Length-for-age per groups: MRSA/MSSA/control

eral independent-explicative variables, called predictors. The independent variables (predictors) can be categoric or continuous variables. In our study, the number of exacerbations was considered a dependent variable and the independent variables were MRSA/MSSA, chronic *S. aureus* infection, associated infections.

Odd ratio calculated for the number of exacerbations  $\text{Exp}(\beta) = 2.76$  (95%CI: 1.18 ÷ 4.34) proves that in chronic *S. aureus* infections the number of exacerbations is 2.76 times higher. The results of the multiple correlation indicated the absence of a significant correlation between the MRSA and the

high number of exacerbations (OR = -0.23,  $\beta = -0.64$ ,  $p = 0.187$ ) as well as between the presence of associated infections and the number of exacerbations (OR = -0.05,  $\beta = 0.27$ ,  $p = 0.724$ ) Table 3.

### DISCUSSIONS

CF is responsible for the chronic obstruction of the respiratory tract – a favourable situation for pulmonary infections during childhood.

Unlike the patients without CF, in which *S. aureus* is an unusual cause for upper respiratory tract infections, in patients with CF *S. aureus* is the

**TABLE 3.** Multiple regression analysis regarding the influence of the *S. aureus* infection on the evolution of patients with CF

R <sup>2</sup> = 0.314984 p = 0.006463 (95%CI)	Beta	SE	Wald	Sig. p	OddRatio Exp(β)	95% CI for Exp(B)	
						Lower	Upper
<b>Intercept</b>	70.47875	49.31697	1.42910	0.162666			
MRSA/MSSA	-0.64251	0.47687	-1.34733	0.187336	-0.232781	-0.584706	0.119143
Chronical <i>S. aureus</i>	0.370449	0.99401	3.56459	0.001105	2.767857	1.189846	4.345868
Associated infections	0.27631	0.77831	0.35501	0.724913	0.059039	-0.279712	0.397791

most frequent pathogen (8). It is to be found in 30% of the children under 3 months, in the bronchoalveolar lavage fluid, and in some clinics the prevalence is of approximately 50% in children under 10 years (9). In our study, 59.6% of the patients had *S. aureus* infection.

The MRSA strains represent the most threatening challenge, being frequently multi-resistant to antibiotics. Patients with CF have a particular risk for pulmonary colonization with MRSA, both due to the difficulty in evacuating the mucus, and due to their repeated hospitalizations, which increase the exposure to them. MRSA was identified for the first time in 1960 and was admitted as a major pathogen in 1980 (10). The prevalence of the MRSA infection in the lot studied was of 24.32%, the chronic infection being confirmed in 13,51% of the cases.

The methicillin-sensitive strains identified in 35,14% cases also represent a risk for patients with CF due to the existence of the biofilm in the infected lung, where antibiotics cannot penetrate.

*S. aureus* itself is not an ordinary cause of morbidity and mortality significant in CF, but it can determine tissue destruction and predispose to acute *P. aeruginosa* infection, which is not confirmed in the lot studied.

Among the factors associated with a high risk of lapse of the FEV<sub>1</sub> measured lung function, we quote the following: pancreatic insufficiency, poor nutritional status, *P. aeruginosa* infection, and as an additional factor – the number of pulmonary exacerbations (5).

In the studied lot, low values of the pancreatic elastase was observed in 6 of 9 patients with MRSA concomitant with an unfavourable clinical evolution.

MRSA infection in children with CF has a negative effect on growth (11,12,13). In comparison to the patients in the MSSA group, patients with MRSA had an unfavourable evolution of weight and height to which inappetence, increased catabolism and repeated admissions contributed (14). There were no significant differences between the two genders, in comparison to the study done by Murphy AJ, where a decrease of the Z-score for

weight and height was observed with age, especially in males (15).

Recent epidemiological studies reveal contradictory data regarding the impact of the MRSA infection on the clinical evolution of patients with CF. According to some authors, MRSA infection as well as the *S. aureus* – *P. aeruginosa* co-infection can be associated with a faster decline of the lung function (16,17,18,19,20). Furthermore, the MRSA infection determined the decrease of the lung function in comparison to the MSSA infection (21,22). Dasenbrook et. al (5) showed that the chronic MRSA infection in patients with CF with ages between 8 and 21 years was associated with a 0.5% decrease of the FEV<sub>1</sub> a year.

The chronic infection with MRSA in CF is associated with severe bronchiectasis (23); in study presented, the presence of bronchiectasis was confirmed in 8 of the 9 patients with MRSA. The presence of bronchiectasis is a marker of severe pulmonary destruction and can favour the colonization with resistant bacteria (24).

During the study we observed higher decrease of the FEV<sub>1</sub> in the group of patients infected with MRSA, in agreement with the literature data according to which a MRSA infectious episode can determine a lapse twice as high of the FEV<sub>1</sub> in comparison to patients with no MRSA (25).

Patients with MRSA have an increase frequency of the number of admissions and need oral, inhaled and intravenous antibiotherapy. At the same time, hospital admissions are a major risk factor for the acquisition of MRSA (26).

In the group of patients with MRSA, the most frequent mutation was F508del (6 cases). We can argue that this genotype is associated with the severe lung disease (27). All 3 patients that died by respiratory distress had chronic MRSA infection and none of them benefited from a lung transplant.

## CONCLUSION

*S. aureus* infection was present in 50% of patients with CF with predominantly pulmonary manifestations, reflecting the unfavorable clinical outcome.

The chronic MRSA colonization was associated with the precarious nutritional status, the presence of bronchiectasis, pancreatic insufficiency, the F508del genotype, and with a long hospitalization period. Due to the high pathogenity potential, the early treatment and, if possible, the eradication of the *S.aureus* infection represent the most adequate

measures for increasing the life quality at these patients.

