

CAT: Diagnose van mucoviscidose: zweettest of CFTR-mutatie analyse

Author	Apr. Lieve Van Hoovels
Supervisor	Prof. Dr. Zahur Zaman
Search verified by	Dr. Johan Frans
Date	27/01/2004
Expiry date	27/01/2006

Clinical bottom line

Als primaire bevestiging van de diagnose van CF is de zweettest nog steeds de gouden standaard. 92% van de gekende CFTR-mutaties is immers geassocieerd met het klassieke fenotype van CF. Ongeveer 85% van de patiënten heeft twee zulke mutaties. De overige 15% heeft tenminste één mutatie geassocieerd met milde aantasting en is pancreassufficiënt. Het is nu juist deze groep van patiënten die een normale of twijfelachtige zweettest kunnen hebben, en voor hen speelt CFTR-mutatie analyse een belangrijke rol in het verder diagnostisch onderzoek.

Clinical/Diagnostic scenario

Cystic fibrosis (CF) één van de meest voorkomende autosomale recessieve aandoeningen en wordt veroorzaakt door mutaties van het CFTR-gen gelokaliseerd op de lange arm van chromosoom 7. Tot op heden zijn er meer dan 900 mutaties beschreven, naast meer dan 300 functioneel belangrijke polymorfismen. De frequentie aan dragers van het gemuteerde CFTR-gen is bijzonder hoog in de kaukasische bevolking nl. 1/22 individuen. De ziekte treedt echter pas op bij individuen met 2 foute genen (dus homozygoot voor één CF-mutatie of 'compound heterozygoot'). Globaal wordt in Vlaanderen dus ongeveer 1/2000 kinderen met mucoviscidose geboren, wat neerkomt op ongeveer 32 kinderen ieder jaar. Longziekte is de hoofdoorzaak van morbiditeit en mortaliteit bij CF. Door een beter management van pulmonale infecties bij CF-patiënten, kan heden ten dagen de volwassen leeftijd worden bereikt, maar de gemiddelde levensduur bedraagt slechts 30 jaar.

De diagnose CF wordt gesteld indien voldaan is aan:

- één of meer karakteristieke manifestaties van de ziekte (cfr. [Bijlage 1](#))
 - OF mucoviscidose bij een broer of zus
 - OF een positieve neonatale screeningstest
- EN - tweemaal een verhoogd zweetchloride bij de zweettest uitgevoerd met pilocarpine iontophorese
 - OF aantonen van twee CF-mutaties
 - OF aantonen van een abnormaal zouttransport in het neusslijmvlies.

Bij de diagnosestelling spelen dus 3 verschillende diagnostische testen een rol. Elektrofysiologisch onderzoek kent een hoge sensitiviteit (100%) en specificiteit (93%), maar wordt gezien de technische moeilijkheden en de arbeidsintensiviteit niet op grote schaal uitgevoerd. De zweettest is de meest wijdverspreide diagnostische test. Naast de hoge kostprijs is de test relatief belastend voor de patiënt en arbeidsintensief voor de MLT. DNA-onderzoek kan daarentegen snel, betrouwbaar en op patiëntvriendelijke wijze worden uitgevoerd. Het is dus goed om na te gaan of in ziekenhuizen waar de faciliteiten beschikbaar zijn, het diagnostisch traject van CF niet op een verantwoorde wijze kan gestart worden met DNA-onderzoek.

Questions

1. Diagnostische waarden van CFTR-mutatie analyse in vergelijking met de zweettest.
2. Correlatie CF-genotype versus CF-fenotype.
3. Diagnosestelling van CF: guidelines?
4. Guidelines voor het uitvoeren van de zweettest en vergelijk met toepassing in UZLeuven.

Search terms

Zoektermen: sweat test; cystic fibrosis [MeSH]; fibrosis, cystic [MeSH]; mucoviscidosis; Cystic fibrosis transmembrane regulator [MeSH]; AND genotype [MeSH]; AND phenotype [MeSH]

Databases:

- Medline (PubMed 1966-2003) - <http://www.cbo.nl>
- Cochrane Library, SumSearch - <http://www.cff.org>
- <http://www.google.be> - <http://www.cysticfibrosis.co.uk>
- http://www.fbr.org/projects/acce-cdc/acce_doc.html - <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>
- <http://www.muco.be> - <http://www.icfma.org>

Relevante article(s)/References

- 1.GUIDELINES: GREEN A. (ASSOCIATION OF CLINICAL BIOCHEMISTS). Guidelines for the performance of the sweat test for investigation of cystic fibrosis in the UK, 2003. <http://www.acb.org.uk/guidelines/STNov03.pdf>
Appraised and endorsed by the Royal College of Paediatric and Child Health, 2003: <http://www.rcpch.ac.uk>
- 2.GUIDELINES: LEGRYS V.A., BARFITT M.F., GIBSON L.E., HAMMOND R.B., KRAFT K., ROSENSTEIN B.J. NCCLS. Sweat testing: sample collection and quantitative analysis; approved guideline. Second edition, US National Committee for Clinical Laboratory Standards Document C34-A2, 2000. NCCLS 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 0 1894, USA.
- 3.GUIDELINES: LOSTY H (ALL WALES CLINICAL BIOCHEMISTRY AUDIT GROUP). Department of Medical Biochemistry. University of Wales, Cardiff. A Welsh standard for Sweat Testing (version 2), 1999; <http://www.acb.org.uk/welshaudit/sweattest.htm>
- 4.GUIDELINES: KWALITEITSINSTITUUT VAN GEZONDHEIDSZORG (CBO). Consensus diagnostiek en behandeling van cystic fibrosis 1998. <http://www.cbo.nl/product/richtlijnen/pdf/cysticfibrosis>
- 5.TEXTBOOK CHAPTER: CUPPENS H., CASSIMAN J.J. Erfelijkheid. In: *Mucoviscidose: een handboek voor zorgverstrekkers, ouders en patiënten*. De Boeck K. Acco Leuven, 1999.
- 6.TEXTBOOK CHAPTER: PROESMANS M., DE BOECK K. Hoe stel je de diagnose van mucoviscidose. In: *Mucoviscidose: een handboek voor zorgverstrekkers, ouders en patiënten*. De Boeck K. Acco Leuven, 1999.
- 7.REVIEW: BAUMER J.H. Evidence based guidelines for the performance of the sweat test for the investigation of cystic fibrosis in the UK. *Arch Dis Child* 2003; **88**: 1126-1127.
- 8.REVIEW: BOBADILLA J.L., MACEK K. JR., FINE J.P., FARRELL P.M. Cystic Fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations-correlation with incidence data and application to screening. *Human mutation* 2002; **19**: 575-606.
- 9.REVIEW: ZIELENSKI J. Genotype and Phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 2000; **67**: 117-133.
- 10.REVIEW: MICKLE J.E., CUTTING G.R. Genotype-phenotype relationships in cystic fibrosis. *Medical clinics of North America* 2000; **84**: 597-607.
- 11.REVIEW: STERN R.C. The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl Med* 1997; **336**: 487-491.
- 12.REVIEW: TAIT J.F., GIBSON R.L., MARSHALL S.G., STERNEN D.L., CHENG E., CUTTING G.R. Cystic Fibrosis. *GeneReviews* 1997; www.geneclinics.org.
- 13.ORIGINAL: VAN DEN BERGH F. ET AL. Diagnostiek van cystische fibrose; liever eenvoudige genotypering om de ziekte uit te sluiten dan starten met de zweetttest. *Ned Tijdschr Geneeskd* 2003; **147**: 1001-1005.
- 14.ORIGINAL: LEBECQUE P., LEAL T., DE BOECK C., JASPERS M., CUPPENS H., CASSIMAN J.J. Mutations of the cystic fibrosis gene and intermediate sweat chloride levels in children. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2002; **165**: 757-761.
- 15.ORIGINAL: KNOWLES M.R., DURIE P.R. What is cystic fibrosis? *N Engl J Med* 2002; **347**: 139-442.
- 16.ORIGINAL: DESMARQUEST P., FELDMANN D., TAMALAT A., BOULE M., FAUROUX B., TOURNIER G., CLEMENT A. Genotype analysis and phenotypic manifestations of children with intermediate sweat chloride test results. *Chest* 2000; **118**: 1591-1597.
- 17.ORIGINAL: DEQUEKER E., CUPPENS H., DODGE J., ESTIVILL X., GOOSSENS M., PIGNATTI P.F., SCHEFFER H., SCHWARTZ M., SCHWARZ M., TÜMLER B., CASSIMAN J.J. Recommendations for quality improvement in genetic testing for cystic fibrosis European Concerted Action on Cystic Fibrosis. *European Journal of Human Genetics* 2000; **8**: S2-S24.
- 18.ORIGINAL: KIRK J.M. Inconsistencies in sweat testing in UK laboratories. *Arch Dis Child* 2000; **82**: 425-427.

- 19.ORIGINAL: NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE STATEMENT ON GENETIC TESTING FOR CYSTIC FIBROSIS. Genetic testing for cystic fibrosis. *Arch Intern Med* 1999; **159**: 1529-1539.
- 20.ORIGINAL: ROSENSTEIN B., CUTTING G. for the Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998; **132**: 589-95.
- 21.ORIGINAL: TSUI L.C., DURIE P. Molecular Genetics in Clinical Practice. Genotype and phenotype in Cystic Fibrosis. <http://www.hosppract.com/genetics/9706gen.htm>, 1997.
- 22.ORIGINAL: LEGRYS V.A. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. *J Pediatr* 1996; **129**: 892-897.
- 23.ORIGINAL: VEEZE H.J. Diagnostiek van kystische fibrose: bloed, zweet en rectumzuigbiopten. *Tijdschr Kindergeneesk* 1996; **64**: 197-202.
- 24.ORIGINAL: NORTHALL H., YORK G.A. Sweat sodium and chloride analysis using BM/Hitachi 911 ion-selective electrodes. *British Journal of Biomedical Science* 1995; **52**: 68-70.
- 25.ORIGINAL: WILSCHANSKI M., ZIELENSKI J., MARKIEWICZ D., TSUI L., COREY M., LEVISON H., DURIE R. Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *J Pediatr* 1995; **127**: 705-710.
- 30.ORIGINAL: CUPPENS H., MARYNEN P., DE BOECK C., CASSIMAN J.J. Detection of 98.5% of the mutations in 200 Belgian cystic fibrosis alleles by reverse dot-blot and sequencing of the complete coding region and exon/intron junctions of the CFTR gene. *Genomics* 1993; **18**:693-697.
- 31.ORIGINAL: THE CYSTIC FIBROSIS GENOTYPE-PHENOTYPE CONSORTIUM. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993; **329**: 1308-1313.
- 32.ORIGINAL: KIRK J.M., KESTON M., MCINTOSH I., AL ESSA S. Variation of sweat sodium and chloride with age in cystic fibrosis and normal populations: further investigation in equivocal cases. *Ann Clin Biochem* 1992; **29**: 145-152.
- 33.ORIGINAL: BARBOUR H.M. Development and evaluation of the simultaneous determination of sweat sodium and chloride by ion-selective electrodes. *Ann Clin Biochem* 1991; **28**: 150-154.
- 34.ORIGINAL: LEGRYS V.A., WOOD R.E. Incidence and implications of false-negative sweat test reports in patients with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 1988; **4**: 169-172.
- 35.ORIGINAL: SHAW N.J., LITTLEWOOD J.M. Misdiagnosis of cystic fibrosis. *Archives of Disease in Childhood* 1987; **62**: 1271-1273.
- 36.ORIGINAL: SHWACHMAN H., MOHMOODIAN A. Quality of sweat test performance in the diagnosis of cystic fibrosis. *Clin Chem* 1979; **25**: 158-161.
- 37.ORIGINAL: HARDY J.D., DAVISON S.H.H., HIGGINS M.U., POLYCARPOU P.N. Sweat test in the newborn period. *Archives of Disease in Childhood* 1973; **48**: 316-318.
- 38.POSTER: DEVOS A., COCHAUX P., MATTHIJS G., PIGNATTI P.F., PONCIN J., STUHRMANN M., MESSIAEN L., VAN LOON C. Multicenter trial validation of INNO-LiPA CFTR-12 and CFTR-17+Tn, 1999.

