

Konfirmationsdiagnostik bei positivem CF-Screening

Lutz Nährlich

Abteilung für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie

Justus-Liebig-Universität Giessen

Email: lutz.naehrlich@paediat.med.uni-giessen.de



Ziele der Konfirmationsdiagnostik

Frühzeitige Diagnose der Mukoviszidose

Frühzeitige Therapie der Mukoviszidose

Keine Verunsicherung der Eltern (Beratung)

Kein Carrierscreening bei Eltern/Kind

Diagnosekriterien der Mukoviszidose gemäß Diagnoseleitlinie (AWMF 026/023)

Für die Diagnose Mukoviszidose

*muss mindestens ein diagnostischer Hinweis vorliegen **und** eine CFTR-Funktionsstörung nachgewiesen sein.*

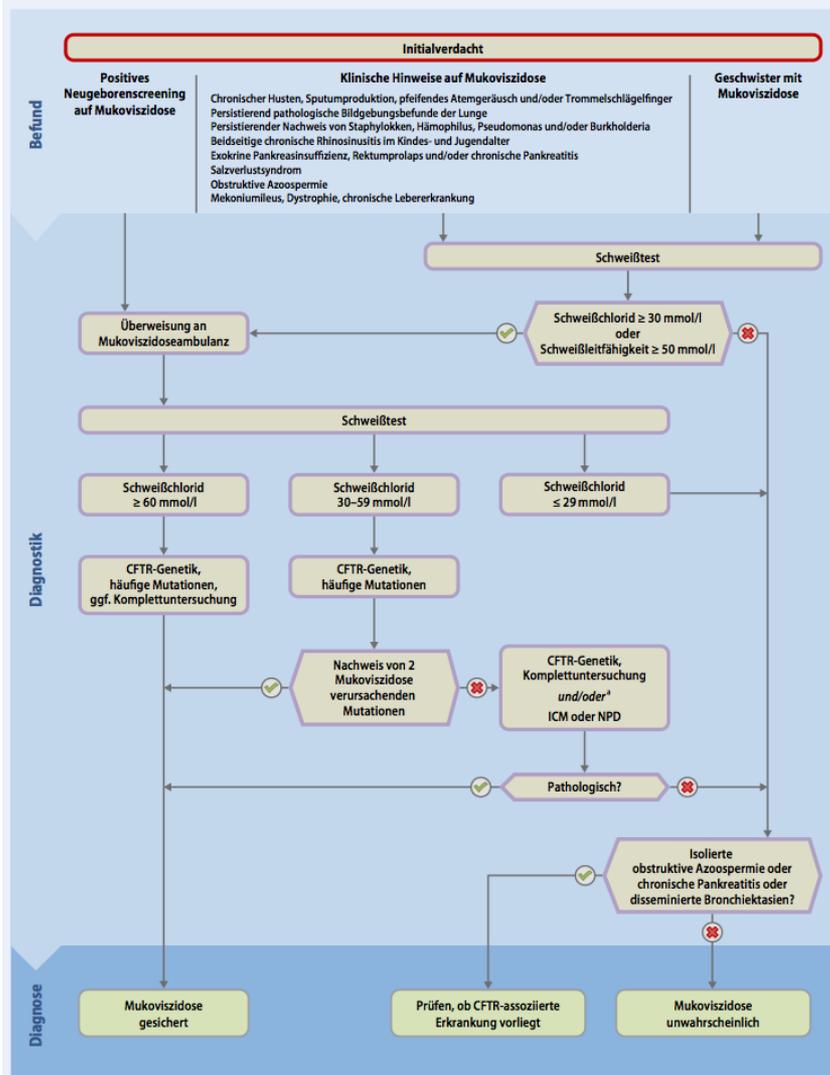
Diagnostische Hinweise sind

- 1. ein positives Neugeborenenenscreening oder*
- 2. Geschwister mit Diagnose einer Mukoviszidose oder*
- 3. mindestens ein klinischer Hinweis auf eine Mukoviszidose*

