Aus der Klinik für Neonatologie der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zur physiologischen Leitfähigkeit des Schweißes bei reifen Neugeborenen in der ersten Lebenswoche

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Luisa Alessandra Garavy

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. R. Wauer

2. Prof. Dr. T. Frischer

3. Priv.-Doz. Dr. med. D. Staab

Datum der Promotion: 30.11.2012

Für M und F

Inhaltsverzeichnis

AB	STR	ACT (DEUTSCH)	6
AB:	STR	ACT (ENGLISCH)	8
AB	KÜR	RZUNGSVERZEICHNIS	10
1	EIN	LEITUNG	11
1.1	Су	stische Fibrose: Entdeckungsgeschichte	11
1.2	Еp	oidemiologie	12
1.3	Pa	nthophysiologie	12
1.4	Dia	agnosestellung	14
1.5	Sc	hweißtest – Stand der Technik	16
1.6	Sc	hwitzen beim Neugeborenen	19
1.7	Sc	:hweißtests bei Neugeborenen	20
1.8	CF	-Screening bei Neugeborenen	21
2	AUF	GABENSTELLUNG	22
3	MAT	TERIAL UND METHODEN	23
3.1	Pa	tientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien	23
3.2	Un	ntersuchungsmethode	23
3.	2.1	Verwendetes Schweißanalysesystem	23
3.	2.2	Schweißmessung	26
3.	2.3	Qualitätskontrolle des Schweißtests	28
2 2	۸.,	iswartung dar Fraghnissa und Riamatria	20

4	ERGEBNISSE	30
4.1	Testerfolg	30
4.2	Schweißrate	32
4.3	Leitfähigkeit	33
4.4	Nebenwirkungen	35
5	DISKUSSION	36
5.1	Testerfolg und Schweißrate	36
5.2	Leitfähigkeit	40
5.3	Verträglichkeit	46
5.4	Messung der Leitfähigkeit als diagnostische Methode	46
5.5	Messung der Leitfähigkeit als Screeningmethode	49
6	ZUSAMMENFASSUNG	55
7	ERKLÄRUNG AN EIDES STATT	57
8	DANKSAGUNG	58
9	CURRICULUM VITAE	59
10	LITERATURVERZEICHNIS	61

Abstract

Bei der Durchführung eines Schweißtests zum Ausschluss einer Cystischen Fibrose in den ersten Lebenswochen stellt die noch unzureichende Schweißproduktion von Neugeborenen eine besondere Herausforderung dar. Die Referenzwerte der Schweißelektrolyte in dieser Altersgruppe sind nicht ausreichend untersucht. Ziel dieser Studie war die Bestimmung der physiologischen Leitfähigkeit des Schweißes bei reifen, gesunden Neugeborenen unter Verwendung eines neuen Schweißanalysesystems (Nanoduct®).

Bei 115 Neugeborenen wurde zwischen dem dritten und siebten Lebenstag ein Schweißtest durchgeführt. Wenn die Schweißrate weniger als 1g/m²/min betrug oder die mittlere Leitfähigkeit über dem Grenzwert von 60mmol/L (NaCl-Äquivalente) lag, wurde der Test am selben Tag wiederholt. Bei zweifacher Überschreitung des Grenzwerts erfolgte ein konventioneller Schweißtest in der sechsten Lebenswoche.

Bei 82 Probanden (71%) konnte der Schweißtest erfolgreich durchgeführt werden. Schweißrate und Testerfolg waren abhängig vom Geburtsgewicht (p=0,009 bzw. p=0,022), wobei die Fehlerquote für Kinder unter 3000g Körpergewicht bei der Geburt 50% und für Kinder über 3000g gewichtsabhängig 18 bis 27% betrug. Für Lebenstag der Testdurchführung, Gestationsalter und Geschlecht bestanden keine signifikanten Unterschiede. Ebenso gab es keine Unterschiede zwischen der Höhe der mittleren Leitfähigkeit für Geburtsgewicht, Lebenstag, Gestationsalter oder Geschlecht. Die mittlere Leitfähigkeit im ersten Test betrug 51,9 mmol/L (± 14,5) und lag damit deutlich über den publizierten Werten für ältere Säuglinge und Kinder. Sieben von 82 Probanden (8%) hatten einen zweifach erhöhten Testwert; bei allen konnte eine Mukoviszidose durch einen herkömmlichen Schweißtest in der sechsten Lebenswoche ausgeschlossen werden.

Der Schweißtest bei Neugeborenen unter 3000g Geburtsgewicht ist nicht sinnvoll. Die mittlere Leitfähigkeit liegt in der ersten Lebenswoche deutlich höher als bei älteren Kindern, entsprechend ist die Anzahl der kontrollbedürftigen Befunde hoch, legt man den bisher geltenden Grenzwert der NaCl-Konzentration zu Grunde. Für eine altersentsprechende Anpassung der Cut-Off-Werte sind weitere Studien an Neugeborenen mit Mukoviszidose erforderlich, um eine sichere Differenzierung zwischen Kranken und Gesunden zu ermöglichen.

Schlagwörter: Cystische Fibrose, Schweißtest, Pilocarpin-Iontophorese, Leitfähigkeit, Neugeborene, Neugeborenen-Screening

Abstract

The performance of a sweat test in newborns for the diagnosis of cystic fibrosis remains a challenge as the sweat production is often insufficient within the first weeks of life. Reference values of sweat electrolytes in this population are not validated. The aim of this study was the determination of the physiological sweat conductivity of healthy, term newborns, using a new sweat analysis system (Nanoduct®).

In 115 newborns a sweat test was performed between the third and the seventh day of life. The test was repeated on the same day if the sweat rate was less than 1 g/m²/min or if the mean conductivity exceeded the limit of 60mmol/L (sodium chloride equivalents). If conductivity was increased twice, a conventional sweat test was performed during the sixth week of life.

82 of the subjects (71%) yielded a valid sweat test. Sweat rate and success of testing depended on birth weight (p=0.009 and p=0.022, respectively). Failure rate was 50% for subjects under 3000g body weight at birth and 18% to 27% for subjects over 3000g body weight. No significant differences concerning the test results were obtained for gestational age, sex or day of life. Level of mean conductivity was independent from birth weight, gestational age, day of life or sex. Mean conductivity was 51,9mmol/L (± 14.5), thus exceeding the published values of older children significantly. In seven out of 82 subjects (8%), conductivity exceeded the limit of 60mmol/L twice; a subsequent conventional sweat test during the sixth week of life ruled out cystic fibrosis in all cases.

The performance of a sweat test is not useful in newborns under 3000g body weight. Mean conductivity level within the first week of life exceeds the values of older children significantly, and the number of results requiring control is high, if the currently valid reference values for NaCl concentration are applied. Further studies in newborns with cystic fibrosis are necessary in order to adjust age dependent reference values and thus to better discriminate between healthy and affected subjects.

Keywords: cystic fibrosis, sweat test, conductivity, pilocarpin iontophoresis, newborns, newborn screening

Abkürzungsverzeichnis

B. cepacia Burkholderia cepacia

CF Cystische Fibrose

CFF Cystic Fibrosis Foundation

CFTR Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

ECFS European Cystic Fibrosis Society

GA Gestationsalter

H. influenzae Haemophilus influenzae

IRT Immunreaktives Trypsinogen

P. aeruginosa Pseudomonas aeruginosa

S. aureus Staphylococcus aureus

S. maltophilia Stenotrophomonas maltophilia

SSW Schwangerschaftswochen

USCFF United States Cystic Fibrosis Foundation

1 Einleitung

1.1 Cystische Fibrose: Entdeckungsgeschichte

Die erste klinische Beschreibung des heute unter dem Namen Cystische Fibrose (CF) oder, im deutschsprachigen Raum, Mukoviszidose bekannten Krankheitsbildes wurde vom Schweizer Pädiater Guido Fanconi veröffentlicht. 1 Er präsentierte seine "Coeliakiesyndroms Beobachtungen des bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasen" 1936 dem medizinischen Kollegium. Die erste pathologische Beschreibung der Erkrankung folgte im Jahr 1938 durch die amerikanische Pathologin Dorothy Anderson, die im "American Journal of Diseases of Children" die Ergebnisse ihrer Autopsien von Kindern publizierte. Anderson beschrieb die Zerstörungen von Pankreas und Lunge in diesen Fällen und gab dem Krankheitsbild seinen bis heute gebräuchlichen Namen: "zystische Pankreasfibrose".² Man ging zu diesem Zeitpunkt von einer Lebenserwartung der betroffenen Kinder von etwa sechs Monaten aus.3

Im Sommer des Jahres 1953 bemerkte der Kinderarzt Paul Di Sant´ Agenese während einer Hitzewelle in New York, dass viele der Kinder, die ihm mit körperlicher Erschöpfung vorgestellt wurden, an "zystischer Pankreasfibrose" erkrankt waren. Er postulierte, dass ihr Schweiß verändert sein müsse und beschrieb dann den hohen Natriumchloridgehalt im Schweiß von CF-Patienten.^{4,5} Die Erkenntnisse über die hohe Schweißosmolalität führten 1959 zu der Entwicklung des Schweißtests mittels Pilocarpin-induzierter Iontophorese nach Gibson und Cooke.⁶ Dieser Test stellt auch heute noch den Goldstandard der Mukoviszidose-Diagnostik dar.

1989 schließlich identifizierten Collins, Riordan, Tsui et al. das Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Gen auf Chromosom 7 und legten damit den Grundstein für die molekularbiologische Diagnostik via Mutationsanalyse. Mittlerweile sind über 1500 Mutationen des CFTR-Gens bekannt; allerdings zeigen die aktuellsten molekulargenetischen Forschungsergebnisse, dass die interindividuell sehr heterogenen Verläufe der Krankheit nicht nur vom CFTR-Genotyp, sondern wahrscheinlich auch von so genannten "modifier genes" abhängen. Es handelt sich hierbei um bestimmte Genregionen auf anderen Chromosomen, von

denen angenommen wird, dass sie den klinischen Phänotyp einer CF-Erkrankung beeinflussen. Die Funktion dieser Gene beeinflusst maßgeblich, welche klinische Ausprägung eine CF-Erkrankung annimmt. Es wurden bisher mehrere solcher als modifier genes in Frage kommende Gene identifiziert. Dennoch ist es wahrscheinlich, dass verschiedene, kombinierte Haplotypen solcher Gene die beschriebenen Auswirkungen auf das klinische Bild haben. 11

1.2 Epidemiologie

Cystische Fibrose stellt mit einer Inzidenz von etwa 1:2500 Lebendgeborenen die häufigste letale autosomal-rezessive Erkrankung der kaukasischen Rasse dar. 12,13,14,15 Derzeit sind weltweit etwa 70000 Menschen betroffen. 16 Die mittlere Überlebensrate von Patienten mit CF hat sich im Verlauf der rund 70 Jahre, die seit der ersten Beschreibung der Erkrankung vergangen sind, drastisch verbessert und liegt zum gegenwärtigen Zeitpunkt bei etwa 36,8 Jahren. Mehr als 35% der derzeit Erkrankten sind älter als 18 Jahre. 17,18 Diese deutliche Erhöhung der Lebenserwartung sowie eine drastische Verbesserung der Lebensqualität begründen sich hauptsächlich in der heute üblichen aggressiven Behandlung der Erkrankung, bestehend aus antibiotischer Therapie, physiotherapeutischer Betreuung und verbessertem Ernährungsmanagement, in der Regel in speziell dafür ausgerichteten, multidisziplinären Zentren.^{3,19}

1.3 Pathophysiologie

Cystische Fibrose wird verursacht durch Mutationen in einem 230 kb umfassenden Gen in der Bande 7q31.2 auf dem langen Arm des Chromosoms 7, welches ein 1480 Aminosäuren enthaltendes Polypeptid codiert, das den Namen Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) trägt. Bisher wurden mehr als 1800 Mutationen des CFTR-Gens beschrieben. Homozygote Individuen zeigen in Abhängigkeit vom Genotyp unterschiedliche klinische Bilder, wobei die Genträger der häufigsten Mutation, delF508 homozygot, zumeist das klassische Bild mit exokriner Pankreasinsuffizienz und chronischer Pseudomonaspneumonie bieten. Heterozygote Genträger hingegen bleiben klinisch unauffällig. Die unterschiedlichen klinischen

Erscheinungstypen der Mutationen werden in sechs Klassen zusammengefasst: (1) CFTR wird nicht synthetisiert, (2) fehlerhafte CFTR-Funktion, (3) fehlerhafte Regulation des CFTR-Ionenkanals, (4) Veränderung der Leitfähigkeit des CFTR-Ionenkanals, (5) teilweise fehlerhafte Produktion oder teilweise fehlerhafte Funktion des CFTR-Proteins, (6) beschleunigter Abbau des CFTR-Proteins an der Zellmembran. Die weltweit am häufigsten vorkommende Mutation ist die der Klasse (2), die durch eine Deletion von Phenylalanin an der Position 508 ("delF508") von CFTR verursacht wird. 13,18,20

CFTR wird in einer Vielzahl von Epithelzellen, darunter in Schweißdrüsen, Atemwegen, Pankreasgängen, Darm, Gallengängen und im Vas Deferens exprimiert.^{3,13} Charakterisierend für die CF ist die generalisierte Störung des sekretorischen Epithels aller exokrinen Drüsen als direkte Folge der Mutationen im CFTR-Gen.²¹ Dies führt zu pathologischen Veränderungen in den genannten CFTR-exprimierenden Organen.¹³

Die Prognose der Erkrankung wird zumeist durch die Veränderungen in den Atemwegen bestimmt. Hier führt der genetische Basisdefekt dazu, dass es durch die gestörte NaCl-Sekretion am Bronchialepithel zu einer erhöhten Viskosität, einer relativen Wasserarmut und einer eingeschränkten mukoziliären Clearance der Sekrete kommt. Auf dieser Grundlage entwickeln sich häufig pulmonale Infektionen mit einem verhältnismäßig schmalen Erregerspektrum, zu dem *P. aeruginosa, S. aureus, H. influenzae* und *S. maltophilia* gehören. Die häufigste Todesursache bei CF-Patienten stellt in über 90% der Fälle eine respiratorische Insuffizienz dar. 20

Auch gastrointestinale Symptome können zum klinischen Erscheinungsbild der CF gehören, wie beispielsweise das distale intestinale Obstruktionssyndrom und der rektale Prolaps. Eine häufige Komplikation im Rahmen der Erkrankung stellt außerdem die Pankreasinsuffizienz dar, welche bei ca. 90% aller Erkrankten vorkommt. ^{9,13,15,20} Auf der Grundlage der mannigfaltigen gastrointestinalen Auswirkungen kommt es unbehandelt häufig ganz allgemein zu Gedeihstörungen. ^{13,20}

Ein weiteres, charakteristisches Merkmal der CF ist die gestörte Zusammensetzung des Schweißes. In ekkrinen Schweißdrüsen wird der Schweiß während der Passage durch den Ausführungsgang modifiziert, bevor er an die Hautoberfläche gelangt. Unter normalen Bedingungen werden zunächst Natrium- und dann Chloridionen zügig aus dem duktalen Lumen reabsorbiert; dies geschieht hauptsächlich durch apikale Natrium-

und CFTR-Ionenkanäle. Bei Patienten mit CF ist, bedingt durch das Fehlen von funktionsfähigem CFTR, die Reabsorption von Chloridionen stark eingeschränkt. Da im duktalen Lumen keine alternative Chloridreabsorption zur Verfügung steht, verbleibt auch Natrium im Übermaß intraduktal, und der an die Hautoberfläche gelangende Schweiß ist durch einen hohen Salzgehalt gekennzeichnet.⁹

