

IL TEST DEL SUDORE

RACCOMANDAZIONI PER UNA CORRETTA ESECUZIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI (Terza Edizione)

Gruppo di Lavoro
della
Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica

Queste Raccomandazioni sono state formalmente valutate ed approvate da:

Società Italiana di Pediatria (SIP)
Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC)
Società Italiana per le Malattie Respiratorie Infantili (SIMRI)
**Società Italiana per lo studio delle Malattie Metaboliche Ereditarie e lo
Screening Neonatale (SIMMESN)**
Società Italiana di Medicina Generale (SIMG)
Lega Italiana Fibrosi Cistica – ONLUS (LIFC)
Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)
Società Italiana Gastroenterologia, Epatologia e Nutrizione Pediatrica (SIGENP)
Società Italiana di Neonatologia (SIN)
**Società Italiana di Dermatologia medica, chirurgica, estetica e delle Malattie
Sessualmente Trasmesse (SIDeMaST)**
Società Italiana di Andrologia(SIA)
Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO)

[Aprile 2022]

0. GRUPPO DI SVILUPPO DELLE RACCOMANDAZIONI

Gruppo di Lavoro SIFC		
Coordinatore	Funzione ed affiliazione	
Dr.ssa Cirilli Natalia	Biologo, CRR per la Fibrosi Cistica - Ancona	
Co-autori	Funzione	
Dr.ssa Angiolillo Antonella	Biologo, Università del Molise, ASREM - Campobasso	
Dr. Bella Sergio	Medico, CRS per la Fibrosi Cistica, Ospedale Bambino Gesù - Roma	
Dr.ssa Bracaglia Giorgia	Biologo, Laboratorio Analisi, Ospedale Bambino Gesù - Roma	
Tec. Camera Erica	Tecnico di Laboratorio, CRR per la Fibrosi Cistica, AOU Meyer - Firenze	
Dr.ssa Diana Anna	Biologo, Laboratorio di Fibrosi Cistica – U.O.C. Laboratorio di Genetica Medica – A.O.U.C. Policlinico - Bari	
Dr.ssa Dolce Daniela	Biologo, CRR per la Fibrosi Cistica, AOU Meyer - Firenze	
Tec. Orioli Tommaso	Tecnico di Laboratorio, CRR per la Fibrosi Cistica, AOU Meyer - Firenze	
Dr.ssa Polizzi Angela Maria	Biologo, Laboratorio di Fibrosi Cistica – U.O.C. Laboratorio di Genetica Medica – AOU Policlinico – Bari	
Dr.ssa Raia Valeria	Medico Responsabile, CRR per la Fibrosi Cistica del Bambino, Università Federico II – Napoli	
Dr.ssa Spaggiari Cinzia	Biologo, CRR per la Fibrosi Cistica, AOU di Parma – Parma	
Dr.ssa Termini Lisa	Medico, CRR per la Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina" – Palermo	
Consulente Metodologo		
Dr. Buzzetti Roberto	Medico, Metodologo della Ricerca – Bergamo	
Consulenti Esterni		
Dr. Porcaro Luigi	Biologo, Laboratorio Genetica Medica — Fondazione IRCCS Cà Granda, Ospedale Maggiore Policlinico – Milano	
Dr.ssa Seia Manuela	Biologo, Laboratorio Genetica Medica — Fondazione IRCCS Cà Granda, Ospedale Maggiore Policlinico – Milano	
Revisori esterni		
Prof. Castaldo Giuseppe	Ricercatore CEINGE - Napoli	
Dr.ssa Padoan Rita	Medico, CRS per la Fibrosi Cistica - Brescia	
Collaboratori esterni		
Membro	Funzione	Rappresentante
Dr.ssa Righetti Francesca	Delegato SIMMESN	Società Italiana per lo studio delle Malattie Metaboliche Ereditarie e lo Screening Neonatale
Dr.ssa Bignamini Elisabetta	Delegato SIMRI	Società Italiana per le Malattie Respiratorie Infantili
Prof. Lippi Giuseppe	Delegato SIBioC	Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica
Prof.ssa Staiano Annamaria	Presidente SIP	Società Italiana di Pediatria
Dr. Cricelli Claudio Alberto	Presidente SIMG	Società Italiana di Medicina Generale
Prof. Lucarelli Marco, Dr.ssa Seia Manuela	Delegati SIGU	Società Italiana di Genetica Umana
Prof.ssa Colombo Carla	Delegato SIGENP	Società Italiana Gastroenterologia, Epatologia e Nutrizione Pediatrica
Prof. Orfeo Luigi	Presidente SIN	Società Italiana di Neonatologia
Prof. Calzavara Pinton Piergiacomo	Delegato SIDEMaST	Società Italiana di Dermatologia medica, chirurgica, estetica e delle Malattie Sessualmente Trasmesse
Dr. Rizzo Michele	Delegato SIA	Società Italiana di Andrologia
Prof. Ferrazzi Enrico	Delegato SIGO	Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia
Dr.ssa Salvatori Maria Grazia, Dr. Bertolotti Eugenio	Delegati LIFC	Lega Italiana Fibrosi Cistica – ONLUS

Key words: sweat test, cystic fibrosis

Raccomandazioni Italiane sul Test del Sudore: <http://www.sifc.it/>

Data prevista per la prossima revisione: [2027]

1. ABBREVIAZIONI

CF	Cystic Fibrosis
CFSPID	Cystic Fibrosis, Screening Positive Inconclusive Diagnosis
CFF	Cystic Fibrosis Foundation
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CPA	Clinical Pathology Accreditation
CQI	Controllo di Qualità Interno
CRR	Centro di Riferimento Regionale per la Fibrosi Cistica
CRS	Centro Regionale di Supporto per la Fibrosi Cistica
CV	Coefficiente di Variazione
EBM	Evidence Based Medicine
ECFS	European Cystic Fibrosis Society
FC	Fibrosi Cistica
GLTS	Gruppo di Lavoro SIFC sul Test del Sudore
GRADE	Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation
ICM	Intestinal Current Measurement
LIFC	Lega Italiana Fibrosi Cistica – ONLUS
NPD	Nasal Potential Difference
ONLUS	Organizzazione Non Lucrativa di Utilità Sociale
PCR	Polymerase Chain Reaction
QNS	Quantity Not Sufficient samples
SIA	Società Italiana di Andrologia
SIBioC	Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica
SIDeMaST	Società Italiana di Dermatologia medica, chirurgica, estetica e delle Malattie Sessualmente Trasmesse
SIFC	Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica
SIGENP	Società Italiana Gastroenterologia, Epatologia e Nutrizione Pediatrica
SIGN	Scottish Intercollegiate Guidelines Network
SIGO	Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia
SIGU	Società Italiana di Genetica Umana
SIMG	Società Italiana di Medicina Generale
SIMRI	Società Italiana per le Malattie Respiratorie Infantili
SIN	Società Italiana di Neonatologia
SIP	Società Italiana di Pediatria
SIMMESN	Società Italiana per lo studio delle Malattie Metaboliche Ereditarie e lo Screening Neonatale
SOP	Standard Operating Procedure
TS	Test del Sudore
UK	United Kingdom
VEQ	Valutazione Esterna della Qualità

2. INDICE

0. GRUPPO DI SVILUPPO DELLE RACCOMANDAZIONI.....	2
1. ABBREVIAZIONI	4
2. INDICE	5
3. INTRODUZIONE	7
4. OBIETTIVO	9
5. AREE TEMATICHE	9
6. ASPETTI METODOLOGICI	9
6.1 Il gruppo di lavoro.....	9
6.2 La metodologia di lavoro	10
6.3 La nuova edizione delle raccomandazioni	13
7. RACCOMANDAZIONI	14
7.1 Informazioni e Condizioni	14
7.1.1 Informazioni al paziente.....	14
7.1.2 Condizioni del paziente.....	19
7.1.3 Test del sudore e screening neonatale.....	20
7.2 Fase Pre-Analitica	21
7.2.1 Raccolta del sudore	21
7.2.2 Soluzioni di elettroliti.....	23
7.2.3 Iontoforesi	24
7.2.4 Sicurezza	25
7.2.5 Mezzo di raccolta	25
7.2.6 Tempo di raccolta.....	26
7.2.7 Rimozione del campione.....	26
7.2.8 Conservazione prima dell'analisi	26
7.2.9 Pesatura	27
7.2.10 Definizione di campione adeguato.....	27
7.3 Fase Analitica.....	28
7.3.1 Eluizione del sudore.....	28
7.3.2 Analiti.....	28
7.3.3 Metodologia	29
7.3.4 Qualità.....	31
7.4 Fase Post-Analitica	35
7.4.1 Interpretazione degli elettroliti nel sudore	35
7.4.2 Quando ripetere il test del sudore	38

7.4.3	Ulteriori indagini.....	39
7.4.4	Interpretazione dei risultati in pazienti in trattamento con i modulatori del CFTR.....	40
7.4.5	Modello di referto	42
7.5	Responsabilità	46
7.5.1	Responsabilità dell'esecuzione del test e della formazione	46
8.	BIBLIOGRAFIA.....	47
9.	ALLEGATI.....	47
9.1	Elenco dei Centri di Riferimento Regionale/Servizi di Supporto per la Fibrosi Cistica e Laboratori di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale in Italia dove si esegue il Test del Sudore	47
9.2	Elenco delle varianti note del gene CFTR che possono essere associate a test del sudore negativo/borderline	52

3. INTRODUZIONE

La Fibrosi Cistica (FC) è la malattia genetica a trasmissione autosomica recessiva più frequente nella razza Caucasica con un'incidenza variabile nelle diverse etnie e nei diversi paesi del mondo: 1:2,000-1:3,000 in Europa centro-settentrionale, 1:3,000 nei bianchi d'America, 1:30,000 in Asia.

Le manifestazioni tipiche della malattia sono l'infezione respiratoria e l'insufficienza pancreatica esocrina con elevata concentrazione di elettroliti nel sudore. Queste sono causate da varianti genetiche del gene che codifica per la proteina CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) sul cromosoma 7. Oltre 2000 varianti sono state finora identificate (www.genet.sickkids.on.ca/cftr), ma non tutte causano FC. Anzi sembra ormai certo che l'espressione di molte di queste varianti sia determinata sia dall'interazione con geni modificatori sia da fattori ambientali. Nel database CFTR2 (<https://www.cftr2.org/>) è disponibile l'elenco delle varianti genetiche del gene CFTR e la loro determinazione in termini di correlazione genotipo/fenotipo: nell'ultimo aggiornamento 382 varianti genetiche risultano CF-causing e 49 con conseguenze cliniche variabili.

Oggi la fibrosi cistica può manifestarsi fenotipicamente sotto varie forme in un continuum che, partendo dalla forma completa con interessamento polmonare e pancreatico giunge fino a forme monosintomatiche, mono-organo, quali ad esempio l'azoospermia secondaria ad agenesia dei vasi deferenti o di altre porzioni della via seminale (vescicole sminali), generalmente definite CFTR-related disorders. Non va altresì dimenticato che con il diffondersi della diagnosi prenatale e dello screening neonatale molte diagnosi di FC vengono poste in epoca prenatale o neonatale. In quei casi in cui lo screening neonatale mostri discordanze tra dosaggio del tripsinogeno, analisi molecolare e test del sudore porre diagnosi di FC può risultare molto difficile. A questo scopo rimandiamo i lettori al paragrafo 9.2 di questo documento per maggiori approfondimenti. Questi soggetti vengono definiti come CFSPID (screening positivo, diagnosi non conclusiva) e sono in genere monitorati per alcuni anni.

Il test del sudore, validato nel 1959 da Gibson e Cooke, costituisce ancora oggi il gold standard per la diagnosi di FC, in quanto è l'unico test in grado di misurare, in modo riproducibile, il difetto di funzionamento della proteina di membrana CFTR, cioè la elevata concentrazione di ione cloruro nel sudore. Indicazioni per il test del sudore includono:

- fenotipo suggestivo di FC
- storia familiare di FC
- screening neonatale per FC positivo
- fenotipo suggestivo di patologia correlata a FC

ma anche altre condizioni che saranno dettagliate nel testo.

Il Test del Sudore (TS):

- a) è una prestazione di medicina di laboratorio inclusa, anche in termini normativi oltre che economici, nelle prestazioni SSN dell'area di Patologia Clinica;
- b) l'esecuzione del TS, fatta salva la fase di stimolazione che deve essere eseguita da personale sanitario autorizzato al contatto/gestione operativa diretto/a del e sul paziente, preferibilmente rappresentato da personale infermieristico opportunamente addestrato o da Dirigente Sanitario di Laboratorio, è di stretta ed assoluta competenza dell'Area di Medicina di Laboratorio, inclusa la funzione di refertazione con annessi commenti interpretativi;
- c) l'esecuzione in ambito clinico è possibile unicamente previa documentata autorizzazione della competente Direzione dell'Area di Medicina di Laboratorio, che deve assumersi in ogni caso la responsabilità tecnico-professionale e medico-legale della prestazione.

Nella quasi totalità dei pazienti FC con caratteristiche tipiche e varianti genetiche identificate, il test del sudore è diagnostico. Nelle patologie FC correlate e nei soggetti con designazione diagnostica CFSPID il test del sudore può risultare negativo o intermedio (borderline), pertanto non sono pienamente soddisfatti i criteri di diagnosi per la FC. La diagnosi di FC può rimanere incerta in quei pazienti con caratteristiche cliniche suggestive di FC, test del sudore intermedio o negativo e 1 o 2 varianti genetiche non identificate. In questi casi saranno utili per la diagnosi ulteriori studi della funzione della proteina (misura dei potenziali nasali o delle correnti intestinali). Molto raramente il test del sudore è normale in un paziente con varianti genetiche che causano FC.

Data la complessità della diagnosi di FC nei disordini correlati a disfunzione del CFTR e nei CFSPID, SIFC ribadisce attraverso questo documento l'importanza di eseguire il test del sudore in centri/laboratori che hanno consuetudine con questo test, personale dedicato e che opera in stretta collaborazione con centri clinici specializzati nella diagnosi e cura della fibrosi cistica.