Der Nachweis einer CFTR-Funktionsstörung erfolgt durch

- 1. erhöhte Schweißchloridwerte (≥ 60 mmol/l) bei mindestens zwei unabhängigen Messungen oder*
- 2. Nachweis zweier Mukoviszidose-verursachenden CFTR-Mutationen (in trans) oder*
- 3. Nachweis einer charakteristischen Abnormalität der CFTR-Funktion mittels nasaler Potentialdifferenzmessung (NPD) oder Intestinaler Kurzschlussstrommessung (ICM).*

Leitlinie "Diagnose der Mukoviszidose" AWMF 026/023 (2013)



Endkategorien:

Mukoviszidose gesichert

Mukoviszidose unwahrscheinlich

Bedeutung des Schweißtests

Hohe Sensitivität (95%)

Hohe Spezifität (99%)

Kontrollbereich Schweißchlorid

Komplexität der Diagnostik

Genetik /Elektrophysiologie

Schweißtest Gibson-Cooke

versus

Macroduct®

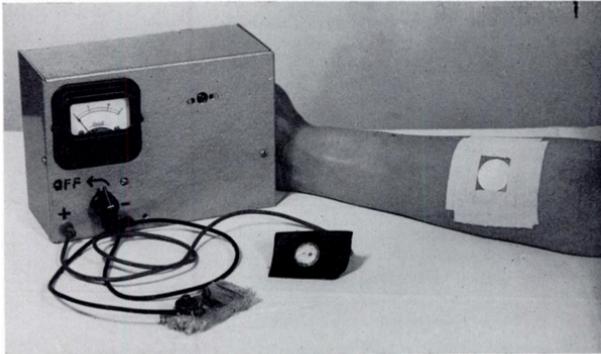


FIG. 2. Apparatus for delivering electric current; the electrodes; and the collecting system applied to a forearm.

Gibson, Cooke. Pediatrics 1959: 545.

Stimulation



www.discovery-diagnostics.com

Sammlung



www.discovery-diagnostics.com

Dilution

Analyse



www.wismess.de

Qualitätskontrolle

Leitlinien: *Stimulation-Sammlung-Analyse*

	UK-Guideline 2014 (1)	Australien 2006 (2)	CLSI 3. Edition 2009 (3)
Stimulation	Pilocarpineiontophorese		
Sammelmedium	Filterpapier oder Wescor Macroduct®		
Sammelzeit	20-30 min		max 30 min
Minimales Volumen	$\geq 1 \text{ g (Schweiß)}/\text{m}^2(\text{Sammelfläche})/\text{min (Sammelzeit)}$		
Analyse	Chlorid, <i>Leitfähigkeit nur als Screeningtest</i>		
Chloridanalyse	Colorimetry, Coulometry, ISE		Titration mit Chloridmeter
CF-Referenzbereich	CF > 60 mml/l		

1) Baumer. Arch Dis Child 2003:1126.

2) The AACB sweat test working group. Clin Biochem Rev 2006: S1.

3) CLSI. 3rd edition. 2009

Qualitätskontrolle

Adhärenz *Stimulation-Sammlung-Analyse*

<i>Land</i> <i>Publikationsjahr</i> Kriterium	UK 2000	NZ 2006	CH 2007	D 2007	I 2008	AUS 2009
Anzahl der Krankenhäuser (<i>K</i>) <i>CF-Zentren (CF)</i>	30 K	8 K	26 K	88 CF	39 CF	20 K
Sammelzeit	?	50%	12%	33%	75%	42%
Minimales Volumen	?	?	?	50%	58%	68%
Chlorid	80%	63%	62%	58%	76%	70%
Leitfähigkeit	3%	0% ?	62%	53%	39%	0% ?
Chloridreferenzwert	17%	?	63%	78%	42%	55%
Alle Kriterien erfüllt	0%	0%	?	6%	?	?