### Conflict of interests

The authors state that they have no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Kirkby S., Novak K., Mc Coy K. Update on antibiotics for infection control in cystic fibrosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009; 7(8):967-80.
2. Cocchi P., Cariani L., Favari F. et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Italian cystic fibrosis patients: a national overview. *J Cyst Fibros.* 2011; 10(6):407-11.
3. Miall L.S., McGinley N.T., Brownlee K.G. et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* 2001; 84:160-62.
4. Stone A., Saiman L. Update on the epidemiology and management of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2007; 13:515-21.
5. Dasenbrook E.C., Merlo C.A., Marie D.W. et al. Persistent Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Rate of FEV1 Decline in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008; 8:814-21.
6. Dasenbrook E.C. Update on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2011; 17(6):437-441.
7. National Center for Health Statistics/Centers for Disease Control and Prevention (2004) 2000 CDC Growth Charts. Selected percentiles and LMS parameters. <http://www.cdc.gov/growthcharts>
8. Goodrich J.S., Sutton-Shields T.N., Kerr A. et al. Prevalence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(4):1231-33.
9. Beringer P.M., Appleman M.D. Unusual bacterial respiratory flora in cystic fibrosis: microbiologic and clinical features. *Curr Opin Pulm Med.* 2000; 6:545-50.
10. Muhlebach M.S., Miller M., LaVange L.M. et al. Treatment intensity and characteristics of MRSA infection in CF. *J Cyst Fibros.* 2011; 10(3):201-6.
11. Borowitz D., Baker R.D., Stallings V. Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002; 35(3):246-259.
12. Matel J.L. Nutritional management of cystic fibrosis. *J Parenter Enterol Nutr.* 2012; 36(1 Suppl):60-75.
13. Sinaasappel M., Stern M., Littlewood J. et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros.* 2002; 1:51-75.
14. Ferkol T., Rosenfeld M., Milla C.E. Cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *J Pediatr.* 2006; 148:259-64.
15. Murphy A.J., Buntain H.M., Wainwright C.E. et al. The nutritional status of children with cystic fibrosis. *Br J Nutr.* 2006; 95:321-24.
16. Rosenbluth D.B., Wilson K., Ferkol T. et al. Lung function decline in cystic fibrosis patients and timing for lung transplantation referral. *Chest.* 2004; 126: 412-19.
17. Vu-Thien H., Hormigos K., Corbinau G. et al. Longitudinal survey of *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis patients using a multiple-locus variable-number of tandem-repeats analysis method. *BMC Microbiology.* 2010; 10:24 doi:10.1186/1471-2180-10-24.
18. Goss C.H., Muhlebach M.S. Review: *Staphylococcus aureus* and MRSA in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2011; 10(5):298-306.
19. Hart C.A., Winstanley C. Persistent and aggressive bacteria in the lungs of cystic fibrosis children. *Br Med Bull.* 2002; 61: 81-96.
20. Valenza G., Tappe D., Turnwald D. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from sputa of patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2008; 7(2):123-27.
21. Ren C., Morgan W.J., Konstan M.W. et al. Presence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in respiratory cultures from cystic fibrosis patients is associated with lower lung function. *Pediatr Pulm.* 2007; 42:513-18.
22. Cox D.W., Kelly C., Rush R. et al. The impact of MRSA infection in the airways of children with cystic fibrosis; a case-control study. *Ir Med J.* 2011; 104 (10):305-8.
23. Vanderhelst E., De Meirleir L., Verbanck S. et al. Prevalence and impact on FEV1 decline of chronic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization in patients with Cystic Fibrosis A single-center, case control study of 165 patients. *J Cyst Fibros.* 2012; 20:2-7.
24. Brody A.S., Sucharew H., Campbell J.D. et al. Computed tomography correlates with pulmonary exacerbations in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172:1128-32.
25. Nadesalingam K., Conway S.P., Denton M. Risk factors for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2005; 4:49-52.
26. Kerem E., Corey M., Kerem B.S. et al. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis: analysis of the most common mutation ( $\Delta F508$ ). *N Engl J Med.* 1990; 323:1517-22.
27. Kahl B.C., Duebbers A., Lubritz G. et al. Population dynamics of persistent *Staphylococcus aureus* isolated from the airways of cystic fibrosis patients during a 6-year prospective study. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(9):4424-27.

# IMPACTUL INFECȚIEI CU STAPHYLOCOCCUS AUREUS ASUPRA EVOLUȚIEI FIBROZEI CHISTICE LA COPIII DINTR-UN CENTRU REGIONAL DIN NORD-ESTUL ROMÂNIEI

Dana-Teodora Anton-Păduraru<sup>1</sup>, Mihaela Moscalu<sup>2</sup>, Gabriela Coman<sup>3</sup>,  
Laura Florescu<sup>4</sup>, Laura-Mihaela Trandafir<sup>5</sup>

<sup>1,5</sup>Clinica III Pediatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași

<sup>2</sup>Departamentul Informatică Medicală și Biostatistică,

Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași

<sup>3</sup>Laborator – Spitalul de Urgență pentru copii „Sf. Maria”, Iași

<sup>4</sup>Disciplina Puericultură, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași

## REZUMAT

**Introducere.** Infecțiile bacteriene cronice și, adesea, exacerbările infecțioase acute sunt caracteristice bolii pulmonare din fibroza chistică (FC). Obiectivul studiului a fost reprezentat de identificarea copiilor cu FC, depistarea infecției cu *Staphylococcus aureus* la acești bolnavi și cuantificarea impactului infecției asupra statusului clinic.