I dati di letteratura confermano che con il test del sudore è possibile diagnosticare circa il 98% dei pazienti affetti da FC; eppure, l'1-2% dei pazienti con manifestazioni cliniche suggestive di FC hanno un test del sudore con valori normali o borderline. Inoltre, dai dati di letteratura risulta che il test del sudore, molto dipendente dalla manualità dell'operatore, ha percentuali non accettabili di falsi positivi (fino al 15%) e di falsi negativi (fino al 12%). Per queste ragioni è d'importanza critica che il test del sudore venga eseguito in maniera il più possibile standardizzata, per consentire l'interpretazione clinica dei risultati.

I risultati emersi dal primo audit europeo, sono stati inclusi in questa terza edizione.

Questa terza edizione delle raccomandazioni italiane sul test del sudore si arricchisce dei risultati di studi per lo più non randomizzati pubblicati sull'argomento e delle novità contenute nelle linee guida, raccomandazioni e consensus internazionali pubblicate dopo il 2017.

4. OBIETTIVO

Obiettivo specifico di questa terza edizione è fornire una versione aggiornata delle raccomandazioni precedentemente presentate (1^a Edizione del 2007 e 2^a Edizione del 2017). In questo documento verranno presi in esame solo il test di determinazione del cloro nel sudore con metodo Gibson-Cooke e metodo Macroduct, entrambi validati per uso diagnostico. Obiettivo più generale resta quello di diffondere maggiormente la cultura della fibrosi cistica per quanto attiene gli aspetti diagnostici in tutti gli ambiti della medicina pediatrica e non.

5. AREE TEMATICHE

Anche in questa terza edizione, le raccomandazioni coprono i seguenti aspetti:

- L'informazione al paziente
- L'idoneità del soggetto da sottoporre al test
- La raccolta del sudore
- L'analisi del sudore
- La qualità
- I valori di riferimento e l'interpretazione
- La responsabilità dell'esecuzione del test e della formazione del personale

6. ASPETTI METODOLOGICI

6.1 Il gruppo di lavoro

Il Gruppo di Lavoro SIFC sul Test del Sudore (GLTS) nasce all'inizio del 2006 in seno alla Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica. In questi anni il gruppo si è impegnato a stimolare e sviluppare un dibattito culturale sul tema tra tutti gli attori che si interfacciano con questo test (laboratoriisti, clinici, pediatri, medici di famiglia e specialisti, infermieri, ecc). Il gruppo negli anni ha avviato diverse iniziative tra cui possiamo annoverare 2 audit nazionali, validazione di materiali di controllo per il mercato italiano, programma di Valutazione Esterna della Qualità in collaborazione con L'Istituto Superiore di Sanità¹.

Inoltre alcuni esponenti del GLTS hanno promosso progetti di ricerca sia in ambito nazionale che internazionale:

- Survey europea sul test del sudore, in collaborazione con l'ECFS Diagnostic Network Working Group (2015)

- Progetto di ricerca sulla variabilità biologica intra-individuale del cloro nel sudore, finanziato della Fondazione Italiana per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica (2015)

- Traduzione Linee Guida UK, 2nd Edition, 2014 (2017) (www.sifc.it)

La composizione del Gruppo di lavoro per la formulazione di raccomandazioni per la corretta esecuzione del test del sudore risponde a criteri di:

- competenza professionale e scientifica e specifica preparazione in ambito FC (medicina di laboratorio, EBM, ecc.)
- rappresentanza delle diverse professionalità coinvolte nella gestione del test del sudore, nonché rappresentanza dei pazienti e delle loro famiglie
- rappresentanza geografica dei diversi centri di cura

Il gruppo è coordinato dalla Dr.ssa Natalia Cirilli, biologo.

Il lavoro di stesura e revisione della terza edizione è stato svolto sotto la supervisione di un metodologo esperto nella ricerca e analisi della letteratura scientifica e nella produzione e implementazione di linee guida, Dr. Roberto Buzzetti.

I membri del GLTS che attivamente hanno contribuito a questo documento sono elencati a pag. 2 e sono rappresentativi di diverse professionalità.

Questa terza edizione è stata formalmente valutata ed approvata dalle Società Scientifiche elencate nel frontespizio del documento.

6.2 La metodologia di lavoro

Questa 3^a edizione delle Raccomandazioni Italiane sul Test del Sudore scaturisce da un'esigenza di aggiornamento della precedente edizione del 2017, a seguito della pubblicazione degli standard europei sul test del sudore.

L'edizione precedente aveva adottato, sia per parecchi contenuti che per le modalità di presentazione, i criteri delle Linee guida inglesi del 2014⁶ che offrono garanzia di qualità nella loro costruzione (vedi BOX).

BOX - Le Linee guida inglesi 2014

a) sono state prodotte con una **rigorosa e sistematica ricerca e analisi delle evidenze** disponibili.

Il gruppo di sviluppo delle linee guida ha intrapreso una revisione sistematica delle evidenze e una loro classificazione in base al disegno di studio da cui queste derivano, in conformità con la metodologia SIGN. I quattro livelli sono presentati nella tabella 1 (dalla metanalisi di studi randomizzati alla semplice opinione di esperti).

Sono stati utilizzati numerosi metodi per identificare le prove, tra cui la ricerca bibliografica computerizzata, la ricerca manuale, la ricerca mirata, la revisione delle Consensus Based Guidelines e le evidenze derivanti dall'opinione di esperti del National UK Laboratory Sweat Test Subgroup.

La linea guida è presentata in modo tale che la presentazione delle evidenze comprenda il testo con il livello generale di evidenza incluso tra parentesi (Livello di evidenza da 1++ a 4). Il livello di evidenza generale è

raggiunto dopo la revisione di tutte le prove su base individuale e la conseguente registrazione di un livello di evidenza che riflette tutte le prove disponibili. La classificazione si basa sui criteri del SIGN 2000

b) contengono raccomandazioni elaborate da un **gruppo multidisciplinare** che comprendeva professionisti sanitari di discipline scientifiche, cliniche e infermieristiche provenienti da una serie di organizzazioni di parti interessate. A ciascun membro del gruppo sono state assegnate sottosezioni della linea guida da rivedere

c) i criteri per la **classificazione delle raccomandazioni** si sono basati sugli "Standards for Development of Clinical Guidelines and Implementation in Pediatrics and Child Health" prodotti dal Royal College of Pediatrics and Child Health e sui criteri dello Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) dove il livello di evidenza viene utilizzato per determinare il grado di raccomandazione (vedi Tab. 1).

d) sono anche apprezzabili dal punto di vista della **chiarezza e dell'indipendenza editoriale**, in termini di mancanza di conflitti di interesse

Tabella 1: criteri di grading per la **Forza delle raccomandazioni** utilizzati nelle linee guida inglesi ed in questo documento

Grado	Tipo di raccomandazione
A (livello 1++)	richiede almeno una meta-analisi o trial randomizzato e controllato valutato come 1++, direttamente applicabile alla popolazione target e che dimostri una complessiva consistenza dei risultati
B (livelli 1++, 1+ e 2++)	richiede un'evidenza che deriva da studi valutati come 2++, direttamente applicabili alla popolazione target e che dimostrino una consistenza complessiva dei risultati, o un'evidenza estrapolata da studi valutati come 1++ e 1+
C (livelli 2+ o 2++)	richiede un'evidenza che deriva da studi valutati come 2+, direttamente applicabili alla popolazione target che dimostrino una consistenza complessiva dei risultati o un'evidenza estrapolata da studi valutati come 2++
D (livelli 2+, 3 o 4)	livello di evidenza 3 o 4, o evidenza estrapolata da studi valutati come 2+

Il processo di **aggiornamento delle prove di efficacia** ha seguito una strategia di selezione gerarchica: è iniziata cioè con la ricerca di linee guida e documenti di consenso pubblicati su questo argomento posteriormente al 2017 (anno di pubblicazione della seconda edizione delle raccomandazioni italiane). La ricerca è stata poi integrata con l'identificazione di studi primari e secondari pubblicati successivamente al 2017 (attraverso la consultazione di banche dati quali: Cochrane Library e PubMed-Medline, dando priorità agli studi controllati randomizzati, ma senza trascurare l'inclusione di studi non randomizzati).

Sono stati identificati 4 documenti presentati come **linee guida** o **consensus**. Si veda in proposito la tabella 2, che riassume le principali novità di questi documenti¹⁻⁴:

Tabella 2: Linee guida e consensus sul test del sudore post 2017

Documento	Commenti
Massie J, Greaves R, Metz M, Wiley V, Graham P, Shepherd S, Mackay R. Australasian Guideline (2nd Edition): an Annex to the CLSI and UK Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Diagnosis of Cystic Fibrosis. Clin Biochem Rev. 2017 Nov;38(3):115-130. PMID: 29332976; PMCID: PMC5759161	Questo documento è un commento sulle più recenti linee guida CLSI e UK, e sostituisce le linee guida australiane del 2006. Lo scopo di questa linea guida è quello di fornire raccomandazioni per supportare la standardizzazione e le migliori pratiche per il test di screening con metodo conduttivimetrico e la determinazione del cloro nel sudore per diagnosticare e monitorare la FC
LeGrys VA, Briscoe D, McColley SA. Sweat Testing: Specimen Collection and Quantitative Chloride Analysis. CLSI Guideline C34. 2019	Consensus Report della Cystic Fibrosis Foundation (CFF). Questo documento sostituisce il precedente pubblicato nel 2009. Principali novità riguardano il test del sudore nei bambini positivi allo screening neonatale ed i nuovi intervalli di riferimento per il test del sudore
Comité Nacional de Neumonología; Comité Nacional de Nutrición; Comité Nacional de Gastroenterología; Grupo de Trabajo de Kinesiología. Guía de diagnóstico y tratamiento de pacientes con fibrosis quística. Actualización [Guideline for the diagnosis and treatment of patients with cystic fibrosis. Update]. Arch Argent Pediatr. 2021 Feb;119(1):s17-s35. Spanish. doi:10.5546/aap.2021.s17. PMID: 33459002	Si tratta di un aggiornamento delle precedenti linee guida del 2014 che non vengono sostituite. Gli aggiornamenti riguardano la diagnosi a causa delle modifiche apportate al test del sudore, allo screening neonatale ed alla gestione della malattia.
Cirilli N, Southern KW, Barben J, Vermeulen F, Munck A, Wilschanski M, Nguyen-Khoa T, Aralica M, Simmonds NJ, De Wachter E; ECFS Diagnostic Network Working Group. Standards of care guidance for sweat testing; phase two of the ECFS quality improvement programme. J Cyst Fibros. 2022 Jan 19:S1569-1993(22)00025-X. doi: 10.1016/j.jcf.2022.01.004. Epub ahead of print. PMID: 35063396	Si tratta di una guida per i laboratori del test del sudore in Europa mirata a migliorare la performance del test. Fornisce dettagli tecnici sulla esecuzione del test del sudore e sull'interpretazione dei risultati. Offre uno strumento di audit (interno ed esterno), proponendo requisiti su due livelli: accettabili (minimi) ed ottimali (ulteriori)

La ricerca di **studi primari** e **secondari** da gennaio 2017 a febbraio 2022 ha permesso l'identificazione di:

- n° 29 studi sulle informazioni e condizioni del paziente (§ 7.1)
- n° 3 studi sulla fase pre-analitica (§ 7.2)
- n° 28 studi sulla fase analitica (§ 7.3)
- n° 69 studi sulla fase post-analitica (§ 7.4)
- n° 14 reviews, surveys ed altri studi (§ 8)

L'aggiornamento delle varie sezioni delle raccomandazioni italiane sul test del sudore è stato affidato a piccoli gruppi multidisciplinari composti da clinici, tecnici di laboratorio, infermieri e biologi esperti del settore.

Dopo la loro formulazione, le raccomandazioni sono state sottoposte a due revisori esterni. Dopo il loro responso, il testo è stato ulteriormente perfezionato ed il gruppo ha formalizzato definitivamente il documento.

Il consenso su OGNI singola raccomandazione da parte del panel di professionisti che componevano il gruppo multidisciplinare è stato raggiunto in una riunione finale svoltasi in teleconferenza. Il testo definitivo è stato approvato e validato da tutti i membri del team multidisciplinare.

I lavori del Gruppo si sono svolti totalmente per via informatica. I lavori sono iniziati ad Novembre 2021 e sono terminati ad Aprile 2022. Il coordinatore ha monitorato periodicamente lo stato di avanzamento del lavoro con la supervisione del consulente metodologo.

Il gruppo è consapevole della necessità di sottoporre ad aggiornamento le raccomandazioni. La prossima revisione è prevista nel 2027, o comunque in occasione della comparsa di nuovi importanti studi in letteratura.

6.3 La nuova edizione delle raccomandazioni

Le raccomandazioni qui presentate sono accompagnate dal livello di grading coerente con quello della LG originale. A questo proposito, pur essendo consapevoli del fatto che attualmente i sistemi di grading hanno visto notevoli evoluzioni (es., la metodologia GRADE), abbiamo preferito mantenere, per coerenza con la precedente edizione, il vecchio sistema di classificazione in 4 livelli contrassegnati dalle lettere A, B, C, D, il cui significato è illustrato nella tabella 1.

Il testo sintetico delle raccomandazioni viene riportato come nel documento originale sotto forma di tabella composta da 2 colonne:

- colonna 1: per ogni riga viene riportato il testo della singola raccomandazione
- colonna 2: viene indicata la forza della raccomandazione

Le integrazioni alle raccomandazioni inglesi sono riportate in NOTE e scaturiscono dalla necessità di contestualizzare le raccomandazioni inglesi nella realtà dei centri/laboratori italiani.

Per un maggior approfondimento degli argomenti trattati si rimanda il lettore al testo analitico delle linee guida inglesi.