UK: Kirk. Arch Dis Child 2000; **NZ** Mackay. J Pediatr Child Health 2006. **CH:** Barben. Swiss Med Wkly 2007; **D:** Naehrlich. Klin Paediatr 2007; **I:** Cirilli. J Cyst Fibros 2008; **AUS:** Coackley. Ann Clin Biochem 2009

„Quantity not sufficient“ Leitlinien – *Praxischeck*

Ziel: Kinder < 3 Monate: $\leq 5\%$ (CLSI 2009)

- Minnesota Experience (Laguna. Ped Pulm 2012)
 - Ein Zentrum 15,4% versus 2. Zentrum 2.1%.
 - Folge: ≥ 2 Visiten: 17.5% versus 2%
- Kanadische Erfahrungen (Beauchamp.Clinical Biochemistry 2005)
 - > 3 Monate: QNS $< 5\%$: **68%** aller Zentren
 - **< 3 Monate: QNS $< 20\%$: 58%; QNS $< 5\%$: 21% aller Zentren**
 - Unabhängig von Macroduct® oder Gibson-Cooke.
 - Cave: Schweißrate ✓
aber Schweißvolumen zu gering für Chloridbestimmung ✗

„Quantity not sufficient“
 Guidelines – *real life* – it can be done!

Table I. Comparison of QNS Rates

	n	Mean*	Median*	SD*	Range
CFF annual application: ≤3 mo; all methods	110	7.2	4	7.6	0-40
NBS-SIG: All methods	42	8	7	6.3	0-25
CFF Annual application: ≤3 mo; gauze/filter paper	56	6.5	3	6.6	0-23
CFF annual application: ≤3 mo; Macroduct	54	7.9	5	8.6	0-40
NBS-SIG: Gauze/filter paper	25	7.6	6	6.5	0-25
NBS-SIG: Macroduct	12	7.5	6	5.2	0-17
CFF Annual application: >3 mo; all methods	110	4.3	4	3.3	0-19
CFF Annual application: >3 mo; gauze/filter paper	56	3.7	3	3.0	0-14
CFF Annual application: >3 mo; Macroduct	54	4.8	4	3.5	0-19

*Units are percent.

„Quantity not sufficient“ Risikofaktoren

TABLE 1—Rate of Unsuccessful Sweat Collection in Infants <6 Weeks Age

	N	% with unsuccessful sweat collection	Odds ratio of unsuccessful collection	<i>P</i> value
All infants <6 weeks	103	26.21		
Gestational age <35 weeks	18	77.78	19.09 (5.29–68.92)	<0.0001
35–36 weeks	14	14.29	0.91 (0.18–4.64)	0.91
>36 weeks	71	15.49		
Postnatal age 3–7days	14	28.57	1.35 (0.37–4.89)	0.65
8–14 days	19	36.84	1.97 (0.66–5.83)	0.22
15–42 days	70	22.86		
Postmenstrual age <36 weeks	11	81.82	18.5 (3.67–93.15)	<0.0001
≥36 weeks	92	19.57		
Weight on test day <2,000 g	9	77.78	61.25 (7.34–510.93)	<0.0001
2,000–3,000 g	32	31.25	7.95 (1.59–39.76)	0.01
3,000–3,500 g	25	32.00	8.24 (1.57–43.06)	0.01
>3,500 g	37	5.41		
African-American race	17	58.82	5.71 (1.90–17.21)	0.002

Schweißtest als Konfirmationsdiagnostik

Empfehlungen

Höchste Sensitivität und Spezifität nur bei

- Strikter Qualitätskontrolle
- Beidseitiger Messung bei jeder Untersuchung
- Patient > 2. Lebenswoche, > 2 (3,5)kg Körpergewicht
- Qualitätsberichte
- Akkreditierung
 - Jährliches Review,
 - Periodische On-site Evaluation (incl. Schweißtest)

LeGrys. J Pediatr 2010: 1035.

- plus Durchführung in CF-Zentren

CFTR-Genetik

- 2001 CFTR-Mutationen (CFTR-1 Toronto Database)
- 179 als krankheitsverursachend anerkannt (CFTR2.org)
- Detektionsrate gängiger kommerzielle Tests:
 - 90% aller Mutationen (Hellhäutige Europäer)(AWMF 026/023)
 - > 81% zwei Mutationen, 18% eine Mutation, 1% keine Mutation
 - Türkische und Nordafrikanische Patienten (Lakeman Genet Test 2008:25) :
 - > 45-55% bzw. 69-79% aller Mutationen
- Detektionsrate Genotypisierung einschl. MLPA
 - 99% aller Mutationen -> 98% zwei Mutationen