**Material și metodă.** S-a realizat un studiu prospectiv pe o perioadă de 3 ani pe un lot de 37 de copii cu FC aflați în evidența Centrului Regional din Clinica III Pediatrie Iași, România. La acești bolnavi s-a urmărit prezența *S. aureus*, prevalența tulpinilor de *S. aureus* metilino-rezistente (SAMR), impactul infecției cronice cu SAMR asupra funcției pulmonare concomitent cu prezența unor elemente de severitate în FC.

**Rezultate.** 22 de pacienți dintre cei 37 cu FC au prezentat culturi pozitive pentru *S. aureus*; la 9 dintre aceștia s-a izolat SAMR, 5 având infecție cronică. Grupul SAMR pozitiv a prezentat valori semnificativ mai mici ale volumului de gaz expirat în prima secundă a expirului forțat (FEV1), status nutrițional mai precar, bronșiectazii severe, un număr mai mare de exacerbări pulmonare și implicit de spitalizări, insuficiență pancreatică în majoritatea cazurilor și o asociere mai mare cu genotipul F508del.

**Concluzii.** *S. aureus* rămâne un patogen important în FC. Din cauza patogenității sale crescute, *S. aureus* și în special tulpinile SAMR pot contribui la evoluție clinică nefavorabilă.

**Cuvinte cheie:** fibroză chistică, copil, *Staphylococcus aureus*

## INTRODUCERE

Fibroza chistică (FC) – cea mai frecventă boală autosomal-recesivă a populației caucaziene, este o afecțiune complexă. Adesea, tractul respirator este cel mai afectat, iar boala pulmonară este caracterizată prin infecții cronice (culturi pozitive după 6 luni de la evidențierea germenului) sau recurente, inflamație și dezvoltarea bronșiectaziilor (1).

Plămânii bolnavilor cu FC sunt sediul a numeroase infecții bacteriene, *Staphylococcus aureus* fiind una dintre primele bacterii detectate în tractul respirator al acestor copii (2). Creșterea pre-

valenței stafilococului metilino-rezistent (SAMR) în culturi în ultima decadă a fost asociată cu agravarea evoluției acestei boli. Dacă în 1996 doar aproximativ 2% dintre bolnavii incluși în registrele de pacienți ale CF Foundation aveau una sau mai multe culturi pozitive pentru MRSA, în 2005 prevalența a crescut la 17,2%, iar în 2007 la 21% (1,3). Studii recente au raportat că infecția persistentă cu SAMR afectează funcția pulmonară și supraviețuirea (4,5).

Obiectivul studiului a fost reprezentat de identificarea copiilor cu FC și infecție cu *S. aureus* și

Adresa de corespondență:

Mihaela Moscalu, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Str. Universității nr. 16, Iași



cuantificarea impactului acestei infecții asupra statusului clinic. De asemenea, s-a urmărit prevalența SAMR la acești pacienți și impactul infecției cronice cu SAMR asupra funcției pulmonare asociată unor elemente de severitate în FC (bronșiectazii, afectare pulmonară severă, status nutrițional precar).

## MATERIAL ȘI METODĂ

### Lotul de studiu

Studiul prospectiv în perioada ianuarie 2010 – decembrie 2012 a cuprins un lot de 37 de pacienți de vârstă pediatrică cu FC aflați în evidența Centrului Regional de Monitorizare a FC din Clinica III Pediatrie – Spitalul Clinic de Urgență pentru copii „Sf. Maria” Iași. La toți pacienții cu FC s-a efectuat examenul microbiologic al aspiratului hipofaringian sau sputei, urmărindu-se prezența *S. aureus*. S-au realizat trei grupuri de studiu: în funcție de rezistența la metilicilină – grupul 1: *Staphylococcus aureus* metilicilino-rezistent (SAMR), grupul 2: *Staphylococcus aureus* metilicilino-sensibil (SAMS), iar pacienții care nu au prezentat *S. aureus* a fost considerat grup de control (grupul 3). S-a considerat infecție cronică cu SAMR prezența a minimum trei culturi pozitive pe an. De asemenea, s-a urmărit asocierea infecției cu *Pseudomonas aeruginosa* și prezența bronșiectaziilor (periodic pacienții au efectuat computer tomografie pulmonară).

### Date clinice

La cele trei grupuri de studiu s-au urmărit anual: manifestările clinice, statusul nutrițional, funcția pancreatică și pulmonară, infecțiile asociate (în special asocierea cu *Pseudomonas aeruginosa*).

Evaluarea statusului nutrițional s-a realizat prin măsurarea greutatei, taliei și a scorului Z. Am considerat necesară utilizarea scorului Z pentru greutate și talie în evaluarea statusului nutrițional deoarece vârsta pacienților nu a fost omogenă, lotul de studiu cuprinzând sugari (0-12 luni), copii mici (12-36 luni), cât și copii cu vârstă între 3-18 ani. În calculul scorului Z s-au utilizat LMS values from the 2000 CDC Growth Charts (National Center for Health Statistic/Centers for Disease Control and Prevention) (6).

Insuficiența pancreatică a fost definită prin valoarea elastazei fecale sub 200  $\mu\text{g/g}$  materii fecale.

Funcția pulmonară a fost evaluată periodic (la momentul introducerii în studiu – inițial, 6 luni, 12 luni) prin efectuarea spirometriei la copii cu vârste peste 6 ani, valoarea patologică fiind considerată volumul de gaz expirat în prima secundă a expirului

forțat forțat ( $\text{FEV}_1$ ) sub 80%. Toți pacienții au primit tratament antibiotic conform antibiogramei și tratament substitutiv cu enzime pancreatice.