1.4 Diagnosestellung

Die Diagnose "Cystische Fibrose" wird häufig erst nach dem Auftreten der unterschiedlichen klinischen Symptome gesichert und bestätigt. In den USA werden derzeit etwa 50% der CF-Erkankungen innerhalb der ersten sechs Lebensmonate diagnostiziert; erst nach acht Lebensjahren sind es ca. 90%. Die späte Diagnosestellung ist hauptsächlich darauf zurückzuführen, dass eine CF-orientierte Diagnostik im Neugeborenenalter meist nur infolge eines klinischen oder anamnestischen Verdachts erfolgt. Der weitaus größere Teil der Patienten wird jedoch erst im Kindesalter, nach dem Auftreten der "klassischen" Symptome erkannt. Die weltweit gesammelten Daten suggerieren, dass die frühe Diagnosestellung beim symptomfreien Neugeborenen direkt mit verbessertem Wachstum und einem verbesserten pulmonalen und neurologischen Outcome assoziiert ist. 22,31

Zur Diagnosestellung der Mukoviszidose können verschiedene Methoden herangezogen werden. Die Messung der typischerweise erhöhten Natrium- und Chloridkonzentration im Schweiß mittels eines so genannten Schweißtests stellt hierbei den Goldstandard der Diagnostik dar (vgl. Kapitel 1.5). Zur Bestätigung der Diagnose steht die *genetische Mutationsanalyse* zur Verfügung. ^{21,23} Allerdings erfolgt aufgrund der großen möglichen Anzahl nur die Genotypisierung der regional häufigsten Mutationen in Bezug auf die geographische bzw. ethnische Herkunft des Patienten. 12,62,63 Im Falle einer Homozygotie oder Compound-Heterozygotie kann die DNA-Analyse also die Erkrankung bestätigen. Im Falle eines heterozygoten Ergebnisses bei gleichzeitig positivem oder intermediärem Schweißtest sowie klinischen Symptomen, sollte nach selteneren Mutationen für das zweite Allel gesucht werden.62 Falls weder Schweißtest noch Mutationsanalyse ein eindeutiges Ergebnis haben, kann außerdem die Messung der Potentialdifferenz über dem nasalen **Epithel** herangezogen werden. Diese Potentialdifferenz entsteht durch den

lonentransport über der nasalen Mukosa und ist bei CF-Patienten in der Regel höher als bei Gesunden. 12,13,15 Im Rahmen von Neugeborenenscreeninguntersuchungen wird auch die *Bestimmung von immunreaktivem Trypsin*, kurz IRT, herangezogen. Durch Obstruktionen der pankreatischen Gänge kann dieses dort produzierte Enzym nicht sezerniert werden und reichert sich stattdessen im Blut an. Während der Neugeborenenperiode ist es bei von CF betroffenen Patienten in etwa zwei- bis dreifach höherer Konzentration als bei Gesunden nachweisbar. 13,21 Zuguterletzt ist auch eine *Rektumbiopsie* möglich, die aber aufgrund des im Vergleich zu anderen diagnostischen Möglichkeiten höheren Aufwands nur noch selten zum Einsatz kommt.

Die Cystic Fibrosis Foundation empfiehlt in ihrem 2008 erschienenen Konsensuspapier, dass zur Diagnosestellung mindestens eine charakteristische klinische Veränderung, eine CF bei einem Geschwisterkind nachgewiesen sein oder ein positives Ergebnis in einem Neugeborenenscreening für CF vorliegen sollte. Zusätzlich muss in weiteren Untersuchungen eine Veränderung im CFTR Gen bzw. dem exprimierten Protein vorhanden sein und/ oder anhand eines pathologischen Schweißtests, einer pathologischen nasalen Potentialmessung oder einer auffälligen Ionenstrommessung am Rektumbiopsat die Dysfunktion des exprimierten CFTR-Proteins nachgewiesen sein.⁴¹

Seit Di Sant' Ageneses Beobachtungen ist bekannt, dass die Natrium- und Chloridkonzentration im Schweiß bei 98% der CF-Patienten erhöht ist. 5,12,24,25 Trotz der vielfältigen diagnostischen Möglichkeiten hat die Bestimmung der Schweißelektrolyte immer noch einen zentralen Stellenwert in der Mukoviszidose-Diagnostik. Auch der moderne diagnostische Algorithmus beinhaltet in der Regel, wie erwähnt, in erster Instanz einen Schweißtest. Ist dessen Ergebnis wiederholt auffällig, schließen sich eine genetische Mutationsanalyse sowie ggf. weitere der bereits genannten Untersuchungen an. Die Abbildung 1 zeigt beispielhaft einen möglichen Algorithmus auf. Allerdings sollte nochmal betont werden, dass alle diagnostischen Algorithmen möglichst frühzeitig, also idealerweise bereits während der Neonatalperiode zum Einsatz kommen sollten (s. auch Kapitel 1.8).

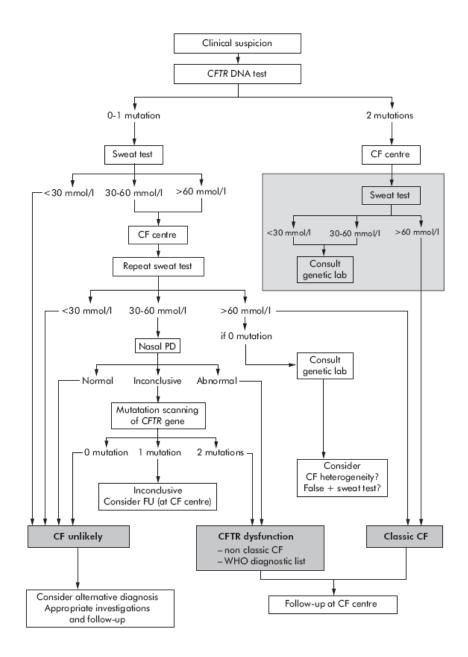


Abbildung 1. Beispielhafter Algorithmus der Diagnosestellung einer CF, mit Schweißtest beginnend²⁹

1.5 Schweißtest – Stand der Technik

Trotz der Fortschritte in der molekularbiologischen Diagnostik stellt die klassische quantitative Bestimmung der Konzentration von Chlorid im Schweiß seit mehr als 50 Jahren und bis zum heutigen Tage den Goldstandard in der CF-Diagnostik dar.^{6,26,27,41} Gerade wegen ihrer hohen Sensitivität und Spezifität hat sich diese Methode als sehr effektiv erwiesen.²⁴ Im Jahr 2007 veröffentlichte die CFF detaillierte Leitlinien zur Durchführung von Schweißtests.⁴²

Der Begriff "Schweißtest" umfasst heute mit Bestimmung der Elektrolytkonzentration und der Leitfähigkeitsmessung sowohl quantitative als auch qualitative Analysemethoden.²⁵ Es existieren verschiedene Analysemethoden, jedoch erfolgt der Test in allen Fällen normalerweise in drei aufeinander folgenden Schritten: (1) Pilocarpin-induzierte Schweißstimulation: Das Pilocarpin wird, beispielsweise mittels Gel-Applikation, auf ein kleines Hautareal am Arm oder Bein aufgetragen. Im Anschluss werden zwei Kupferelektroden an selber Stelle angebracht, und es wird für etwa fünf Minuten ein schwacher Strom, in der Regel mit einer Stärke von 1,5 - 3,0mA angelegt, mittels derer die Hautpenetration des Pilocarpin beschleunigt wird. (2) Sammeln des Schweißes mittels Kapillare, in selteneren Fällen auf Gaze oder Filterpapier, für etwa 30 Minuten. (3) Qualitative oder quantitative Analyse des Schweißes hinsichtlich Chloridoder Natriumkonzentration, Leitfähigkeit oder Osmolalität.^{25,28} Quantitative Tests zeigen die höchste Diskriminationsfähigkeit zu diagnostischen Zwecken. 25,28 Hier wird zunächst die Menge des gesammelten Schweißes ermittelt; danach erfolgt die Bestimmung der Chlorid- oder Natriumkonzentration. Qualitative Testmethoden finden überwiegend im CF-Screening Verwendung und liefern in der Regel nur ein "positives", "negatives" oder "grenzwertiges" Resultat. Hierzu gehören das Wescor Sweat Check-Leitfähigkeitsmessgerät oder das Advanced Instruments-Leitfähigkeitsmessgerät. Messverfahren wie Andere qualitative die Orion Chlorid-Hautelektrode Osmolalitätsmessgeräte sind aufgrund ihrer Ungenauigkeit nicht mehr in der CF-Diagnostik akzeptiert. 25,31,41,42,43

Laut aktueller Richtlinien, wie beispielsweise den Leitlinien der CFF oder des UK CF Trust, gelten Chloridkonzentrationen von über 60mmol/L in mehr als einem Test als positiv und damit hochverdächtig für CF, Werte von unter 30 bzw. 40mmol/L als negativ. Einigen Untersuchungen zufolge weist jedoch auch ein beträchtlicher Anteil von CF-Patienten Chloridkonzentrationen zwischen 30 und 40mmol/L auf. Es handelt sich laut De Boeck et al. um etwa ebenso viele, wie jene mit Werten zwischen 40 und 60mmol/L, so dass beispielsweise die ECFS in ihren 2009 erschienenen Leitlinien einen unteren Grenzwert von 30mmol/L empfiehlt; laut CFF-Konsensusreport gilt dies zumindest für Kinder unter sechs Monaten. Bei Resultaten zwischen 30 und 60mmol/L sollte der Test folglich wiederholt werden. 12,28,2829,30,31,42,43,44

Für die Diagnosestellung einer CF ist, wie zuvor bereits beschrieben, das Vorliegen zweier unabhängiger, positiver Tests sowie zusätzlicher Kriterien erforderlich. Um die Korrektheit der Ergebnisse im quantitativen Test sicherzustellen, ist eine Mindestschweißmenge von 1g/m² Testoberfläche/min (entspricht etwa 75mg in 30 Minuten) erforderlich, wenn der Schweiß auf Gaze oder Filterpapier gesammelt wird. Bei der Verwendung des Macroduct®-Analysesystems, das ein kleineres Stimulationsareal, kleinere Elektroden und eine anaerobe Sammelkapillare verwendet, ist eine Mindestschweißmenge von 15µL innerhalb von 30 Minuten nötig. 28,34,42

Bei der Bestimmung der Leitfähigkeit durch Messung der Natriumchloridäguivalente im Schweiß gelten modifizierte Referenzwerte im Vergleich direkten zur Chloridbestimmung. Dies begründet sich dadurch, dass die Leitfähigkeit anhand der totalen Anionenaktivität in der Schweißprobe gemessen wird, also auch zusätzliche Anionen wie etwa Laktat und Bikarbonat einschließt.32 Somit gelten bei der Leitfähigkeitsbestimmung, wie auch in sämtlichen aktuellen Leitlinien entsprechend benannt, derzeit Werte von über 80mmol/L als positiv. Leitfähigkeitswerte zwischen 60 und 80mmol/L sind grenzwertig, während bei Werten von unter 60mmol/L eine Mukoviszidose unwahrscheinlich ist. 32,33,34,43

	Leitfähigkeit (mmol/L)	Chloridkonzentration (mmol/L)
Unauffällig	< 60	< 30
Grenzwertig	60 – 80	30 – 60
Pathologisch	> 80	> 60

Die Gefahr von Nebenwirkungen bei Schweißtests ist gering und wird mit unter 1% beziffert. Sehr selten kommen Urtikaria oder Hautrötungen in Reaktion auf das Pilocarpin oder die elektrische Stimulation vor. Vereinzelt wurde von Verbrennungen der Haut bei unsachgemäß angelegten oder defekten Elektroden berichtet. Außerdem

können eine 4mA überschreitende Stromstärke, direkter Hautkontakt mit dem Metall der Elektrode und ungenügende Befeuchtung des stimulierten Hautareals Gründe für Nebenwirkungen im Sinne von beispielsweise Hauterosionen sein.^{25,28}

1.6 Schwitzen beim Neugeborenen

Während des ersten Schwangerschaftstrimesters bilden sich epidermale Wachstumsknäule, die in die Dermis vorwachsen und dort ein Lumen entwickeln. Es handelt sich hierbei um die späteren Schweißdrüsen. Diese Entwicklung verläuft regional zeitversetzt, zunächst an Handflächen und Fußsohlen sowie der Stirn, dann am Stamm und schließlich an den restlichen Flächen auf Armen und Beinen. Abgeschlossen ist diese Reifung der Schweißdrüsen etwa zwischen der 24. und der 29. Schwangerschaftswoche. 35,36,37

Obwohl zum Zeitpunkt der Geburt bereits alle etwa drei Millionen Schweißdrüsen, die ein Mensch aufweist, vorhanden sind, ist das thermale Schwitzen noch nicht vollständig ausgebildet. Beobachtet werden kann ein geringfügiges Schwitzen in Reaktion auf thermalen Stimulus, zum Beispiel wenn die Körpertemperatur des Kindes droht, auf mehr als 37,5 Grad Celsius anzusteigen. Weil beim Neugeborenen und Säugling die Körperoberfläche im Verhältnis zur Masse sehr groß ist, besteht am ehesten die Gefahr der Abkühlung durch übermäßige Evaporation über die Haut und weniger die einer Überhitzung.^{35,37}

Da die Schweißdrüsen zum Zeitpunkt der Geburt anatomisch bereits vorhanden sind, erklärt sich die nur gering ausgeprägte Fähigkeit zum thermalen Schwitzen bei Neugeborenen zum einen durch eine funktionelle und zum anderen durch eine neurologische Unreife dieser Drüsen. Vor allem letztere scheint maßgeblich zu sein, da in Versuchsreihen das Schwitzen infolge chemischer Induktion mit Acetylcholin bereits sehr früh erfolgreich war. 36,367,38

Schwitzen als Reaktion auf Schmerz oder Erregung ist bei Neugeborenen und Säuglingen beschränkt auf die Handflächen und Fußsohlen und gehört zu den ältesten, heute funktionslosen Reflexen beim Menschen. Anhand der direkten Messung des palmaren oder plantaren Wasserverlusts oder aber indirekt, über die Messung der

elektrischen Eigenschaften der Haut, wie etwa Leitfähigkeit oder Widerstand, kann diese Form des Schwitzens auch schon bei reifen Neugeborenen nachgewiesen werden.^{35, 39}

1.7 Schweißtests bei Neugeborenen

Es ergeben sich einige Besonderheiten und Herausforderungen bei der Durchführung von Schweißtests bei Neugeborenen. Das größte Problem stellt die oftmals ungenügende Schweißproduktion dar. Den meisten Richtlinien entsprechend muss, wie zuvor bereits dargestellt, eine gültige Analyse mit mindestens 75mg oder 15µL Schweiß, über 30 Minuten gesammelt, erfolgen. Da noch unklar ist, zu welchem Zeitpunkt sehr junge Neugeborene diese für einen Test erforderliche Schweißmenge produzieren, wird der Schweißtest üblicherweise erst ab einem Alter von sechs Wochen durchgeführt. Einige Empfehlungen nennen ein Alter von sieben Tagen bis zwei Wochen; das Mindestalter eines Säuglings sollte in jedem Fall 48 Stunden betragen, da es davor zu einer vorübergehenden Erhöhung der Schweißelektrolytkonzentration kommen kann und das Risiko von Messfehlern außerdem durch Blut- und Vernixreste auf der Haut erhöht ist. 15,28,31,40,41,42,43