Grenzen der CFTR-Genetik

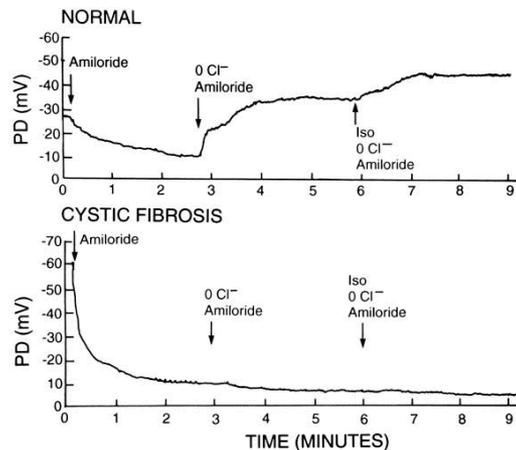
- **Untersuchungsspektrum**
 - Genotypisierung, MLPA *und mehr*
 - Kosten/Zeit
- **Fehlerhafte Laborzuordnung** (*Naehrlich, JCF 2013: 68*)
 - Schweißtest immer notwendig
 - USA: Nur noch 70% Schweißtests bei Nachweis zweier Mutationen
- **Interpretation**
 - 2001 CFTR-Mutationen bekannt (CFTR1-Toronto-Database)
 - 179 Mutationen als CF-verursachende Mutationen anerkannt
 - CFTR2.org als wichtige Informationsquelle (CFTR2.org)
- **Bestätigung eines erhöhten Schweißchlorids**
 - Nicht immer möglich!

Elektrophysiologie (NPD/ICM)

- Nasale Potentialdifferenzmessung



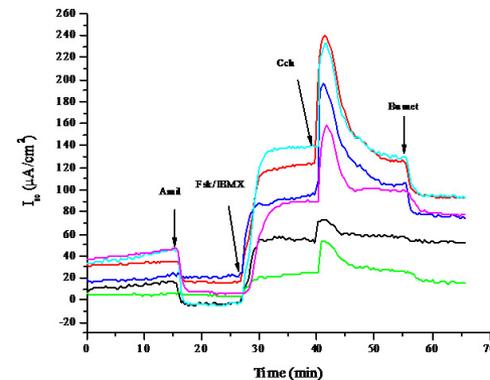
www.cfgenetherapy.org.uk



- Intestinale Kurzschlussstrommessung an Rektumschleimhaut



www.med.unc.edu



Grenzen der Elektrophysiologie

- Durchführbarkeit:
 - NPD < 6 Lj keine Routine (Sermet, Thorax 2010: 539)
 - ICM altersunabhängig; Risiko: Darmverletzung
- Definition der Referenzwerte:
 - Standardisierung erreicht (ECFS-SOP)
 - Altersabhängigkeit ?
 - ICM (ECFS-SOP): Detektion von < 20% CFTR-Funktion
 - Hohe Trennschärfe, aber bei CFTR-Restfunktion ?
 - Spezifität hoch, Sensitivität ?
- Fazit: ICM als diagnostische Möglichkeit

CF-Screening positive, inconclusive Diagnosis (CFSPID)