Evoluția FC a fost evaluată prin statusul nutrițional, evoluția  $\text{FEV}_1$  și prezența bronșiectaziilor. La vârstă mică (0-36 luni), ca și la cei aflați în faza acută imposibilitatea efectuării computer tomografiei (CT) pulmonare nu a permis confirmarea sau infirmarea prezenței bronșiectaziilor în momentul includerii bolnavilor în studiu.

### Teste bacteriologice

Sputa sau aspiratul hipofaringian au fost examinate microscopic și prin însămânțare pe agar-sânge, agar-șocolat, mediu selectiv Chapman, Mac Conkey și pentru izolarea Burkholderiei cepacia. Coloniile de *S. aureus* au fost identificate prin testul Coagulazei (latex-aglutinare), iar metilicilino-rezistența a fost determinată prin testarea sensibilității la Cefoxitin (30  $\mu\text{g}$ ) și Oxacilină (1 $\mu\text{g}$ ) pe mediu Mueller-Hinton la 35°C.

### Analiza statistică

Pentru analiza statistică s-a aplicat SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2011). Studiul statistic a abordat două aspecte: statistica descriptivă și statistica analitică. Statistica descriptivă a prezentat clasificarea și sintetizarea datelor de observație. Aceasta a concentrat informația existentă în datele respective cu ajutorul anumitor indicatori statistici ce exprimă caracteristici și tendințe ale parametrului analizat. Variabilele au fost exprimate prin media  $\pm$  deviația standard (DS) în tabele și figuri.

Compararea datelor s-a realizat cu Independent Samples T test or T-Test for Dependent Samples (t test pairs). Diferența a fost considerată semnificativă când valoarea-p (nivel semnificativ) a fost sub 0,05 (95% – interval de confidență, 5% – probabilitatea maximă de eroare). În cadrul analizei corelației variabilelor categoricale s-a aplicat testul de corelație neparametrică Spearman Rank correlation.

Pentru a evalua efectul unor caracteristici asupra unui eveniment (variabilă ce definește evoluția pacienților) s-a aplicat multiple regression analyses. În cadrul analizei s-a estimat odd ratio ( $\exp(\beta) \rightarrow \text{OR}$  – odd ratio) și statistica Chi-pătrat (Wald) ce testează relația dintre variabila dependentă și toate covariabilele din model.

## REZULTATE

Din totalul de 37 de bolnavi diagnosticați cu FC, 59,49% (22 cazuri) au prezentat culturi pozitive cu

S. aureus, ceilalți 40,54% (15 cazuri) fără S.aureus constituind grupul de control.

SAMR a fost identificat în 9 cazuri (24,32%), iar SAMS în 13 cazuri (35,14%). Caracteristicile pacienților corespunzătoare celor trei grupuri sunt descrise în Tabelul 1.

Vârsta medie a pacienților din cele trei grupuri studiate a fost de 87,27 luni  $\pm$  59,3 DS, prezentând valori minime de 4 luni și maxime de 216 luni. Nu au fost înregistrate diferențe semnificativ statistice între valorile vârstei ( $p = 0,173512$ , 95%CI) și sexul copiilor ( $p = 0,423$ ) corespunzătoare celor trei grupuri analizate (Tabelul 1). Infecția cronică cu *S.aureus* a fost identificată la 21,62% (8 cazuri), 13,51% dintre aceștia prezentând SAMR, iar 8,11% – SAMS. Deci, prevalența infecției cronice cu MRSA la pacienții cu FC a fost de 13,51%. Scorul Z pentru greutate în momentul intrării în studiu a prezentat valori negative semnificativ mai mici în cazul copiilor cu SAMR ( $-2,34 \pm 1,31$  SD) comparativ cu SAMS ( $-0,61 \pm 2,03$  SD) ( $p = 0,35599$ ,  $p < 0,05$ , 95%CI) și grupul de control ( $0,33 \pm 2,2$  SD) ( $p = 0,021091$ ). Nu au fost observate diferențe semnificativ statistice între valorile scorului Z pentru greutate între grupul cu SAMS și grupul de control ( $p = 0,72874$ ). Valorile scorului Z pentru talie au prezentat aspecte similare scorului Z pentru greutate: în grupul SAMR valori ( $-1,82 \pm 1,08$  SD) semnificativ mai mici ( $p = 0,01293$ ) comparativ cu valorile din grupul de control ( $-0,81 \pm 1,78$  SD), dar și față de pacienții cu SAMS ( $-0,07 \pm 1,8$ SD) ( $p = 0,01563$ ).

În ceea ce privește asocierea *S. aureus* (SAMR, SAMS) cu *Pseudomonas aeruginosa* s-a constatat lipsa unei asocieri semnificative ( $\chi^2 = 3,780261$ ,  $p = 0,15106$ ). Infecțiile asociate (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Aspergillus fumigatus*, *Branhamella catarrhallis*, *Naiseria sicca*, *Stenotrophomonas maltophilia*) au fost prezente în

toate grupurile de studiu în proporții relativ egale (SAMR-13,51%, SAMS – 10,81%, control – 8,11%) ( $\chi^2 = 3,27$ ,  $p = 0,19492$ ). Spirometria efectuată la momentul inițierii studiului a evidențiat valori FEV<sub>1</sub> semnificativ mai mici ( $p = 0,012086$ ) în cazul pacienților cu SAMR ( $72,8 \pm 5,26$  SD) comparativ cu valorile înregistrate în grupul de control ( $84,45 \pm 8,23$  SD). În cazul prezenței SAMS valorile FEV<sub>1</sub> au fost ușor scăzute față de valorile patologice ( $78,64 \pm 6,53$  SD), dar nu au prezentat diferențe semnificativ statistice comparativ cu valorile FEV<sub>1</sub> din grupul de control ( $p = 0,08109$ ). Aspectele evolutive ale pacienților cu fibroză chistică la 12 luni și 24 luni sunt prezentate în Tabelul 2.