7. RACCOMANDAZIONI

7.1 Informazioni e Condizioni

7.1.1 Informazioni al paziente

Informazioni al paziente	Forza della raccomandazione
Il <u>consenso informato</u> dovrebbe essere ottenuto in accordo con la normativa locale	D
E' buona pratica clinica preparare efficacemente il paziente e, dove appropriato, i genitori prima del test fornendo informazioni individualizzate. Le <u>informazioni</u> da fornire prima del test dovrebbero almeno comprendere le ragioni per cui il test viene eseguito, come viene eseguito, i rischi associati al test, cosa prova il soggetto durante il test ed i contatti utili per ulteriori informazioni sul test ed i risultati finali. Un volantino di esempio per i pazienti/genitori viene fornito (vd. Allegato)	

NOTE

- Le informazioni sul test dovrebbero essere fornite in forma scritta anche in lingue differenti o in presenza di mediatore linguistico in caso di paziente/genitori non madrelingua italiana

Risultati Audit EU (2015)

Le informazioni sul test del sudore sono state fornite a pazienti/genitori/tutori nel 95% dei casi (informazioni scritte nel 43%). L'informazione è stata fornita dalla persona che raccoglieva il sudore nel 41%. In un piccolo numero (9%) è stato ottenuto anche il consenso informato.

Allegato

Esempio di foglio informativo per pazienti/genitori

Tabella

Indicazioni al test del sudore (CLSI, 2019 integrato dal GLTS)

Riferimenti bibliografici

- A. Jaworska J, Marach-Mocarska A, Sands D. Uncommon clinical presentation of cystic fibrosis in a patient homozygous for a rare CFTR mutation: a case report. BMC Pediatr. 2020 Feb 27;20(1):90. doi: 10.1186/s12887-020-1980-y. PMID:32103733; PMCID: PMC7055720.

Esempio di foglio informativo sul test del sudore per pazienti/genitori

(su carta intestata del servizio che eroga la prestazione)

Questo foglio è stato elaborato per fornirVi informazioni sul test che è stato prescritto a Voi o Vostro/a figlio/a. Qui vi spieghiamo cosa è il test del sudore, perché viene richiesto, in cosa consiste, come raggiungere il dipartimento dove viene eseguito, cosa possono significare i diversi risultati del test e le modalità di ritiro dei risultati del test.

Cosa è il test del sudore?

Il test del sudore serve a misurare la quantità di sale (usualmente come cloro) contenuta nel sudore.

Perché si esegue?

Il test del sudore si esegue nei lattanti che sono risultati positivi al programma di screening neonatale in atto in questa Regione, proprio perché il programma di screening seleziona neonati a rischio di malattia nei quali è necessaria la conferma o esclusione per mezzo anche del test del sudore. Inoltre il test viene richiesto dal medico per confermare o escludere la diagnosi di Fibrosi Cistica (FC) in bambini o adulti che presentano sintomi che hanno fatto sospettare la presenza di questa malattia. I sintomi che più frequentemente inducono il medico a richiedere il test del sudore sono nel bambino: infezioni respiratorie ricorrenti, diarrea cronica, scarsa crescita, grave disidratazione nel periodo estivo; nell'adulto: pancreatite cronica o ricorrente, infertilità maschile, rinosinusite cronica, infezioni polmonari ricorrenti o croniche. Tutti questi sintomi possono essere dovuti ad una forma di Fibrosi Cistica non ancora riconosciuta. È importante diagnosticare questa condizione al fine di instaurare il trattamento più idoneo ed efficace. Le persone affette da FC hanno un alto contenuto di sale nel loro sudore. Un risultato normale del test può essere utile ad escludere la diagnosi di FC.

Chi esegue il test?

(inserire i dati relativi al servizio offerto).

In cosa consiste il test?

Dopo accurata detersione della cute si posizionano sull'avambraccio o sulla gamba speciali tamponi imbevuti di una sostanza chimica chiamata pilocarpina che stimola la produzione del sudore. Questi tamponi vengono fissati in posizione ed un piccolo flusso di corrente da un generatore a batteria attraversa i tamponi per stimolare ulteriormente il processo di produzione del sudore. Il test non è doloroso, sebbene si possa avvertire una piccola sensazione di prurito. I tamponi vengono lasciati in sede per circa 5 minuti, quindi vengono rimossi. Nella zona dove la pilocarpina ha stimolato la produzione del sudore dovrebbe esserci la cute arrossata. Questo è un fenomeno transitorio, tipico della stimolazione con pilocarpina, che si attenua nel giro di poche ore. La cute viene allora lavata accuratamente con acqua demineralizzata ed asciugata. Un pezzo di carta da filtro, una garza o talvolta un capillare di plastica avvolto a spirale, viene posizionato e assicurato sulla zona stimolata. Vi verrà allora chiesto di attendere per 30 minuti finché il sudore non viene assorbito dalla carta da filtro, dalla garza o dal dispositivo a spirale. Durante questi 30 minuti Voi (o il Vostro bambino) siete liberi di leggere, giocare, o mangiare, sebbene i cibi salati come le patatine fritte dovrebbero essere evitate per minimizzare qualsiasi rischio di contaminazione. La carta da filtro, la garza o la spirale viene quindi rimossa dall'operatore e inviata al laboratorio per l'analisi del sudore.

Il test è doloroso?

Alcune persone provano una sensazione di prurito nella sede del braccio o della gamba dove il sudore viene raccolto. Nessun ago da iniezione viene impiegato. Eccezionalmente nell'area di cute sottoposta a stimolazione elettrica si potrebbe avere una modestissima ustione.

I risultati

I risultati sono espressi come misura della concentrazione di sali (usualmente cloro), e sono valutati rispetto ad intervalli di riferimento (o valori di normalità) predefiniti in funzione dell'età del paziente. I valori entro i limiti di riferimento sono considerati NEGATIVI, quelli che invece superano tali intervalli sono considerati POSITIVI e saranno attentamente valutati dal vostro Medico Curante insieme ad altri vostri dati clinici e di laboratorio per definire lo stato di rischio per malattia: la diagnosi di Fibrosi Cistica è una diagnosi clinica che si avvale di test di laboratorio per la conferma e la sola positività del test del sudore non è sufficiente per stabilire se un soggetto è affetto o meno dalla malattia. Talvolta i risultati possono risultare in un intervallo dubbio (o borderline) che non permette la diagnosi o la esclusione della malattia: il vostro Medico Curante provvederà a definire gli approfondimenti clinici e di laboratorio necessari per un corretto inquadramento clinico di questo risultato. In pochi casi il test può avere necessità di essere ripetuto per ragioni tecniche, quali ad esempio una scarsa quantità di sudore raccolto.

Quanto tempo passa prima di ricevere i risultati del test?

(inserire i dati relativi al servizio offerto).

Chi Vi informa dei risultati del test?

(inserire i dati relativi al servizio offerto). Dopo aver ricevuto il risultato del test riportatelo al medico che Ve lo ha prescritto e discutete con lui il risultato.

Altre domande

Se avete domande relative all'esecuzione del test, cortesemente contattate (inserire i dati relativi al servizio offerto). Se avete altre domande relative alla prescrizione del test del sudore nel Vostro caso (o in quello di Vostro/a figlio/a) parlatene con il medico di famiglia/specialista che Vi ha consigliato di eseguire questo test così che possa fornirVi ulteriori informazioni o potete rivolgerVi ad un medico del Centro specialistico per la FC di

Indicazioni al test del sudore (CLSI, 2019; integrato dal GLTS)

Indicazioni delle alte e basse vie respiratorie	Indicazioni gastrointestinali	Altre indicazioni
Tosse cronica/pertussoide	Ileo da meconio/peritonite meconiale/atresia ileale	Familiarità positiva per FC anche in assenza di sintomi
Polmoniti croniche o ricorrenti	Riscontro ecografico prenatale di anse intestinali iperecogene	Scarso accrescimento
Wheezing persistente o refrattario al trattamento	Sindrome da tappo da meconio	Mancato recupero del peso neonatale a 15 giorni di vita
Iperinflazione polmonare persistente o refrattaria al trattamento	Ittero neonatale prolungato	Sudore salato
Tachipnea persistente o refrattaria al trattamento	Ostruzione intestinale acuta neonatale	Cristalli di sale sulla pelle e sugli indumenti
Rientramenti (al giugulo, intercostali) persistenti o refrattarie al trattamento	Perforazione spontanea del colon neonatale	Sindrome da deplezione salina
Atelectasie (specie del lobo superiore destro)	Steatorrea	Alcalosi metabolica
Bronchiectasie	Prolasso rettale	Ipoprotrombinemia – Sindrome emorragica da deficit di vitamina K
Emottisi	Mucocele appendicolare	Ipovitaminosi A e/o E
Presenza di batteri caratteristici nell'escreato (Pseudomonas, Stafilococco, ecc)	Sindrome da ostruzione distale ileale/stipsi ostinata	Ipovitaminosi D
Polipi nasali/mucocele/pseudomucocele	Epatopatia di natura non definita	Corrugamento transitorio della cute delle mani esposte ad acqua
Pansinusite	Colestasi/ittero colestatico neonatale protratto	Ritardo nello sviluppo
Ippocratismo digitale	Cirrosi	Azoospermia - Oligozoospermia
	Ipertensione portale	Assenza completa o parcellare bilaterale o monolaterale dei vasi deferenti e/o delle vescicole seminali
	Pancreatiti ricorrenti	Calcificazioni testicolari
	Diarrea cronica	Ipoproteinemia
		Presenza di 2 varianti CF-causing nel feto
		Edema
		Screening neonatale FC positivo
		Anemia emolitica

Riferimenti bibliografici

- Singh A, Lodha R, Shastri S, Sethuraman G, Sreedevi KN, Kabra M, Kabra SK. Aquagenic Wrinkling of Skin: A Screening Test for Cystic Fibrosis. *Indian Pediatr.* 2019 Feb 15;56(2):109-113. PMID: 30819988.
- Zuloaga N, Vivallos N, Faúndez R, González M, Navarro E, Chávez E, Araya M. Manifestaciones gastrointestinales en fibrosis quística en una población pediátrica [Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis in children]. *Andes Pediatr.* 2021 Aug;92(4):526-533. Spanish. doi:10.32641/andespediatr.v92i4.2693. PMID: 34652370.
- Wilbert F, Grünert SC, Heinzmann A, Bode SFN. Cystic fibrosis in disguise - the wolf in sheep's clothing, a case report. *BMC Pediatr.* 2021 Apr 14;21(1):174. doi: 10.1186/s12887-021-02636-w. PMID: 33853553; PMCID: PMC8048214.

- D. Paul GR, Bai S, Jackson K, McCoy KS. Aquagenic wrinkling in children under two years of age: Could this be a potential clinical referral tool for cystic fibrosis among non-screened populations? *J Cyst Fibros*. 2021 Sep;20(5):e77-e83. doi: 10.1016/j.jcf.2021.04.002. Epub 2021 May 17. PMID: 34016560.
- E. Shen Y, Tang X, Liu J, Li H, Zhao S. Pseudo-Bartter syndrome in Chinese children with cystic fibrosis: Clinical features and genotypic findings. *Pediatr Pulmonol*. 2020 Nov;55(11):3021-3029. doi:10.1002/ppul.25012. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32761997.
- F. Cao Y, Donaldson R, Lee D. "Summer hypokalemia" as an initial presentation of cystic fibrosis in a morbidly obese African American adult: case report. *BMC Nephrol*. 2020 Nov 7;21(1):462. doi:10.1186/s12882-020-02130-y. PMID: 33160331; PMCID: PMC7648400.
- G. Masip E, Donat E, Polo B, Oltra S, Ortega P, Ribes-Koninckx C. Recurrent Metabolic Alkalosis in a Cystic Fibrosis Patient: Coexistence with Congenital Chloride Diarrhea. *J Pediatr Genet*. 2020 Mar;9(1):44-47. doi:10.1055/s-0039-1695059. Epub 2019 Sep 2. PMID: 31976143; PMCID: PMC6976311.
- H. Olszowiec-Chlebna M, Trzciński K, Stelmach I. Massive nasal polyposis in a patient with newly diagnosed cystic fibrosis. *Adv Respir Med*. 2017;85(2):121-123. doi: 10.5603/ARM.2017.0019. PMID: 28440538.
- I. Guo J, He R, Mao ZQ. Case Report: White Colored Stool: An Early Sign of Cystic Fibrosis in Infants. *Front Pediatr*. 2021 Apr 14;9:656584. doi:10.3389/fped.2021.656584. PMID: 33937153; PMCID: PMC8081048.
- J. Denos C, Dreyfus I, Chiaverini C, Labreze C, Abasq C, Phan A, Mallet S, Monteil L, Mazereeuw-Hautier J; Groupe de Recherche Clinique en Dermatologie Pédiatrique. Caractéristiques cliniques et évolutives de la kératodermie aquagénique de l'enfant : étude rétrospective de 12 cas [Clinical and evolutionary characteristics of a child with aquagenic keratoderma: A retrospective study of 12 patients]. *Ann Dermatol Venereol*. 2018 Apr;145(4):250-256. French. doi: 10.1016/j.annder.2018.01.042. Epub 2018 Feb 24. PMID: 29487017.
- K. Garah J, Rosen I, Shaoul R. Transient Exocrine Pancreatic Insufficiency in Children: An Existing Entity? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019 Apr;68(4):574-577. doi: 10.1097/MPG.0000000000002267. PMID:30633105.
- L. Poli P, De Rose DU, Timpano S, Savoldi G, Padoan R. Should isolated Pseudo-Bartter syndrome be considered a CFTR-related disorder of infancy? *Pediatr Pulmonol*. 2019 Oct;54(10):1578-1583. doi: 10.1002/ppul.24433. Epub 2019 Jul 21. PMID: 31328366.
- M. Alexopoulos A, Chouliaras G, Kakourou T, Dakoutrou M, Nasi L, Petrocheilou A, Siahaniidou S, Kanaka-Gantenbein C, Chrousos G, Loukou I, Michos A. Aquagenic wrinkling of the palms after brief immersion to water test as a screening tool for cystic fibrosis diagnosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Aug;35(8):1717-1724. Epub 2021 Jun 9.
- N. Bensliman S, Lefevre N, Duchateau J, Hanssens L. Revue des indications du test de la sueur dans un centre de référence de mucoviscidose bruxellois [Review of the sweat test indications in a Brussels' cystic fibrosis reference center]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2019 Dec 1;77(6):687-692. French. doi:10.1684/abc.2019.1506. PMID: 31859647.
- O. Brown A, Jenkins L, Reid A, Leavy A, McDowell G, McIlroy C, Thompson A, McNaughten B. How to perform and interpret the sweat test. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2020 Aug;105(4):230-235. doi:10.1136/archdischild-2018-316615. Epub 2019 Nov 19. PMID: 31744807.