- Positives Neugeborenenenscreening

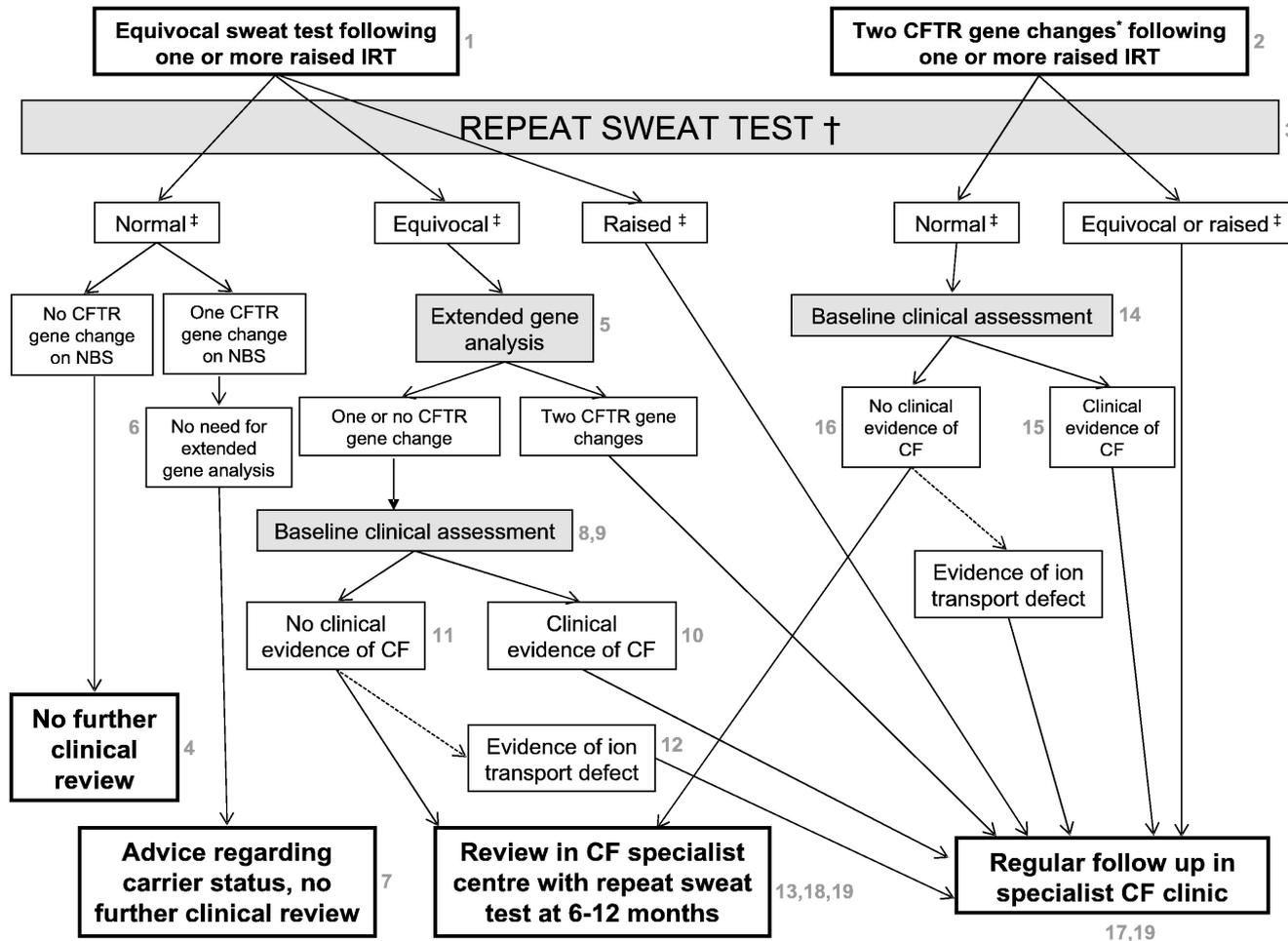
UND

- Schweißchlorid 30-59 mmol/l und einer oder auch keiner CFTR Mutation **ODER**
- Schweißchlorid < 30 mmol/l und Nachweis zweier CFTR-Mutationen, von denen maximal eine Mutation mit unklarer diagnostischer Bedeutung ist.

Munck, J Cyst Fibros 2015: [10.1016/j.jcf.2015.01.001](https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.01.001)

CFTR-metabolic syndrome (Borowitz, J Pediatr 2009:155 (6 Suppl): S 106)

CF-Screening positive, inconclusive Diagnosis (CFSPID) - Algorithmus



Brauchen wir die CFSPID-Diagnose? Warnhinweis oder Dilemma ?