Unklarheit besteht bezüglich der anzuwendenden Referenzwerte. Einige Richtlinien geben daher auch für Neugeborene die allgemein anerkannten, bereits genannten Grenzwerte an. 40,44 Daten verschiedener Untersuchungen und Screeningprogramme sowie der aktuelle Konsensusreport der CFF vermitteln jedoch, dass der Grenzwertbereich für diese Altersgruppe überprüft und gegebenenfalls modifiziert werden muss; eine Arbeitsgruppe im Vereinigten Königreich veröffentlichte beispielsweise 2009 eine Studie, nach der der untere Cut-Off-Wert der gängigen Chloridmessung bei 30mmol/L angelegt werden sollte und nicht bei 40mmol/L wie bisher. 28,41,45

Eine Alternative zu gängigen Verfahren könnte das neue, in der vorliegenden Studie verwendete Nanoduct®-Analysesystem bieten. Es ist speziell auf das Testen von Neugeborenen ausgerichtet: Zum einen weist es verkleinerte Elektroden und eine auf 0,5mA reduzierte Stromstärke während der Iontophorese auf. Zum anderen ist der größte Vorteil im Vergleich zu anderen Analysesystemen eine geringere benötigte

Schweißmenge. Bereits mit 3µL können zuverlässige Ergebnisse geliefert werden. Barben et al. legen in einer 2005 veröffentlichten Studie nahe, dass Sensitivität und Spezifität dieses neuen Analysesystems im Vergleich zu quantitativen Schweißchloridmessungen zumindest bei Kindern und Erwachsenen ohne CF bei 100% liegen.³² Allerdings muss das Nanoduct®-System noch weiter hinsichtlich der Sensitivität und Spezifität untersucht werden, im Speziellen bezüglich an CF Erkrankten.²⁶

1.8 CF-Screening bei Neugeborenen

Moderne Screeningprogramme verfahren in allen Ländern zumeist nach einem vergleichbaren Protokoll: Im Alter von wenigen Tagen bis ca. zwei Wochen wird der Gehalt von immunreaktivem Trypsin (IRT) in getrockneten Blutproben gemessen. Patienten, deren Ergebnis in dieser ersten Untersuchung auffällig ist, werden weiteren Tests zugeführt. In einigen Programmen wird im Anschluss ein zweiter IRT-Test durchgeführt. 22,31,40,46,47 Den Referenzwert stellt hier zumeist die 99. Perzentile aller gesammelter IRT-Werte in mehreren beteiligten Zentren dar. 40,48

Der nächste Schritt umfasst entweder eine genetische Mutationsanalyse oder einen Schweißtest. 31,40,75 Einige Zentren schließen den Schweißtest direkt an ein auffälliges Ergebnis in der IRT-Bestimmung an und führen erst in letzter Instanz eine CFTR-Mutationsanalyse durch, die Reihenfolge variiert hier jedoch. Laut Leitlinien der ECFS beispielsweise sollte nach einem ersten IRT-Test entweder ein zweiter Test oder eine CFTR-Mutationsanalyse erfolgen und schließlich, bei weiterhin auffälligen Ergebnissen, ein Schweißtest. 31,46

Hinsichtlich der Mutationsanalyse wird in einigen Programmen nur für die Mutation delF508 gescreent, in anderen werden hingegen die häufigsten Mutationsformen erfasst. Während eine Homozygotie oder eine Compound-Heterozygotie beweisend für die Erkrankung sind, wird im Falle eines heterozygoten Ergebnisses der Mutationsanalyse häufig der Schweißtest hinzugezogen, um zwischen Carrier-Status und eigentlicher Erkrankung zu unterscheiden. Schweißtests sind also besonders im Zusammenhang mit Screeningprogrammen ein wichtiges diagnostisches Mittel zur Bestätigung der Diagnose.

2 Aufgabenstellung

Es existieren bisher nur wenige Studien zur Evaluierung des Schweißtests bei Neugeborenen. Dies begründet sich vor allem in den bereits dargestellten Schwierigkeiten, Kinder dieser Altersgruppe zu untersuchen. Es gibt keine sicheren Erkenntnisse darüber, welche Faktoren das Ergebnis des Schweißtests beeinflussen können.

Aus den bisher bekannten, limitierten Daten zur Bestimmung der Schweißelektrolytkonzentration im Neugeborenenalter (Geburt bis 28. Lebenstag) postulieren wir mit dieser Untersuchung - erfolgt unter Verwendung des neuen Schweißanalysesystems (Nanoduct®) - folgende Hypothesen:

- Das Geburtsgewicht ist der wesentliche Einflußparameter auf den Testerfolg und die Schweißrate.
- Das Lebensalter hat einen Einfluß auf die Leitfähigkeit des Schweißes. Der physiologische Bereich der Leitfähigkeit des Schweißes bei reifen Neugeborenen ist jedoch in der ersten Lebenswoche höher als bei älteren Kindern und Jugendlichen.
- Das Nanoduct®-Gerät ist für die Durchführung des Schweißtests im Neugeborenenalter verwendbar und sicher.

Es existieren aktuell keine Referenzwerte für die Leitfähigkeit des Schweißes von gesunden Kindern in der Altersgruppe zwischen 48 Stunden und sieben Tagen. Ohne diese können jedoch auch keine Schweißtests an Neugeborenen in der ersten Lebenswoche zuverlässig vorgenommen und deren Ergebnisse sicher eingeordnet werden. Auch ist bisher nicht sicher geklärt, ob Faktoren wie das Geburtsgewicht, das Gestationsalter, das Geschlecht und das Lebensalter des Probanden Einfluss haben auf die Durchführbarkeit eines Schweißtests, die Schweißrate und die Leitfähigkeit des Schweißes. Diese Unklarheiten galt es in der vorliegenden Arbeit, soweit möglich, zu klären. Auch für die Diskussion um einen möglichen Einsatz der Messung im Rahmen eines Neugeborenen-Screeningprogramms für CF sind Daten zur Zuverlässigkeit und den zu erwartenden Ergebnissen bei gesunden und an CF erkrankten Kindern erforderlich.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien

Zwischen März und September 2004 wurden 115 gesunde Neugeborene der Klinik für Neonatologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité Mitte, in die Studie eingeschlossen. Einschlusskriterien waren ein Gestationsalter von ≥37+0 SSW, ein Lebensalter zwischen 48 und 168 Stunden (vollendeter siebter Lebenstag) und eine hinsichtlich Cystischer Fibrose unauffällige Familienanamnese. Ausschlusskriterien waren ein fehlendes elterliches Einverständnis zur Studienteilnahme, perinatale Hinweise für eine Mekoniumpassagestörung sowie die Behandlung des Probanden mit systemischen Katecholaminen, Kortikosteroiden oder Parasympathikomimetika. Bei Entzug der Einwilligung zur Studienteilnahme durch die Eltern der Probanden sowie bei Auftreten von testbezogenen Nebenwirkungen wurde der Schweißtest abgebrochen.

Die Studie wurde von der zentralen Ethik-Kommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin positiv beurteilt (Registriernummer des Antrages 2004-305). Ein zuvor eingeholtes schriftliches Einverständnis beider Eltern oder Erziehungsberechtigter der Probanden lag vor.

3.2 Untersuchungsmethode

Bei allen Probanden, die die oben genannten Kriterien erfüllten, erfolgte im Alter von vollendeten 48 bis 168 Lebensstunden ein Schweißtest mit dem Nanoduct®-Analysesystem.

3.2.1 Verwendetes Schweißanalysesystem

Die Durchführung des Schweißtests erfolgte mittels der Bestimmung der Leitfähigkeit des Schweißes. Hierfür wurde das Nanoduct®-Analysesystem (Wescor, Logan, Utah) verwendet (Abbildungen 2, 3, 4), welches vom Hersteller zu diesem Zweck zur Verfügung gestellt wurde. Es handelt sich um ein neuartiges Messsystem, das auf der klassischen Methode der Schweißstimulation durch Pilocarpin-Iontophorese nach Gibson und Cooke basiert.⁶

Das Nanoduct®-Analysesystem besteht aus einem Messgerät, über dessen Display die verschiedenen Einstellungen kontrolliert werden können und an das die Elektroden bzw. der Sensorkopf angeschlossen sind (siehe Abbildung 2). Außerdem gehören eine rote und eine schwarze Haltevorrichtung zum System, innerhalb derer die Elektroden am Arm anzubringen sind, des Weiteren Einweg-Pilocarpingelscheibchen sowie Einweg-Messkammern zur Anbringung am Sensorkopf (siehe Abbildungen 3 und 4).

Nach der Reinigung des ausgewählten Hautareals werden zur Messung eine Anode (rot) und eine Kathode (schwarz) am Unterarm des Probanden angebracht (siehe Abbildung 4). Die initial vorzunehmende Iontophorese dauert zwischen zwei und drei Minuten und erfolgt mit einer maximalen Stromstärke von 0,5mA.³² Daran schließt sich eine anaerobe, kapilläre Schweißsammelphase an, zu deren Zweck die Anode durch eine Messkammer ersetzt wird und für die eine Menge von 3µL Schweiß ausreichend ist (siehe Abbildung 5). Nun folgt die unmittelbare Bestimmung der Leitfähigkeit mittels der integrierten Durchfluss-Leitfähigkeitsmesszelle. Die Kathode verbleibt während des gesamten Vorgangs in ihrer Position.³² Sowohl das Ergebnis der Leitfähigkeitsmessung als auch die initiale Schweißrate werden in der Regel innerhalb von 30 Minuten angezeigt. Der Test ist am Bett des Patienten durchführbar.



Abbildung 2. Nanoduct®-Schweißanalysesystem: Display des Geräts



Abbildung 3. Nanoduct®-Schweißanalysesystem: Gerät mit Elektroden (Anode rot, Kathode schwarz), Sensorkopf (ebenfalls rot, im Bild weiter oben liegend) und Kunststoffhaltevorrichtungen für die Elektroden



Abbildung 4. Nanoduct®-Schweißanalysesystem: Nahaufnahme der Elektroden (Anode rot, Kathode schwarz), des Sensorkopfes (ebenfalls rot, in der Abbildung weiter oben liegend) und zugehöriger Kunststoffhaltevorrichtungen

3.2.2 Schweißmessung

Die Durchführung des Schweißtests erfolgte nach Herstellerangaben sowie entsprechend internationaler Richtlinien, wie im Folgenden beschrieben. 31,31,42,43,44,70 Zur Vermeidung von Messfehlern durch eine interindividuelle Untersuchervariabilität wurden die Messungen ausschließlich von zwei Untersuchern durchgeführt (Luisa Garavy und Dr. med Andreas Jung).

Ablauf:

- Aufklärung und Einholen der schriftlichen Einwilligung der Erziehungsberechtigten
- Protokollführung seitens des Untersuchers während des gesamten Schweißtests mit Erfassung der Identität des Probanden, Dauer des gesamten Tests, Ergebnis des Tests (Schweißrate und Leitfähigkeit), eventuell aufgetretener Nebenwirkungen/ Reaktionen des Probanden

- 3. Kalibrierung des Geräts gemäß Gebrauchsanweisung des Herstellers über einzelne Schritte im Menü (siehe Abbildung 2)
- Inspektion und Reinigung zweier Hautareale auf der Beugeseite des rechten oder linken Unterarms des Probanden mit Alkohol und destilliertem Wasser, anschließend Trocknen der Stellen
- Befestigen der beiden Elektrodenhalter auf den gereinigten Hautarealen: Anbringen des roten Halters nahe der Armbeuge, des schwarzen nahe dem Handgelenk
- 6. Betropfen der Hautareale innerhalb des jeweiligen Elektrodenhalters mit einem Tropfen destillierten Wassers
- 7. Einsetzen von je einer Pilocarpingelscheibe pro Haltevorrichtung (Anode und Kathode) und Einstecken der Elektroden in den jeweils gleichfarbigen Halteapparat (siehe Abbildungen 4 und 5)
- 8. Einschalten des Geräts über "On"-Knopf (siehe Abbildung 2)
- 9. Starten der Iontophorese durch Drücken der ENTER-Taste (siehe Abbildung 2)
- 10. Nach Erscheinen des Hinweises IONTOPHORESE FERTIG auf dem Display (nach etwa 2,5 Minuten) Wechseln zum Menüpunkt SCHWEISSTEST durch Drücken der ENTER-Taste
- 11. Entfernen der roten Elektrode, Belassen der schwarzen Elektrode und des Elektrodenhalters
- 12. Reinigen der Hautfläche innerhalb der roten Haltevorrichtung mittels eines in destilliertem Wasser getränkten Wattestäbchens, anschließende Abtrocknung und sofortiges Einstecken des roten Sensorkopfes, in den zuvor eine Messkammer eingebracht wurde (siehe Abbildung 5)
- 13. Betätigung der ENTER-Taste, um den Messvorgang zu starten
- 14. Erscheinen folgender Anzeigen auf dem Display nach
 - 2 bis 5 Minuten: SCHWEISS AN ERSTER ELEKTRODE
 - 3 bis 8 Minuten: LEITFÄHIGKEIT, SCHWEIßRATE

- 10 bis 15 Minuten: MITTELWERT
- 15. Automatische Beendigung der Messung nach ca. 20-30 Minuten, Erscheinen der mittleren Leitfähigkeit und der Anfangsrate (Schweissrate) auf dem Display
- 16. Entfernen der Haltevorrichtungen mitsamt allen Bestandteilen, Reinigen der Elektrodenflächen mit einem wassergetränkten, fusselfreien Tuch und anschließendes Abtrocknen



Abbildung 5. Nanoduct®-Schweißanalysesystem: am Unterarm eines Neugeborenen angebrachte Elektroden, hier während des Messvorgangs - schwarze Halterung mit Kathode und rote Halterung mit Messkammer

3.2.3 Qualitätskontrolle des Schweißtests

Während bei einer konventionellen quantitativen Analyse die Konzentration des Chlorids im Schweiß ermittelt wird, erfolgt die Messung der Leitfähigkeit indirekt über die Bestimmung der totalen Anionenaktivität in der gesammelten Schweißprobe.

Bei einer initialen Schweißrate von weniger als 1g/m²/min oder einer Leitfähigkeit über dem derzeit gültigen Grenzwert von 60mmol/L NaCl-Äquivalenten, wurde der Test am

selben Tag am kontralateralen Unterarm wiederholt. Kam es hier zu einem erneut den Grenzwert übersteigenden Ergebnis, wurde in der sechsten Lebenswoche ein konventioneller Schweißtest mit flammenphotometrischer Bestimmung der Natriumkonzentration durchgeführt, um eine Cystische Fibrose auszuschließen.⁵⁰ Die heutige Goldstandard-Methode in Form einer Chloridbestimmung stand zum Zeitpunkt der Studie an der Charité Berlin noch nicht zur Verfügung.

Das Monitoring der Nebenwirkungen beinhaltete die Evaluation lokaler Rötungen, Verbrennungen und Urticaria an Stellen, an denen die Elektroden angebracht waren. Hierbei erfolgte eine Kategorisierung der Nebenwirkungen in 'leicht', 'mittelschwer' und 'schwer'. Zu 'leicht' gehörten Druckstellen und eine Hyperämie im Bereich der Elektrode bzw. im Elektrodendurchmesser. 'Mittelschwere' Nebenwirkungen beinhalteten eine Hyperämie mit einer Fläche größer als der Elektrodendurchmesser, lokale Urticariae sowie Verbrennungen ersten Grades. Unter 'schweren' Nebenwirkungen wurden generalisierte Urticariae, Verbrennungen zweiten Grades und anaphylaktische Reaktionen kategorisiert.