7.1.2 Condizioni del paziente

Condizioni del paziente	Forza della raccomandazione
Il test del sudore può essere eseguito dopo <u>2 settimane</u> di età nei bambini con peso superiore a <u>2 Kg</u> che sono normalmente idratati e senza malattia sistemica significativa.	C
Il test del sudore può essere tentato nei neonati a termine dopo 7 giorni di età, se ritenuto clinicamente necessario, ma deve essere ripetuto nel caso in cui la quantità di sudore risultasse insufficiente	C
Il test del sudore dovrebbe essere <u>rimandato</u> nei soggetti <u>edematosi</u> o in trattamento con <u>topiramato</u> o in trattamento con <u>9-alfa-fludrocortisone</u>	D
Il test del sudore deve essere <u>rimandato</u> nei soggetti <u>disidratati</u> , <u>sottopeso</u> , <u>con patologie sistemiche</u> , o affetti da <u>eczema nel sito di stimolazione</u>	D
Il test del sudore può essere eseguito in soggetti in trattamento con flucloxacillina	C
Il test del sudore non dovrebbe essere eseguito in soggetti in <u>O₂ terapia con dispositivo aperto</u> (incluse le cappette solo testa). Sono esclusi i neonati con <u>cannule nasali o maschera facciale</u>	D

NOTE

- In età neonatale, il peso del paziente al momento dell'esecuzione del test è un importante fattore condizionante l'esito del test, in quanto un peso ridotto (< 2.0 kg) può determinare una raccolta insufficiente di sudore. Tuttavia esso non è elemento sufficiente ed assoluto per la non esecuzione o la posticipazione del test se il rischio di malattia è valutato come elevato. In caso di raccolta insufficiente, il test verrà riprogrammato in un'età successiva, che può variare da caso a caso
- Il test del sudore può essere tentato nei neonati dopo 48 ore di vita
- Nei neonati pretermine l'esecuzione del test del sudore prima delle 39 settimane (età gestazionale + età al test del sudore) aumenta la probabilità di insuccesso
- È preferibile eseguire il test del sudore dopo almeno 4 giorni dalla sospensione del trattamento corticosteroidico per via sistemica, in quanto i corticosteroidi riducono la concentrazione degli elettroliti nel sudore
- Non eseguire il test nei soggetti portatori di pacemaker, defibrillatore e placche metalliche, poiché la iontoforesi è controindicata in questi soggetti
- Non eseguire il test del sudore su pazienti in infusione con NaCl

Risultati Audit EU (2015)

Il 95% degli intervistati ha dichiarato un'età minima (intervallo, 2–42 giorni) e/o un peso minimo (2–3,5 kg) al di sotto dei quali non tentano di raccogliere il sudore.

7.1.3 Test del sudore e screening neonatale

Screening neonatale	Forza della raccomandazione
Il test del sudore è un test chiave per la conferma diagnostica di fibrosi cistica in un neonato positivo allo screening neonatale	C
Il test del sudore eseguito nell'ambito dello screening neonatale dovrebbe essere eseguito in laboratori con comprovata esperienza nell'esecuzione del test in soggetti con meno di 3 mesi di età	D
I risultati del test del sudore dovrebbero essere disponibili alla prima visita per i neonati identificati con lo screening neonatale	D

NOTE

- L'esecuzione di TS nell'ambito del protocollo di screening neonatale della FC, deve tener conto di criteri/parametri peculiari relativi a:
 - a) selezione del neonato per condizioni di rischio;
 - b) intervallo massimo tra richiesta d'esecuzione (per confermata positività d'ipertripsinemia associata o meno a presenza di almeno 1 mutazione FC) ed esecuzione effettiva del TS, in funzione anche di età gestazionale, peso neonatale, condizioni cliniche del neonato;
 - c) peculiarità delle informazioni alla famiglia (integrazione delle informazioni relative all'esecuzione, per fini diagnostici, del test del sudore);
 - d) definizione degli intervalli temporali massimi accettabili tra presa in carico di neonato ad alto rischio presso Centro Clinico ed esecuzione di TS (2° test di conferma o test basale in caso di presa in carico di neonato con 2 varianti genetiche FC identificate in fase di screening biochimico-molecolare)

Riferimenti bibliografici

- A. Edmondson C, Grime C, Prasad A, Cowlard J, Nwokoro CEC, Ruiz G, Wallis C, Balfour-Lynn IM. Cystic fibrosis newborn screening: outcome of infants with normal sweat tests. Arch Dis Child. 2018 Aug;103(8):753-756. doi:10.1136/archdischild-2017-313290. Epub 2017 Nov 7. PMID: 29113966.
- B. Shenoy A, Spyropoulos D, Peeke K, Smith D, Cellucci M, Chidekel A. Newborn Screening for Cystic Fibrosis: Infant and Laboratory Factors Affecting Successful Sweat Test Completion. Int J Neonatal Screen. 2020 Dec 25;7(1):1. doi: 10.3390/ijns7010001. PMID: 33375576; PMCID: PMC7838990.
- C. Gonska T, Keenan K, Au J, Dupuis A, Chilvers MA, Burgess C, Bjornson C, Fairservice L, Brusky J, Kherani T, Jobe A, Kosteniuk L, Price A, Itterman J, Morgan L, Mateos-Corral D, Hughes D, Donnelly C, Smith MJ, Iqbal S, Arpin J, Reisman J, Hammel J, van Wylick R, Derynck M, Henderson N, Solomon M, Ratjen F. Outcomes of Cystic Fibrosis Screening-Positive Infants With Inconclusive Diagnosis at School Age. Pediatrics. 2021 Dec 1;148(6):e2021051740. doi:10.1542/peds.2021-051740. PMID: 34814176.
- D. Fox M, Mercier A, Savant A, Laguna TA. Cystic fibrosis diagnosed by state newborn screening: Or is it? SAGE Open Med Case Rep. 2020 Jul 2;8:2050313X20939421. doi: 10.1177/2050313X20939421. PMID: 32670584; PMCID:PMC7339076.
- E. Terlizzi V, Mergni G, Buzzetti R, Centrone C, Zavataro L, Braggion C. Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): Experience in Tuscany, Italy. J Cyst Fibros. 2019 Jul;18(4):484-490. doi: 10.1016/j.jcf.2019.04.002. Epub 2019 Apr 18. PMID: 31005549.
- F. Ren CL, Borowitz DS, Gonska T, Howenstine MS, Levy H, Massie J, Milla C, Munck A, Southern KW. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Related Metabolic Syndrome and Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis. J Pediatr. 2017 Feb;181S:S45-S51.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2016.09.066. PMID: 28129812.
- G. Zybert K, Borawska-Kowalczyk U, Wozniacki L, Dawidziuk M, Ołtarzewski M, Sands D. Clinical complications in children with false-negative results in cystic fibrosis newborn screening. J Pediatr (Rio J). 2021 Dec 22:S0021-7557(21)00169-8. doi: 10.1016/j.jped.2021.11.007. Epub ahead of print. PMID: 34953776.

- H. Ramasli Gursoy T, Aslan AT, Asfuroglu P, Sismanlar Eyuboglu T, Cakir E, Cobanoglu N, Pekcan S, Cinel G, Dogru D, Ozcelik U, Yalcin E, Sen V, Ercan O, Kilinc AA, Yazan H, Altintas DU, Kartal Ozturk G, Bingol A, Sapan N, Celebioglu E, Tugcu GD, Ozdemir A, Harmanci K, Kose M, Emiraliloglu N, Tamay Z, Yuksel H, Ozcan G, Topal E, Can D, Korkmaz Ekren P, Caltepe G, Kilic M, Ozdogan S. Clinical findings of patients with cystic fibrosis according to newborn screening results. *Pediatr Int.* 2021 Jun 16. doi: 10.1111/ped.14888. Epub ahead of print. PMID: 34131975.
- I. Castaldo A, Cimbalo C, Castaldo RJ, D'Antonio M, Scorza M, Salvadori L, Sepe A, Raia V, Tosco A. Cystic Fibrosis-Screening Positive Inconclusive Diagnosis: Newborn Screening and Long-Term Follow-Up Permits to Early Identify Patients with CFTR-Related Disorders. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Aug 8;10(8):570. doi: 10.3390/diagnostics10080570. PMID: 32784480; PMCID: PMC7460402.
- J. Sermet-Gaudelus I, Brouard J, Audrézet MP, Couderc Kohen L, Weiss L, Wizla N, Vrielynck S, Llerena K, Le Bourgeois M, Deneuille E, Remus N, Nguyen-Khoa T, Raynal C, Roussey M, Girodon E. Guidelines for the clinical management and follow-up of infants with inconclusive cystic fibrosis diagnosis through newborn screening. *Arch Pediatr.* 2017 Dec;24(12):e1-e14. doi:10.1016/j.arcped.2017.07.015. Epub 2017 Nov 22. PMID: 29174009.
- K. Martiniano SL, Elbert AA, Farrell PM, Ren CL, Sontag MK, Wu R, McColley SA. Outcomes of infants born during the first 9 years of CF newborn screening in the United States: A retrospective Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry cohort study. *Pediatr Pulmonol.* 2021 Dec;56(12):3758-3767. doi:10.1002/ppul.25658. Epub 2021 Sep 13. PMID: 34469079.
- L. Coffey MJ, Whitaker V, Gentin N, Junek R, Shalhoub C, Nightingale S, Hilton J, Wiley V, Wilcken B, Gaskin KJ, Ooi CY. Differences in Outcomes between Early and Late Diagnosis of Cystic Fibrosis in the Newborn Screening Era. *J Pediatr.* 2017 Feb;181:137-145.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.10.045. Epub 2016 Nov 10. PMID: 27837951.
- M. Barben J, Castellani C, Munck A, Davies JC, de Winter-de Groot KM, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, Mayell SJ, McColley S, Ooi CY, Proesmans M, Ren CL, Salinas D, Sands D, Sermet-Gaudelus I, Sommerburg O, Southern KW; European CF Society Neonatal Screening Working Group (ECFS NSWG). Updated guidance on the management of children with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome/cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CRMS/CFSPID). *J Cyst Fibros.* 2021 Sep;20(5):810-819. doi: 10.1016/j.jcf.2020.11.006. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33257262.

7.2 Fase Pre-Analitica

7.2.1 Raccolta del sudore

Raccolta del sudore	Forza della raccomandazione
La superficie flessoria di entrambi gli avambracci è la sede preferita per la raccolta del sudore. Si devono prendere in considerazione altre sedi, nel caso in cui entrambe le braccia siano eczematose, troppo piccole o non idonee per altre ragioni. Altre sedi scelte con successo includono la parte alta delle braccia, le cosce	D
Grande attenzione va posta in tutte le fasi della procedura per impedire la contaminazione. Evitare l'uso di soluzioni contenenti cloro per la detersione della cute o l'applicazione di gel anestetici	D
Eeguire il test in doppio con raccolta simultanea del sudore non aumenta significativamente il tempo impiegato per eseguire il test, né il disagio per il soggetto, ma diminuisce la % di fallimenti	C
In risposta ad una richiesta di test del sudore, è sufficiente un solo test, a meno che i risultati suggeriscano un'anormalità nella raccolta o il sospetto di malattia	D
Il generatore deve essere alimentato a batteria e dovrebbe includere un blocco di sicurezza che limita la quantità di corrente a 5mA o meno. Il monitoraggio della corrente dovrebbe essere effettuato durante la iontoforesi, dove possibile. I sistemi Macroduct senza un amperometro hanno un blocco	D

di sicurezza L'operatore dovrebbe eseguire un controllo visivo dello stimolatore per rilevare eventuali danni o malfunzionamenti durante ogni uso. La sicurezza elettrica di tutti gli stimolatori deve essere regolarmente testata da un elettricista e i rapporti di manutenzione devono essere conservati	
Gli elettrodi dovrebbero essere di dimensione e curvatura tali da adattarsi comodamente all'arto del paziente: essi dovrebbero essere fermamente assicurati in posizione con delle fascette a strappo senza stringere troppo; gli elettrodi devono essere regolarmente puliti e ispezionati e buttati se mostrano buchi o irregolarità	D
La scelta di un nuovo equipaggiamento e il mantenimento dell'equipaggiamento esistente, devono essere conformi allo standard CPA (o standard equivalente)	D

NOTE

- Tutti gli stimolatori devono essere approvati per suo diagnostico
- La cute va pulita con alcol 70%, asciugata, lavata con acqua deionizzata ed asciugata prima di iniziare la stimolazione con pilocarpina
- Gli elettrodi vanno posizionati nella stessa sede cutanea ad una distanza minima ≥ 1 cm
- L'elettrodo rosso va posizionato vicino al polso
- Bisogna promuovere l'esecuzione del test in doppio. Stante i numerosi rischi metodologici del test del sudore è opportuno favorire una maggiore sicurezza di qualità della fase preanalitica ed analitica mediante l'esecuzione in duplicato ed in siti cutanei differenti del test del sudore, almeno nelle fasce di pazienti a maggior rischio clinico o nei neonati con positività dello screening neonatale

Riferimenti normativi

- Direttiva 93/42/EEC - Official Journal of the EC N L169, 12/7/1993, p. 1
 - Direttiva 2007/47/CE - Official Journal L 247, 21/09/2007 P. 0021 – 0055
- (link a versioni in inglese ed in italiano: http://www.mediconingegneria.it/cert_med_links.html)

7.2.2 Soluzioni di elettroliti

I metodi di stimolazione del sudore sono:

- il metodo Gibson-Cooke (vd. Appendice 2a delle LG inglesi) consiste nella stimolazione del sudore tramite pilocarpina liquida e raccolta del sudore su carta da filtro o garza;
- il metodo Macroduct (vd. Appendice 2b delle LG inglesi) consiste nella stimolazione del sudore tramite pilocarpina in dischi di gel e raccolta con spirali Macroduct.