Valorile FEV<sub>1</sub> în grupul pacienților cu SAMR au prezentat scăderi semnificative ( $p = 0,03486$ ) față de momentul inițial ( $72,8 \pm 5,26$  SD). Valorile medii ale FEV<sub>1</sub> la 12 luni au fost de  $65,2 \pm 9,88$  SD, acestea menținându-se după 24 luni la valori scăzute ( $63 \pm 13,27$  SD) sub tratament de eradicare conform antibiogramei. În cazul pacienților cu SAMS valorile FEV<sub>1</sub> s-au menținut la același nivel, variațiile fiind ne semnificative ( $p = 0,6568$ ): inițial:  $78,64 \pm 6,53$  SD, 12 luni:  $77,73 \pm 6,37$  SD, 24 luni:  $77,54 \pm 7,89$  SD. O ameliorare semnificativă a FEV<sub>1</sub> ( $p = 0,000454$ ) s-a constatat la pacienții din grupul de control (inițial:  $84,45 \pm 8,23$  SD, 12 luni:  $89 \pm 5,81$  SD, 24 luni:  $93,39 \pm 4,17$  SD).

Starea de nutriție evaluată în funcție de valorile scorului Z pentru greutate și vârstă s-a ameliorat semnificativ în grupul SAMS ( $p = 0,003203$ ): inițial:  $-0,60 \pm 2,02$  SD, 12 luni:  $0,11 \pm 2,25$  SD, 24 luni:  $0,37 \pm 2,36$  SD și grupul control ( $p = 0,000533$ ): inițial:  $-0,32 \pm 2,2$  SD, 12 luni:  $0,14 \pm 1,62$ ,SD, 24 luni:  $0,57 \pm 1,70$  SD. În grupul SAMR valorile scorului Z pentru greutate și vârstă au crescut ne semnificativ ( $p = 0,342155$ ): inițial:  $-2,34 \pm 1,30$  SD, 12 luni:  $-1,98 \pm 1,13$  SD, 24 luni:  $-1,80 \pm 1,30$  SD.

**TABELUL 1.** Caracteristicile pacienților în momentul intrării în studiu

Caracteristici	Lotul (n = 37)	MRSA (n = 9-24,32%)	MSSA (n = 13-35,14%)	Control (n = 15-40.54%)	p-value t test-pairs
Vârsta (luni)	87,27 $\pm$ 59,3SDS	71,78 $\pm$ 65,41SD	112,08 $\pm$ 63,69 SD	75,07 $\pm$ 47,29 SD	0,17351
Sex (masculin/feminin)	24/13 (64,9%/35,1%)	6/3 (66,7%/33,3%)	10/3 (76,9%/23,1%)	8/7 (53,3%/46,7%)	0,4237
Scor Z Greutatea-pentru-vârsta	-0,9 $\pm$ 2,08SD	-2,34 $\pm$ 1,31 SD	-0,61 $\pm$ 2,03 SD	-0,33 $\pm$ 2,2SD	0,0392
Scor Z Talia-pentru-vârsta	-0,80 $\pm$ 1,74SD	-1,85 $\pm$ 1,08 SD	-0,07 $\pm$ 1,8 SD	-0,81 $\pm$ 1,78 SD	0,0178
Infecție cronică <i>S. aureus</i>	8 (21,62%)	5 (13,51%)	3 (8,11%)	-	0,00589
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (21,62%)	3 (8,11%)	4 (10,81%)	1 (2,7%)	0,15106
Infecții asociate n (%)	12 (32,43%)	5 (13,51%)	4 (10,81%)	3 (8,11%)	0,1949
FEV <sub>1</sub> (% pred)	79,93 $\pm$ 8,11 SD	72,8 $\pm$ 5,26 SD	78,64 $\pm$ 6,53 SD	84,45 $\pm$ 8,23SD	0,01619
*Media $\pm$ DS (deviația standard )					