3.3 Auswertung der Ergebnisse und Biometrie

Unterschiede der Vergleichsgruppen bei Studienbeginn wurden mittels Chi² Trend-Test ermittelt. Der Einfluss der Faktoren Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter und Geschlecht auf den Testerfolg wurde ebenfalls mittels Chi² Trend-Test untersucht. Beim Einfluss des Geburtsgewichts, des Gestationsalters und des Lebensalters auf Schweißrate und Leitfähigkeit erfolgte die Auswertung mittels Jonckheere-Terpstra Trend-Test. Die Abhängigkeit der Schweißrate und der Leitfähigkeit vom Geschlecht des Probanden wurde anhand des Mann-Whitney-Tests überprüft. Eine multivariate Analyse kombinierten der Parameter erfolgte anhand logistischer und linearer Regressionsmodelle. Ein p-Wert von <0.05 wurde als statistisch signifikant angenommen. Zur Erstellung der Graphiken und der deskriptiven Statistiken sowie der statistischen Auswertung wurde das Programm SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois) verwendet. Des Weiteren erfolgte eine personelle Unterstützung bei der statistischen Analyse durch das Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité Universitätsmedizin Berlin, namentlich durch Frau Tanja Schink.

4 Ergebnisse

115 kaukasische Neugeborene wurden nach der vollendeten 48. und bis zur 168. Lebensstunde (dritter bis vollendeter siebter Lebenstag) getestet. 66 (57%) dieser Kinder waren männlich, 49 (43%) weiblich (p=0.113, Chi² Trend-Test). Das mittlere Geburtsgewicht lag bei 3409g (SD ±510, Median 3410), das mittlere Gestationsalter bei 39,5 Wochen (±1,2, Median 39,4).

4.1 Testerfolg

Der Schweißtest konnte bei 82 Probanden (71%) erfolgreich durchgeführt werden. In 33 Fällen (29%) wurde kein Ergebnis erzielt, da die Schweißproduktion auch bei wiederholter Messung ungenügend war (initiale Schweißrate <1g/m²/min). Der Testerfolg war abhängig vom Geburtsgewicht der Probanden (p=0,037; Chi² Trend-Test). Bei 50% der Probanden mit einem Geburtsgewicht von unter 3000g erzielte der Schweißtest kein Ergebnis. In der Gruppe der Probanden, die ein Geburtsgewicht zwischen 3000g und 3500g beziehungsweise zwischen 3500g und 4000g aufwiesen, wurden 78% beziehungsweise 75% mit ausreichender initialer Schweißrate erfolgreich getestet. In der Gewichtsgruppe über 4000g lag der Testerfolg bei 81% (Tabelle 2). Ein logistisches Regressionsmodell zeigte, dass Neugeborene mit jedem Kilogramm Körpergewicht eine 3,6-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit auf einen Testerfolg haben (RR=3,55; 95% KI 0,79-4,40; p=0,020).

Geburtsgewicht (g)						
<3000 3000-3500 3500-4000 >4000						
Test erfolgreich N (%)	Ja	13 (50)	32 (78)	24 (75)	13 (81)	
	Nein	13 (50)	9 (22)	8 (25)	3 (19)	
Gesamt N		26	41	32	16	

Tabelle 2. Testerfolg in Abhängigkeit von Geburtsgewicht (p=0.037; Chi² Trend-Test)

Gestationsalter (p=0,500), Lebensalter (p=0,965) und Geschlecht (p=0,102) der Probanden hatten keinen Einfluss auf den Testerfolg (Chi² Trend-Test bzw. Mann-Whitney-Test; Tabellen 3, 4 und 5).

Gestationsalter (SSW)						
		37	38	39	40	41
Test erfolgreich N (%)	Ja	6 (60)	20 (71)	26 (72)	17 (71)	13 (76)
	Nein	4 (40)	8 (29)	10 (28)	7 (29)	4 (24)
Gesamt N		10	28	36	24	17

Tabelle 3. Testerfolg in Abhängigkeit von Gestationsalter (p=0.500; Chi² Trend-Test)

Alter der Probanden (Tage)						
		3	4	5	6	7
Test erfolgreich N (%)	Ja	26 (72)	29 (69)	14 (78)	8 (67)	5 (71)
	Nein	10 (28)	13 (31)	4 (22)	4 (33)	2 (29)
Gesamt N		36	42	18	12	7

Tabelle 4. Testerfolg in Abhängigkeit von Lebensalter (p=0.965; Chi² Trend-Test)

	weiblich	männlich	p (Mann-Whitney)
Test erfolgreich n (%)	31 (63)	51 (77)	0,102
Schweißrate (g/m²/min) [Mittelwert±SD]	2,5±1,8	2,6±1,8	0,512
Leitfähigkeit (mmol/L) [Mittelwert±SD]	52,4±11,6	51,6±16,0	0,322

Tabelle 5. Abhängigkeit des Testerfolges, der Schweißrate und der Leitfähigkeit vom Geschlecht der Probanden

4.2 Schweißrate

Es bestand ein positiver Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und Schweißrate (p=0,004; Jonckheere-Terpstra Trend-Test, Abbildung 6). Die Schweißrate war unabhängig vom Gestationsalter, Lebensalter und Geschlecht der Probanden. Auch in einem linearen Regressionsmodell war das Geburtsgewicht der Probanden hinsichtlich der Schweißrate die einzige Variable mit einem signifikanten Einfluss (b=1,2, 95% KI 0,27-2,13, p=0,012).

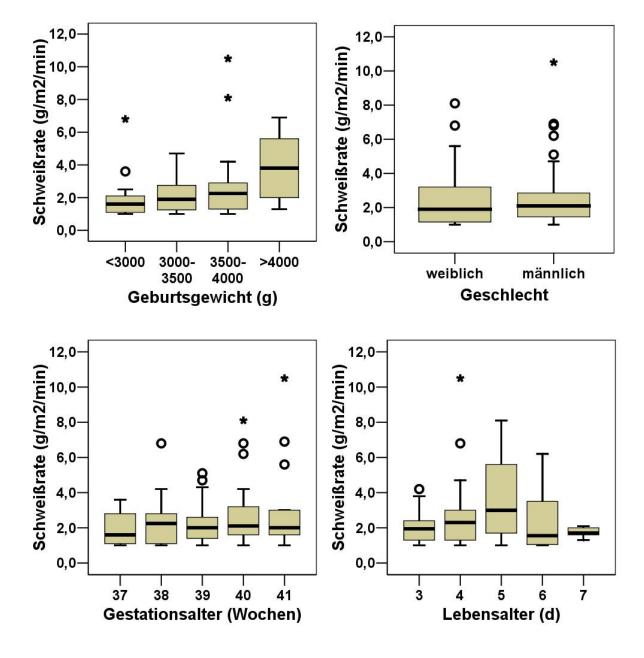


Abbildung 6. Zusammenhang zwischen Schweißrate und Geburtsgewicht (p=0,004), Gestationsalter (p=0,250), Lebensalter (p=0,458, alle Jonckheere-Terpstra-Trend-Test) und Geschlecht (p=0,512; Mann-Whitney-Test). O = Ausreißer, * = extreme Ausreißer

4.3 Leitfähigkeit

In den durchgeführten Tests wurde eine mittlere Leitfähigkeit von 51,9mmol/L NaCl-Äquivalente (SD ±14.5) ermittelt. Die Leitfähigkeit war unabhängig vom Geburtsgewicht, dem Gestationsalter, dem Lebensalter oder dem Geschlecht der Probanden (Abbildung 7).

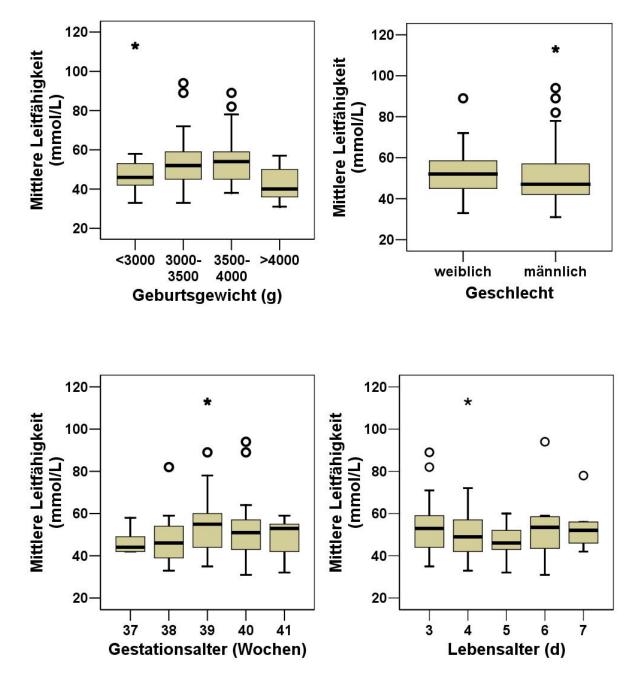


Abbildung 7. Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit (angegeben in mmol/L NaCl-Äquivalenten) und Geburtsgewicht (p=0,466), Gestationsalter (p=0,314), Lebensalter (p=0,370, alle Jonckheere-Terpstra-Trend-Test) und Geschlecht (p=0,322, Mann-Whitney-Test)

Bei 11 der 82 erfolgreich getesteten Säuglinge (13%) war die Leitfähigkeit größer als 60mmol/L, so dass der Test am selben Tag wiederholt wurde (Tabelle 6).

Leitfähigkeit		1. Test	2. Test	1. und 2. Test
≥60 mmol/L	N	11/82 (13%)	7/11 (64%)	7/82 (9%)
≥80 mmol/L	N	5/82 (6%)	1/5 (20%)	1/82 (1%)

Tabelle 6. Anzahl der Probanden mit erhöhter Leitfähigkeit des Schweißes; Leitfähigkeit angegeben in NaCl-Äquivalenten

Die mittlere Leitfähigkeit im zweiten Test betrug 64,0mmol/L (SD ±10,0), wobei die gemessenen Werte zwischen 46mmol/L und 82mmol/L lagen. Bei sieben der 82 erfolgreich getesteten Probanden (9%) überschritt die Leitfähigkeit den Cut-Off-Wert von 60mmol/L in zwei unabhängigen Messungen. Eine Erkrankung mit Cystischer Fibrose konnte in allen diesen sieben Fällen durch einen konventionellen, in der sechsten Lebenswoche durchgeführten Schweißtest bei klinischer Unauffälligkeit ausgeschlossen werden (mittlere Natriumkonzentration 13,0 mmol/L [SD ±5,5] (Tabelle 7).

Proband	Leitfähigkeit (mmol/L)	Leitfähigkeit (mmol/L)	Natriumkonzentration	
	1. Test	2. Test	(mmol/L)	
1	64	64	24.5	
2	67	65	15.0	
3	72	75	9.5	
4	82	64	10.8	
5	89	64	10.1	
6	89	70	12.4	
7	94	82	8.9	

Tabelle 7. Leitfähigkeit in den ersten Lebenswochen und Natriumkonzentration im Schweiß nach Ablauf der sechsten Lebenswoche bei Probanden mit zweimalig erhöhten Leitfähigkeitswerten >60 mmol/L NaCI-Äquivalenten

4.4 Nebenwirkungen

Es kam bei keinem der Probanden zu systemischen oder lokalen Nebenwirkungen leichten, mittelschweren oder schweren Grades. Mehr als die Hälfte der Probanden wies während des Tests eine leichte Unruhe auf (n=62, 54%); 11 (10%) weinten zu Beginn der iontophoretischen Stimulationsperiode. Die Bewertung dieser Unruhe/ des Weinens erfolgte subjektiv durch den Untersucher ohne Verwendung von Scores. Alle Kinder konnten durch Füttern beruhigt werden. Während der Schweißsammelphase wurden keine Anzeichen von Unruhe bei den Probanden beobachtet.

5 Diskussion

5.1 Testerfolg und Schweißrate

Trotz der aktuellen methodologischen Fortschritte bleibt die Ausführung und Interpretation des Schweißtests zum Ausschluss einer Cystischen Fibrose im Neugeborenenalter schwierig. Für die Bewertung einer direkten Schweißchloridbestimmung gelten derzeit die für ältere Kinder, Jugendliche und Erwachsene gängigen Referenzwerte: >60mmol/L pathologisch, 40 bzw. 30-60mmol/L grenzwertig, <30 bzw. 40mmol/L unauffällig. Bezüglich des unteren Cut-Off-Werts, häufig noch mit 40mmol/L angegeben, wird bereits in einigen Studien und auch in den Leitlinien der ECFS gefordert, diesen zumindest für Neugeborene und Säuglinge auf 30mmol/L zu korrigieren. 27,28,31,42 Auch ganz grundsätzlich werden die derzeit noch für Probanden aller Altersgruppen einheitlichen Referenzwerte bei der Schweißchloridmessung in Frage gestellt, wie zum Beispiel zuletzt in einer Untersuchung von Mishra et al. aus dem Jahr 2008.⁵¹ Es existieren bisher insbesondere keine Referenzwertangaben speziell für das Neugeborenenalter, da Studien an dieser Population aufwändig und technisch schwierig sind. 26,32 Gerade die geforderte Mindestmenge von 75mg oder 15µL Schweiß wird häufig nicht erreicht und ist daher problematisch.^{27,32,40} Des Weiteren ist die Messung des Schweißchlorids zeitaufwändig, und das Ergebnis liegt nicht unmittelbar im Anschluß an den Test vor. Die Einführung in der vorliegenden Studie des neuen. verwendeten Schweißanalysesystems Nanoduct® stellt in dieser Hinsicht eine positive Entwicklung dar. Hier konnte die für einen Test erforderliche Mindestschweißmenge auf 3µL reduziert werden, da nicht die Chloridkonzentration selber, sondern die Leitfähigkeit in NaCl-Äquivalenten bestimmt wird, und die Resultate sind in der Regel innerhalb von 30 Minuten abrufbar.³² Besonders diese geringere erforderliche Schweißmenge erleichtert die Durchführung des Tests bei jüngeren Kindern und Neugeborenen.^{28, 52}

Erst wenige Studien haben sich bisher mit Schweißanalysen speziell während der ersten Lebenswochen beschäftigt. Zwei kleinere Untersuchungen aus den Siebziger Jahren behandelten das Thema der Schweißelektrolytkonzentration bei Neugeborenen, können jedoch einer kritischen Betrachtung zum heutigen Zeitpunkt nicht standhalten. Im Übrigen berücksichtigte keine dieser beiden Studien mögliche prä-analytische Fehler, wie die Kontamination mit Blut oder Vernix caseosa. Durante et al. kamen unter

Verwendung der Pilocarpin-induzierten Iontophorese zu der Feststellung, dass eine kleine Anzahl von Neugeborenen am ersten und vierten Lebenstag erhöhte Natrium- und Chloridkonzentrationen im Schweiß aufwies. Diese Werte hatten sich jedoch im Alter von einem Monat wieder normalisiert. ⁵³ 1973 beschrieben Hardy et al. erhöhte Natrium- und Chloridkonzentrationen im Schweiß von Neugeborenen innerhalb der ersten 24 Lebensstunden von 50±8mmol/L (Mittelwert ±SD) nach intradermaler Injektion von Bethanechol, einem Parasympathikomimetikum mit Wirkung auf Muskarinezeptoren. Diese Konzentrationen nahmen ebenfalls zwischen dem dritten und siebten Tag auf 34±7mmol/L (Mittelwert ±SD) ab. ⁵⁴ Bei lediglich einem der 35 am ersten Lebenstag getesteten Probanden war die Schweißmenge nicht ausreichend.

2005 erschien eine Studie von Eng et al., die die Ergebnisse von Schweißtests an frühund reif geborenen Säuglingen innerhalb der ersten sechs Lebenswochen untersuchte.²⁷ In dieser retrospektiven Analyse von 119 Schweißtests stellten die Autoren eine umgekehrte Proportionalität zwischen Chloridkonzentration im Schweiß und Alter zum Testzeitpunkt fest, wobei diese Konzentrationen innerhalb der ersten Lebenswochen höher waren als die älterer Kinder.