Critical appraisal

1. Diagnostische waarden van CFTR-mutatie analyse in vergelijking met de zweettest.

1.1 CFTR-mutatie analyse (reversed dot blot)

Prevalentie dragerschap CF-mutatie kaukasische bevolking = 1/22 (Cassiman J.J. in De Boeck K., 1999)

Prevalentie 24 meest prevalentie CF-mutaties (kaukasisch ras, België) = 87% (cfr. [Bijlage 5](#))

Berekeningen:

Prevalentie dragerschap van 1 van de 24 meest prevalentie CF-mutaties = $1/22 \times 87\% = 4\%$

Prevalentie 2 allelen van de 24 meest prevalentie CF-mutaties = $0.87 \times 0.87 = 0.76 = 76\%$

Prevalentie 1 allel van de 24 meest prevalentie CF-mutaties en 1 allel van de niet gescreende CF mutaties = $2(0.13 \times 0.87) = 0.22 = 22\%$

Prevalentie niet gescreende CF-mutaties = $0.13 \times 0.13 = 0.02 = 2\%$

Definities:

Diagnose CF = 2 CF-mutaties aantoonbaar

Terecht positieve diagnose CF = 2x allel van de 24 meest prevalentie CF-mutaties

Fout negatief diagnose van CF = 2x allel van niet gescreende CF-mutaties

Terecht negatief = gezonde populatie, geen dragerschap

Uitgaande van een prevalentie van CF in de onderzoekspopulatie van 2% (UZLeuven 2002-juli 2003)

kunnen we volgende berekening maken:

Testuitslag	CF		Totaal
	Ja	Nee	
CF-Mutatie/ CF-Mutatie	76% x 200 = 152	0	152
CF-Mutatie/X*	22% x 200 = 44	4% x 9800 = 392	436
X*/X*	2% x 200 = 4	96% x 9800 = 9408	9412
Totaal	200	9800	10000

* Met X geen mutatie aantoonbaar (=een onbekende of niet gescreende mutatie of afwezigheid van mutatie).

Bij 44+392= 436 patiënten (grijs) bekomen we een onzekere diagnose van CF. Dit is 4.36% van de oorspronkelijke populatie. Voor de bepaling van de diagnostische waarden van de CFTR-mutatie analyse berusten we op resultaten die effectief resulteren in een diagnosestelling (wit).

- ⇒ Sensitiviteit= $152/200 = 0.76 = 76\%$
 Specificiteit= $9408/9800 = 0.96 = 96\%$
 Positief Predictieve Waarde= $152/152 = 1 = 100\%$
 Negatief Predictieve Waarde= $9408/9412 = 0.9996 = 99.96\%$
Positieve Likelihood Ratio= $0.76/(1-0.96) = 19 > 10$
Negatieve Likelihood Ratio= $(1-0.76)/0.96 = 0.25 > 0.1$

BESLUIT 1.1: Bij diagnostisch onderzoek naar CF a.d.h.v. CFTR-mutatie analyse, zal voor 4,36% van de oorspronkelijke populatie nog nader onderzoek noodzakelijk zijn.

1.2 Zweettest

Sensitiviteit zweettest = 98% (Proesmans M. in De Boeck K., 1999)

Specificiteit zweettest = 96% (Van den Bergh F. *et al.*, 2003)

Definities:

Terecht positief= CF én zweetchloride ≥ 60 mmol/L

Terecht negatief= geen CF én zweetchloride < 60 mmol/L

Testuitslag	Cystische fibrose	
	Ja	Nee
+	Terecht positief (98%)	Fout positief (4%)
-	Fout negatief (2%)	Terecht negatief (96%)
Totaal	100%	100%

Testuitslag	Cystische fibrose		Totaal
	Ja	Nee	
+	196	392	588
-	4	9408	9412
Totaal	200	9800	10000

- ⇒ Positief Predictieve Waarde= $196/(196+392) = 0.33 = 33\%$
 Negatief Predictieve Waarde= $9408/(9408+8) = 0.9992 = 99.92\%$
Positieve Likelihood Ratio= $0.98/(1-0.96) = 24.5 > 10$
Negatieve Likelihood Ratio= $(1-0.98)/0.96 = 0.02 < 0.1$

BESLUIT 1.2: Ongeveer 2% van de CF-populatie heeft een zweet chloride concentratie van minder dan 60 mmol/L. Bij deze groep kan CF gediagnosticeerd worden op basis van het genotype, het nasaal potentiaal verschil, of de klinische presentatie.

2. Correlatie genotype versus fenotype?

2.1 CF fenotype

Het fenotype van een ziekte wordt gedefinieerd als de klinische outcome, gekarakteriseerd door observeerbare en/of meetbare klinische kenmerken, die zich manifesteren bij de patiënt.

Het CF fenotype (cfr. [Bijlage 1](#)) wordt gekarakteriseerd door een complexe betrokkenheid van verschillende organen, waarvan de symptomontwikkeling tijds- en leeftijdsafhankelijk is (Zielenski

J., 2000). In zijn klassieke en meest voorkomende vorm, manifesteert CF zich met chronische obstructieve longziekte, exocriene pancreasinsufficiëntie, toegenomen zweetchloride concentraties en mannelijke infertiliteit ten gevolge van obstructieve azoöspermie. Naast deze, bemerken we nog enkele minder voorkomende symptomen of complicaties zoals meconium ileus, distaal intestinaal obstructie syndroom, pancreatitis, leverziekte en diabetes. Dat de huidige classificatie van CF een zeer breed spectrum van fenotypische kenmerken omvat, blijkt uit klinische symptomen die door de NCCLS zijn voorgeschreven als indicatie voor het aanvragen van een zweettest (cfr. [Bijlage 2](#)).

2.2 CF mutaties

In een monogenetische, recessieve ziekte zoals CF, vormt het genotype de primaire oorzaak en bestaat ze uit 2 ziekte-veroorzakende mutaties die aanwezig zijn op 2 afzonderlijke allelen.

BESLUIT 2.1: Het CF fenotype wordt veroorzaakt door mutaties in beide CFTR allelen (Micle JE, 2000).

De grote variabiliteit in het CF-fenotype (cfr. 2.1) is te wijten aan het verschil in ernst van de CFTR-mutaties (type mutatie, klasse, positie), de aanwezigheid van 'genetic modifiers' (= complex allel, invloed van een 2^{de} mutatie in het genotype, secundaire genetische factoren) en omgevingsfactoren.

Tot op heden zijn meer dan 900 mutaties van het CFTR-gen beschreven. Alle types van mutatie komen voor (missense, frameshift, nonsense, splice, grote en kleine in-frame deleties of inserties) en zijn verspreid over het gehele 250 kb-lange gen. Ze worden onderverdeeld in 6 klassen, op basis van het moleculair mechanisme van de dysfunctie en van het functioneel gevolg voor het CFTR proteïne (cfr. [Bijlage 4](#)).

Een mooi overzicht van de relatie tussen genotype en fenotype vindt u terug in [Bijlage 6](#). Het CFTR-genotype is een goede predictor inzake de exocriene pancreas functie. Wat de verschillende gastrointestinale manifestaties van CF betreft, is de exocriene pancreas immers het meest aangetast, nl. 85% van de CF gediagnosticeerde patiënten is pancreasinsufficiënt (PI). Bij de overige 15% is de pancreas abnormaal maar functioneel adequaat genoeg zodat de patiënten geen enzyme supplementen nodig hebben. Een analyse van de CFTR mutaties bij patiënten met deze pancreatische fenotypes (PI vs. PS) onthulde het onderscheid tussen 2 categorieën van allelen: nl. de ernstige (= klasse I, II, III en VI) en de milde (= klasse IV en V) (Zielenski J., 2000). De categorieën I, II, III en VI bestaan uit 92% van de gekende mutaties.

Een ernstig allel geeft aanleiding tot een pancreatische insufficiëntie indien het gepaard gaat met een ander ernstig allel, aangezien een mild allel pancreatische functie onderhoudt, zelfs al is de tweede mutatie ernstig (cfr. [Bijlage 6](#)).

Dit blijkt tevens uit een studie van 'The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium' in 2003, waarvan u een resultatenoverzicht vindt in [Bijlage 7](#). Men vergeleek 399 blanke patiënten van over de hele wereld, die compound heterozygoot voor $\Delta F508$ en een andere mutatie met een $\Delta F508$ homozygoot van hetzelfde geslacht en ongeveer even oud in hetzelfde centrum. Men voerde een gepaarde analyse uit voor de weergegeven variabelen in klinische outcome.

De compound heterozygoten van het genotype R117H (behorende tot klasse IV)/ $\Delta F508$ verschillen significant van in leeftijd- en geslacht-gematche $\Delta F508$ homozygoten; ze vertonen meer PS (87% vs. 4%, $P < 0.001$), waren ouder toen de diagnose voor het eerst gemaakt werd (gemiddelde leeftijd 10.2 ± 10.5 versus 2.5 ± 4.3 ; $P = 0.002$).