■ Warnhinweis

- Erhöhtes Risiko für CF: 10% (Ooi, Pediatrics 2015)

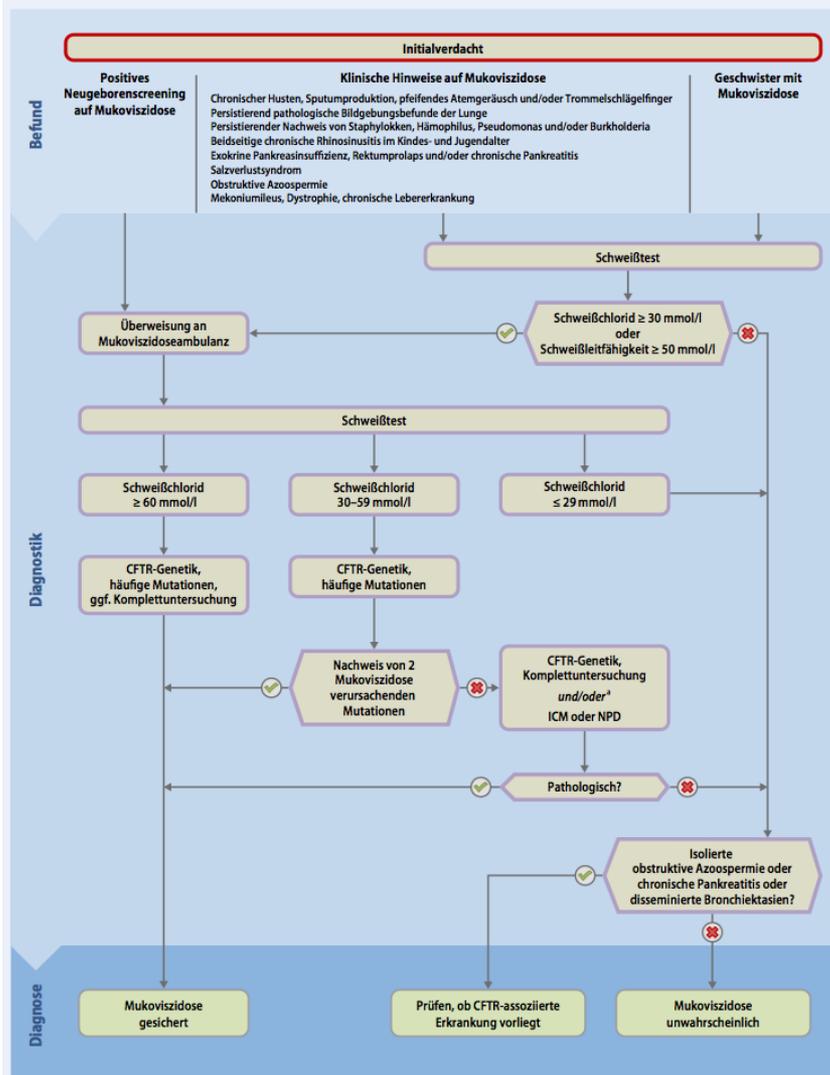
■ Dilemma

- Lebenslange "Diagnose"
- Auswirkungen mittelfristig unbekannt
 - Verunsicherung, Versicherungsschutz, genetische Beratung

■ Strategie zur Reduktion

- a. Keine ausreichende Schweißmenge - > erweiterte Genetik
 - b. Keine ausreichende Schweißmenge -> Faekale Elastase -> Schweißtest
- Schweiz: a) 9 CF: 1 CFSPID -> b) 21 CF:1 CFSPID (ab 2013)

Diagnoseleitlinie "Diagnose der Mukoviszidose" AWMF 026/023 (2013)



Endkategorien:

Mukoviszidose gesichert

Mukoviszidose unwahrscheinlich

CFSPID

Schweißtest

Kontrollbereich Schweißchlorid

Komplexe Diagnostik

Genetik /Elektrophysiologie

Fazit

Konfirmationsdiagnostik - freie Wildbahn ?

- Komplexe Konfirmationsdiagnostik
- Zentrale Rolle des Schweißtests
 - Qualität trotz unzureichender Vergütung (Kosten 100€ -EBM 8€)
 - Optimaler Zeitpunkt 2-4 Wochen (Cave: "QNS")
- Genetik selten die Lösung, kein Ausschluß
- Elektrophysiologie möglich, aber Grenzen unklar
- Konfirmationsdiagnostik im CF-Zentrum (Beratung!)
- *Vermeidung "großzügiger" CFTR-Genotypisierungen*
Cave: CF-Screening positive, inconclusive Diagnosis