Ciascun metodo comporta la scelta di un determinato tipo di apparecchiature, di reagenti dedicati e impone di seguire una determinata procedura tecnica.

Soluzioni di elettroliti	Forza della raccomandazione
Le soluzioni acquose o i dischi di gel che contengono nitrato di pilocarpina a 2-5g/L sono raccomandati per entrambi gli elettrodi. Soluzioni alternative (Es: solfato di magnesio) possono essere usate al catodo	D
Le soluzioni contenenti cloro non devono essere usate per il rischio di contaminazione della raccolta	D
Soluzioni acide non tamponate non dovrebbero essere usate a causa dell'aumentato rischio di bruciature	C
Gli elettroliti usati per la iontoforesi devono o essere parte di un dispositivo medico (Es: dischi di pilogel) o forniti da un produttore riconosciuto di prodotti medici "senza licenza". Le soluzioni NON devono essere prodotte da laboratori ospedalieri	D

NOTE

- Le soluzioni di pilocarpina nitrato, se non presenti in commercio, devono essere di grado farmaceutico
- Usare solo dischi di pilogel integri, non scaduti ed opportunamente conservati

Riferimenti normativi

- European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition (<https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>)

7.2.3 Iontoforesi

Iontoforesi: durata, corrente	Forza della raccomandazione
Quando le soluzioni di elettroliti sono applicate ai tamponi, si dovrebbe applicare una corrente di 1,5mA che viene poi aumentata gradualmente fino ad un massimo di 4mA. Raggiunti i 4mA, la corrente dovrebbe essere mantenuta per un minimo di 3 minuti fino ad un massimo di 5 minuti	D
Quando si usano i sistemi Macroduct bisogna seguire le raccomandazioni del costruttore riguardo i tempi di stimolazione e la corrente. Le raccomandazioni varieranno a seconda del modello usato e tempo e corrente sono controllati automaticamente da tutti i modelli in commercio	D
Per gli stimolatori Macroduct e C&S Electronics Gibson-Cooke Power Supply il paziente deve essere tenuto sotto stretta osservazione durante la iontoforesi	D
Il sistema Nanoduct® non è raccomandato per la raccolta e l'analisi del sudore	D

NOTE

- Se gli elettrodi e l'epidermide non vengono puliti accuratamente con acqua deionizzata prima di ogni stimolazione, si rischia di ridurre l'efficacia della iontoforesi

Riferimenti bibliografici

- A. Gomez CCS, Marson FAL, Servidoni MF, Ribeiro AF, Ribeiro MÂGO, Gama VAL, Costa ET, Ribeiro JD, Vieira Junior FU. Evaluation of continuous constant current and continuous pulsed current in sweat induction for cystic fibrosis diagnosis. BMC Pulm Med. 2018 Sep 14;18(1):153. doi: 10.1186/s12890-018-0696-3. PMID: 30217179; PMCID: PMC6137935.

7.2.4 Sicurezza

Sicurezza	Forza della raccomandazione
Nel caso si usino soluzioni di elettroliti, usare tamponi di adeguato spessore per minimizzare il rischio di bruciature	C
Sistemi ibridi come stimolatori Macroduct o elettrodi con soluzioni di elettroliti o pilogel con elettrodi non Macroduct non dovrebbero essere usati poiché possono causare lesioni	D

NOTE

- I supporti per elettroliti devono essere almeno di 1 cm più grandi delle dimensioni degli elettrodi in tutte le direzioni, quindi \varnothing 4,8cm o 5,1x5,1cm, devono avere uno spessore = 1cm o meglio usare le tasche idrofiliche
- È importante garantire un fermo contatto tra epidermide e dischi di gel, anche per evitare ustioni

Riferimenti bibliografici

- A. Antrum JHG, Allison K. Iontophoresis burns: a peculiar cutaneous injury from a diagnostic sweat test for cystic fibrosis. *BMJ Case Rep.* 2019 Jun 8;12(6):e228139. doi: 10.1136/bcr-2018-228139. PMID: 31177194; PMCID:PMC6559810.

7.2.5 Mezzo di raccolta

Mezzo di raccolta	Forza della raccomandazione
Il sudore dovrebbe essere raccolto con carta da filtro pre-pesata o garza priva di cloro, approssimativamente delle stesse dimensioni dell'area di cute stimolata o con spirali Macroduct	D
La carta da filtro o la garza dovrebbe essere sigillata in posizione con materiale impermeabile come polietilene o parafilm e con nastro adesivo impermeabile. Occorre prestare attenzione affinché la sigillatura rimanga intatta per tutta la durata della raccolta	D
Durante la raccolta il sudore deve essere protetto da contaminazione, condensazione e evaporazione	D

NOTE

- Fare attenzione all'evaporazione del sudore soprattutto nella fase di trasferimento della carta/garza nel contenitore a chiusura ermetica dopo la raccolta

Riferimenti bibliografici

- A. Kabir AL, Roy S, Habib RB, Anwar KS, Mollah MAH, Amin R, Mridha AA, Majumder JU, Hossain MD, Haque N, Ahmed S, Chisti MJ. Cystic Fibrosis Diagnosed Using Indigenously Wrapped Sweating Technique: First Large-Scale Study Reporting Socio-Demographic, Clinical, and Laboratory Features among the Children in Bangladesh A Lower Middle Income Country. *Glob Pediatr Health.* 2020 Oct 30;7:2333794X20967585. doi: 10.1177/2333794X20967585. PMID: 33195743; PMCID:PMC7607759.

7.2.6 Tempo di raccolta

Tempo di raccolta	Forza della raccomandazione
Il sudore dovrebbe essere raccolto per non meno di 20 minuti (a meno che la spirale Macroduct si riempia prima) e non più di 30 minuti	C

Risultati Audit EU (2015)

I centri intervistati hanno fornito queste risposte.

Il tempo di raccolta del sudore raccomandato di 30 min (48%), <20 min (4%); 20–30 min (24%); 30–45 min (15%); 45–60 minuti (5%); fino a quando il capillare non è pieno (2%); 35 min (2%).

7.2.7 Rimozione del campione

Rimozione del campione	Forza della raccomandazione
Il sudore raccolto con spirale Macroduct deve essere rimosso bloccando l'estremità libera della spirale con una siringa o una pinza e tagliando l'altra estremità della spirale	D

7.2.8 Conservazione prima dell'analisi

Conservazione prima dell'analisi	Forza della raccomandazione
Durante la raccolta, il trasporto e l'analisi, si dovrebbe fare di tutto per minimizzare l'evaporazione del campione	D
Se fosse necessario conservare i campioni di sudore su carta da filtro prima dell'analisi, tenerli a 2-8°C per un massimo di 3 giorni in contenitori di dimensioni opportune e a tenuta stagna in modo da non consentire perdite o evaporazione del campione	C
Il sudore liquido raccolto con spirale Macroduct può essere conservato nei contenitori sigillati della Macroduct o provette per PCR con tappo fino a 72 ore a 2-8°C. Vanno bene anche i capillari in vetro da ematocrito sigillati con plastilina, stando attenti a mantenere un vuoto d'aria tra il sudore e la plastilina	D
La conservazione fino a 72 ore a temperature più elevate dovrebbe essere effettuata in provette per PCR	C
Il sudore può essere raccolto in luoghi lontani e successivamente essere trasportato in Laboratorio per l'analisi, facendo attenzione ai dettagli relativi alla conservazione	D

NOTE

- Identificare in modo univoco il campione di sudore utilizzando inchiostro permanente o barcode

Risultati Audit EU (2015)

Il 41% dei centri intervistati ha riferito di aver immagazzinato il sudore liquido nel capillare (o in Eppendorf sigillata); il 50% ha riferito che il campione è stato analizzato subito.

7.2.9 Pesatura

Pesatura	Forza della raccomandazione
Usare sempre la stessa bilancia	D
Per pesare il sudore usare una bilancia con sensibilità pari a 0,0001 gr	D
Il sudore raccolto su carta da filtro dovrebbe essere pesato ed analizzato prima possibile	D

NOTE

- La fase di "pesatura" deve essere eseguita con strumentazione analitica idonea, con manutenzione continua e certificata, che ne identifichi i margini d'incertezza, stante il rilievo che la fase ha nel calcolo finale del risultato
- Lo stesso personale dovrebbe eseguire le 2 pesature del contenitore e del supporto (carta da filtro o garza) prima e dopo raccolta del sudore

7.2.10 Definizione di campione adeguato

Definizione di campione adeguato	Forza della raccomandazione
La velocità di secrezione del sudore, intesa come velocità media calcolata durante il periodo di raccolta, non dovrebbe essere inferiore ad 1gr/m ² /min. Le raccolte con velocità di secrezione inferiore a questo valore non dovrebbero essere analizzate. Campioni di sudore insufficienti non devono essere raggruppati. Ripetere stimolazione e raccolta del sudore in altra sede o in altro momento	D

NOTE

- La quantità minima di sudore raccomandata per raccolta su garza o carta da filtro è di 75mg
- La quantità minima di sudore raccomandata per raccolta con capillare è di 15µL (tenere conto della quantità minima di sudore richiesta per la determinazione analitica anche in doppio)

Risultati Audit EU (2015)

Per il 43% dei centri intervistati il volume minimo accettabile per l'analisi dello ione cloruro è stata riportata come 20µL: questo è il minimo volume accettabile per il metodo di conducibilità Macroduct e per l'analisi dello ione cloruro nel sudore non diluito. Il 60% dei centri ha riportato un tasso di fallimento (cioè basso volume di sudore, quantità non sufficiente) inferiore al 5% in tutta la popolazione testata, che sale al 38% nei neonati (età <1 mese).

In caso di volume di sudore insufficiente, la raccolta del sudore si ripete in un altro momento nel 77% dei casi (nel 76% un altro giorno).

7.3 Fase Analitica

7.3.1 Eluizione del sudore

Eluizione del sudore dalla carta da filtro	Forza della raccomandazione
Quando il sudore viene raccolto su carta da filtro, il tempo di eluizione dovrebbe essere maggiore di 1 minuto e minore di 3 ore	C
Il campione di sudore raccolto su carta da filtro dovrebbe essere omogeneizzato e mescolato accuratamente prima dell'analisi	D
Il sudore raccolto con la spirale Macroduct deve essere accuratamente espulso e mescolato prima dell'analisi	D

NOTE

- Se il sudore viene raccolto su garza, agitare 1 minuto e lasciare a temperatura ambiente per 15 minuti
- Per l'eluizione del sudore da carta da filtro o garza è necessario usare acqua deionizzata
- Usare pipette volumetriche tarate
- È possibile evitare l'eluizione, impiegando le spirali Macroduct o provette apposite in grado di separare e recuperare il sudore dalla garza, mediante centrifugazione

SCHEMA DI ELUIZIONE

Il volume di eluizione varia in base alla linearità e al limite di rilevamento del metodo analitico: ...”ci sono **ben** poche evidenze su cui basare la miglior pratica. Se i Laboratori che raccolgono il sudore su carta da filtro o garza trattano il CQI in maniera appropriata, (cioè applicano il materiale di controllo su carta da filtro o garza) i risultati sul CQI daranno evidenza di una soddisfacente eluizione”

7.3.2 Analiti

Analiti	Forza della raccomandazione
Si deve misurare la concentrazione di <u>cloro</u> nel sudore	B
La misura della conduttività da sola non è un test diagnostico adeguato per indagare la fibrosi cistica. La conduttività può essere usata come test di screening	D
Nei neonati sotto i 6 mesi di età la concentrazione del cloro nel sudore deve essere misurata anche se i livelli di conduttività sono normali	D
Nei neonati e nei bambini sopra i 6 mesi di età la concentrazione di cloro deve essere misurata se i livelli di conduttività sono intermedi o patologici	D
Le misure nel sudore di sodio, potassio, <u>osmolalità</u> non sono raccomandate	D

NOTE

- Bisogna promuovere la determinazione sia di cloro che di sodio: le due misure servono a validarsi a vicenda (una eccessiva differenza rende problematica l'attendibilità del test). Il rapporto Cl^-/Na^+ può essere un parametro utile: in FC questo è prevalentemente >1 . Negli adulti il rapporto ha una elevata sensibilità e una buona specificità
- La conduttività è la proprietà di una soluzione di condurre corrente e dipende dalla concentrazione e mobilità di tutti gli ioni presenti nel sudore ed è di circa 15mmol/L $>$ alla concentrazione dello ione cloruro. Essa rappresenta una misura non selettiva degli ioni presenti in una soluzione
- L'osmolalità misura tutti i soluti presenti nel sudore

Risultati Audit EU (2015)

Il 68% degli intervistati ha riferito di analizzare solo il cloro nel sudore, il 16% solo la conduttività e il 16% esegue entrambe le determinazioni.

7.3.3 Metodologia

Metodologia	Forza della raccomandazione
La colorimetria, la coulometria e i moduli ISE sono metodi soddisfacenti per il dosaggio del <u>cloro</u> nel sudore. Dove possibile, eseguire le analisi in doppio	D
La conduttività misurata con il sistema Macroduct Sweat-Check è un metodo di analisi soddisfacente	D
Il sistema Nanoduct® non è attualmente raccomandato per la raccolta e l'analisi del sudore di routine	D

NOTE

- La misura del cloro è validata come **TEST DI CONFERMA**
- Per i moduli ISE, l'utilizzatore deve validare tale metodica per il dosaggio degli elettroliti su sudore
- La misura della conduttività eseguita solo con apparecchiature Macroduct è approvata come **TEST DI SCREENING** dalla CFF solo all'esterno dei Centri di cura FC accreditati
- Non usare vecchi strumenti per misurare la conduttività
- Non usare test di lettura diretta in situ (elettrodo Orion)
- Sono metodi analitici accettabili per la determinazione della concentrazione di cloro nel sudore anche altri metodi quantitativi (es, spettrometria di massa e a gas) purché validati
- È raccomandata l'analisi in doppio, se il volume/quantità di sudore lo permette

Risultati Audit EU (2015)

Per la misurazione del cloro da un campione liquido di sudore, il metodo più riportato è la coulometria utilizzando un clorurimetro (54%).