Een andere belangrijke, algemeen aanvaardbare conclusie, die tevens uit deze studie blijkt, is dat de ernst en het verloop van pulmonaire ziekte niet voorspeld kan worden aan de hand van het genotype. De pulmonaire outcome wordt beïnvloed door een veelheid aan endogene en exogene factoren, en vormt de meest variabele en onvoorspelbare component van het CF fenotype.

Wat is nu de impact van het genotype op de zweetchloride-concentratie? Men kan algemeen stellen dat lagere zweetchloride-concentraties worden aangetroffen bij patiënten met pancreassufficiëntie, zoals we ook kunnen terugvinden voor R117H/ $\Delta F508$. Doch zelfs deze bedraagt nog steeds ≥ 60 mmol/L. Sommige milde allelen kunnen aanleiding geven tot significant lagere zweetchloride-concentraties. De ernstige mutaties geven allen, zij het in verschillende mate, aanleiding tot beduidend hogere zweetchloride-concentraties.

BESLUIT 2.2: 92% van de gekende mutaties is geassocieerd met de klassieke vorm van CF. Ongeveer 85% van de patiënten heeft twee zulke mutaties. De overige 15% heeft tenminste één mutatie geassocieerd met milde aantasting en is pancreassufficiënt, en kan ook een normale of twijfelachtige zweettest kennen.

BESLUIT 2.3: Een beperking van genetisch onderzoek bij deze patiëntengroep is dat niet alle mutaties gekend zijn en zeker niet in routinescreening worden opgespoord. Door genotypering wordt daarom vaak slechts op één van beide chromosomen een mutatie teruggevonden. In dit geval kan men de diagnose noch bevestigen, noch uitsluiten. Spijtig genoeg is genotypering dus het moeilijkst wanneer de diagnose nog in twijfel is (Proesmans M. in De Boeck K., 1999).

3. Diagnosestelling van CF: guidelines?

The European Concerted Action on Cystic Fibrosis stelt strategies en beslissingsbomen voorop, specifiek in de diagnosestelling voor enerzijds de klassieke of typische CF en anderzijds atypische CF (Dequeker E. *et al.*, 2000). Deze guidelines liggen in dezelfde lijn als de algemene plaats die door National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on Genetic Testing for Cystic Fibrosis werd gegeven aan het DNA-onderzoek voor CF.

In de diagnosestelling van typische CF, dus deze vorm waarbij de patiënt zich presenteert met de klassieke klinische symptomen, maakt men een onderscheid tussen kinderen jonger dan 3 maand, ouder dan 3 maand, en patiënten met zweetchloride grenswaarden (beslissingsbomen cfr. [Bijlage 8, 9, 10](#)).

In het grotendeel van de gevallen van klassieke CF, wordt de zweettest, indien uitgevoerd onder standaardcondities, beschouwd als de gouden standaard in de bevestiging van de diagnose van CF (cfr. [Bijlage 9](#)). Het is enkel indien het een kindje jonger dan 3 maanden betreft met een positieve familiale voorgeschiedenis en/of een positieve neonatale screening, dat het DNA-onderzoek de zweettest voorafgaat in de diagnostische beslissingsboom (cfr. [Bijlage 8](#)).

In ongeveer 2% van alle CF-patiënten heeft men te maken met 'atypische CF', gekarakteriseerd door chronische neuspoliepen, pancreatische sufficiëntie, en ofwel grenswaarden ofwel normale zweetchloride concentraties. Daarenboven zijn er patiënten bij wie één enkel klinisch kenmerk domineert, bv. pancreatitis, lever cirrose, CBAVD (congenital bilateral absence of the vas deferens),... wat aanleiding geeft tot een zeer variabel aantal aan klinische manifestaties. In dergelijke gevallen zal het aantonen van de CF-mutaties de belangrijkste rol spelen in de diagnosestelling (cfr. [Bijlage 11](#)).

In België kan men met de beschikbare genetische tests 85% van de CFTR-mutaties, die aangetroffen worden in mucoviscidosepatiënten, op routinebasis identificeren. Indien de genetische test dus een negatief resultaat oplevert, kan niet uitgesloten worden dat toch nog een mutatie aanwezig is.

Samengevat: Teststrategie bij individuen verdacht op CF (Tait *et al.*, 1997-2003):

- Kwantitatieve pilocarpine iontoforese voor zweetchloride concentraties blijft de primaire test voor de diagnose van CF.
- Transepitheliaal neuspotentiaal verschilmetingen kunnen noodzakelijk zijn ter bevestiging van de diagnose van CF in symptomatische individuen met borderline/niet-diagnostische zweettesten, bij wie het niet mogelijk was 2 ziateverwekkende CFTR mutaties vast te stellen.
- CFTR mutatie analyse is de initiële diagnostische test bij: prenatale test bij hoogrisico foetus, symptomatische infanten, prenatale diagnose (fetal echogenic bowel), screening van boorlingen.

BESLUIT 3.1: In het grootste deel van de gevallen van klassieke CF, wordt de zweettest, indien uitgevoerd onder standaardcondities, beschouwd als de gouden standaard in de bevestiging van de diagnose van CF.

4. Guidelines voor het uitvoeren van de zweettest en vergelijk met toepassing in UZLeuven.

De wijze waarop de zweettest in het UZLeuven wordt uitgevoerd volgt de NCCLS richtlijnen conform NCCLS document C34-A2, uitgave 1994.

In november 2003 verscheen: 'Guidelines for the performance of the sweat test for the Investigation of Cystic Fibrosis in the UK' (<http://www.acb.org.uk/guidelines/STNov03.pdf>) opgesteld door een multidisciplinaire werkgroep bestaande uit o.a. The Association of Clinical Biochemists (ACB), Cystic Fibrosis Trust, Royal College of Paediatrics and Child Health (RCPCH), Royal College of Pathologists (RCPath), UK National External Quality Assessment Schemes. Tot de referenties van deze guidelines behoren de verschenen Welsh guidelines (1999) en tevens de NCCLS guidelines, second edition (2000). De verschillende guidelines zijn vergezeld met de graad van de aanbeveling, die overeenkomt met het niveau van Evidence Based Classification.

Voor een algemeen overzicht van de guidelines verwijs ik naar <http://www.acb.org.uk/guidelines/STNov03.pdf>. Een aantal punten worden in de volgende paragrafen aangestipt.

4.1 Patiënt informatie

- 'Good clinical practice' veronderstelt een goede voorbereiding van de patiënt, en wanneer van toepassing, ook van de ouders. Dit kan aan de hand van een informatiesheet die voor het afnemen van de test ter beschikking wordt gesteld, en aangepast is aan het lokaal beleid in het uitvoerende centrum (Graad C).

UZLeuven: het informeren van de patiënt en de ouders, gebeurt verbaal door de MLT die de zweettest gaat afnemen. Een voorbeeld informatieblad, aangepast aan UZLeuven vindt u in [Bijlage 14](#).

4.2 Patiënt geschiktheid

- De guidelines stellen dat een zweettest kan worden uitgevoerd vanaf een leeftijd van 2 weken bij een infant zwaarder dan 3 kg, die normaal gehydrateerd is en in afwezigheid van significante systemische ziekte. (Graad C).

Gedurende de eerste 24h na de geboorte, zijn de zweetelektrolytconcentraties transient verhoogd; tot 25% van de normale nieuwgeborenen vertonen een zweet Na⁺-gehalte van meer dan 65 mmol/L (Hardy JD *et al.*, 1973). Vanaf de 2^{de} dag van de geboorte, is er een snelle afname in de zweetchloride-concentratie, en een toegenomen waarde kan gebruikt worden bij infanten jonger dan 48h. Klinische ervaring heeft aangetoond dat het moeilijker is om adequate zweetstalen te bekomen gedurende de eerste 4 weken na de geboorte. Dit kan een probleem vormen bij prematuren (Kirk JM *et al.*, 1992).

UZLeuven: cfr. [Bijlage 13](#): 2 van de 429 (= 0.47%) zweettesten in 2002-juli 2003 vond plaats bij patiënten < 4 weken (nl. 1 patiënt van 1 week oud en 1 van 3 weken). De patiënt van 1 week oud gaf onvoldoende zweet voor de Na⁺- en K⁺-bepaling, de Cl⁻-bepaling werd wel uitgevoerd.

Bij niet-CF patiënten hebben de zweet Na⁺- en Cl⁻-waarden de neiging om toe te nemen met de leeftijd, doch meestal niet genoeg om de diagnostische waarde van de test te beïnvloeden.

UZLeuven: cfr. [Bijlage 13](#): slechts 26.55% van de patiënten is ouder dan 4 jaar. Slechts 1 niet-CF patiënt (16 jaar) vertoonde een zweetchloride gehalte van 52 mmol/L.

- Indien klinisch belangrijk kan de zweettest worden uitgevoerd bij infanten, vanaf een leeftijd van 7 weken, maar de test moet herhaald worden indien er onvoldoende zweet geïncolteerd werd (Graad C).

UZLeuven: nauwkeurig afwegen van de gaasjes voor en na de zweetcollectie. Indien het gewicht zweet < 60 mg => rapportering 'onvoldoende staal'. Indien het gewicht > 40 mg, dan wordt er in samenspraak met de kliniek toch (enkel) een Cl⁻-bepaling uitgevoerd, met vermelding 'resultaat onder voorbehoud o.w.v. onvoldoende staal'.

- Een zweettest mag niet uitgevoerd worden bij: patiënten die gedehydrateerd zijn, eczema of oedeem vertonen, of onder behandeling zijn van systemische corticoiden, zuurstof krijgen via een open systeem (Graad C).

UZLeuven: De arts beslist of een zweettest kan worden uitgevoerd bij de patiënt. De MLT let op de afwezigheid van eczema.

- De klinische indicaties voor het uitvoeren van een zweettest worden gegeven in [Bijlage 2](#) (Graad C). **UZLeuven:** de meest voorkomende indicaties die aanleiding geven tot het aanvragen van een zweettest zijn vermeld in [Bijlage 1](#). Deze zijn ook allen terug te vinden onder deze voorgeschreven door NCCLS (cfr. [Bijlage 2](#)). De prevalentie van 2,2% CF in de UZ-onderzoekspopulatie, wijst

enerzijds op een relatief gericht aanvragen van de zweettest (prevalentie CF in België <0,01%), maar benadrukt anderzijds ook het breed fenotypisch spectrum van CF.