**TABELUL 2.** Aspecte evolutive la pacienții cu FC pe grupe MRSA/MSSA/control

Caracteristici	Grupul	Inițial	12 luni	24 luni	<i>p-value</i> <i>T test-pairs</i>
FEV <sub>1</sub> (% pred)*	SAMR	72,8 ± 5,26 SD	65,2 ± 9,88 SD	63 ± 13,27 SD	<b>0,0348634</b>
	SAMS	78,64 ± 6,53 SD	77,73 ± 6,37 SD	77,54 ± 7,89 SD	<b>0,6568177</b>
	Control	84,45 ± 8,23 SD	89 ± 5,81 SD	93,39 ± 4,17 SD	<b>0,0004544</b>
<b><i>p-value (Independent Samples T test)</i></b>		<b>0,016194</b>	<b>0,000004</b>	<b>0,00000061</b>	
Scor Z * Greutate-pentru-vârsta	SAMR	-2,34 ± 1,30 SD	-1,98 ± 1,13 SD	-1,80 ± 1,30 SD	<b>0,342155</b>
	SAMS	-0,60 ± 2,02 SD	0,11 ± 2,25 SD	0,37 ± 2,36 SD	<b>0,003203</b>
	Control	-0,32 ± 2,2 SD	0,14 ± 1,62 SD	0,57 ± 1,70 SD	<b>0,000533</b>
<b><i>p-value (Independent Samples T test)</i></b>		<b>0,052484</b>	<b>0,014574</b>	<b>0,018117</b>	
Scor Z * Talie-pentru-vârsta	SAMR	-1,85 ± 1,08 SD	-1,46 ± 1,12 SD	-1,19 ± 1,17 SD	<b>0,06248</b>
	SAMS	-0,52 ± 1,80 SD	0,14 ± 1,67 SD	0,68 ± 1,70 SD	<b>0,00014</b>
	Control	0,07 ± 1,78 SD	0,41 ± 1,57 SD	0,72 ± 1,45 SD	<b>0,05134</b>
<b><i>p-value (Independent Samples T test)</i></b>		<b>0,058041</b>	<b>0,046988</b>	<b>0,051252</b>	
Bronșiectazii n(%)	SAMR (n = 9)		6 (16,22%)	8 (21,62%)	
	SAMS (n = 13)		5 (13,51%)	7 (18,92%)	
	Control (n = 15)		3(8,11%)	6 (16,22%)	
<b><i>Spearman correlation: p-value</i></b>			<b>0,02503</b>	<b>0,04503</b>	
Exacerbări pulmonare* lotul: 4,72 ± 2,24 DS	SAMR (n = 9)			6,33 ± 1,87 SD	
	SAMS (n = 13)			4,67 ± 2,5 SD	
	Control (n = 15)			3,8 ± 1,74 SD	
<b><i>p-value (Independent Samples T test)</i></b>				<b>0,02207</b>	
Decese (3 cazuri/8,11%)	SAMR			3 (8,11%)	
	SAMS			-	
	Control			-	
<b><i>Spearman correlation: p-value</i></b>				<b>0,01042</b>	
*Media ± DS (deviația standard )					

Valorile scorului Z pentru talie și vârstă în grupul SAMR nu s-au îmbunătățit semnificativ ( $p = 0,6248$ ). Mai mult decât atât, acestea au prezentat valori medii negative (talie mică pentru vârstă): inițial:  $-1,85 \pm 1,08$  SD, 12 luni:  $-1,46 \pm 1,12$  SD, 24 luni:  $-1,19 \pm 1,17$  SD. În schimb, o creștere semnificativă a valorilor medii s-a înregistrat în grupul SAMS ( $p = 0,00014$ ): inițial:  $-0,52 \pm 1,80$  SD, 12 luni:  $0,14 \pm 1,67$  SD, 24 luni:  $0,68 \pm 1,70$  SD, iar în grupul de control modificările valorilor medii au fost nesemnificative ( $p = 0,05134$ ): inițial:  $0,07 \pm 1,78$  SD, 12 luni:  $0,41 \pm 1,57$  SD, 24 luni:  $-0,72 \pm 1,45$  SD) (Fig. 1).

Prevalența bronșiectaziilor la 12 luni de la inițierea studiului în grupul pacienților cu SAMR a fost de 16,22% (6 cazuri), în grupul SAMS a fost de 13,51% (5 cazuri), iar în grupul de control a fost de 8,11% (3 cazuri). Aceste rezultate au demonstrat asocierea semnificativă între prezența bronșiectaziilor și SAMR ( $\chi^2 = 5,289019$ ,  $p = 0,2503$ ). După 24 luni s-a constatat creșterea prevalenței bronșiectaziilor în toate grupurile analizate (SAMR: 21,62%, SAMS: 18,92%, control: 16,22%), menținându-se diferențele semnificative intergrup ( $\chi^2 = 6,200989$ ,  $p = 0,04503$ ).

Menționăm că toți bolnavii au primit antibioticoterapie pe cale intravenoasă conform ghidurilor de tratament.

La finalul perioadei de studiu s-a evaluat numărul de exacerbări pulmonare și respectiv numărul de internări. În grupul SAMR numărul acestora (mean:  $6,33 \pm 1,87$  SD) a fost semnificativ mai mare comparativ cu grupul SAMS (mean:  $4,67 \pm 2,5$  SD) și, de asemenea, față de grupul de control (mean:  $3,8 \pm 1,74$  SD).

Pe parcursul celor 24 luni de urmărire s-au înregistrat 3 decese (8,11%) prin insuficiență respiratorie acută, toate aparținând grupului SAMR.

Evaluarea evoluției FC în funcție de impactul infecției cu *S. aureus* a fost realizată prin analiza multivariată utilizând un model de multiple regression analyses (stepwise regression) ce oferă un mijloc util pentru modelarea dependenței unei variabile răspuns (variabilă dependentă) față de mai multe variabile independente – explicative numite predictorii. Variabilele independente (predictorii) pot fi variabile categorice sau continue. În studiul nostru s-a considerat variabilă dependentă numărul de exacerbări, iar variabile independente: SAMR/SAMS, infecția cronică cu *S. aureus*, infecțiile asociate (Tabelul 3).