Riferimenti bibliografici

- Rueegg CS, Kuehni CE, Gallati S, Jurca M, Jung A, Casaulta C, Barben J; Swiss Cystic Fibrosis Screening Group. Comparison of two sweat test systems for the diagnosis of cystic fibrosis in newborns. *Pediatr Pulmonol*. 2019 Mar;54(3):264-272. doi: 10.1002/ppul.24227. Epub 2019 Jan 4. PMID: 30609259.
- Choi DH, Thaxton A, Jeong IC, Kim K, Sosnay PR, Cutting GR, Searson PC. Sweat test for cystic fibrosis: Wearable sweat sensor vs. standard laboratory test. *J Cyst Fibros*. 2018 Jul;17(4):e35-e38. doi:10.1016/j.jcf.2018.03.005. Epub 2018 Mar 23. PMID: 29580829.

- C. Marvelli A, Campi B, Mergni G, Di Cicco ME, Turini P, Scardina P, Zucchi R, Pifferi M, Taccetti G, Paolicchi A, la Marca G, Saba A. Sweat chloride assay by inductively coupled plasma mass spectrometry: a confirmation test for cystic fibrosis diagnosis. *Anal Bioanal Chem.* 2020 Oct;412(25):6909-6916. doi:10.1007/s00216-020-02821-3. Epub 2020 Jul 21. PMID: 32691087; PMCID: PMC7495987.
- D. Bergamini G, Tridello G, Calcaterra E, Ceri S, Tagliasacchi M, Bianchi F, Monti F, Masciadri A, Laudanna E, Peserico D, Sorio E, Esposito V, Leal T, Assael BM, Sorio C, Melotti P. Ratiometric sweat secretion optical test in cystic fibrosis, carriers and healthy subjects. *J Cyst Fibros.* 2018 Mar;17(2):186-189. doi:10.1016/j.jcf.2017.12.003. Epub 2017 Dec 29. PMID:29292091.
- E. Reynaerts A, Vermeulen F, Mottais A, Gohy S, Lebecque P, Frédérick R, Vanbever R, Leal T. Needle-free iontophoresis-driven β -adrenergic sweat rate test. *J Cyst Fibros.* 2021 Sep 3:S1569-1993(21)01353-9. doi:10.1016/j.jcf.2021.08.012. Epub ahead of print. PMID: 34489187.
- F. Salinas DB, Kang L, Azen C, Quinton P. Low Beta-Adrenergic Sweat Responses in Cystic Fibrosis and Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Related Metabolic Syndrome Children. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol.* 2017 Mar 1;30(1):2-6. doi: 10.1089/ped.2016.0662. PMID: 28465863; PMCID: PMC5361761.
- G. Ďurč P, Foret F, Homola L, Malá M, Pokojová E, Vinohradská H, Dastych M, Krausová D, Nagy D, Bede O, Dřevínek P, Skalická V, Kubáň P. Skin wipe test: A simple, inexpensive, and fast approach in the diagnosis of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2020 Jul;55(7):1653-1660. doi: 10.1002/ppul.24758. Epub 2020 Apr 6. PMID: 32250037.
- H. Faria AG, Marson FA, de Souza Gomez CC, Ribeiro MÂ, Morais LB, de Fátima Servidoni M, Bertuzzo CS, Sakano E, Goto M, Paschoal IA, Pereira MC, Hessel G, Levy CE, Toro AA, Peixoto AO, Simões MC, Lomazi EA, Nogueira RJ, Ribeiro AF, Ribeiro JD. Erratum to: Quality of sweat test (ST) based on the proportion of sweat sodium (Na) and sweat chloride (Cl) as diagnostic parameter of cystic fibrosis: are we on the right way? *Diagn Pathol.* 2017 Feb 27;12(1):22. doi:10.1186/s13000-017-0611-x. Erratum for: *Diagn Pathol.* 2016 Oct 26;11(1):103. PMID: 28241768; PMCID: PMC5327522.
- I. Zhang C, Kim JP, Creer M, Yang J, Liu Z. A smartphone-based chloridometer for point-of-care diagnostics of cystic fibrosis. *Biosens Bioelectron.* 2017 Nov 15;97:164-168. doi: 10.1016/j.bios.2017.05.048. Epub 2017 May 27. PMID:28595077.
- J. Taghizadeh-Behbahani M, Hemmateenejad B, Shamsipur M, Tavassoli A. A paper-based length of stain analytical device for naked eye (readout-free) detection of cystic fibrosis. *Anal Chim Acta.* 2019 Nov 8;1080:138-145. doi:10.1016/j.aca.2019.06.050. Epub 2019 Jun 26. PMID: 31409463.
- K. Gao W, Ota H, Kiriya D, Takei K, Javey A. Flexible Electronics toward Wearable Sensing. *Acc Chem Res.* 2019 Mar 19;52(3):523-533. doi:10.1021/acs.accounts.8b00500. Epub 2019 Feb 15. PMID: 30767497.
- L. Vallejos S, Hernando E, Trigo M, García FC, García-Valverde M, Iturbe D, Cabero MJ, Quesada R, García JM. Polymeric chemosensor for the detection and quantification of chloride in human sweat. Application to the diagnosis of cystic fibrosis. *J Mater Chem B.* 2018 Jun 14;6(22):3735-3741. doi:10.1039/c8tb00682b. Epub 2018 May 23. PMID: 32254835.
- M. Dubot P, Liang J, Dubs J, Missiak Y, Sarazin C, Couderc F, Caussé E. Sweat chloride quantification using capillary electrophoresis. *Pract Lab Med.* 2018 Dec 7;13:e00114. doi: 10.1016/j.plabm.2018.e00114. PMID: 30623007; PMCID:PMC6317274.
- N. Gokdemir Y, Vatansever P, Karadag B, Seyrekel T, Baykan O, Bas Ikizoglu N, Ersu R, Karakoc F, Haklar G. Performance Evaluation of a New Coulometric Endpoint Method in Sweat Testing and Its Comparison With Classic Gibson&Cooke and Chloridometer Methods in Cystic Fibrosis. *Front Pediatr.* 2018 May 22;6:133. doi: 10.3389/fped.2018.00133. PMID: 29876336; PMCID: PMC5974533.
- O. Kim JP, Xie Z, Creer M, Liu Z, Yang J. Citrate-based fluorescent materials for low-cost chloride sensing in the diagnosis of Cystic Fibrosis. *Chem Sci.* 2017 Jan 1;8(1):550-558. doi: 10.1039/C6SC02962K. Epub 2016 Aug 30. PMID:28348728; PMCID: PMC5351803.
- P. Zafar S, Lu M, Jagtiani A. Comparison between Field Effect Transistors and Bipolar Junction Transistors as Transducers in Electrochemical Sensors. *Sci Rep.* 2017 Jan 30;7:41430. doi: 10.1038/srep41430. PMID: 28134275; PMCID: PMC5278393.
- Q. Hauke A, Oertel S, Knoke L, Fein V, Maier C, Brinkmann F, Jank MPM. Screen-Printed Sensor for Low-Cost Chloride Analysis in Sweat for Rapid Diagnosis and Monitoring of Cystic Fibrosis. *Biosensors (Basel).* 2020 Sep 11;10(9):123. doi: 10.3390/bios10090123. PMID: 32933070; PMCID: PMC7558764

7.3.4 Qualità

Qualità	Forza della raccomandazione
Il sudore che è stato soggetto a contaminazione e/o evaporazione non deve essere analizzato	C
Il range analitico dei metodi impiegati deve coprire gli intervalli di concentrazione dei soggetti normali e dei soggetti con fibrosi cistica	C
I metodi analitici devono essere ampiamente documentati come procedure operative standard (SOP) per uniformarsi allo standard CPA (Clinical Pathology Accreditation)(o standard equivalente)	
Ci deve essere una procedura di controllo di qualità interno (diversa dalla procedura di calibrazione) a 2 concentrazioni (normale e intermedia o patologica) per ciascuna analisi	C
Il metodo analitico per misurare il cloro dovrebbe avere un CV tra batch del 5% (o meno) alla concentrazione di 40-50mmol/L	B
Il metodo analitico per la conduttività dovrebbe avere un CV tra batch del 2% (o meno) alla concentrazione di 50mmol/L	B
Il laboratorio deve partecipare ad uno schema di valutazione esterna di qualità appropriato	C
Risultati non fisiologici, cioè con cloro >150mmol/L, dovrebbero essere messi in discussione	B
Per la conduttività, si può usare un limite fisiologico superiore provvisorio di 170mmol/L, in attesa di ulteriori evidenze	C

NOTE

- Per il CQI è raccomandato l'uso di materiali in commercio. In alternativa si possono anche usare materiali di controllo acquosi, purché di grado farmaceutico
- Gli standard ECFS 2022 raccomandano l'uso di materiali per il CQI a 3 concentrazioni: normale con cloro ≤ 29 mmol/L; borderline con cloro tra 30 e 59mmol/L; patologico con cloro ≥ 60 mmol/L
- Gli standard ECFS 2022 raccomandano per il CQI il CV% del cloro tra batch = 7-10% nel range normale; = 5-7% nel range borderline e patologico; per gli equivalenti di NaCl = 2-3% a 50mmol/L
- La differenza tra la concentrazione di sodio e di cloro misurate sullo stesso campione di sudore deve essere <15mmol/L
- Usare sia il **Grafico di Levey-Jennings** che le **Regole di Westgard** per monitorare la performance del CQI
- Per la scelta del programma di VEQ si rimanda all'approfondimento in questo paragrafo
- La partecipazione a programmi di VEQ deve essere regolare e con performance elevata

I centri dovrebbero monitorare la % dei test ripetuti ed indagare ogni significativo aumento della % di fallimenti	D
Campioni di sudore non idonei (cioè, con peso o volume insufficiente) non dovrebbero superare il 10% dell'intera popolazione testata (escludendo i campioni ripetuti ed i test eseguiti su pazienti malati/troppo piccoli). Il target dovrebbe essere fissato al 5% nei bambini oltre 6 mesi di età	C
Nei bambini sotto i 6 mesi di età il numero di test falliti non dovrebbe superare il 20% dell'intera popolazione testata	C
La performance dell'intera procedura del test del sudore dovrebbe essere rivista con regolarità. Questo dovrebbe includere: 1) campioni insufficienti, registrati come % dei campioni totali e per operatore; 2) dati fuori controllo (% dei valori fuori dal range definito per il CQI); 3) performance nella verifica esterna di qualità	C
Il laboratorio dovrebbe collaborare con i medici per verificare con regolarità i risultati del test del sudore, in particolare, i campioni ripetuti, le diagnosi e l'esito dei risultati positivi e intermedi	C

NOTE

- Gli standard ECFS 2022 raccomandano una % di campioni insufficienti tra 10 e 15% nella popolazione totale sottoposta a test del sudore; tra 5 e 10% nei bambini di età >6 mesi; tra 20 e 25% nei neonati di età <6 mesi

Risultati Audit EU (2015)

Il 52% degli intervistati ha riferito di partecipare ad un programma di verifica esterna della qualità.

Raccomandazioni per migliorare la raccolta del sudore (CLSI, 2009)

- Seguire le linee guida CLSI-34 A3 alla lettera
- Calcolare correttamente la percentuale (%) dei campioni insufficienti (QNS). Il tasso di QNS corrisponde alla % di test del sudore con quantità di sudore insufficiente al primo tentativo
- Quando si esegue il test in doppio bilateralmente, il campione si definisce insufficiente solo se non si ottiene una quantità di sudore adeguata da entrambi i siti
- Limitare il numero di operatori che eseguono la raccolta di sudore a pochi professionisti ben formati. Ogni operatore dovrebbe eseguire almeno 1 raccolta a settimana per mantenere la competenza necessaria. Il Direttore di Laboratorio/Direttore di Centro deve verificare con regolarità la competenza di tutto il personale che esegue i test del sudore tramite osservazione diretta della prestazione
- Eseguire il test in doppio (cioè raccogliere ed analizzare il sudore da due siti). Mentre i campioni raccolti da due siti non possono essere mescolati per l'analisi, eseguire il test bilateralmente aumenta la probabilità di raccogliere un campione sufficiente da almeno un sito
- Verificare che il paziente sia ben idratato, senza patologia acuta e che i neonati asintomatici abbiano un peso corporeo di almeno 2 kg ed un'età di almeno 2 settimane
- Valutare periodicamente la strumentazione per la iontoforesi per la perdita di tensione e il controllo della corrente
- Per la iontoforesi usare il nitrato di pilocarpina, non la pilocarpina cloridrato
- Usare elettrodi di diametro 3.81x3.81cm e dischi di garza o carta da filtro di 5.1x5.1cm per stimolare indipendentemente dall'età o dalle dimensioni corporee del paziente
- Verificare che le aree di stimolazione e di raccolta siano delle stesse dimensioni
- Posizionare l'elettrodo positivo sulla superficie volare interna dell'avambraccio dove c'è una maggiore densità di ghiandole sudoripare

- Posizionare il dispositivo di raccolta o la carta o garza direttamente sull'area stimolata con l'elettrodo positivo
- Avvolgere l'area di raccolta con una benda elasticizzata per sicurezza
- Il riscaldamento termico del sito di raccolta non sembra aumentare la resa di sudore
- Raccogliere tutto il sudore condensato sulla superficie interna del parafilm quando si raccoglie il sudore con carta o garza
- Non conservare o trasportare il sudore nella spirale Macroduct poiché si può verificare l'evaporazione del campione
- Determinare con accuratezza la quantità di sudore raccolto sia con bilancia analitica sia con spirale Macroduct
- Redigere un programma di miglioramento continuo della qualità per monitorare periodicamente:
 - la formazione e la competenza degli operatori addetti sia alla raccolta che all'analisi
 - la performance nelle verifiche esterne di qualità
 - la % di QNS associata ad ogni operatore

Assicurazione di Qualità nel Laboratorio di Chimica Clinica⁴

Garanzia di qualità per il test del sudore

Nonostante l'aggiornamento tecnologico, il test del sudore (TS), validato nel 1959, è ancora dipendente dall'operatore. Data l'importanza di un valore patologico, è di fondamentale importanza eseguire il test in accordo alle linee guida internazionali.