4.3 Zweet collectie

= Wescor *Macroduct* of Gibson en Cooke pilocarpine iontoforese (gaas of filtreerpapier)

- De zweetcollectie vindt plaats op de flexor oppervlakte van om het even welke voorarm. (Graad C)
UZLeuven: dit staat nauwkeurig vermeld in de handleiding van de MLT. Een beschrijving van de praktische uitvoering van de zweettest vindt u in [Comment 1.1.2.](#) .
- Het is voldoende om bij elke aanvraag één zweetcollectie uit te voeren (Geen graad).
UZLeuven: per aanvraag: één collectie
- De stroom moet geleverd worden door batterijen en bevat een veiligheids cutout (Graad C).
UZLeuven: Bij de speciaal geconstrueerde stroombronnen wordt de stroom gegenereerd door heroplaadbare batterijen. De stroomsterkte wordt constant gehouden en is gelimiteerd op 1.5 mA.
- Onderhoud van het materiaal moet voldoen aan Accreditatie-richtlijnen (Graad C)
UZLeuven: **onderhoud iontoforese stroombron: Logboek wordt opgesteld met**
Dagelijks onderhoud:
 - **komt de aanduiding van de schaal overeen met de ingestelde stroom (mA)**
 - **controle veiligheidsmarge op 1.5 mA**
 - **controle van de elektroden: volledig geïsoleerd, geen ‘naakte’ snoeren.****Jaarlijks onderhoud:**
 - **schaalverdeling stroombronnen controleren aan de hand van geijkte stroommeters.**onderhoud Chloride analyzer 925 en vlamfotometer: vastgelegd in het logboek.
- Het gebruik van waterige elektrolyet-oplossingen, die Pilocarpine-nitraat bevatten aan een concentratie van 2-5 g/L, wordt aanbevolen aan beide elektroden (Graad B).
UZLeuven: zowel de kathode en de anode worden aangebracht op een gaasje doordrenkt met 0.4% m/v Pilocarpine nitraat oplossing.
- iontophoresis: na het aanbrengen van de elektroden op de gazen gedrenkt in elektrolyetoplossing, moet een stroom van 0.5 mA worden aangebracht, die geleidelijk wordt opgedreven naar een max. van 4 mA. Deze stroomsterkte moet gedurende minimum 3 en maximum 5 minuten worden aangehouden (Graad B).
UZLeuven: iontoforese: start 0.5 mA en geleidelijk naar 1.5 mA, en aangehouden gedurende 10 minuten. Deze waarden zijn gebaseerd op klinische ervaring, gevalideerd met een laag percentage aan slechte zweetcollecties (zie verder 5.6%).
- Gedurende de collectie moet het zweet beschermd worden tegen mogelijke contaminatie en evaporatie (Graad C).
UZLeuven: het afname-gaasje wordt met een pincet aangebracht op de plaats waar de positieve pool werd aangebracht. Hierna wordt het bedekt met Nesco-film en rondom afgesloten met Tegaderm 3M.
- Het zweet moet gecollecteerd worden gedurende niet meer dan 30 minuten en niet minder dan 20 minuten (Graad B).
UZLeuven: collectietijd bedraagt tussen 30-45 min. Algemeen werd aangetoond dat een collectietijd van meer dan 30 min kan resulteren in een vals negatief resultaat (namelijk collectie enkel bij de piekzweetsecretie en niet van gedilueerd zweet). **Best is de MLT te benadrukken een collectietijd van 30 min in acht te houden. De werkbladen van zweettesten worden aangevuld met tijdstip van start en einde van de zweetcollectie en de SOP zal ook worden aangepast. Hiernaast is tevens een lichte wijziging vereist in het tijdschema van de afspraken voor zweettesten. De klinici zouden strenger toekijken op het stipt naleven van de afspraken en opdat de patiënt de afdeling niet verlaat gedurende de zweetcollectie.**

4.4 Zweet analyse

- Voor het afwegen moet steeds dezelfde balans worden gebruikt, met een gevoeligheid tot op 0.001g (Graad C).

UZLeuven: balans toxicologie (LA01070) met gevoeligheid 0.01 mg. Kwaliteitscontrole wordt genoteerd in het LOG-boek. Eénmaal per jaar wordt de balans door de firma gecontroleerd en gecalibreerd, wat bevestigd wordt met een certificaat.

- Definitie van een adequaat zweetstaal: De mate van zweetsecretie gemeten als een gemiddelde snelheid gedurende de collectieperiode mag niet minder zijn dan $1\text{g/m}^2/\text{min}$. Collecties onder deze grenswaarde mogen niet geanalyseerd worden en de gehele zweettest moet herhaald worden (Graad B).

UZLeuven: minimum gewicht= 60 mg

- Zweetchloride moet gemeten worden. Zweet Na^+ mag niet het enige en primaire analiet zijn dat gemeten wordt. De meting van het K^+ -gehalte in het zweet is niet aangeraden (Graad B).

UZLeuven: Zowel de concentraties aan Cl^- , Na^+ als K^+ worden bepaald. **De bepaling van het K^+ -gehalte is niet aangeraden, wordt niet gehanteerd in kliniek en is tevens niet vereist voor terugbetaling door het RIZIV (cfr. Comment 2.1). Het heeft dus geen zin om het K^+ -gehalte in het zweet te bepalen.**

- Voor de analyse van zweetchloride zijn colorimetrie, coulometrie en ISE goede methoden. Vlamfotometrie of ISE zijn goede methoden voor de analyse van zweetnatrium (Graad B).

UZLeuven: Cl^- wordt de dag van de afname bepaald aan de hand van coulometrie. Na^+ en K^+ worden éénmaal om de 2 weken bepaald aan de hand van vlamfotometrie. De bepaling van Cl^- a.d.h.v. ISE elektroden is in 2001 uitgetest, maar gaf geen goede resultaten. De eventuele kostbesparing door de bepaling van Na^+ m.b.v. ISE-elektroden uit te voeren, zal hoogstwaarschijnlijk verloren gaan in de extra calibraties die vereist zijn (cfr. compensatorwaarde voor plasma).

- Op het resultatenrapport dient vermeld te zijn: volledige patiënt identificatie; datum en tijdstip van de test, datum en tijdstip van het rapport; zweet gewicht/volume en minimum gewicht/volume accepteerbaar voor locale zweettest parameters; analytische resultaten (in mmol/L), met expliciete vermelding van de bepalingen die zijn uitgevoerd (Cl^- , Na^+); referentie-intervallen; interpretatie van de resultaten; aanbevelingen voor een herhaling (Graad C).

UZLeuven: resultaten worden ingevoerd in het LIS-systeem. Op het rapport verschijnen de patiënt- en testidentificatie. **Het zou wel interessant zijn het rapport aan te vullen met meer directe interpretaties (cfr. 4.6).**

4.5 Kwaliteit

- De analytische methoden die gebruik worden moeten volledig gedocumenteerd zijn als SOP. Deze laatste omvat de analytische methoden, procedures van kwaliteitscontroles, rapporteren van de resultaten, interpretatie van resultaten en veiligheidsaspecten (Graad C).

UZLeuven: SOP ter beschikking op de werkpost. **Aan een update wordt gewerkt.**

- Voor elke analyse moet er een iQC bestaan bij 2 concentraties (normaal en intermediair of abnormaal). De analytische methoden moeten elk een between run CV kennen $\leq 5\%$ bij een concentratie van 40-50 mmol/L (Graad B).

UZLeuven: Voor de Cl^- -bepaling is er een home made (HM) iQC van 25 mmol/L en 45 mmol/L, met resp. een CV van 1.98% en 1.38%; voor de Na-bepaling HM iQC van 20 mmol/L en 60 mmol/L, met resp. CV van 6.13% en 2.94%; voor de K-bepaling HM iQC van 10 mmol/L en 30 mmol/L, met resp. CV van 5.18% en 2.91%. De CV's werden bekomen met de QC-materialen, opgebracht op een afnamegaasje en verwerkt zoals een patiëntstaal (n=41).

- Het laboratorium dient deel te nemen aan een geschikt extern kwaliteitscontrole schema (Graad C).

UZLeuven: Een eQC is hier gericht op de controle van de analyse van het zweetstaal. **Er wordt geïnformeerd naar het bestaan van een geschikt eQC schema voor de zweettest.**

- Indien de Cl^- en Na^+ -concentraties sterk afwijken, dient de test te worden herhaald. Resultaten die niet fysiologisch zijn (nl. Cl^- of $\text{Na}^+ > 150\text{ mmol/L}$) moeten eveneens in vraag worden gesteld.

UZLeuven: de arts beoordeelt zelf de resultaten.

- Slechte zweetcollectie (d.i. onvoldoende gewicht of volume) mag niet meer voorkomen dan 10% van de geteste populatie (zonder herhaalde testen uitgevoerd op zieke/zeer jonge patiënten) (Graad C).

UZLeuven: $24/429 = 0.056 = 5.60\% < 10\%$.

- De performantie van de zweettest moet op regelmatige basis gecontroleerd worden en dit op basis van eQC, % slechte zweetcollecties, % buiten de QC acceptatie-limieten (=analytical failure rate) (Graad C).

UZLeuven: de analytische validatie van de Cl⁻-bepaling en Na⁺-bepaling vindt plaats aan de hand van iQC. Een visuele interpretatie van de iQC werd geactiveerd in het Exceed, met gemiddelde iQC-waarden en CV% bepaald uit iQC-waarden van 22/07/2003-13/01/2004.

4.6 Interpretatie van de resultaten

- De volgende definities worden aanbevolen voor interpretatie van de zweetCl⁻-resultaten:
 - Een zweetchloride concentratie van > 60 mmol/L ondersteunt de diagnose van CF (Graad B).
 - Een intermediaire chloride concentratie van 40-60 mmol/L is suggestief, maar niet diagnostisch voor CF (Graad B).
 - Een zweetchloride concentratie van minder dan 40 mmol/L is normaal en er is een lage probabiliteit voor CF (Graad B).
 - Na⁺ mag niet geïnterpreteerd worden zonder chloride resultaat (Graad B).
 - De waarde van de Cl/Na-verhouding in het onderscheiden van CF-patiënten is heden ten dagen nog onduidelijk.

UZLeuven: er wordt gebruik gemaakt van grenswaarden van een intermediaire chloride concentratie van 30-60 mmol/L. Deze zullen worden behouden, cfr. voor argumentatie [Bijlage 15](#) en [Comment 1.1.3.](#)

4.7 Verdere onderzoeken

- Een herhaalde zweettest is aanbevolen wanneer het resultaat van de zweettest niet overeenstemt met het klinisch fenotype en /of genotype (Graad B).