Im Jahr 2011 untersuchten Kleyn et al. verschiedene Faktoren, die möglicherweise einen Einfluss auf den Testerfolg bzw. die Schweißmenge bei der Durchführung eines Schweißchloridtests im Neugeborenen- und Säuglingsalter haben. ⁵⁵ Hierbei zeigte sich, dass eine ausreichende Schweißmenge maßgeblich durch das Geburtsgewicht und das Gestationsalter beeinflusst wird, und die Autoren suggerieren, dass bei Frühgeborenen das korrigierte Gestationsalter bei der Bestimmung des Zeitpunkts zur Durchführung eines Schweißtests zugrunde gelegt werden sollte. Allerdings waren die Probanden zum Testzeitpunkt im Durchschnitt bereits 26.4 Tage alt.

Auch in der vorliegenden Studie hing der Erfolg des Tests signifikant vom Körpergewicht der Probanden ab. Bei 50% der Kinder, die ein Geburtsgewicht von weniger als 3000g aufwiesen, war die Schweißproduktion ungenügend. Bei Neugeborenen mit einem Gewicht ≥ 3000g war der Anteil der erfolgreichen Tests gewichtsabhängig mit 75% bis 81% aus klinischer Sicht zufriedenstellend. Dennoch wird hier nicht die von der Cystic Fibrosis Foundation gestellte Forderung erfüllt, dass Kinder über drei Monate ≥ 95% gültige Tests aufweisen.⁴¹ Ebenso wenig können wir die in den UK-Leitlinien verlangten 90% Testerfolge (alle Altersgruppen) vorweisen.⁴³ Diese Ergebnisse sind vergleichbar

mit denen von Eng et al.. In deren Untersuchungen in der Gewichtsgruppe von 2000 bis 3000g Geburtsgewicht zeigte sich allerdings in nur etwa 31% der Messungen eine nicht ausreichende Schweißproduktion.²⁷ Die Gründe für diese Diskrepanz zur vorliegenden Studie sind unklar. Beeinflussend könnte sich jedoch das Untersuchen von Kindern afro-amerikanischer Herkunft von Eng et al. ausgewirkt haben, die in unserer vorliegenden Studie nicht eingeschlossen waren.

Zusammenfassend lässt sich in jedem Fall eine direkte Abhängigkeit des Testerfolgs vom Körpergewicht des Probanden feststellen, wie auch initial in unseren Arbeitshypothesen angenommen. Die CFF weist in ihren Leitlinien explizit darauf hin, dass eine häufige Ursache des Testversagens eine zu geringe Schweißmenge bei Säuglingen während der ersten drei Lebensmonate ist. Sie fordert hier weitere Untersuchungen, um für diese Altergruppe eindeutige Aussagen treffen zu können.⁴¹

Barben et al. berichten von einer deutlich niedrigeren Ausfallquote beim Testen älterer Probanden mit dem Nanoduct®-System als in der vorliegenden Studie. In ihrer Untersuchung wurde an 108 von 111 Patienten im Alter zwischen drei Wochen und 60 Jahren, also bei etwa 97%, eine Leitfähigkeitsmessung erfolgreich durchgeführt. Allerdings gab es hier keine altersabhängige Stratifizierung; die Probanden wurden altersunabhängig lediglich in die zwei Gruppen eingeteilt, "erkrankt an CF" und "gesund". In einer anderen Untersuchung wurde bei 725 Kindern unterschiedlichen, nicht näher definierten Alters ein Schweißtest unter Nutzung des Macroduct®-Systems durchgeführt, der in 99,3% aller Fälle eine erfolgreiche Messung erzielte. Es zeigte sich hierbei kein Unterschied hinsichtlich der Erfolgsrate bei Probanden, die jünger oder älter als sechs Wochen waren. Allerdings wurde in dieser Untersuchung auch das Gewicht der Probanden nicht dokumentiert.

Die vorliegende Studie konstatiert des Weiteren eine signifikante Abhängigkeit zwischen Geburtsgewicht und Schweißrate (p=0,004), auch dies in Übereinstimmung mit der zuvor formulierten Arbeitshypothese. Gestationsalter, Lebensalter oder Geschlecht hatten hingegen keinen Einfluss auf die Schweißrate. Jedoch waren keine Frühgeborenen in die Studie eingeschlossen.

Eng et al bestätigen in ihrer Untersuchung aus dem Jahr 2005 die Feststellung, dass vor allem Kinder mit einem Geburtsgewicht ≤ 2000g, Frühgeborene und Kinder

afroamerikanischer Abstammung deutlich häufiger unzureichende Schweißmengen produzieren. Es gab hier keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Lebensalter der Probanden und der Schweißrate.²⁷ Taccetti et al zeigten 2004 in ihrer Untersuchung an 40 bis 60 Tage alten Säuglingen ebenfalls, dass zwischen Lebensalter und Schweißrate kein signifikanter Zusammenhang besteht.⁵⁶ Kleyn et al bestätigen dies und sehen im (bei Frühgeborenen ggf. korrigierten) Gestationsalter den wichtigsten prädiktiven Faktor für eine ausreichende Schweißmenge. 55 Zwar fanden auch sie, wie bereits erwähnt, eine Korrelation zwischen Geburtsgewicht und Schweißmenge, aber da die Schweißtests im Mittel erst 26,4 Tage nach der Geburt erfolgten, ist hier kein direkter Vergleich mit unserer Untersuchung möglich, in welcher innerhalb der ersten Lebenswoche Schweißtests durchgeführt wurden. Die Autoren um Kleyn spekulieren, dass bei gesunden, reif geborenen Neugeborenen eine unzureichende Schweißmenge entweder durch eine relative postnatale Dehydratation oder durch eine neurologische Unreife begründet ist. Um diese Fehlerquellen zu minimieren, schließen sich die Autoren der Empfehlung der CFF an, Schweißtests bei reif geborenen Kindern frühestens nach zwei Lebenswochen durchzuführen. 41 Hinsichtlich des Einflusses des Geschlechts der Probanden auf die Schweißrate finden sich in der Literatur keine Angaben.

Der Grund für die Beeinflussung der Schweißrate speziell durch das Geburtsgewicht ist unklar. Es besteht möglicherweise eine Korrelation zwischen Maturation der Schweißdrüsen und Körpergewicht, allerdings liegen hierzu noch keine beweiskräftigen Untersuchungen vor. Frühere Studien haben bei Kindern eine verringerte ekkrine Funktion und eine höhere Schwelle bis zum Einsetzen des Schwitzens als Reaktion auf Hitze oder Acetylcholin im Vergleich zu Erwachsenen gezeigt. Aber auch hier wurde das Gewicht nicht berücksichtigt. 57,58,59 Andere Autoren stellten eine umgekehrte Proportionalität zwischen Alter und Hautfeuchtigkeit bei reifen Neugeborenen fest, resultierend aus der zunehmenden Funktionalität ekkriner Schweißdrüsen. 60,61

Bei heutigen Schweißtests, die zum Ausschluss einer Cystischen Fibrose durchgeführt werden, wird der Schweiß standardisiert an den Unterarmen gesammelt. Andere Körperstellen, wie etwa Stirn, Handflächen oder Brustbereich könnten unter Umständen zur Gewinnung größerer Schweißmengen und somit zur Steigerung der Anzahl erfolgreicher Tests beitragen.⁶² Allerdings sollte die Oberfläche der Teststelle eben sein,

um das Evaporieren des Schweißes zu vermeiden. Außerdem muss bei Verwendung des Nanoduct®-Geräts sichergestellt werden, dass die Sammelkapillare nicht verrutschen kann, was insbesondere bei nicht kooperativen Probanden wie Säuglingen und kleinen Kindern ein weiteres Problem darstellt. Ob die Applikation von iontophoretischem Gleichstrom an anderen Körperpartien als den Unterarmen, beispielsweise im Thoraxbereich, insbesondere bei Neugeborenen zu einer Beeinträchtigung z.B. der Herzaktivität und -rhythmik führen kann, ist derzeit ebenfalls nicht untersucht. Ebensowenig gibt es Erkenntnisse über die Beeinflussung beispielsweise der Atemtätigkeit. Die CFF empfiehlt in ihren aktuellen Leitlinien zum Schweißsammeln Arme oder Beine; es wird hier explizit darauf hingewiesen, dass der Stromkreis nicht über das Herz angelegt werden sollte.⁴²

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass für die Durchführung von Schweißtests bei sehr jungen Probanden Leitfähigkeitsanalysegeräte, wie etwa das in dieser Untersuchung eingesetzte Nanoduct®-System, verwendbar sind. Die Messung der Leitfähigkeit des Schweißes ist bei Neugeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 3000g aufgrund der erhöhten Wahrscheinlichkeit einer unzureichenden Schweißmenge allerdings nicht empfehlenswert; dies entspricht auch der Empfehlung der UK-Leitlinien. Die CFF hingegen verzichtet derzeit noch auf die Angabe eines Mindestgewichts. Weitere Studien hinsichtlich der Anwendbarkeit bei Früh- sowie Neugeborenen unterschiedlicher ethnischer Herkunft erscheinen darüber hinaus sinnvoll.

5.2 Leitfähigkeit

Im Verlauf der letzten Jahrzehnte sind verschiedene Methoden zur Schweißanalyse, wie etwa Natrium- und Chloridbestimmung, Osmolalitäts- und Leitfähigkeitsmessung entwickelt worden. Während die Chloridgehaltbestimmung weiterhin den Goldstandard in der CF-Diagnostik darstellt, gewinnt die Bestimmung der Leitfähigkeit zunehmend an Bedeutung. Allerdings wird sie weder in den aktuellen Leitlinien der CFF noch in deren kurz darauf veröffentlichen Consensus Report zur Erstdiagnostik, sondern lediglich als Screeningmethode empfohlen. 42,44 In den Leitlinien der UK wird hinsichtlich der Leitfähigkeit empfohlen, zunächst weitere Studien vorzunehmen, im individuellen Fall

mindestens aber vergleichend die Messung der Schweißchloridkonzentration durchzuführen bis endgültige und einheitliche Empfehlungen vorliegen.⁴³

Die Leitfähigkeit wird mittels einer nichtspezifischen Messung der totalen Anionenaktivität im Schweiß durchgeführt, so dass die Referenzwerte die der reinen Natrium- oder Chloridbestimmung übersteigen.²⁵ Wie bereits erläutert, geben aktuelle Richtlinien und der Hersteller des Nanoduct®-Geräts Werte von unter 60mmol/L. gemessen in Natriumäquivalenten, als normal an; solche zwischen 60 und 80mmol/L werden als unklar eingeordnet und sollten kontrolliert werden. Leitfähigkeitswerte von über 80mmol/L gelten als pathologisch. 43,63,64 Die CFF allerdings empfiehlt in ihren erst nach Durchführung der vorliegenden Studie erschienenen Leitlinien einen Grenzwert von 50mmol/L als Indikation für eine weiterführende Chloridmessung. Die mittlere Schweißrate sollte nicht weniger als 1g/m²/min betragen, da die Elektrolytkonzentration im Schweiß in Beziehung zur Schweißrate steht und abnimmt, wenn diese Rate zu niedrig ist.42,43

Vorangegangene Untersuchungen an gesunden Probanden geben mittlere oder mediane Leitfähigkeitswerte für verschiedene Altersgruppen im Bereich von 33,5 bis 39,8mmol/L NaCl-Äquivalente an (Tabelle 8). 32,52,64,65,66,67 Die mittlere Leitfähigkeit in der vorliegenden Studie hingegen lag bei 51,9mmol/L (±14,5) bei Messung innerhalb der ersten Lebenswoche.

Zwei größere Untersuchungen beschäftigten sich in den letzten Jahren mit den Referenzwerten für die Schweißleitfähigkeit. Heeley et al. beschrieben im Jahr 2000 die mittlere Leitfähigkeit bei an CF erkrankten Probanden mit 110mmol/L (Spannweite 67-141) und bei Gesunden mit 37mmol/L (18-71).⁶⁷ Die größte Untersuchung in diesem Zusammenhang stammt von Lezana et al., die über einen Zeitraum von zehn Jahren Leitfähigkeitsmessungen bei insgesamt 3834 Probanden durchführten.⁵² Der ermittelte Median für Probanden mit CF lag bei 111mmol/L (82-148) und für gesunde Probanden bei 36mmol/L (12-98). Diese Studie kalkulierte Leitfähigkeitswerte von ≥90mmol/L als Referenzwert für die Diagnose von CF, mit einer Sensitivität von 99,7% und einer Spezifität von 100%. Allerdings untersuchten beide genannten Studien Probanden aller Altersgruppen und konnten deshalb nicht die speziellen Probleme des Schweißtests bei Neugeborenen berücksichtigen. Wie in Tabelle 8 ersichtlich, lag der Mittelwert für die

Leitfähigkeit bei Gesunden auch in den Untersuchungen von Barben et al., Mastella et al., Hammond et al. und v.d. Merve et al. zwischen 33.4 und 39.8mmol/L. 32,52,65,66,67

In ihrer 2010 erschienenen Arbeit beschäftigen sich auch Sands et al. mit der Beurteilung der Leitfähigkeitsmessung, in diesem Fall speziell bei vier bis acht Wochen alten Säuglingen mit und ohne CF.68 Aus ihrer Studie ergibt sich eine Empfehlung, den unteren Cut-Off-Wert bei 50mmol/L anzulegen, Ergebnisse zwischen 50 und 60mmol/L in dieser Probandengruppe als grenzwertig und oberhalb von 60mmol/L als hochverdächtig für eine CF zu betrachten. Diese Empfehlung ist insbesondere hinsichtlich der Ergebnisse der zahlreichen anderen, hier dargestellten Untersuchungen fragwürdig. Insbesondere der Cut-Off-Wert bei 50mmol/L könnte zu einer hohen Zahl an falsch-positiven Ergebnissen führen, die die Autoren denn in ihrer Untersuchung auch feststellen mussten. Allerdings fanden sie keine falsch-positiven Ergebnisse für einen oberen Grenzwert von 60mmol/L, was in Anbetracht der sonstigen weltweiten Ergebnisse für Säuglinge verwundert. Sands et al. kommen schließlich zu der Konklusion, dass die Messung der Leitfähigkeit eine zuverlässige diagnostische Möglichkeit im Rahmen der CF-Diagnostik darstellt, auch bei jüngeren Probanden. Allerdings wurden auch hier keine Neugeborenen untersucht. Sands et al. weisen außerdem auf die gute Korrelation zwischen Leitfähigkeit und der klassischen "Pilocarpin-Methode" hin, wobei sie in diesem Zusammenhang die Vorteile der Leitfähigkeitsmessung speziell mit dem Nanoduct®-Gerät hervorheben: die geringere benötigte Schweißmenge, die kürzere Dauer bis zum Vorliegen des Resultats sowie die durch weniger Arbeitsschritte deutlich geringere Fehleranfälligkeit.

Im Vergleich zu den bisher publizierten Werten zeigt die vorliegende Studie, dass die mittlere Leitfähigkeit des Schweißes von gesunden, reifen Neugeborenen zwischen der 49. und der 168. Lebensstunde (dritter bis vollendeter siebter Lebenstag) jene älterer Kinder und Erwachsener deutlich übersteigt. Dies bestätigt unsere zweite Hypothese. Unter Berücksichtigung des Cut-Off-Werts von 60mmol/L war bei 13% der Neugeborenen eine zweite Untersuchung notwendig. Auch bei dieser wiesen noch 9% der Probanden einen erhöhten Wert auf, so dass eine weiterführende Diagnostik zum Ausschluss einer CF erforderlich wurde. Der daraufhin in der sechsten Lebenswoche durchgeführte konventionelle Schweißtest fiel bei allen Säuglingen negativ aus, und es

wurden zu keinem Zeitpunkt klinische Symptome einer möglichen CF-Erkrankung beobachtet.