Strategie di controllo della qualità nella fase pre-analitica

La fase pre-analitica della TS comprende diversi step: l'informazione del paziente, l'idoneità del soggetto, la stimolazione e la raccolta del sudore. Ogni step contribuisce in egual modo all'obiettivo finale che consiste nell'ottenere un campione di sudore adeguato per l'analisi. Per campione di sudore adeguato si intende un campione di sudore con peso/volume sufficiente, non inquinato e non evaporato. Questa fase è cruciale sia perché si trova all'inizio dell'intero processo sia perché è dipendente dall'operatore. Un adeguato campione di sudore può essere difficile da ottenere nei bambini. Attualmente il tasso di campioni insufficienti è l'unico indicatore di qualità della fase pre-analitica del TS. Esso consiste nella percentuale di test del sudore senza un adeguato peso/volume. Il laboratorio dovrebbe tenere un registro con la % dei campioni insufficienti (QNS) ed aggiornarlo regolarmente. Se la % di QNS è inaccettabile, ogni singolo passaggio nella fase pre-analitica deve essere verificato riqualificando il personale su: condizioni del paziente, pilocarpina, carta da filtro o garza, sorgente di corrente per la iontoforesi ed elettrodi, fissaggio di elettrodi e materiale di raccolta del sudore, stimolazione del sudore e tempo di raccolta. Per ridurre la % di QNS occorre seguire attentamente tutti i passaggi della fase pre-analitica. Un ulteriore indicatore di una buona performance nella fase pre-analitica del test del sudore consiste nel verificare che il cloro nel sudore misurato su 2 sedi contemporaneamente (test in doppio) sia <10 mmol/L per valori ≤60 mmol/L ed <15 mmol/L per valori >60 mmol/L.

Strumenti di controllo della qualità in fase analitica

Il controllo di qualità interno (CQI) viene eseguito all'interno di un laboratorio per misurare la precisione dei risultati dei test. I materiali di controllo vengono utilizzati per monitorare il metodo e convalidare i risultati sui campioni dei pazienti. Un materiale di controllo è una matrice liquida stabilizzata con un intervallo predeterminato di valori che simula un campione di un paziente; la concentrazione dell'analita nel materiale di controllo è nota al laboratorio. I campioni di controllo (CQ) vengono testati allo stesso modo dei campioni dei pazienti e misurati in ogni seduta analitica. Se i risultati sul controllo non rientrano negli intervalli accettabili, è necessario rivedere la procedura, controllare il funzionamento dello strumento per l'analisi, la scadenza dei CQ e la seduta analitica deve essere invalidata. Esistono molti criteri e strumenti per verificare la validità di una seduta analitica quando il risultato del CQI è fuori dagli intervalli. Il **grafico di Levey-Jennings** garantisce che le prestazioni del sistema analitico non siano cambiate nel tempo. Le **regole di Westgard** servono a rilevare i veri errori e ridurre al minimo i falsi errori in una seduta analitica. I risultati del paziente non devono mai essere refertati fino a quando la causa del problema non è stata rimossa; i materiali di controllo devono essere analizzati nuovamente per verificare se il problema è stato risolto. In Europa ci sono almeno 3 materiali per il CQI del test del sudore disponibili in commercio. I materiali per il CQI possono anche essere preparati come formulazioni di grado farmaceutico.

I programmi di valutazione esterna della qualità (VEQ) vedono coinvolti laboratori nello stesso paese o anche in paesi diversi. Organizzazioni pubbliche e private promuovono questi programmi. Ogni laboratorio riceve un numero fisso di campioni di controllo (dipende dallo schema: tipicamente da 3 a 12/ciclo) anche accompagnati da indicazioni cliniche simulate. Gli schemi di VEQ di solito sono su base annuale con più sessioni ed hanno lo scopo di valutare l'accuratezza (mancanza di scostamento dal valore vero) dei risultati

dei test, confrontando i risultati forniti sullo stesso campione dai laboratori partecipanti. La concentrazione dell'analita nel materiale di controllo è in cieco per il laboratorio. Ogni laboratorio deve processare il campione di controllo in una finestra temporale fissa e comunicare centralmente il risultato del test. La valutazione di solito copre la prestazione analitica, ma può anche includere la struttura del laboratorio, la sensibilità clinica (coerenza del risultato analitico con un intervallo normale, borderline o patologico) e la qualità del referto. I criteri di valutazione sono stabiliti dall'organizzazione e devono essere accettati dal laboratorio. Di solito alla fine di ogni ciclo, o anche dopo ogni sessione, il laboratorio riceve un report finale con un punteggio e le raccomandazioni per implementare azioni di miglioramento. In Europa sono disponibili almeno 6 schemi pubblici VEQ.

I programmi di controllo inter-laboratorio hanno lo scopo di monitorare le prestazioni del laboratorio ai fini dell'accreditamento in determinate circostanze definite. In generale questi programmi sono adeguati laddove non sono disponibili programmi di VEQ, o per ragioni di tipo economico (sono meno costosi dei programmi di VEQ) o per patologie rare.

Controllo di qualità nella fase post-analitica

Al paziente deve essere fornito un referto scritto per ogni test, anche se il campione non è adeguato (QNS). Il referto del test del sudore deve soddisfare almeno i requisiti minimi. I risultati devono essere sempre interpretati da chimico clinico (o funzione equivalente) e, se disponibile, anche da uno specialista della FC. L'interpretazione dei risultati del test dovrebbe essere di facile comprensione.

Riferimenti bibliografici

- A. Greaves RF, Jolly L, Massie J, Scott S, Wiley VC, Metz MP, Mackay RJ; Australasian Association of Clinical Biochemists Sweat Test Working Party in association with the Royal Australasian College of Pathologists Quality Assurance Programs. Laboratory performance of sweat conductivity for the screening of cystic fibrosis. *Clin Chem Lab Med*. 2018 Mar 28;56(4):554-559. doi:10.1515/cclm-2017-0530. PMID: 28988220.
- B. Servidoni MF, Gomez CCS, Marson FAL, Toro AADC, Ribeiro MÂGO, Ribeiro JD, Ribeiro AF; Grupo Colaborativo de Estudos em Fibrose Cística. Sweat test and cystic fibrosis: overview of test performance at public and private centers in the state of São Paulo, Brazil. *J Bras Pneumol*. 2017 Mar-Apr;43(2):121-128. doi:10.1590/S1806-37562016000000076. PMID: 28538779; PMCID: PMC5474375.
- C. Salvatore M, Amato A, Florida G, Censi F, Ferrari G, Tosto F, Padoan R, Raia V, Cirilli N, Castaldo G, Capoluongo E, Caruso U, Corbetta C, Taruscio D. The Italian External Quality Assessment Program for Cystic Fibrosis Sweat Chloride Test: Does Active Participation Improve the Quality? *Int J Environ Res Public Health*. 2020 May 4;17(9):3196. doi: 10.3390/ijerph17093196. PMID:32375358; PMCID: PMC7246827.
- D. Bienvenu T, Nguyen-Khoa T. Current and future diagnosis of cystic fibrosis: Performance and limitations. *Arch Pediatr*. 2020 Feb;27 Suppl 1:eS19-eS24. doi:10.1016/S0929-693X(20)30046-4. PMID: 32172931.
- E. Salvatore M, Florida G, Amato A, Censi F, de Stefano MC, Ferrari G, Tosto F, Taruscio D; Italian EQA-SCT Working Group. Italian external quality assessment program for cystic fibrosis sweat chloride test: a 2015 and 2016 results comparison. *Ann Ist Super Sanita*. 2017 Oct-Dec;53(4):305-313. doi:10.4415/ANN_17_04_06. PMID: 29297860.
- F. LeGrys VA, Moon TC, Laux J, Accurso F, Martiniano SA. A multicentre evaluation of sweat chloride concentration and variation in infants with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2019 Mar;18(2):190-193. doi: 10.1016/j.jcf.2018.12.006. Epub 2018 Dec 21. PMID: 30583934.
- G. Blake O, Tsang V, Ghorri R, Whelan S, Boran G, Linnane B. Sweat Testing in Ireland. *Ir Med J*. 2018 Aug 13;111(7):789. PMID: 30520616.
- H. Maguire B, Blake O, Boran G, Borovickova I, Abdelfadil S, Murray C, Elnazir B, Linnane B. Sweat testing in the modern era: A national survey of sweat testing practice in the Republic of Ireland. *J Cyst Fibros*. 2021 Oct 4:S1569-1993(21)01417-X. doi: 10.1016/j.jcf.2021.09.012. Epub ahead of print. PMID: 34620573.
- I. Cirilli N, Southern KW, Buzzetti R, Barben J, Nährlich L, Munck A, Wilschanski M, De Boeck K, Derichs N; of the ECFS Diagnostic Network Working Group. Real life practice of sweat testing in Europe. *J Cyst Fibros*. 2017 Sep 27:S1569-1993(17)30881-0. doi: 10.1016/j.jcf.2017.09.002. Epub ahead of print. PMID: 28964647.
- J. Faria AG, Marson FAL, Gomez CCS, Servidoni MF, Ribeiro AF, Ribeiro JD. Thirty Years of Sweat Chloride Testing at One Referral Center. *Front Pediatr*. 2017 Oct 26;5:222. doi: 10.3389/fped.2017.00222. PMID: 29124052; PMCID:PMC5662556.
- K. Aziz DA, Billoo AG, Qureshi A, Khalid M, Kirmani S. Clinical and laboratory profile of children with Cystic Fibrosis: Experience of a tertiary care center in Pakistan. *Pak J Med Sci*. 2017 May-Jun;33(3):554-559. doi:10.12669/pjms.333.12188. PMID: 28811770; PMCID: PMC5510102.

7.4 Fase Post-Analitica

7.4.1 Interpretazione degli elettroliti nel sudore

Interpretazione degli elettroliti nel sudore	Forza della raccomandazione
Per l'interpretazione sono raccomandate le seguenti definizioni:	
<ul style="list-style-type: none">una concentrazione di <u>cloro</u> nel sudore >60mmol/L supporta la diagnosi di FC	C
<ul style="list-style-type: none">una concentrazione di <u>cloro</u> nel sudore tra 40 e 60mmol/L o, se età inferiore ai 6 mesi, 30-60mmol/L, è intermedia e richiede ulteriori indagini per fibrosi cistica come ripetere il test e/o ulteriori indagini	C
<ul style="list-style-type: none">una concentrazione di <u>cloro</u> nel sudore <40mmol/L o, se età inferiore ai 6 mesi, <30mmol/L è normale ma richiede una correlazione genetica e clinica	C
Un valore di conduttività <50mmol/L è improbabile che sia associato con FC. Valori di conduttività >90mmol/L supportano una diagnosi di FC	C
La fibrosi cistica non dovrebbe essere diagnostica basandosi solamente sulla misura della conduttività. In tutti i pazienti con conduttività ≥50mmol/L eseguire analisi del cloro e/o indagine genetica	C
Porre attenzione alla variabilità biologica intra-individuale quando si interpretano i risultati del test del sudore, in particolare per i valori vicini ai limiti di normalità. La variabilità biologica è molto maggiore dell'imprecisione analitica	D
I pazienti con valori di cloro nell'intervallo intermedio devono ricevere una valutazione clinica da parte di uno specialista in FC prima di ricevere un'etichetta diagnostica	D

Al paragrafo 9.2 di questo documento è riportato un elenco di varianti del gene CFTR associate a test del sudore negativo/borderline che possono anche causare quadri di fibrosi cistica.

Il gruppo di lavoro, in base alla **non** disponibilità di studi clinici controllati, giudica non giustificato al momento un abbassamento della soglia di normalità del test del sudore a 30mmol/l per tutte le fasce di età, contrariamente a quanto suggerito dalla Consensus sui criteri diagnostici per fibrosi cistica pubblicata della CF Foundation nel 2017.

SORGENTI DI ERRORE

La maggior parte degli errori alla base di risultati **falsi positivi** e **falsi negativi** è causata dall'uso di metodi non affidabili, da quantità di sudore inadeguate, da problemi tecnici, da una non corretta interpretazione dei risultati, da personale di Laboratorio senza esperienza e dall'assenza di procedure di assicurazione di qualità

NOTE

- Valutare sempre i risultati del cloro tenendo conto di andamento clinico ed età del paziente
- La **diagnosi di FC** è di competenza clinica e non dovrebbe **mai** essere **basata su un singolo test del sudore positivo**. Se l'indagine genetica conferma la presenza di 2 varianti CF-causing *in trans* non è necessario eseguire il secondo test del sudore
- Un **singolo risultato** di Laboratorio **non è sufficiente a confermare** o ad **escludere** la **diagnosi di FC** se il risultato non correla con il fenotipo clinico e/o il genotipo
- Valori di cloro patologici in soggetti affetti da malattie metaboliche e/o malattie sistemiche che assumono terapie croniche per la malattia di base, devono essere interpretati escludendo l'interferenza da farmaci
- Nel valutare i risultati di test del sudore ripetuti nello stesso individuo tenere conto della variabilità biologica intra-individuale che può essere compresa tra il 20 e il 32%
- Gli intervalli di riferimento vengono corretti come segue: patologico ≥ 60 mmol/L; intermedio 40-59mmol/L (30-59mmol/L <6 mesi di età); ≤ 39 mmol/L (≤ 29 mmol/L <6 mesi di età)

Risultati Audit EU (2015)

Gli intervalli di riferimento per l'interpretazione di un test del sudore sono risultati variabili. Il 18% ha riferito di utilizzare un diverso cut-off di riferimento per i bambini al di sotto dei 6 mesi di età. Il 60% dei centri considera negativo un valore di cloro nel sudore <30 mmol/l per tutte le età. Il 53% dei centri considera intermedio un valore di cloro tra 30 e 59 mmol/l. Il 68% dei centri considera positivo un valore di cloro >60 mmol/L per tutte le età. In totale, 12 diversi cut-off per la concentrazione di cloro nel sudore sono stati riportati dai centri, che vanno da <20 mmol/L a 50 mmol/L per un risultato negativo e da 20 mmol/L a 90 mmol/L per un risultato intermedio. La variabilità per gli intervalli di riferimento di altri analiti (sodio, conduttività, osmolalità) è più marcata. Un risultato negativo del test del sudore è segnalato come "FC improbabile" dal 74% degli intervistati, un risultato intermedio come "necessità di ripetere il test del sudore" dall'81% e un primo risultato positivo come "FC probabile che deve essere ripetuto" dal 63%. Tutti i centri utilizzano un referto scritto per il test del sudore. Nella maggior parte dei casi la comunicazione di diagnosi di FC viene effettuata da un medico specialista (87%).