UZLeuven:	niet-CF patiënten:	19 waarvan 2 ^{de} aanvraag 1 waarvan 3 aanvragen tijdsduur tussen de ≠ aanvragen: 1-21 dagen
	CF-patiënten:	3 waarvan 2 ^{de} aanvraag 1 waarvan 3 aanvragen tijdsduur tussen de ≠ aanvragen: 3-228 dagen

OPM: heraanvragen resulteerden nergens in wijziging van diagnosestelling.

- Mutatie analyse kan een nuttige diagnostische test zijn, voornamelijk bij patiënten met een mild of atypisch fenotype waarbij de zweetchloride-concentratie intermediair is (Graad B).

UZLeuven: Mutatie-analyse wordt steeds aangevraagd, gezien het groeiende belang in de evaluatie van atypische CF. Cfr. [Comment 1.1.2.](#)

4.8 Verantwoordelijkheid voor het testen en opleiding

- De zweettest moet uitgevoerd worden door gekwalificeerd en ervaren biomedische of klinische wetenschappers (Graad C).

UZLeuven: 4 specifieke MLT's zijn aangesteld voor het uitvoeren van de zweettesten.

- Een minimum aantal van 50 zweettesten/jaar moeten in het centrum worden uitgevoerd (Graad C).

UZLeuven: 429 aanvragen in de periode januari 2002 t.e.m. juni 2003.

- Een minimum aantal van 10 zweetcollecties moeten per jaar per persoon worden uitgevoerd.

UZLeuven: Elke MLT doet gemiddeld 71 zweettesten per jaar (minimum 45).

To Do

1. Opstellen van een algemene informatieblad, aangepast aan het UZLeuven, voor patiënten en ouders van de patiënten die een zweettest moeten ondergaan, en voorleggen aan de kliniek.
2. Opstellen van een LOG-boek voor de stroombron.
3. Aanvullen van de SOP, voornamelijk inzake 30 min collectietijd van het zweetstaal. Dit vereist tevens een lichte aanpassing van het tijdschema van de afspraken voor zweettesten, net als een aanvulling van het werkblad van de MLT met tijdstip van start en einde zweetcollectie.
4. Uitzoeken van een geschikt eQC programma voor de analyse van Cl⁻ en Na⁺ in zweet.
5. Afschaffen van de K⁺-bepaling en aanpassen boortabellen.
6. Op de protocols directe interpretaties van de resultaten aangeven, maar de Cl⁻-grenswaarden van 30 en 60 mmol/L blijven behouden.

Comments

1. Huidige situatie in UZLeuven

1.1 Zweettest

1.1.1 Aanvragen

De zweettesten worden afgenomen op afspraak, elke dinsdag en vrijdag, met max. 8 afspraken per dag (4 in de voormiddag voor gehospitaliseerde patiënten en 4 in de namiddag voor ambulante patiënten). De Cl⁻-bepaling gebeurt steeds de dag van de zweettest; de Na⁺- en K⁺-bepaling max. na 2 weken.

1.1.2 Werkwijze

In het laboratorium maakt de MLT de speciale werkbladen klaar, waarop de patiëntengegevens en de gegevens i.v.m. het staal worden genoteerd. Per patiënt wordt een afnamebuisje geïdentificeerd. Met behulp van een droge, zuivere pincet wordt een afnamegasje in het buisje geplaatst, dat afgesloten wordt met een dopje. Het geheel wordt afgewogen, en het totaal gewicht in gram, wordt op de werkbladen genoteerd. Per reeks patiëntenstalen worden ook twee buisjes voor de controles voorzien. De stroombron voor de iontoforese bevindt zich op de afdeling: 'Consultatie pediatrie: lokaal longfunctie'. De MLT gaat deze ophalen en a.d.h.v. een karretje gaat hij/zij ermee naar de patiënt. De binnenkant van een voorarm van de patiënt wordt afgekuist met een gasje, gedompeld in gedistilleerd water, en vervolgens goed afgedroogd. Twee gewone gasjes worden ondergedompeld in de 0.4% pilocarpine-oplossing (Petri-schaaltje) en uitgewrongen. Ze worden op elkaar aangebracht op de voorarm en de electrode verbonden met de positieve pool van de stroombron (rode draad) wordt er bovenop bevestigd, zodat de gasjes geklemd zitten tussen de huid en de electrode. Er mag geen direct contact zijn tussen een electrode en de huid! Hoger op dezelfde arm wordt hetzelfde gedaan, met een tweede paar gasjes, ook gedompeld in de pilocarpine oplossing, doch ditmaal met de electrode verbonden met de negatieve pool (zwarte draad). De elektroden worden onder spanning gezet, door de stroomsterkte geleidelijk op te voeren tot 1.5 mA. Deze waarde wordt gedurende 10 minuten aangehouden en vervolgens geleidelijk afgezet. De elektroden en gasjes worden verwijderd en de onderliggende huid wordt afgekuist met een vers gasje gedompeld in gedistilleerd water en vervolgens afgedroogd met een ander gasje. Indien er duidelijk irritatie is opgetreden, dient de zweettest te worden stopgezet en wordt de aanvragende arts erbij gehaald.

Op de plaats waar de positieve pool is geweest, wordt nu een afname-gasje aangebracht zonder het gasje of de huid rechtstreeks aan te raken. Het geheel wordt bedekt met Nescofilm en rondom afgesloten met Tegaderm 3M, zodat er geen verdamping van het zweet kan plaatsvinden. Het geheel wordt nog eens beveiligd met verband.

Na minimum 20 en maximum 30 minuten (=aanpassing huidige SOP) wordt het afname-gasje verwijderd en overgebracht in het oorspronkelijke buisje, dat onmiddellijk wordt dichtgedraaid, om af te schermen van de lucht. Het geheel wordt opnieuw gewogen en het gewicht wordt met vier cijfers na de komma genoteerd. Er moet minstens 60 mg zweet zijn gecollecteerd, anders is de betrouwbaarheid van de test onvoldoende.

Het gasje wordt vervolgens geëluëerd met 1.5 mM CsCl, met een dusdanige hoeveelheid dat het zweet 20 keer wordt verdund. De hoeveelheid CsCl wordt nauwkeurig bij het gasje gepipetteerd, en het zweet wordt geëluëerd door het een tiental minuten te laten staan en een aantal keren goed te schudden of te vortexen. De bepaling van Cl⁻ gebeurt op basis van coulometrie. De bepaling van Na⁺ en K⁺ gebeurt aan de hand van vlamfotometrie.

1.1.3 Zweettestresultaten 2002- juli 2003.

A. CF suggestief vanaf 30 mmol/L

Zweetchloride	Cystische fibrose		Totaal
	Ja	Nee	
≥ 60 mmol/L	6	1	7
30-60 mmol/L	3	20	23
< 30 mmol/L	0	373	373
Totaal	9	394	403

Prevalentie CF= 9/403 = 0.022 = 2.2%

Diagnostische waarden :

	Diagnose CF= Cl ⁻ ≥ 60 mmol/L	Diagnose CF= Cl ⁻ ≥ 30 mmol/L
Sensitiviteit	6/9 = 0.667 = 66.7%	9/9 = 1 = 100%
Specificiteit	393/394 = 0.997 = 99.7%	373/394 = 0.947 = 94.7%
Positief Predictieve Waarde	6/7 = 0.857 = 85.7%	9/30 = 0.30 = 30.0%
Negatief Predictieve Waarde	393/396 = 0.992 = 99.2%	373/373 = 1 = 100%
Positieve Likelihood Ratio	222.3	18.86
Posterior probability + test	0.86	0.3
Negatieve Likelihood Ratio	0.3	0
Posterior probability - test	0.01	0

B. CF suggestief vanaf 40 mmol/L

Zweetchloride	Cystische fibrose		Totaal
	Ja	Nee	
≥ 60 mmol/L	6	1 [*]	7
40-60 mmol/L	2 [§]	1 ^{**}	3
< 40 mmol/L	1	392	393
Totaal	9	394	403

* vals positief resultaat (128 mmol/L): pseudo-hypoaldosteronisme

** vals positief resultaat (52 mmol/L): Takayashu arthritis

§ met zweetchloride= 50 mmol/L; 56 mmol/L

Prevalentie CF= 9/403 = 0.022 = 2.2%

Diagnostische waarden :

	Diagnose CF= Cl ⁻ ≥ 60 mmol/L	Diagnose CF= Cl ⁻ ≥ 40 mmol/L
Sensitiviteit	6/9 = 0.667 = 66.7%	8/9 = 0.889 = 88.9%
Specificiteit	393/394 = 0.997 = 99.7%	392/394 = 0.995 = 99.5%
Positief Predictieve Waarde	6/7 = 0.857 = 85.7%	8/10 = 0.80 = 80%
Negatief Predictieve Waarde	393/396 = 0.992 = 99.2%	392/393 = 0.997 = 99.7%
Positieve Likelihood Ratio	222.3	177.8
Posterior probability + test	0.86	0.8
Negatieve Likelihood Ratio	0.3	0.1
Posterior probability - test	0.01	0

1.2 CFTR-mutatie analyse

1.2.1 Principe

Op Centrum van Menselijke Erfelijkheid gebruikt men de INNO-Lipa CFTR assay. Gebaseerd op het principe van reverse hybridisatie worden 29 CF-gerelateerde mutaties (cfr. [Bijlage 12](#)), en hun wild type sequenties gedetecteerd en geïdentificeerd. Ook is het Tn polymorfisme geïncorporeerd om te helpen bij de CBAVD diagnose.

1.2.2 Resultaat CFTR-mutatie analyse mucopatiënten 2002- juli 2003

Zweetchloride	CFTR-mutatie analyse			Totaal
	CF-mutatie/CF-mutatie	CF-mutatie/X [*]	X [*] /X [*]	
≥ 60 mmol/L	3	3	0	6
30-60 mmol/L	2	0	1	3
< 30 mmol/L	0	0	0	0
Totaal	5	3	1	9

* Met X geen mutatie aantoonbaar (=een onbekende of niet gescreende mutatie of afwezigheid van mutatie).

Op te merken is dat bij de 3 CF-patiënten met een randnormale zweetchloride waarde, voor 1 de diagnose van CF niet gesteld kan worden op basis van de CFTR-mutatie analyse.

2. Kostprijs zweettest

2.1 Nomenclatuur zweettest

Zweettest door ionoforese met doseren van natrium en chloriden op dezelfde afname:

545753 DI A 13,60 H 54,40 M-1
545764 SO 45,70 B 2000

Dus enkel terugbetaling indien zowel Cl⁻ als Na⁺-bepaling plaatsvinden op het staal, en slechts één bepaling per afname, en één afname per patiënt.

Merk dus op dat de K⁺-bepaling niet vereist is voor de RIZIV-terugbetaling van de zweettest.