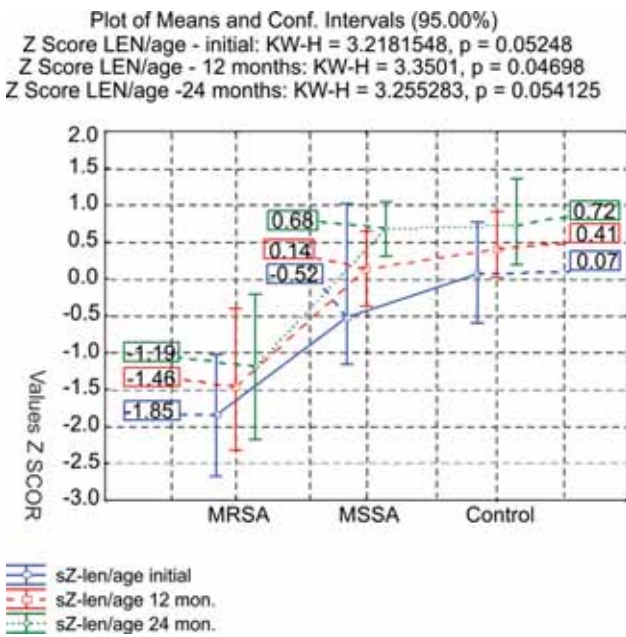
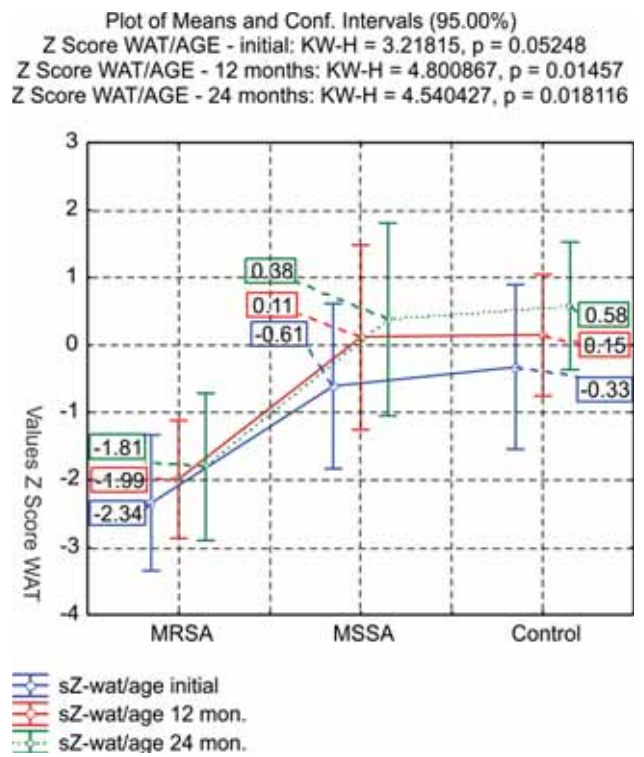
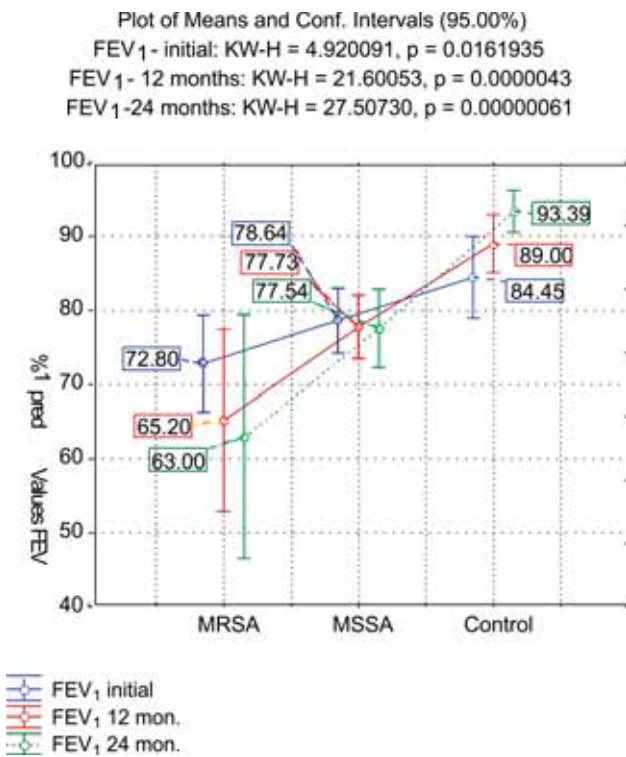


FIGURA 1. Evoluția FEV<sub>1</sub>, scorului Z greutate pentru vârstă, scorului Z înălțime pentru vârstă pe grupe SAMR/SAMS/control

Odd ratio calculat pentru numărul de exacerbări  $Exp(\beta) = 2,76$  (95%CI: 1,18÷4,34) demonstrează că, în cazul infecției cronice cu S. aureus, numărul exacerbărilor crește de 2,76 ori. Rezultatul corelației multiple a indicat absența unei corelații semnificative între SAMR și numărul mare de exacerbări ( $OR = -0,23$ ,  $\beta = -0,64$ ,  $p = 0,187$ ) și, de asemenea, între prezența infecțiilor asociate și numărul exacerbărilor detectate ( $OR = -0,05$ ,  $\beta = 0,27$ ,  $p = 0,724$ ).

## DISCUȚII

FC este responsabilă de obstrucția cronică a căilor respiratorii – o situație favorabilă infecțiilor pulmonare în copilărie.

Spre deosebire de bolnavii fără FC la care S. aureus este o cauză neobișnuită de infecții de tract respirator superior, la bolnavii cu FC S.aureus este cel mai frecvent patogen (8). Este întâlnit la 30% dintre sugarii cu vârsta sub 3 luni în lichidul de



**TABELUL 3.** Multiple regression analyses privind influența infecției cu *S. aureus* asupra evoluției pacienților cu FC

R <sup>2</sup> = 0,314984 p = 0,006463 (95%CI)	Beta	SE	Wald	Sig, p	OddRatio Exp(β)	95% CI for Exp(B)	
						Lower	Upper
<b>Intercept</b>	70,47875	49,31697	1,42910	0,162666			
SAMR/SAMS	-0,64251	0,47687	-1,34733	0,187336	-0,232781	-0,584706	0,119143
Infecție cronică <i>S. aureus</i>	0,370449	0,99401	3,56459	0,001105	2,767857	1,189846	4,345868
Infecții asociate	0,27631	0,77831	0,35501	0,724913	0,059039	-0,279712	0,397791

lavaj bronho-alveolar, iar în unele clinici prevalența este aproximativ 50% la copiii cu vârsta sub 10 ani (9). În studiul prezentat, *S. aureus* a fost izolat la 59,6% dintre pacienții cu FC.