		Vorliegende Studie (1. Test)	Barben et al. 2005	Mastella et al. 2000	Hammond et al. 1994	Lezana et al. 2003	v. d. Merwe et al. 2002	Sands et al. 2010	Heeley et al. 2000
Alter		Erste Lebenswoche	3 Wochen bis 60 Jahre	3 Tage bis 78 Jahre	12 Tage bis 46 Jahre	1 Monat bis 54 Jahre	2. bis 42. Monat	4 bis 8 Wochen	1/2 Monat bis 14 Jahre
Probanden	n	82	73	184	471	3540	20	481	154
Leitfähigkeit (mmol/L)	Mittel	51.9	36	39.8	33.4	k.A.*	38.9	Gesund: 29.8 CF: 99.8	37
	SD	14.5	9	14.4	11.2	k.A.*	k.A.*	Gesund: 7.7 CF: 18.8	10
	Median	50.5	k.A.*	k.A.*	k.A.*	36	k.A.*	Gesund: 28.0 CF: 105.5	k.A.*
	Spannweite	31 - 113	17 - 59	19 - 87	13 - 87	12 - 89	17 – 67	Gesund: 11- 60 CF: 57-126	18 – 71

 Tabelle 8. Leitfähigkeitswerte im Schweiß (in NaCl-Äquivalenten) in verschiedenen Studien im Überblick; * k.A.: keine Angabe

Legt man einen oberen Grenzwert von 80mmol/L zugrunde, hatten 6% der Kinder einen erhöhten Wert im ersten Schweißtest. Bei lediglich einem einzigen Kind war der Test daraufhin in zwei Messungen erhöht; die anschließende klinische Observation sowie ein Schweißtest in der sechsten Lebenswoche blieben jedoch unauffällig.

Leitfähigkeit war in unserer Studie unabhängig von Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter oder Geschlecht der Probanden. Dies ist insbesondere unter Berücksichtigung der Korrelation zwischen Schweißrate und Geburtsgewicht interessant. Eine der aktuellsten Untersuchungen zur Leitfähigkeit von Barben et al. berücksichtigt die Faktoren Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter oder Geschlecht nicht.³² Auch andere, im Zusammenhang mit der Messung der Leitfähigkeit relevante Studien beschäftigen sich nicht mit dieser Thematik. 48,65,66,67,67 Lediglich Lezana et al. formulieren in ihrer 2003 veröffentlichen Arbeit einen signifikanten Zusammenhang zwischen Leitfähigkeit und Geschlecht: Die Leitfähigkeit sei demnach niedriger bei männlichen als bei weiblichen Probanden, unabhängig davon, ob es sich um gesunde oder CF-Patienten handele.⁵² In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen weiblichen und männlichen Neugeborenen in Bezug auf die Leitfähigkeit gefunden werden.

Wie unsere Untersuchung zeigt, überstiegen die gemessenen Werte der Schweiß-Leitfähigkeit von Neugeborenen in der ersten Lebenswoche jene älterer Kinder deutlich. Dies hatten wir zuvor bereits in unserer Hypothese angenommen. Unter Anzahl Berücksichtigung der derzeit gültigen Referenzwerte ist die der kontrollbedürftigen Tests daher hoch. Die Leitfähigkeit des Schweißes bei reifen Neugeborenen in der ersten Lebenswoche erscheint physiologischerweise erhöht, was bei der Durchführung des Schweißtests in dieser Altersgruppe in Betracht gezogen werden muss. Dies wirft speziell für Neugeborene die Frage nach einer Revision der derzeit gültigen Referenzwerte auf. Da allerdings noch keine systematischen Daten zur Leitfähigkeit des Schweißes von Neugeborenen mit Cystischer Fibrose existieren, ist eine Festlegung angepasster Referenzwerte derzeit nicht möglich. Es werden weitere Untersuchungen an Säuglingen bzw. speziell Neugeborenen mit CF benötigt, um altersabhängige Referenzwerte zu etablieren und so zwischen gesunden und erkrankten Individuen unterscheiden zu können. Dies ist jedoch nur in Gebieten mit etabliertem CF-Neugeborenenscreening denkbar, da aufgrund der Inzidenz von einem Erkrankten auf ca. 2500 bis 3000 Lebendgeborene mehrere zehntausend Neugeborene

unmittelbar postnatal untersucht werden müssten. Neugeborene mit grenzwertigen oder pathologischen Resultaten im Rahmen der derzeit gültigen Referenzwerte sollten daher in jedem Fall an ein Referenzzentrum für Cystische Fibrose zur Bestimmung der direkten Chloridkonzentration im Schweiß und gegebenenfalls zur weiterführenden Diagnostik verwiesen werden.

5.3 Verträglichkeit

Bei den 115 im Rahmen der vorliegenden Studie mit dem Nanoduct®-Leitfähigkeitsanalysegerät getesteten Probanden kam es zu keinen signifikanten Nebenwirkungen. Es wurden lediglich während der Iontophorese leichte Anzeichen von Unruhe (n=62, 54%) und bei 11 Probanden kurzfristiges Weinen beobachtet. In jedem dieser Fälle war eine Fütterung ausreichend, um das Neugeborene zu beruhigen. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Iontophorese im weit verbreiteten Macroduct®-Gerät mit einer Stromstärke von 1,5mA durchgeführt wird, während die des in der vorliegenden Studie verwendeten Gerätes in Anpassung an die jüngere Probandengruppe lediglich 0,5mA beträgt, lassen die vorliegenden Beobachtungen darauf schließen, dass eventuell auch bei Neugeborenen eine etwas höhere Stromstärke verwendet werden könnte, um die Anzahl der aufgrund einer zu geringen Schweißrate ungültigen Tests zu reduzieren. Diese Überlegung sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Grundsätzlich lässt sich sagen, dass das neue microflow Gerät bei sachgerechter Anwendung sehr gut vertragen wird. Auch hier bestätigte sich also unsere zuvor formulierte Hypothese.

5.4 Messung der Leitfähigkeit als diagnostische Methode

Hinsichtlich der Validität von Leitfähigkeitsmessungen zur Bestätigung oder zum Ausschluss einer Mukoviszidose oder im Rahmen von Screeningprogrammen gibt es derzeit unterschiedliche Angaben. In den Leitlinien der CFF zum diagnostischen Schweißtest wird die Messung der Leitfähigkeit derzeit nicht bzw. lediglich als Screeningmethode empfohlen; in den ECFS- und UK-Leitlinien werden weitergehende Studien, zumindest aber parallel die Chloridmessung empfohlen. 31,42,43 Mehrere Autoren haben iedoch in letzter Zeit eine eindrückliche Korrelation Chloridkonzentration und Schweißleitfähigkeit beschrieben und die Zuverlässigkeit der Leitfähigkeitsmessung auch als diagnostisches Mittel nahegelegt. 32,34,52,65,66,67,678 So

wurde bei Barben et al. im Jahr 2005 bei 111 Patienten verschiedener Altersgruppen sowohl eine Bestimmung der Chloridkonzentration als auch eine Messung der Leitfähigkeit des Schweißes durchgeführt. Es traten dabei weder falsch-positive noch falsch-negative Ergebnisse auf, was die Autoren zu der Empfehlung veranlasste, Leitfähigkeitsmessungen und speziell das neue Analysegerät Nanoduct® zur Diagnostik der CF einzusetzen.³² Zuvor beschrieben bereits Mastella et al. eine hohe Sensitivität und Spezifität für Leitfähigkeitsmessungen an insgesamt 318 Probanden im Vergleich zur direkten Bestimmung der Chloridkonzentration. In dieser Untersuchung zeigte keiner der durch eine Chloridgehaltbestimmung mit CF diagnostizierten Patienten ein negatives Ergebnis in der Leitfähigkeitsuntersuchung. 66 Auch Hammond et al. konstatierten die hohe Zuverlässigkeit der neuen Methode, indem sie Untersuchungen mit dem heute weit verbreiteten Macroduct®-Analysesystem, einem Vorgängermodell des Nanoduct®-Geräts, durchführten. Die Messung der Leitfähigkeit, so die Schlussfolgerung der Autoren, ist ebenso effektiv in der Unterscheidung zwischen an CF erkrankten und gesunden Individuen wie eine Schweißchloridbestimmung.⁶⁴ Heeley et al verglichen im Jahr 2000 die Messung des Natrium- und des Chloridgehaltes, der Osmolalität und der Leitfähigkeit in der Diagnostik der CF und auch sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Messung der Leitfähigkeit ebenso zuverlässig ist wie die "traditionelle" Natrium- oder Chloridbestimmung.⁶⁷ Eine weitere Studie aus dem Jahr 2003 bestätigt diese Einschätzung.⁵² Im Jahr 2007 veröffentlichte die Arbeitsgruppe um Desax ihre neuen, die vorangegangenen Ergebnisse vervollständigenden Resultate.34 Es wurde eine große Gruppe von Probanden, darunter auch eine verhältnismäßig große Anzahl von Neu- und sogar Frühgeborenen, mittels Nanoduct® untersucht. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass die Leitfähigkeitsmessung nicht nur eine exzellente Sensitivität und Spezifität (100% und 95,7% respektive) bei einem unteren Cut-Off-Wert von 59mmol/L aufweist, sondern darüber hinaus sicher, schnell, einfach und zuverlässig durchführbar ist. Die Autoren gehen darüber hinaus auf die zu diesem Zeitpunkt einzige Studie ein, in der die Leitfähigkeitsbestimmung mit dem bestehenden Verfahren der Chloridbestimmung verglichen wurde. 33 In dieser Studie kamen mehrere falsch-negative Ergebnisse der Leitfähigkeitsmessung bei CF-Patienten zustande, allerdings weisen die Autoren um Barben in ihrer Veröffentlichung darauf hin, dass dies vermutlich defekten Sensoren geschuldet war. Sie kommen zu dem Schluss, dass die Messung der Leitfähigkeit unter Verwendung des Nanoduct®-Geräts zuverlässig zur Diagnosestellung und auch im Rahmen eines Screenings verwendet werden könnte.

Die bestehenden Cut-Off-Werte von 60mmol/L, 60-80mmol/L und 80mmol/L werden hier allerdings als sinnvoll beschrieben. ^{34,34} Auch Sands et al. formulieren in ihrer 2010 veröffentlichen, großen Studie die Empfehlung, die Messung der Leitfähigkeit und im Speziellen das Nanoduct®-Gerät zur Diagnostik von CF heranzuziehen. ⁶⁸ Wie auch Lezana et al., Barben et al. und Jayaraj et al. weisen die Autoren auf die gute nachgewiesene Korrelation mit der Chloridmessung hin. ^{32,45,52}

Falsch-positive Ergebnisse kommen beim Schweißtest vor und können verschiedene Gründe haben: Erkrankungen, die mit erhöhten Schweißelektrolytkonzentrationen einhergehen, wie etwa Anorexia nervosa, Klinefelter Syndrom oder Nephrose, atopische Dermatitis oder aber das Evaporieren von Probenmaterial während des Tests sowie methodologische und technische Fehler. ^{25,28} Bis zu 15% der Ergebnisse werden hierbei als falsch-positiv angegeben. Der Anteil der falsch-negativen Resultate hingegen liegt bei ca. 5% und kann durch Ödeme des Patienten, eine zu geringe gesammelte Schweißmenge oder ebenfalls durch methodologische und technische Fehler entstehen. 13 In ihrer Untersuchung aus dem Jahr 2000 beschreibt LeGrys die Praxis der Durchführung von Schweißtests in über 900 Institutionen in den USA.⁶⁹ Unter den hier festgestellten Fehlerquellen ist die größte die Beurteilung der erfolgten Tests durch den Untersucher: Wiederholt gaben verschiedene Studienteilnehmer fälschlicherweise ihre gemessenen Leitfähigkeitswerte in der Kategorie "Chloridmessung" an. Außerdem variierten die genutzten Schweißmessungssysteme sowie die Details der Untersuchung stark, so war beispielsweise die Dauer der Schweißsammelphase unterschiedlich lang, nicht alle Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung mindestens 48 Stunden alt, und auch die unterschiedlichen Referenzwerte für Chlorid- und Leitfähigkeitsmessung stellten eine Verwechslungs- und damit Fehlerquelle dar.⁶⁹

Trotz der Ergebnisse der genannten vorangehenden sowie der hier vorliegenden Studie, die überwiegend für die Zuverlässigkeit und auch die gute Handhabung der Bestimmung der Leitfähigkeit sprechen, erkennt auch das National Committee for Clinical Laboratory Standards diese bisher nicht für die Diagnostik der CF an.⁷⁰ Interessanterweise scheint aber zumindest in Deutschland die Realität von den Empfehlungen abzuweichen: Eine 2007 erschienene retrospektive Arbeit zeigte, dass in einer beträchtlichen Zahl der am Projekt "Qualitätssicherung Mukoviszidose" teilnehmenden Ambulanzen nicht leitliniengerecht gearbeitet wird.⁷¹ Jede dritte der hier

befragten Ambulanzen verwendet zwei oder mehr Analyseverfahren. In immerhin 53% der Messungen, so die Auswertung, wird die Leitfähigkeit bestimmt. Die Chloridmessung kommt in lediglich 58% aller Analysen zum Tragen, die Messung der Natriumkonzentration in einem Viertel aller Fälle. Eine Auswertung der gängigen Praxis in der Schweiz aus dem Jahr 2007 zeigte ähnliche Abweichungen von den Empfehlungen, speziell auch bezogen auf die Bestimmung der Leitfähigkeit.⁷² Insbesondere dort hat sich diese, unter Zuhilfenahme des Nanoduct®-Geräts, mittlerweile als weit verbreitetes Mittel in der Diagnostik der CF etabliert.

Es erscheint vor dem Hintergrund der zahlreichen Untersuchungen, die die Zuverlässigkeit der Messung der Leitfähigkeit bestätigen, sinnvoll, die aktuell gültigen Richtlinien zu überarbeiten. Unsere vorliegende Studie stellt allerdings eindrücklich dar, dass die gemessenen Leitfähigkeitswerte bei Neugeborenen, die nicht an CF erkrankt waren, deutlich die bisher angenommenen Referenzwerte überstiegen. Wie bereits beschrieben, werden diese Referenzwerte jedoch aufgrund der sehr reduzierten Datenlage speziell für kleinere Kinder weiterhin empfohlen. Folglich erscheinen weitere Untersuchungen mit einer größeren Population und vor allem unter Einschluss von an CF erkrankten Probanden dringend notwendig, um Referenzwerte gerade für diese Population zu bestimmen.

5.5 Messung der Leitfähigkeit als Screeningmethode

Die Weltgesundheitsorganisation WHO hat klare Bedingungen formuliert, die eine Krankheit erfüllen muss, um für ein Screeningverfahren in Frage zu kommen. Neben der klinischen Relevanz (große Häufigkeit) sollte eine symptomfreie Phase nach der Geburt vorkommen; die Krankheit sollte einfach und billig diagnostizierbar sowie effektiv therapierbar sein. Die CF erfüllt diese Kriterien weitgehend: Die Erkrankung ist häufig, mit Ausnahme des Mekoniumileus sind die Patienten nach der Geburt zumeist symptomfrei, sie ist anhand der verschiedenen, zur Verfügung stehenden Untersuchungen in der Regel gut diagnostizierbar, und die Therapie beeinflusst das Outcome entscheidend, wenngleich bisher kein kurativer Ansatz existiert.