2.2 Boortabellen zweettest UZLeuven

Codex	AWS	Productname	Marginal cost/test	Total cost/test	Te factureren prijs*
807	Zweettest	Cl-gehalte zweet gemeten	36.73	38.96	42.37
807	Zweettest	K-gehalte zweet gemeten	36.73	39.63	42.37
807	Zweettest	Na-gehalte zweet gemeten	36.73	39.63	42.37

Op te merken valt dat een zweettest dus in de boortabellen wordt opgesplitst in zijn 3 deelcomponenten: de Cl⁻, Na⁻, en K-bepaling.

De marginale cost-berekening per test bestaat ruwweg uit de kosten per test aan materiaal (= total consumable cost, deze is hetzelfde 6.41 per test), samen met de loonkosten van de MLT en logistiek per test (Total TU + LOG cost).

OPM 1: Indien de bepaling van het K-gehalte in zweet wordt weggelaten, moet dit in de boortabellen worden aangepast.

OPM 2: Voor de 3 onderdelen van de zweettest wordt een totale testduur van 40 min in rekening gebracht, dus in totaal 120 min (=2u/test). Aangezien het mogelijk is om 8 testen per dag aan te vragen is een tijdsduur van 2u/test waarschijnlijk te veel. De exacte tijdsduur van een globale zweettest werd bepaald, en deze bedraagt (incl. staalvoorbereiding, looptijd, labobepaling Cl⁻, excl. tijd van zweetcollectie= idle time) 62 min. Indien deze testduur in rekening wordt gebracht, bekomt men een total cost/test van 28 euro, dus een totale te factureren prijs van 84 euro i.p.v. de vorige 127.11 euro.

Bijlagen

Bijlage 1: Fenotypische kenmerken consistent met de diagnose van CF (Proesmans M. in De Boeck K., 1999).

Bovenste luchtwegen	- neuspoliepen - chronische sinusitis
Lagere luchtwegen	- chronische luchtweginfecties met Pseudomonaskolonisatie
Gastro-intestinaal	- meconium ileus - distaal intestinaal obstructiesyndroom - pancreasinsufficiëntie met malabsorptie - rectale prolaps
Andere	- sub- of infertiliteit

Bijlage 2: Indicaties voor zweettest (NCCLS C34-A2, 2000).

Pulmonary and Upper Respiratory Tract Indications	Gastrointestinal Indications	Metabolic and Other Indications
Chronic cough Recurrent or chronic pneumonia Wheezing* Hyperinflation* Tachypnea* Retractions* Atelectasis (especially of the right upper lobe) Bronchiectasis Hemoptysis Mucoid pseudomonas infection Nasal polyps Pansinusitis Digital clubbing	Meconium ileus Meconium plug syndrome Prolonged neonatal jaundice Steatorrhea Rectal prolapse Mucoid impacted appendix Late intestinal obstruction Recurrent intussusception Cirrhosis Portal hypertension Recurrent pancreatitis	Positive family history Failure to thrive Salty taste to skin Salt crystals on skin Salt-depletion syndrome Metabolic alkalosis Hypoprothrombinemia Vitamin A deficiency (bulging fontanelle is a key sign) Azoospermia Absent vas deferens Scrotal calcification Hypoproteinemia Edema

* If present or refractory to usual therapy

Bijlage 3: Diseases other than CF associated with an elevated sweat electrolyte concentration (NCCLS C34-A2, 2000).

Anorexia nervosa	Klinefelter's syndrome
Atopic dermatitis	Long-term PGE1 infusion
Autonomic dysfunction	Mauriac's syndrome
Ectodermal dysplasia	Mucopolysaccharidosis type I
Environmental deprivation	Nephrogenic diabetes insipidus
Familial cholestasis	Nephrosis
Fucosidosis	Protein calorie malnutrition
Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency	Pseudohypoaldosteronism
Glycogen storage disease : type I	Psychosocial failure to thrive
Hypogammaglobulinemia	Untreated adrenal insufficiency
	Untreated hypothyroidism

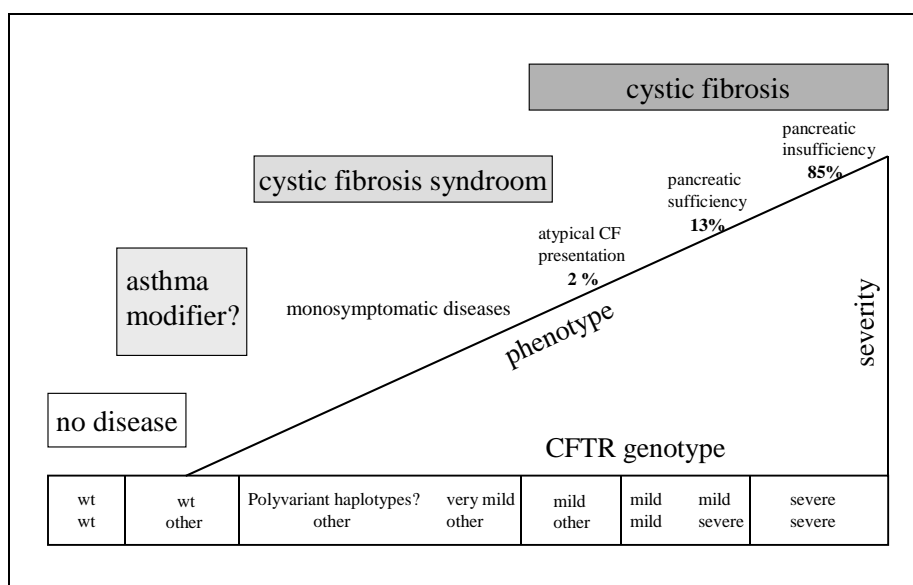
Bijlage 4: Classification Scheme for CFTR mutations (Zielenski J., 2000).

Mutation Class	Effect of Mutation on CFTR Protein	Mechanisms
I	Defective Protein Synthesis	Nonsense, frameshift, or splice-junction mutations
II	Abnormal Processing and Trafficking	Missense mutations, amino acid deletions
III	Defective Regulation	Missense mutations
IV	Decreased Conductance	Missense mutations
V	Reduced Synthesis/Trafficking	Missense mutations
VI	Decreased Stability	Nonsense, frameshift mutations

Bijlage 5: Population variation of 24 common cystic fibrosis mutations : Caucasian (Belgium) (Cuppens H., 1993; <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>).

Mutatie	Aantal	Mutatie	Aantal
G85E	0	S549N	0
R117H	0	G551D	0
621+1G→T	0	R553X	0
7111+1G→T	0	R560T	0
1078delT	0	1898+1G→A	0
R334W	0	2184delA	0
R347P	0	2789+5G→A	0
A455E	2 (1%)	R1162X	0
ΔI507	1 (0.5%)	3659delC	1 (0.5%)
ΔF508	145 (72.5%)	3849+10kbC→T	0
1717-1G→T	5 (2.5%)	W1282X	2 (1%)
G542X	11 (5.5%)	N1303K	7 (3.5%)
Totaal aantal gevonden mutaties			174 (87%)
Totaal aantal gescreende CF-chromosomen			200

Bijlage 6: Spectrum van fenotypes geassocieerd met het CFTR gen (Zielenski J., 2000)



Bijlage 7: Characteristics of Patients According to CFTR-genotype (The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype consortium, 1993).

VARIABLE*	GENOTYPE									
	$\Delta F_{508}/\Delta F_{508}$	G542X/ ΔF_{508}	R553X/ ΔF_{508}	N1303K/ ΔF_{508}	W1282X/ ΔF_{508}	1717-IG→N/ ΔF_{508}	621+IG→T/ ΔF_{508}	R117H/ ΔF_{508}	X/X†	
No. of patients	399	148	52	60	17	30	51	23	18	
Male sex — no. (%)	216 (54)	85 (57)	25 (48)	33 (55)	7 (41)	19 (63)	28 (55)	12 (52)	7 (39)	
Age (yr) — mean ± SD	13.0±8.7	11.9±8.7	12.5±8.1	12.3±8.0	11.0±10.8	11.8±8.0	14.6±7.7	23.5±9.6‡	12.2±9.7	
<i>mean ± SD (no. studied)</i>										
Age at diagnosis — yr	1.7±3.0 (392)	1.6±3.1 (147)	1.7±2.7 (52)	1.5±2.7 (58)	4.0±9.9 (17)	2.0±4.4 (28)	0.8±1.1 (51)§	10.2±10.5 (23)‡	0.6±0.6 (16)	
Sweat chloride — mmol/liter	106±22 (328)	109±23 (128)	105±18 (46)	104±24 (56)	110±18 (13)	107±36 (26)	100±20 (22)	82±19 (20)‡	105±19 (16)	
FEV ₁ — % of predicted	70±27 (269)	67±27 (81)	64±25 (36)	69±24 (42)	75±26 (12)	68±26 (20)	73±26 (41)	73±22 (22)‡	70±25 (11)	
Shwachman clinical score ²⁵	75±17 (245)	74±19 (73)	79±12 (30)	72±19 (42)	79±13 (12)	71±20 (16)	75±19 (45)	81±14 (21)‡	76±17 (13)	
<i>no. positive/no. studied (%)</i>										
Pancreatic sufficiency	10/396 (2.5)	0/147 (0)§	1/51 (2.0)	0/59 (0)	0/16 (0)	1/30 (3.3)	1/51 (2.0)	20/23 (87.0)‡	1/17 (5.9)	
Pseudomonas colonization	210/377 (56)	58/138 (42.0)	33/50 (66.0)	29/55 (52.7)	14/17 (82.4)	14/29 (48.3)	32/51 (62.8)	7/23 (30.4)	7/17 (41.2)	
Meconium ileus	57/394 (14.5)	35/147 (23.8)	6/50 (12.0)	6/60 (10.0)	1/17 (5.9)	5/30 (16.7)	6/51 (11.8)	0/23 (0)	1/17 (5.9)	
Nasal polyps	49/313 (15.6)	18/114 (15.8)	5/34 (14.7)	8/52 (15.4)	6/15 (40)	4/29 (13.8)	9/43 (20.9)	5/18 (27.8)	0/16 (0)	
DIOS	40/309 (12.9)	23/111 (20.7)	3/36 (8.3)	7/51 (13.7)	2/15 (13.3)	1/29 (3.5)	9/47 (19.2)	3/17 (17.7)	1/16 (6.3)	