Tulpinile de MRSA reprezintă provocarea cea mai amenințătoare, frecvent fiind rezistente la multe antibiotice. Bolnavii cu FC prezintă un risc particular pentru colonizarea pulmonară cu SAMR atât din cauza dificultății în eliminarea mucusului, cât și din cauza riscului infectării prin internări repetate în spital. SAMR a fost identificat prima dată în 1960 și a fost recunoscut ca patogen major în 1980 (10). Prevalența infecției cu SAMR la lotul studiat a fost 24,32%, infecția cronică fiind confirmată în 13,51% dintre cazuri.

Tulpinile metilino-sensibile identificate la 35,14% cazuri reprezintă, de asemenea, un risc pentru pacienții cu FC datorită existenței biofilmului în plămânul infectat, unde nu pot pătrunde antibioticele.

*S. aureus* însuși nu este o cauză obișnuită de morbiditate și mortalitate semnificativă în FC, dar poate determina distrucție tisulară și predisune la infecție acută cu *Pseudomonas aeruginosa*, fapt neconfirmat în lotul studiat.

Ca factori asociați cu risc crescut de declin al funcției pulmonare măsurată prin FEV<sub>1</sub> sunt citați: insuficiența pancreatică, statusul nutrițional precar, infecția cu *Pseudomonas aeruginosa*, iar ca factor adițional numărul exacerbărilor pulmonare (5).

În lotul prezentat 6 din 9 bolnavi cu SAMR au avut valori scăzute ale elastazei pancreatice concomitent cu evoluția clinică nefavorabilă.

Infecția cu SAMR la copiii cu FC are un efect negativ asupra creșterii (11,12,13). Comparativ cu bolnavii din grupul SAMS, bolnavii cu SAMR au avut o evoluție nefavorabilă atât a greutateii, cât și a taliei, la aceasta contribuind inapetența, catabolismul crescut și internările repetate (14). Nu am observat diferențe semnificative între cele două sexe comparativ cu rapoartea lui Murphy A.J. în care scăderea scorului Z pentru greutate și talie a fost întâlnită în special la băieți (15).

Studiile epidemiologice recente relevă date contradictorii privind impactul infecției cu SAMR asupra evoluției clinice a pacienților cu FC. După

unii autori, infecția cu SAMR, cât și coinfectia *S. aureus* – *Pseudomonas aeruginosa* pot fi asociate cu un declin mai rapid al funcției pulmonare (16,17,18,19,20). De asemenea, infecția cu SAMR determină scăderea funcției pulmonare comparativ cu infecția cu SAMS (21,22). Dasenbrook și col. (5) au arătat că infecția cronică cu SAMR la bolnavii cu FC cu vârsta între 8-21 ani a fost asociată cu o scădere anuală a FEV<sub>1</sub> cu 0,5%. Infecția cronică cu SAMR în FC este asociată cu bronșiectazii severe (23). În studiul prezentat prezența bronșiectaziilor a fost confirmată la 8 dintre cei 9 bolnavi cu SAMR. Prezența bronșiectaziilor este un marker de distrucție pulmonară mai severă și pot favoriza colonizarea cu bacterii rezistente (17).

Culturile de *S. aureus* izolat de la bolnavii cu infecție cronică se particularizează prin apariția de colonii mici cu aspect variat (23). Diferențele dintre variantele de colonii mici sunt date de mărimea coloniilor pe plăcile de agar, creșterea lentă, lipsa pigmentării, secreția redusă de alfa-toxină, dependența de timidină. Există dovezi că infecția concomitentă cu *Pseudomonas aeruginosa* crește formarea de variante de colonii mici (24).

Pe parcursul studiului s-a înregistrat o scădere mai mare a FEV<sub>1</sub> în grupul bolnavilor cu infecție cu SAMR, în acord cu datele din literatură conform cărora un episod infecțios cu SAMR poate determina o scădere de două ori mai mare a FEV<sub>1</sub> comparativ cu bolnavii fără SAMR (25).

Bolnavii cu SAMR au o frecvență crescută a numărului de spitalizări și necesită tratament antibiotic oral, inhalator și intravenos. În același timp, internările în spital reprezintă un factor de risc major pentru dobândirea SAMR (26).

În grupul bolnavilor cu SAMR, cea mai frecventă mutație întâlnită a fost F508del (6 cazuri). Putem să argumentăm că acest genotip se asociază cu boala pulmonară mai severă (27). Toți cei 3 bolnavi care au decedat prin suferință respiratorie au avut infecție cronică cu SAMR (nici unul nu a beneficiat de transplant pulmonar).

## CONCLUZII

Infecția cu *S. aureus* a fost prezentă la peste 50% din bolnavii cu FC cu manifestări predominant

pulmonare, reflectându-se clinic prin evoluție nefavorabilă.

Colonizarea cronică cu SAMR a fost asociată cu statusul nutrițional precar, prezența bronșiectaziilor, a insuficienței pancreatice, genotipul F508del și cu

durata de spitalizare mai mare. Datorită potențialului său patogenic crescut, tratamentul precoce și, dacă este posibilă, eradicarea infecției cu S.aureus reprezintă cele mai adecvate măsuri pentru creșterea calității vieții acestor bolnavi.