Vor allem das vermehrte Verständnis um den Nutzen der frühzeitigen CF-Diagnostik und verbesserte Therapiemöglichkeiten haben in den letzten Jahren zu einem immensen Bedeutungszuwachs des CF-Screenings weltweit geführt. Zudem besteht

durch die Verbesserung der Therapieansätze und -möglichkeiten ein großes Interesse daran, die Krankheit möglichst frühzeitig zu diagnostizieren. ^{27,31,73} Während die Diagnosestellung bei CF derzeit im Allgemeinen durch klinische Anhalte eingeleitet wird, bietet das Neugeborenen-Screening die Gelegenheit, betroffene Kinder bereits im asymptomatischen Zustand zu erkennen. Bis zu 50% der betroffenen Kinder sind asymptomatisch zum Zeitpunkt einer Diagnose durch ein Screeningprogramm. ⁴⁰ Laut ECFS wurden im Jahr 2004 in 26 europäischen Ländern Screeningprogramme für CF durchgeführt, im Rahmen derer die Untersuchung von 1,6 Millionen Neugeborenen erfolgte. Bereits im Jahr 2008 war die Zahl der gescreenten Kinder auf drei Millionen angestiegen. ^{31,74}

In Bezug auf Neugeborenen-Screeningprogramme für CF konnte mittlerweile eindeutig ein besseres Outcome hinsichtlich des pulmonalen Verlaufs belegt werden.³¹ Vielfach beschrieben sind auch die positiven Auswirkungen auf Wachstum und Entwicklung der Patienten als direkte Folge der frühzeitigen Erkennung der Erkrankung und entsprechender Interventionsmöglichkeiten. 31,75 In den USA beispielsweise findet die Diagnosestellung durch das Neugeborenen-Screening im Median ein Jahr früher statt als bei Patienten, die erst aufgrund einer Symptomatik zu einem späteren Zeitpunkt auffallen. Auf dieser Grundlage kann beispielsweise das Risiko einer chronischen Unterernährung oder einer Wachstumsretardierung durch frühzeitige Ernährungsüberwachung und Enzymsubstitution vermieden werden.^{23,47} Einen weiteren Vorteil für CF-Patienten stellt die Möglichkeit der frühzeitigen genetischen und psychologischen Beratung für betroffene Familien dar.³¹

Allerdings sollte auch über die potentiellen Nachteile von Screeningprogrammen nachgedacht werden. Falsch-positive Ergebnisse, die in den USA mit 2-4% beziffert werden, und die Identifizierung eines Gesunden als Genträger stellen außerordentliche psychische Belastungen für die Betroffenen und ihre Angehörigen dar. Dies trifft auch für unklare diagnostische Situationen zu, beispielsweise für wenig untersuchte und mildere Verlaufsformen der Erkrankung, für die es keine Mutationen, Langzeituntersuchungen gibt. 31,76 Des Weiteren ist die Durchführung größer angelegter Screeningprogramme sicher nur in technisch und personell entsprechend ausgestatteten Zentren sinnvoll und wirtschaftlich.⁷⁷ Hierdurch ergeben sich jedoch finanzielle und logistische Herausforderungen; außerdem weisen verschiedene Autoren, wie etwa Wagener et al., darauf hin, dass durch vermehrte Exposition in derartigen

Zentren das Risiko der frühzeitigen, für das Outcome negativen Infektionen mit beispielsweise *P. aeruginosa* steigt.^{23,31}

Maßgeblich beeinflusst wird die Umsetzbarkeit von Screeningprogrammen durch die entstehenden Kosten. Die Laborkosten eines Neugeborenenscreenings für CF sind zwar abhängig vom verwendeten Screeningalgorithmus, aber vergleichbar mit denen anderer, bereits implementierter Screeningprogramme für Neugeborene. Beispielhaft können hier die beim CF-Neugeborenenscreening im Bundesstaat Wisconson (USA) ermittelten Kosten für die einzelnen Schritte aufgeführt werden. Sie belaufen sich für das IRT-Screening auf US \$1,50 pro Test, für eine Einzelmutationsanalyse auf US \$20,50 und für einen Mehrfachmutationstest auf US \$50,70. Es finden sich keine Angaben zum hier durchgeführten Schweißtest.31 In Deutschland kostet ein Schweißtest unter Verwendung des Macroduct®-Analysesystems pro Test etwa €20, mit dem Nanoduct®-Gerät ca. €18. Hinzu kommen selbstverständlich noch die Kosten für die Anschaffung des Geräts sowie für Personal. Um den finanziellen Aufwand vollständig zu erfassen, müssten außerdem weitere Faktoren, wie die durch Follow-Up, Beratung und Pflege entstehenden Kosten betrachtet werden. Zusätzlich sollte auch in diese Rechnung einfließen, dass durch eine frühzeitige Diagnose die teure Behandlung einer eventuell zunächst nicht erkannten Erkrankung mit CF oder die Therapie komplexerer Krankheitszustände in späteren Stadien vermieden werden können. Vorläufige Einschätzungen haben gezeigt, dass der Großteil der durch ein Screeningprogramm entstehenden Kosten durch die größere Wirtschaftlichkeit einer frühzeitigen Entdeckung und Behandlung der Erkrankung gedeckt wird.³¹

Neonatale Screeningprogramme für CF wurden bereits in einigen Nationen landesweit implementiert, wie zum Beispiel in Neuseeland, Australien und der Schweiz. In anderen Ländern, wie etwa Großbritannien, USA, Österreich, Belgien, Italien, Spanien und Polen, werden sie derzeit auf regionaler Ebene durchgeführt (s. Tabelle 9).

Land	Screening
Australien	Flächendeckendes Screening: - Über 90% aller Neugeborenen werden erfasst - Einfacher Test auf IRT, wenn positiv: - DNA-Analyse auf häufigste CFTR-Mutationen - Feststellung: hohe Anzahl falschnegativer Ergebnisse bei einem Grenzwert von 60 mmol/L im Schweißtest
Dänemark	Kein Screeningprogramm, aber Pläne für antenatale Screenings
Deutschland	Kein Screeningprogramm mit Ausnahme zweier regionaler Programme (Heidelberg und Dresden)
Frankreich	Kein Screeningprogramm bis auf eine Region
Italien	Screeningprogramme seit 1973 - verschiedene Herangehensweisen aufgrund ausgeprägter genetischer Heterogenität - derzeit hauptsächlich IRT/ DNA/ IRT-Schema
Österreich	Screeningprogramme in sechs Wiener Krankenhäusern seit 1988 - einfacher Test auf IRT
Kanada	Kein Screeningprogramm
Niederlande	Kein Screeningprogramm
Schweiz	Nationales Screeningprogramm seit 2011 - zweifacher IRT-Test, gefolgt von genetischer Untersuchung und Schweißtest
USA	Sechs Staaten screenen alle Neugeborenen, drei Staaten screenen Teile der Kinder - die meisten Staaten verwenden ein IRT/ DNA-Schema; einige IRT/ IRT Landesweites Screeningprogramm geplant
Vereinigtes Königreich	Sechs Screeningprogramme, die etwa 22% aller Kinder abdecken, z.B.: - zwei Regionen und Nordirland: IRT/ IRT-Schema - Wales: IRT/ DNA-Schema - Trent: IRT/ DNA/ IRT-Schema - Schottland: IRT/ DNA/ IRT-Schema

Tabelle 9. Stand des Neugeborenenscreenings für CF in verschiedenen Ländern

Die in der Untersuchung von Southern 2006 zusammenfassend dargestellten Screeningprogramme beginnen alle mit einem IRT-Test, durchgeführt am vierten Lebenstag. Im nächsten Schritt variiert das gewählte Verfahren stark; in manchen Programmen wurde nach einem erhöhten IRT-Wert direkt ein Schweißtest durchgeführt, in anderen ein mehrere Schritte umfassendes Protokoll inklusive genetischer Untersuchung angestoßen. Der Schweißtest findet in 18 von 26 untersuchten Programmen in Form einer Messung der Schweißchloridkonzentration Verwendung, in drei Programmen durch eine Leitfähigkeitsmessung und in drei weiteren in Form beider Tests. Die Mehrheit führt allerdings gar keinen Schweißtest vor dem 28. Lebenstag durch.⁷⁴

Massie et al empfahlen bereits 2004 in ihrer das CF-Screening in Australien und Neuseeland analysierenden Arbeit, grundsätzlich alle positiven Screeningergebnisse, selbst bei zwei nachgewiesenen CFTR-Mutationen, mittels eines Schweißtests abzusichern. Eine Vielzahl von Studien hat sich in der Vergangenheit mit dem im Screening verwendeten Schweißtest auf der Grundlage einer Schweißchloridbestimmung beschäftigt. Ganz überwiegend kam man hier zu der Schlussfolgerung, dass Schweißtests, vor allem zur Bestätigung nach anderen zuvor auffälligen Testergebnissen, z.B. von IRT, sinnvoll und zuverlässig sind. ^{56,78}

Grundsätzlich ist als Ergebnis aller erwähnten Untersuchungen festzuhalten, dass ein direkter Zusammenhang zwischen der Anzahl der in einem Zentrum vorgenommenen Schweißtests und den gültigen und verwertbaren Ergebnisse besteht. Aus dieser Erkenntnis resultiert die Empfehlung, im Rahmen von Screeningprogrammen durchgeführte Schweißtests auf solche Zentren zu reduzieren, die eine noch festzulegende Mindestanzahl dieser Tests vornehmen.⁷⁴ Laut ECFS-Leitlinien beispielsweise sollten in einem solchen Zentrum mindestens 50 Schweißtests pro Jahr durchgeführt werden; für die Wiederholung des Tests werden hier Zentren gefordert, in denen mindestens 150 solcher Untersuchungen pro Jahr erfolgen.³⁰

In Anbetracht der vorliegenden Datenlage stellt sich die Frage, ob die Messung der Leitfähigkeit gegenüber der Chloridbestimmung einen Vorteil bietet und als Screeningmethode geeignet ist. Die bereits im vorangehenden Kapitel erörterte, durch verschiedene Autoren beschriebene gute Korrelation zwischen Chloridkonzentration und Schweißleitfähigkeit, sowie Sensitivität, Spezifität und Zuverlässigkeit der

Leitfähigkeitsmessung lassen positiv auf die Einsetzbarkeit als Screeningmittel blicken. 32,52,65,66,67,68 Insbesondere bei jüngeren Patienten, wie in der vorliegenden Studie bei Neugeborenen, erweist sich das neuartige micro-flow Gerät aufgrund der verschiedenen beschriebenen Vorteile gegenüber der klassischen Chloridbestimmung als äußerst gut in der Klinik einsetzbar. Eine zusätzliche Rolle hinsichtlich der Praktikabilität im klinischen Alltag spielt, wie von Barben et al 2005, aber auch erneut durch die Gruppe um Kleyn im Jahr 2010 hervorgehoben, die Tatsache, dass die Leitfähigkeitsbestimmung in der Regel weniger als eine halbe Stunde in Anspruch nimmt, während ein Resultat bei einer Chloridbestimmung erst nach mehreren Stunden verfügbar ist.32,55 Außerdem zu erwähnen sind die gute Verträglichkeit der neuen Methode sowie die einfache Handhabung, die durch ihr weitgehend automatisiertes Funktionieren die `Fehlerquelle Mensch' weiter minimiert. Auch die bereits zuvor erläuterte, wenn auch im Einzelfall geringe Kostendifferenz stellt ein Argument zugunsten der Verwendung der Leitfähigkeitsmessung dar. Allerdings benennen die ECFS-Leitlinien aus dem Jahr 2009 die Chloridmessung weiterhin als Goldstandard, und die Leitfähigkeitsmessung wird hier noch nicht empfohlen.³¹ In ihrem Konsuspapier zum Thema Screening aus demselben Jahr schränkt die ECFS allerdings bereits ein, dass die Bestimmung der Leitfähigkeit durchaus einen Stellenwert in der Diagnostik hat, weist aber darauf hin, dass sie für Fälle innerhalb des als "grenzwertig" eingeschätzten Bereichs noch nicht hinreichend überzeugt.³⁰ Die CFF trifft keine Aussagen bezüglich eines Einsatzes der Leitfähigkeitsmessung im Rahmen von Screeningprogrammen.⁴² Obwohl aktuell noch wesentlich mehr und langjährigere Erfahrung im Umgang mit und der Auswertung von Chloridbestimmungen besteht, kann die Bestimmung der Leitfähigkeit des Schweißes im Rahmen von Neugeborenenscreeningprogrammen sicher empfohlen werden.

6 Zusammenfassung

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die zuverlässige und erfolgreiche Messung der Leitfähigkeit des Schweißes bei Neugeborenen von verschiedenen Faktoren abhängt. Zum einen zeigte sich ein Zusammenhang von Testerfolg und Geburtsgewicht der Probanden. Neugeborene mit einem Geburtsgewicht von mehr als 3000g hatten eine deutlich höhere Wahrscheinlichkeit für einen erfolgreichen Test. Auch für die Schweißrate ließ sich eine positive Abhängigkeit von einem 3000g übersteigenden Geburtsgewicht nachweisen. Weder Gestations- noch Lebensalter oder das Geschlecht der Probanden hatten einen Einfluss auf den Testerfolg oder die Schweißrate. Es empfiehlt sich daher, die Bestimmung der Leitfähigkeit des Schweißes lediglich bei Neugeborenen mit einem Gewicht von mehr als 3000g durchzuführen. Für Kinder mit einem geringeren Geburtsgewicht und Frühgeborene sind weitere Untersuchungen notwendig.

Die in der vorliegenden Studie ermittelte mittlere Leitfähigkeit des Schweißes bei gesunden Neugeborenen lag bei 51,9mmol/L (SD ±14.5) und erwies sich als unabhängig von den untersuchten Parametern Geburtsgewicht, Gestationsalter, Lebensalter oder Geschlecht der Probanden. Bezogen auf den zum Zeitpunkt der durchgeführten Tests gültigen Referenzwert von 60mmol/L NaCl-Äquivalente wiesen elf von 82 erfolgreich getesteten Neugeborenen erhöhte Werte auf. Bei ihnen wurde die Leitfähigkeit ein zweites Mal bestimmt; die mittlere Leitfähigkeit lag dann bei 64,0mmol/L (SD ±10,0). In weiteren sieben Fällen lag sie in der zweiten Messung erneut über dem Referenzwert. In keinem dieser 11 Fälle konnte im Verlauf eine Erkrankung mit CF nachgewiesen werden. Die Mittelwerte der Leitfähigkeit lagen in dieser Untersuchung deutlich höher als die publizierten Werte für ältere Kinder und Erwachsene.

Obwohl die Bestimmung der Leitfähigkeit bisher noch nicht in den Leitlinien zur CF-Diagnostik Einzug gehalten hat, erfährt sie in den letzten Jahren zunehmend Beachtung in der Praxis. Nahezu alle Veröffentlichungen in letzter Zeit zu diesem Thema bestätigen die ausgezeichnete Sensitivität und Spezifität der Leitfähigkeitsmessung, auch in der Anwendung bei Säuglingen. Speziell das neuere Nanoduct®-Messgerät wird in diesem Zusammenhang wegen der verbesserten Bedingungen zur Bestimmung der Leitfähigkeit häufig hervorgehoben: eine deutlich geringere benötigte

Schweißmenge, eine kürzere Dauer bis zum Vorliegen des Ergebnisses und die insgesamt vereinfachte Bedienung des Geräts. Auffällig in der vorliegenden Untersuchung waren die im Vergleich zu älteren Säuglingen und Kindern höheren gemessenen Werte der Leitfähigkeit bei Gesunden. Im Hinblick auf die derzeit geltenden Grenzwerte von 50mmol/L bzw 80mmol/L, lässt sich ein Anpassungsbedarf dieser Werte für gesunde Neugeborene feststellen. Weitere Untersuchungen an größeren Populationen und unter Einschluss von an CF erkrankten Kindern zum Zweck der Referenzwertbestimmung für die Leitfähigkeitsmessung sollten daher erfolgen, vor allem auch zur Bestimmung von Spezifität und Sensitivität.