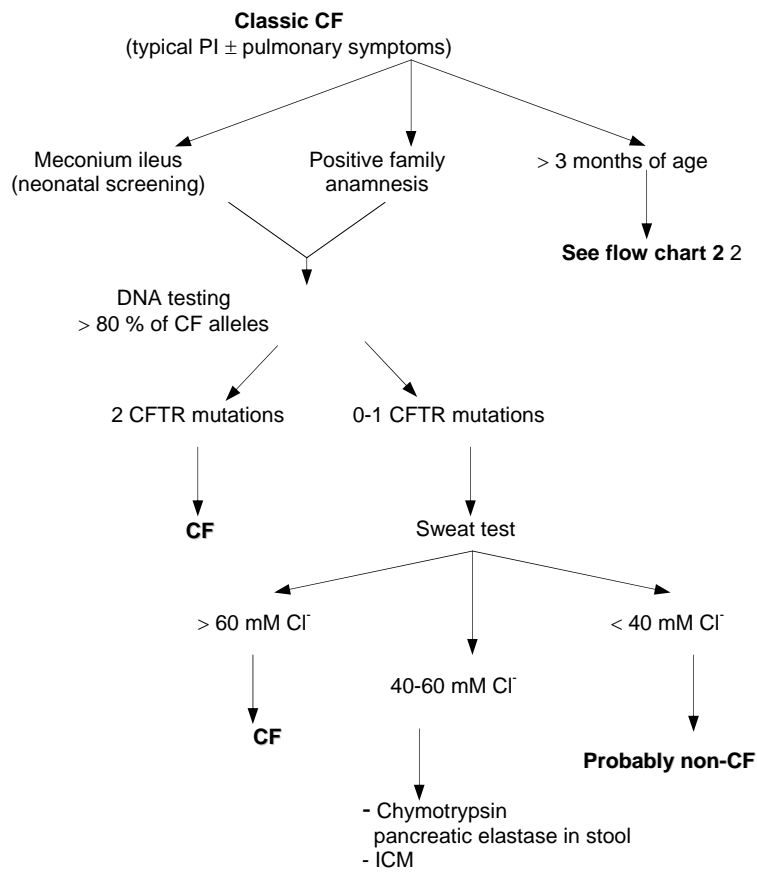
*FEV₁ denotes forced expiratory volume in one second, and DIOS distal intestinal obstruction syndrome.

†X/X indicates that the patient is a homozygote or compound heterozygote for G542X, R553X, or W1282X.

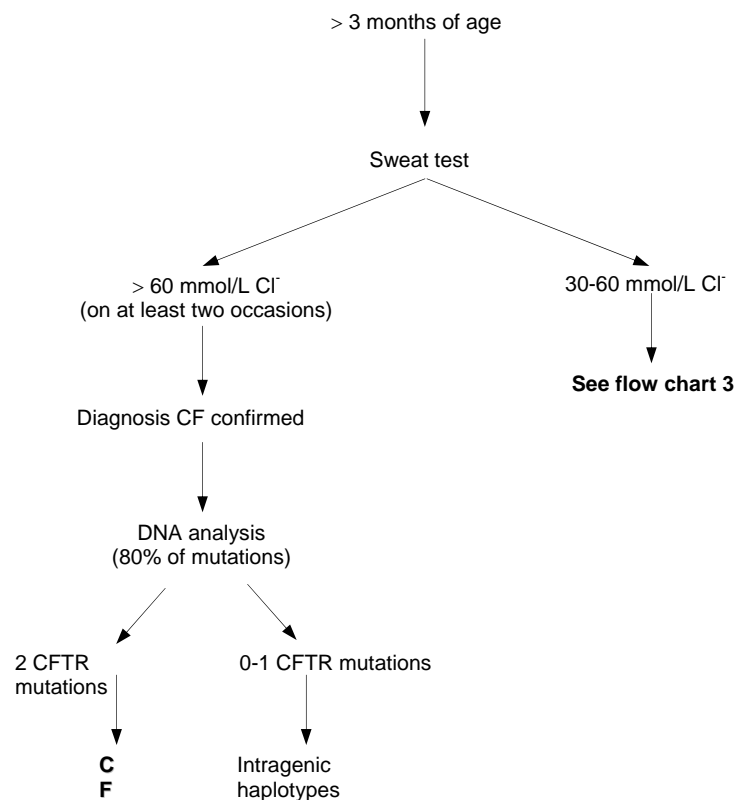
‡See Table 2 for a matched comparison with ΔF_{508} homozygotes with respect to this variable.

§P = 0.03 for a paired comparison with matched ΔF_{508} homozygotes.

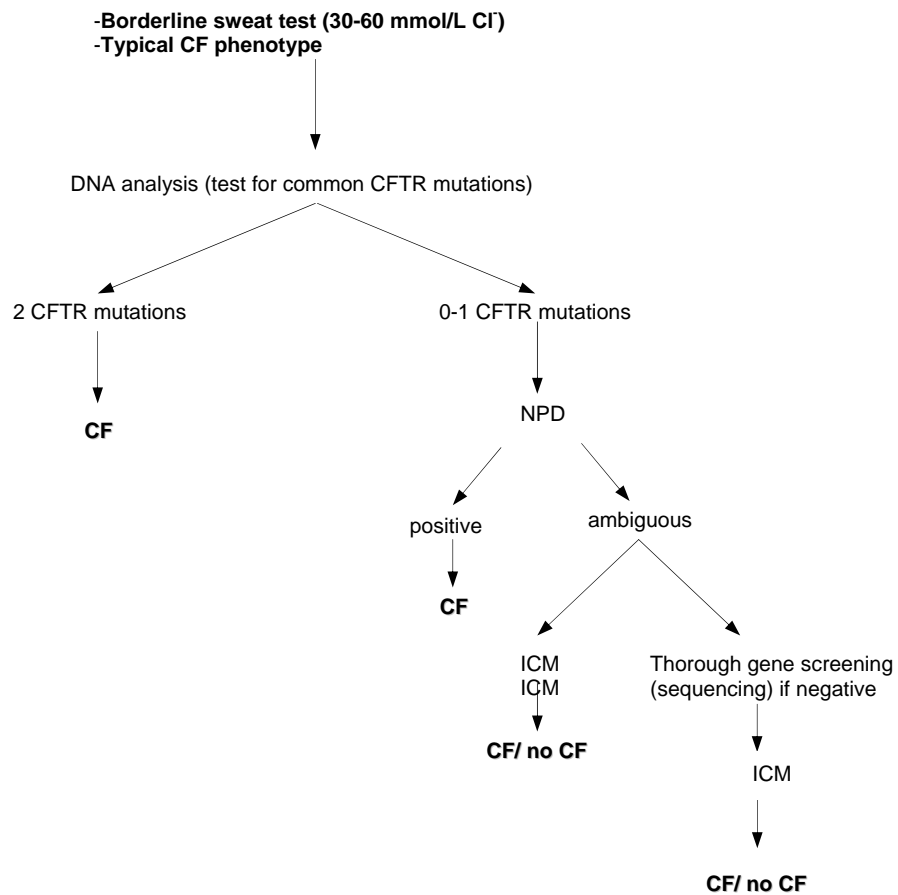
Bijlage 8: Classical CF in newborns (Dequeker E. *et al.*, 2000).



Bijlage 9: Classical CF in children, adolescents, or adults with typical symptoms (Dequeker E. *et al.*, 2000).

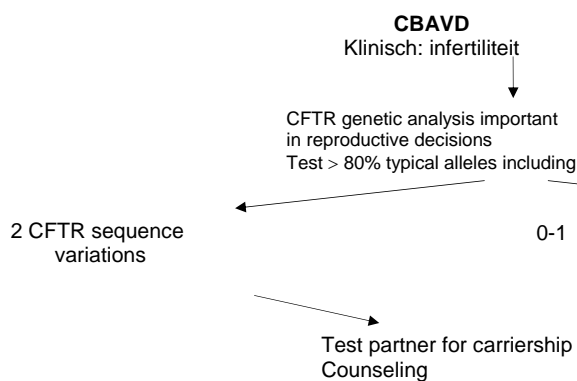


Bijlage 10: Children with typical CF symptoms but borderline sweat test (Dequeker E. *et al.*, 2000).

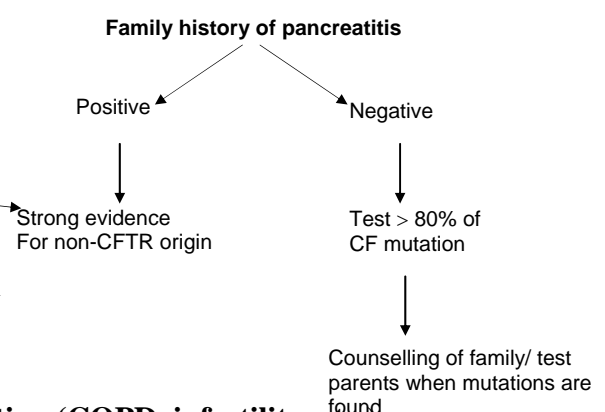


Bijlage 11: The current most appropriate procedure for CFTR testing for atypical CF (Dequeker E. *et al.*, 2000).

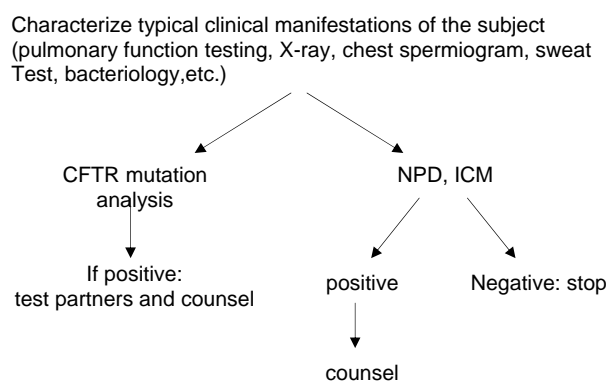
Congenital absence of vas deferens (CBAVD)



Pancreatitis in children



Other diseases with increase frequency of mutation (COPD, infertility, etc.)



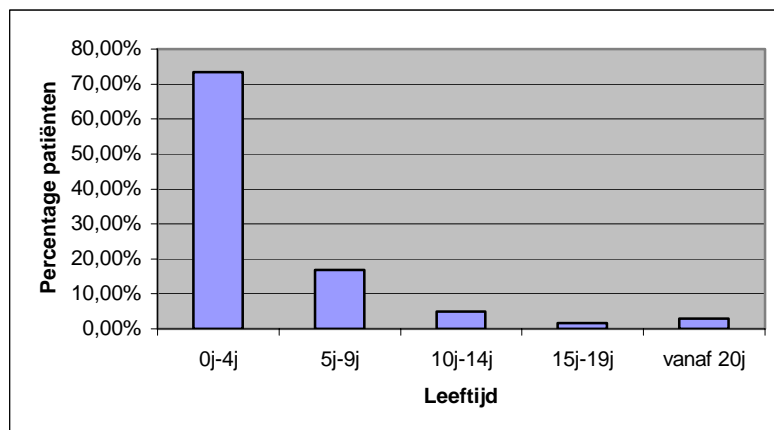
Bijlage 12: 29 mutaties en Tn polymorfisme gedetecteerd met de INNO-LiPA CFTR 12 en INNO-LiPA CFTR 17+Tn (Devos A. *et al.*, 1999).

Mutatie	Exon/intron
E60X, G85E, 394delTT	3
621+1G→T, R117H	(i)4*
711 + G→A	15
1078delT, R347P, R334W	7
A455E, Tn	(i8)9*
ΔF508, ΔI507	10
G542X, 1717-1G→A, G551D, R553X, R560T, Q552X	(i10)11*
2183A→G + 2184delA, 2143delT	13
2789+ 5G→A	i14b
R1162X, 3659delC	19
3849 + 10 kBC → T	i19
3905insT, W1282X, S1251N	20
N1303K	21

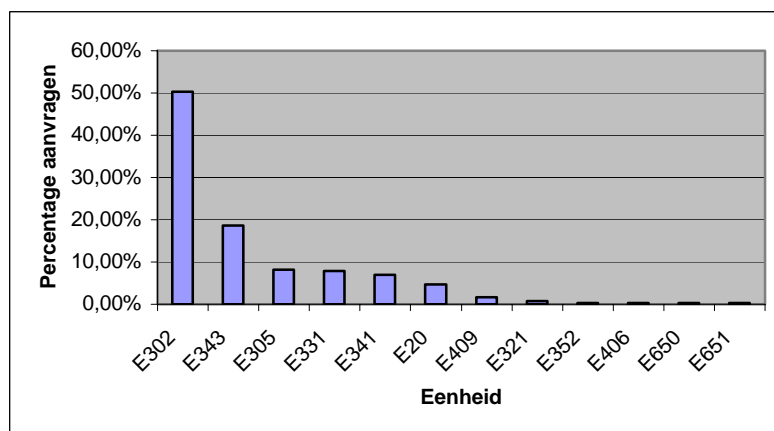
* Mutatie 621+1G→T (gelokaliseerd in intron 4) en mutatie R117H (gelokaliseerd in exon 4) worden geamplificeerd door dezelfde primer set. Dit is tevens het geval voor intron 8/9 exon 9 polymorfisme/mutatie en de intron 10/exon 11 mutaties.

Bijlage 13: Overzicht zweettesten 2002-juli 2003

1. Overzicht leeftijd van de patiënten



2. Overzicht voornaamste aanvragers



Bijlage 14: Proefschrift informatieblad zweettest, aangepast aan UZLeuven



ZWEETTEST:

Informatieblad voor patiënt en ouders

1. Wat is een zweettest?

Een zweettest bepaalt de hoeveelheid zout (meestal chloride) aanwezig in het zweet.

2. Waarom wordt een zweettest uitgevoerd?

De test wordt uitgevoerd bij kinderen of volwassenen die kampen met herhaalde luchtweginfecties, bij frequente en onverklaarbare bleke stoelgang, bij problemen van gewichtsverlies of onvoldoende groei of tengevolge van een screeningsprogramma. Er zijn ook andere, meer zeldzame indicaties voor een zweettest. Een positief resultaat kan betekenen dat u of uw kind cystische fibrose (CF) heeft, maar in de uiteindelijke diagnose wordt ook rekening gehouden met het klinische onderzoek en andere symptomen en testresultaten. Personen die lijden aan CF hebben een hoger gehalte aan zout in hun zweet. Het is belangrijk CF zo snel mogelijk te diagnosticeren om de gepaste behandeling te starten. Een normaal resultaat kan nuttig zijn voor het uitsluiten van CF.

3. Wie doet deze test?

Ervaren laboranten komen zelf bij de patiënt de zweettest uitvoeren en nemen na de test het zweetstaal mee naar het laboratorium.

4. Doet de test pijn?

Sommige personen ervaren een tintelend gevoel op de arm tijdens de zweetstimulatie. Er worden geen naalden gebruikt bij de test.

5. Hoe wordt de test uitgevoerd?

De laborant legt 2 gaasjes op uw voorarm. Deze zijn gedrenkt in een chemische substantie die de zweetproductie stimuleert. Op de gaasjes worden speciale elektroden vastgehecht, waarna een lichte elektrische stroom wordt aangelegd, die het zweetproces verder stimuleert. De test is niet pijnlijk, maar u kan wel een licht tintelend gevoel waarnemen. Deze elektroden blijven gedurende 10 minuten ter plaatse en worden dan verwijderd. De huid ziet waarschijnlijk een wat rood, daar waar de zweetstimulatie heeft plaatsgevonden. Dit is een normaal fenomeen en zal spontaan verdwijnen na een paar uur. De huid wordt vervolgens zorgvuldig gewassen met zuiver water en gedroogd. Op de plaats van zweetstimulatie brengt de laborant een droog gaasje aan, dat nauwkeurig wordt afgedekt. Dit gaasje zal u gedurende 30 minuten ter plaatse moeten laten, zodat voldoende zweet wordt geabsorbeerd. Gedurende deze tijd bent u of uw kind vrij om te lezen (spelen) (of eten, maar vermijd zout eten zoals frieten en chips, om het risico op contaminatie te beperken. Hierna wordt het gaasje verwijderd en meegenomen naar het laboratorium voor verdere analyse.



6. De resultaten

Meestal is het resultaat duidelijk aan de hand van ofwel een hoge ofwel een lage concentratie aan zout in het zweet. Soms is het resultaat echter randnormaal en moet de test herhaald worden. In uitzonderlijke gevallen moet de test om technische redenen herhaald worden, bv. indien er onvoldoende zweet werd verzameld. De meeste dokters zullen ook een abnormale zweettest bevestigen met een tweede zweettest.

7. Hoelang duurt het voordat de resultaten beschikbaar zijn?

Maximum twee weken na de afname van de zweettest zijn de resultaten beschikbaar.

8. Van wie hoor ik de resultaten?

De resultaten zullen u bekend gemaakt worden door de behandelende arts. Hij/zij krijgt de resultaten van het laboratorium zodra ze gekend zijn.

9. Verdere vragen?

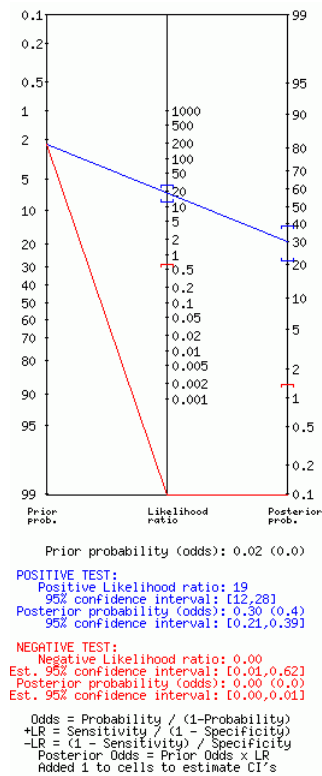
Voor verdere vragen over CF, kan u steeds terecht bij de behandelende arts.

Met vragen over de zweettest, zal de laborant die de test afneemt, u graag verder helpen.

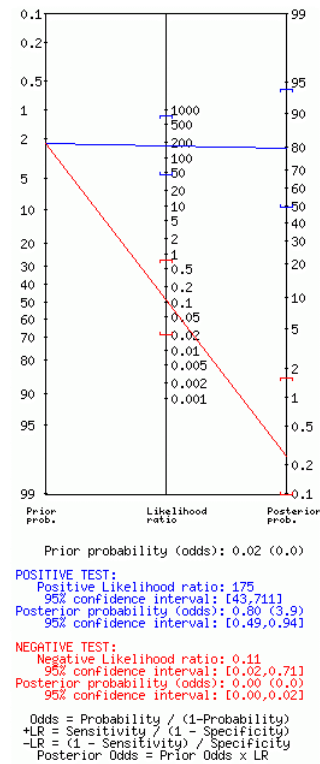
Bijlage 15: Validatie grenswaarde CF suggestief ≥ 30 mmol/L

1. Diagnostische waarden grenswaarde ≥ 30 mmol/L versus ≥ 40 mmol/L

Grenswaarde ≥ 30 mmol/L



Grenswaarde ≥ 40 mmol/L



2. Lebecque P. *et al.* Am J Respir Crit Care Med 2002 ; 165 : 757-761.

- Review van 2349 zweettestresultaten uitgevoerd in UZLeuven en Cliniques Universitaires Saint-Luc.
- Prevalentie intermediaire CI-resultaten 4.2% (98 patiënten)
- 43 van deze 98 patiënten (63%) werden opgespoord en werden onderworpen aan CFTR-mutatie-analyse
- Bij 10 van deze 43 patiënten (23.3%) werden 2 CFTR-mutaties teruggevonden. Biologische data van deze 10 patiënten zijn hieronder in de tabel weergegeven. 6 van de 10 patiënten kent een CI—concentratie ≥ 30 mmol/L, doch < 40 mmol/L.

Patient No.	Age at First Sweat Test (yr)	Cl ⁻ in Sweat (mM)	Nasal Potential (mV)		Bacteriology (Throat Swab or Sputum Culture)	Genotype
			PDmax	Δ Iso + Cl ⁻ free		
1	2.5	34	-15	-7*	<i>Staphylococcus aureus</i>	Δ F508/D1152H
2	2.8	36	-21	-10	—	Δ F508/R117H, 7T
3	0.3	33	ND	ND	—	Δ F508/R117H, 7T
4	0.7	43	-51*	-7*	<i>S. aureus</i>	S977F, 5T/2789 + 5G→A
5	0.1	39	-16	-4*	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>S. aureus</i>	Δ F508/R117C
6	0.1	37	-48*	-9*	<i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i>	Δ F508/R117C
7	0.7	48	-15	-12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	R553X/R117H, 7T
8	6	34	-30	-10	<i>H. influenzae</i>	5T/5T
9	7	45	-24	-15	<i>S. aureus</i>	Δ F508/S1235R
10	9.5	45	-47*	-11	<i>P. aeruginosa</i>	Δ F508/D1152H

Definition of abbreviations: PDmax = maximum basal nasal potential difference; Δ Iso + Cl⁻ free = cumulative change in PD after perfusion with chloride-free solution plus isoproterenol in the presence of amiloride.

* Data consistent with a diagnosis of cystic fibrosis.