Im Gegensatz zur Diagnostik wird der Einsatz der Bestimmung der Leitfähigkeit im Rahmen von Screeningprogrammen bereits durch entsprechende Fachorgane empfohlen oder zumindest nahegelegt. Hier sprechen nicht nur die gute Zuverlässigkeit und eine relativ einfache Bedienung des Geräts bei schnell zur Verfügung stehenden Ergebnissen für die Methode. Auch ihre gute Verträglichkeit und der relative Kostenunterschied zugunsten der Leitfähigkeitsbestimmung lassen positiv auf eine Verwendung im Rahmen von grossangelegten Screeningprogrammen blicken.

7 Erklärung an Eides Statt

"Ich, Luisa Alessandra Garavy, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Untersuchungen zur physiologischen Leitfähigkeit des Schweißes bei reifen Neugeborenen in der ersten Lebenswoche" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe."

Datum Unterschrift

8 Danksagung

Ich möchte mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Roland Wauer für die überaus freundliche und stets motivierende Betreuung und Unterstützung dieser Arbeit bedanken.

Des Weiteren gebührt Herrn Dr. med. Andreas Jung grosser Dank, ohne dessen ausdauernde und zuverlässige Hilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Außerdem möchte ich mich auch bei Frau Jessica Blank, die mir als Study Nurse bei vielen organisatorischen Dingen behilflich war, und Frau Tanja Schink, die mir in allen die Statistik betreffenden Fragen zur Seite stand, für ihre Unterstützung bedanken.

Einen großen Teil der Entstehung dieser Doktorarbeit begleitete Dr. iur. Cord Willhöft, LL.M., so daß ihm ganz spezieller Dank gebührt.

beb danke ich dafür, daß er mich schon lange so liebevoll begleitet.

Meine Moma hat 37 Jahre nach ihrer eigenen Promotion die vorliegende von Anfang an unterstützt – Danke! Und dem besten Tigi der Welt gilt mein größter hermeliniger Dank.

Für seine Liebe und Inspiration danke ich Ilja Jabba Haller – und unserer unglaublichen Birdy!

9 Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

10 Literaturverzeichnis

¹ Fanconi G, Uehlinger E, Knauer C. Das Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasen. Wien Med Wochenschr 1936;86:753-756.

² Anderson DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: clinical and pathological study. Am J Dis Child 1938;56:344-399.

³ Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. Am J Respir Crit Care Med 2006;173(5):475-82.

⁴ Davies JC. New tests for cystic fibrosis. Paediatr Respir Rev 2006; Suppl 1:S141-3.

⁵ Di Sant´ Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas, it's clinical significance and relationship to the disease. Pediatrics 1953;12:549-563.

⁶ Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in cystic fibrosis using pilocarpine by electrophoresis. Pediatrics 1959;23:549-563.

⁷ Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. Science 1989;245:1066- 1072.

⁸ Tsui LC, Buchwald M, Barker D et al. Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic marker. Science 1985;230:1054-1057.

⁹ Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. N Engl J Med 2005;352(19):1992-2001.

¹⁰ Mishra A, Greaves R, Massie J. The relevance of sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis in the genomic era. Clin Biochem Rev 2005;26(4):135-53.

¹¹ Davies JC. Modifier genes in cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol Suppl 2004;26:86-7.

¹² Minasian C, McCullagh A, Bush A. Cystic fibrosis in neonates and infants. Early Hum Dev 2005;81(12):997-1004.

¹³ Ratjen F, Döring G. Cystic fibrosis. Lancet 2003;361(9358):681-9.

¹⁴ Griesenbach U, Geddes DM, Alton EW. Advances in cystic fibrosis gene therapy. Curr Opin Pulm Med 2004;10(6):542-6.

¹⁵ Voter KZ, Ren CL. Diagnosis of cystic fibrosis. Clin Rev Allergy Immunol 2008;35(3):100-6.

¹⁶ Griesenbach U, Geddes DM, Alton EW. Gene therapy for cystic fibrosis: an example for lung gene therapy. Gene Ther 2004;11 Suppl 1:S43-50.

¹⁷ Doull IJ. Recent advances in cystic fibrosis. Arch Dis Child 2001;85(1):62-6.

¹⁸ Boucher RC. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. Eur Respir J 2004;23(1):146-58.

- ²⁰ Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR, Comeau AM, Kharrazi M, Rosenfeld M, Wilfond BS; CDC. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. MMWR Recomm Rep 2004;53(RR-13):1-36.
- ²¹ Brennan AL, Geddes DM. Cystic fibrosis. Curr Opin Infect Dis 2002;15(2):175-82.
- ²² Parad RB, Comeau AM, Dorkin HL, Dovey M, Gerstle R, Martin T, O´Sullivan BP. Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening. J Pediatr 2005;147(3 Suppl):S69-72.
- ²³ Wagener JS, Sontag MK, Sagel SD, Accurso FJ. Update on newborn screening for cystic fibrosis. Curr Opin Pulm Med 2004;10(6):500-4.
- ²⁴ Farrell PM, Koscik RE. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. Pediatrics 1996;97(4):524-8.
- 25 LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. J Pediatr 1996;129(6):892-7.
- ²⁶ Funk MJ, LeGrys VA. Testing diagnostic tests: why size matters. J Pediatr 2005;146(2):159-62.
- ²⁷ Eng W, LeGrys VA, Schechter MS, Laughon MM, Barker PM. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. Pediatr Pulmonol 2005;40(1):64-7.
- ²⁸ Beauchamp M, Lands LC. Sweat-testing: a review of current technical requirements. Pediatr Pulmonol 2005;39(6):507-11.
- ²⁹ De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M; Diagnostic Working Group. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. Thorax 2006;61(7):627-35.
- ³⁰ 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;8(1):71-8.
- ³¹ Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, Mehta A, Munck A, Pollitt R, Sermet-Gaudelus I, Wilcken B, Ballmann M, Corbetta C, de Monestrol I, Farrell P, Feilcke M, Férec C, Gartner S, Gaskin K, Hammermann J, Kashirskaya N, Loeber G, Macek M Jr, Mehta G, Reiman A, Rizzotti P, Sammon A,

¹⁹ Goss CH, Rosenfeld M. Update on cystic fibrosis epidemiology. Curr Opin Pulm Med 2004;10(6):510-4.

- Sands D, Smyth A, Sommerburg O, Torresani T, Travert G, Vernooij A, Elborn S. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. J Cyst Fibros 2009;8(3):153-73.
- ³² Barben J, Ammann RA, Metlagel A, Schoeni MH; Swiss Paediatric Respiratory Research Group. Conductivity determined by a new sweat analyzer compared with chloride concentrations for the diagnosis of cystic fibrosis. J Pediatr 2005;146(2):183-8.
- ³³ Losty HC, Wheatley H, Doull I. The evaluation of a novel conductometric device for the diagnosis of cystic fibrosis. Ann Clin Biochem 2006;43(Pt 5):375-81.
- ³⁴ Desax MC, Ammann RA, Hammer J, Schoeni MH, Barben J; Swiss Paediatric Respiratory Research Group. Nanoduct sweat testing for rapid diagnosis in newborns, infants and children with cystic fibrosis. Eur J Pediatr 2008;167(3):299-304.
- ³⁵ Rutter N. The dermis. Semin Neonatol 2000;5(4):297-302.
- ³⁶ Rutter N. Applied physiology: the newborn skin. Current Pediatrics 2003;13:226-230.
- ³⁷ Chiou YB, Blume-Peytavi U. Stratum corneum maturation. A review of neonatal skin function. Skin Pharmacol Physiol 2004;17(2):57-66.
- ³⁸ Foster KG, Hey EN, Katz G. The response of the sweat glands of the newborn baby to thermal stimuli and to intradermal acetylcholine. J Physiol 1969;203(1):13-29.
- ³⁹ Hernes KG, Mørkrid L, Fremming A, Ødegården S, Martinsen ØG, Storm H. Skin conductance changes during the first year of life in full-term infants. Pediatr Res 2002;52(6):837-43.
- ⁴⁰ Massie J, Clements B; Australian Paediatric Respiratory Group. Diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening: the Australasian experience—twenty years and five million babies later: a consensus statement from the Australasian Paediatric Respiratory Group. Pediatr Pulmonol 2005;39(5):440-6.
- ⁴¹ Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, Durie PR, Legrys VA, Massie J, Parad RB, Rock MJ, Campbell PW 3rd; Cystic Fibrosis Foundation. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. J Pediatr 2008;153(2):S4-S14.
- ⁴² LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ Jr; Cystic Fibrosis Foundation. Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. J Pediatr 2007;151(1):85-9.
- ⁴³ Green A, Kirk J; Guidelines Development Group. Guidelines for the performance of the sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis. Ann Clin Biochem 2007;44(Pt 1):25-34.
- ⁴⁴ Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. J Pediatr 1998;132(4):589-95.

⁴⁵ Jayaraj R, Barton PV, Newland P, Mountford R, Shaw NJ, McCarthy E, Isherwood DM, Southern KW. A reference interval for sweat chloride in infants aged between five and six weeks of age. Ann Clin Biochem 2009;46(Pt 1):73-8.

- ⁴⁶ Rock MJ, Hoffman G, Laessig RH, Kopish GJ, Litsheim TJ, Farrell PM. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: nine-year experience with routine trypsinogen/DNA testing. J Pediatr 2005;147(3 Suppl):S73-7.
- ⁴⁷ Wilfond BS, Gollust SE. Policy issues for expanding newborn screening programs: the cystic fibrosis newborn screening experience in the United States. J Pediatr 2005;146(5):668-74.
- ⁴⁸ Massie J, Gaskin K, Van Asperen P, Wilcken B. Sweat testing following newborn screening for cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol 2000;29(6):452-6.
- ⁴⁹ Bonham JR, Downing M, Dalton A. Screening for cystic fibrosis: the practice and the debate. Eur J Pediatr 2003;162 Suppl 1:S42-5.
- ⁵⁰ Weissmann N, Pileggi VJ. Inorganic ions: sodium determination by flame photometry. Clinical Chemistry: principles & tecniques: London Harper & Row 1974;642-644.
- ⁵¹ Mishra A, Greaves R, Smith K, Carlin JB, Wootton A, Stirling R, Massie J. Diagnosis of Cystic Fibrosis by Sweat Testing: Age-Specific Reference Intervals. J Pediatr 2008;153:758-763.
- ⁵² Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya ME. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. J Cyst Fibros 2003;2(1):1-7.
- ⁵³ Durante M, Rolando P. Il compartamento del test del sudore nell` eta neonatale (The sweat test in newborns.). Fracastoro 1970;63(3):324-327.
- ⁵⁴ Hardy JD, Davison SH, Higgins MU, Polycarpou PN. Sweat tests in the newborn period. Arch Dis Child 1973;48(4):316-8.
- ⁵⁵ Kleyn M, Korzeniewski S, Grigorescu V, Young W, Homnick D, Goldstein-Filbrun A, Schuen J, Nasr S. Predictors of Insufficient Sweat Production During Confirmatory Testing for Cystic Fibrosis. Pediatr Pulmonol 2011;46:23-30.
- ⁵⁶ Taccetti G, Festini F, Braccini G, Campana S, de Martino M. Sweat testing in newborns positive to neonatal screening for cystic fibrosis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2004;89(5):F463-4.
- ⁵⁷ Foster KG, Hey EN, Katz G. The response of the sweat glands of the newborn baby to thermal stimuli and to intradermal acetylcholine. J Physiol 1969;203(1):13-29.

⁵⁸ Green M, Behrendt H. Sweating response of neonates to local thermal stimulation. Am J Dis Child 1973;125:20-25.

- ⁵⁹ Rutter N, Hull D. Response of term babies to a warm environment. Arch Dis Child 1979;54(3):178-83.
- ⁶⁰ Emery MM, Hebert AA, Vila-Coro AA, Prager TC. The relationship between skin maturation and electrical skin impedance. Journal of Dermatological Science 1991;2:336-340.
- Mize MM, Vila-Coro AA, Prager TC. The relationship between postnatal skin maturation and electrical skin impedance. Arch Dermatol 1989;125:647-650.
- ⁶² Harpin VA, Rutter N. Sweating in preterm babies. J Pediatr 1982;100(4):614-9.
- ⁶³ Webster HL, Quirante CG. Micro-flowcell conductometric sweat analysis for cystic fibrosis diagnosis. Ann Clin Biochem 2000;37 (Pt 3):399-407.
- ⁶⁴ Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. J Pediatr 1994;124(2):255-60.
- van der Merwe DE, Ubbink JB, Delport R, Becker P, Dhatt GS, Vermaak WJ. Biological variation in sweat sodium chloride conductivity. Ann Clin Biochem 2002;39(Pt 1):39-43.
- ⁶⁶ Mastella G, Di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reliability of sweat-testing by the Macroduct collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. Acta Paediatr 2000;89(8):933-7.
- ⁶⁷ Heeley ME, Woolf DA, Heeley AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of cystic fibrosis. Arch Dis Child 2000;82(5):420-4.
- ⁶⁸ Sands D, Oltarzewski M, Nowakowska A, Zybert K. Bilateral sweat tests with two different methods as a part of cystic fibrosis newborn screening (CF NBS) protocol and additional quality control. Folia Histochem Cytobiol 2010;48(3):358-365.
- ⁶⁹ LeGrys VA. Sweat analysis proficiency testing for cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol 2000;30(6):476-80.
- ⁷⁰ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Sweat Testing: Sample Collection and Quantitative Analysis. Approved guideline, 2000.
- ⁷¹ Naehrlich L. Sweat testing practices in German cystic fibrosis centres. Klin Padiatr 2007;219(2):70-3.

⁷² Barben J, Casaulta C, Spinas R, Schöni MH; Swiss Working Group for Cystic Fibrosis (SWGCF). Sweat testing practice in Swiss hospitals. Swiss Med Wkly 2007;137(13-14):192-8.

⁷³ Barben J, Torresani T, Schöni MH, Gallati S, Baumgartner M. Neugeborenen-Screening auf zystische Fibrose – bald auch in der Schweiz?. Schweiz Med Forum 2008;8(45):873-875.

⁷⁴ Southern KW, Munck A, Pollitt R, Travert G, Zanolla L, Dankert-Roelse J, Castellani C; ECFS CF Neonatal Screening Working Group. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. J Cyst Fibros 2007;6(1):57-65.

⁷⁵ Doull IJ, Hall SJ, Bradley DM. A sweat test centered protocol for the disclosure and diagnosis of cystic fibrosis in a newborn screening program. Pediatr Pulmonol 2007;42(9):773-8.

⁷⁶ Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR, Comeau AM, Kharrazi M, Rosenfeld M, Wilfond BS; CDC. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. MMWR Recomm Rep 2004;53(RR-13):1-36.

⁷⁷ Green A, Elborn S, Fahie-Wilson MN, Kirk JM, Wallis CE, Weller P. Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Investigation of Cystic Fibrosis in the UK. 2003, http://www.acb.org.uk.

⁷⁸ Comeau AM, Parad RB, Dorkin HL, Dovey M, Gerstle R, Haver K, Lapey A, O'Sullivan BP, Waltz DA, Zwerdling RG, Eaton RB. Population-based newborn screening for genetic disorders when multiple mutation DNA testing is incorporated: a cystic fibrosis newborn screening model demonstrating increased sensitivity but more carrier detections. Pediatrics 2004;113(6):1573-81.