Riferimenti bibliografici

- De Boeck K, Vermeulen F, Dupont L. The diagnosis of cystic fibrosis. *Presse Med.* 2017 Jun;46(6 Pt 2):e97-e108. doi: 10.1016/j.lpm.2017.04.010. Epub 2017 May 31. PMID: 28576637.
- Shteinberg M, Haq IJ, Polineni D, Davies JC. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2021 Jun 5;397(10290):2195-2211. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32542-3. PMID: 34090606.
- Castellani C, Linnane B, Pranke I, Cresta F, Sermet-Gaudelus I, Peckham D. Cystic Fibrosis Diagnosis in Newborns, Children, and Adults. *Semin Respir Crit Care Med.* 2019 Dec;40(6):701-714. doi: 10.1055/s-0039-1697961. Epub 2019 Nov 3. PMID: 31679154.
- Cimbalo C, Tosco A, Terlizzi V, Sepe A, Castaldo A, Salvadori L, Raia V. Elevated sweat chloride test: is it always cystic fibrosis? *Ital J Pediatr.* 2021 May 14;47(1):112. doi: 10.1186/s13052-021-01060-1. PMID: 33990208; PMCID:PMC8120719.
- Farrell PM, White TB, Howenstine MS, Munck A, Parad RB, Rosenfeld M, Sommerburg O, Accurso FJ, Davies JC, Rock MJ, Sanders DB, Wilschanski M, Sermet-Gaudelus I, Blau H, Gartner S, McColley SA. Diagnosis of Cystic Fibrosis in Screened Populations. *J Pediatr.* 2017 Feb;181S:S33-S44.e2. doi:10.1016/j.jpeds.2016.09.065. PMID: 28129810.
- Treggiari D, Tridello G, Menin L, Borruso A, Pintani E, Iansa P, Cipolli M, Melotti P. Role of sweat ion ratios in diagnosing cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2021 Jul;56(7):2023-2028. doi: 10.1002/ppul.25395. Epub 2021 Apr 15. PMID: 33822490.
- Simmonds NJ. Is it cystic fibrosis? The challenges of diagnosing cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2019 Aug;31:6-8. doi: 10.1016/j.prrv.2019.02.004. Epub 2019 Feb 28. PMID: 30967347.
- Pagaduan JV, Ali M, Dowlin M, Suo L, Ward T, Ruiz F, Devaraj S. Revisiting sweat chloride test results based on recent guidelines for diagnosis of cystic fibrosis. *Pract Lab Med.* 2018 Jan 3;10:34-37. doi: 10.1016/j.plabm.2018.01.001. PMID: 29326970; PMCID: PMC5760465.
- Başaran AE, Karataş-Torun N, Maslak İC, Bingöl A, Alper ÖM. Normal sweat chloride test does not rule out cystic fibrosis. *Turk J Pediatr.* 2017;59(1):68-70. doi: 10.24953/turkjped.2017.01.011. PMID: 29168366.

- J. González-Andrade F. Standardized clinical criteria and sweat test combined as a tool to diagnose Cystic Fibrosis. *Heliyon*. 2018 Dec 17;4(12):e01050. doi:10.1016/j.heliyon.2018.e01050. PMID: 30582056; PMCID: PMC6299035.
- K. Wang XL, Yin ZF, Shen YL, Liu H, Mogayzel PJ, Zhao SY. [Value of sweat conductivity testing in the diagnosis of cystic fibrosis in children]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2019 Jul 2;57(7):548-552. Chinese. doi:10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2019.07.011. PMID: 31269556.
- L. Ong T, Marshall SG, Karczeski BA, Stern DL, Cheng E, Cutting GR. Cystic Fibrosis and Congenital Absence of the Vas Deferens. 2001 Mar 26 [updated 2017 Feb 2]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Mirzaa GM, Amemiya A, editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 20301428.
- M. Vermeulen F, Le Camus C, Davies JC, Bilton D, Milenković D, De Boeck K. Variability of sweat chloride concentration in subjects with cystic fibrosis and G551D mutations. *J Cyst Fibros*. 2017 Jan;16(1):36-40. doi:10.1016/j.jcf.2016.02.015. Epub 2016 Mar 17. PMID: 26996268.
- N. Gramegna A, Aliberti S, Seia M, Porcaro L, Bianchi V, Castellani C, Melotti P, Sorio C, Consalvo E, Franceschi E, Amati F, Contarini M, Gaffuri M, Roncoroni L, Vigone B, Bellofiore A, Del Monaco C, Oriano M, Terranova L, Patria MF, Marchisio P, Assael BM, Blasi F. When and how ruling out cystic fibrosis in adult patients with bronchiectasis. *Multidiscip Respir Med*. 2018 Aug 9;13(Suppl 1):29. doi: 10.1186/s40248-018-0142-7. PMID: 30151190; PMCID: PMC6101074.
- O. Boussetta K, Khalsi F, Bahri Y, Belhadj I, Tinsa F, Messaoud TB, Hamouda S. Cystic fibrosis in Tunisian children: a review of 32 children. *Afr Health Sci*. 2018 Sep;18(3):664-670. doi: 10.4314/ahs.v18i3.24. PMID: 30602999; PMCID:PMC6307014.
- P. Caudri D, Zitter D, Bronsveld I, Tiddens H. Is sweat chloride predictive of severity of cystic fibrosis lung disease assessed by chest computed tomography? *Pediatr Pulmonol*. 2017 Sep;52(9):1135-1141. doi: 10.1002/ppul.23739. Epub 2017 Jun 6. PMID: 28586522.
- Q. Bennett M, Nogueira AF, Flores MM, Reis Silva T. Cystic fibrosis: a diagnosis in an adolescent. *BMJ Case Rep*. 2021 Nov 29;14(11):e245971. doi:10.1136/bcr-2021-245971. PMID: 34844966; PMCID: PMC8634203.
- R. Normatov I, Sentongo T. Pancreatic Malnutrition in Children. *Pediatr Ann*. 2019 Nov 1;48(11):e441-e447. doi: 10.3928/19382359-20191018-01. PMID: 31710363.
- S. Mayer Lacrosniere S, Gerardin M, Clainche-Viala LL, Houdouin V. Phenotypic Presentations of Cystic Fibrosis in Children of African Descent. *Genes (Basel)*. 2021 Mar 23;12(3):458. doi:10.3390/genes12030458. PMID: 33807078; PMCID:PMC8004676.
- T. Padoan R, Quattrucci S, Amato A, Carnovale V, Salvatore D, Salvatore M, Campagna G. The Diagnosis of Cystic Fibrosis in Adult Age. Data from the Italian Registry. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Feb 16;11(2):321. doi:10.3390/diagnostics11020321. PMID: 33669477; PMCID: PMC7920411.
- U. Ďurč P, Foret F, Pokojová E, Homola L, Skříčková J, Herout V, Dastych M, Vinohradská H, Kubáň P. New approach for cystic fibrosis diagnosis based on chloride/potassium ratio analyzed in non-invasively obtained skin-wipe sweat samples by capillary electrophoresis with contactless conductometric detection. *Anal Bioanal Chem*. 2017 May;409(14):3507-3514. doi: 10.1007/s00216-017-0318-6. Epub 2017 Mar 29. PMID: 28357484.
- V. Cirilli N, Braggion C, Mergni G, Polizzi AM, Padoan R, Sirianni S, Seia M, Raia V, Tosco A, Pisi G, Spaggiari C, Quattromano E, Bignamini E, Brandino D, Bella S, Argentini R; ICFS Sweat Test Working Group. May the new suggested lower borderline limit of sweat chloride impact the diagnostic process for cystic fibrosis? *J Pediatr*. 2018 Mar;194:261-262. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.11.053. Epub 2018 Jan 17. PMID:29352589.
- W. Willems P, Weekx S, Meskal A, Schouwens S. Biological Variation of Chloride and Sodium in Sweat Obtained by Pilocarpine Iontophoresis in Adults: How Sure are You About Sweat Test Results? *Lung*. 2017 Apr;195(2):241-246. doi:10.1007/s00408-017-9984-6. Epub 2017 Feb 27. PMID: 28243741.
- X. Chaima S, Sondess HF, Khedija B, Ahmed M, Taieb M. Association of IVS6A GATT polymorphism of CFTR gene with cystic fibrosis: first study in CF and normal Tunisian population. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2020 Jun 1;78(3):314-318. doi: 10.1684/abc.2020.1555. PMID: 32540817.
- Y. Kuehni CE, Schindler M, Mazur A, Malzacher A, Hornung R, Barben J. Feasibility and normal values of an integrated conductivity (Nanoduct™) sweat test system in healthy newborns. *J Cyst Fibros*. 2017 Jul;16(4):465-470. doi:10.1016/j.jcf.2017.04.002. Epub 2017 Apr 22. PMID: 28442278.
- Z. Cirilli N, Raia V, Rocco I, De Gregorio F, Tosco A, Salvadori L, Sepe AO, Buzzetti R, Minicuci N, Castaldo G. Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations in CF, CFTR dysfunction, and healthy pediatric subjects. *Pediatr Pulmonol*. 2018 Jun;53(6):728-734. doi: 10.1002/ppul.23992. Epub 2018 Apr 2. PMID: 29611353.
- AA. LeGrys VA, Moon TC, Laux J, Rock MJ, Accurso F. Analytical and biological variation in repeated sweat chloride concentrations in clinical trials for CFTR modulator therapy. *J Cyst Fibros*. 2018 Jan;17(1):43-49. doi:10.1016/j.jcf.2017.07.008. Epub 2017 Jul 22. PMID: 28739209; PMCID: PMC8179972.

Tabella

Elenco delle patologie con elettroliti nel sudore elevati (CLSI, 2019; integrato dal GLTS)

Anoressia nervosa Dermatite atopica Malattia celiaca (in fase di scompenso) Disfunzione autonoma Sindrome di Klinefelter Privazione ambientale Colestasi familiare (malattia di Byler) Fucosidosi di tipo I Malattia da accumulo di glicogeno Tipo I Ipogammaglobulinemia	Sindrome di Mauriac (malnutrizione di) Lupus eritematoso sistemico Deficit di triosofosfato isomerasi Pielonefrite Malattia di Hirschsprung Malnutrizione calorico-proteica Pseudoipoadosteronismo Ritardo della crescita (psico-sociale) Sindrome da cheratite, ittiosi, sordità (KID) Insufficienza surrenalica non trattata Ipotiroidismo non trattato
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Nelle patologie sopra elencate il test del sudore può dare risultati di poco superiori ai livelli di normalità. Comunque, con poche eccezioni, queste patologie non rappresentano un problema nella diagnosi differenziale. Molti di questi case reports sono rappresentati da pochi pazienti nei quali, una volta iniziata la terapia per la patologia specifica, i valori del test del sudore ritornano alla normalità.

7.4.2 Quando ripetere il test del sudore

Quando ripetere il test del sudore	Forza della raccomandazione
Si raccomanda di ripetere un test del sudore quando il risultato non correla con il fenotipo clinico e/o il genotipo	D

NOTE

- Tutti i valori di cloro positivi dovrebbero essere ripetuti in altra seduta e/o confermati con l'indagine genetica in quanto un singolo risultato di Laboratorio non è sufficiente a confermare o escludere la diagnosi di FC
- Tutti i valori di cloro intermedi dovrebbero essere ripetuti; se viene confermato un valore intermedio è opportuno eseguire ulteriori indagini
- Se la quantità di sudore >500mg, non procedere con l'analisi e ripetere il test del sudore in un altro momento
- I test del sudore con quantità/volume insufficiente devono essere refertati per iscritto. In questi casi il commento deve essere "valore di cloro/NaCl non attendibile, ripetere il test"
- I valori di cloro/equivalenti di NaCl non fisiologici (cloro <10mmol/L e >150mmol/L; NaCl >170mmol/L) devono essere refertati per iscritto. In questi casi il commento deve essere "valore di cloro/NaCl non attendibile, ripetere il test"

Riferimenti bibliografici

- A. McColley SA, Elbert A, Wu R, Ren CL, Sontag MK, LeGrys VA. Quantity not sufficient rates and delays in sweat testing in US infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2020 Nov;55(11):3053-3056. doi: 10.1002/ppul.25027. Epub 2020 Aug 25. PMID: 32797669.

7.4.3 Ulteriori indagini

Nessuna raccomandazione

NOTE

- Riservare la misura dei **potenziali nasali (NPD)/correnti intestinali (ICM)** a casi rigorosamente selezionati con test del sudore e genetica non conclusivi. Questa indagine deve essere eseguita solo in Centri di riferimento riconosciuti e possibilmente accreditati per eseguire questi test a scopo diagnostico
- Altre indagini utili sono: valutazione della funzionalità pancreatica esocrina; valutazione dell'azoospermia valutazione della fertilità mediante esame del liquido seminale; isolamento nell'escreato di ceppo mucoide di *Pseudomonas aeruginosa*; evidenza radiografica di pansinusite
- In presenza di valori del test del sudore borderline, positivi o negativi con persistenza dei sintomi che hanno portato all'esecuzione del test si raccomanda l'invio al Centro specializzato in FC per inquadramento generale ed ulteriori approfondimenti diagnostici

Riferimenti bibliografici

- A. Li S, Hart K, Norton N, Ryan CA, Guglani L, Prausnitz MR. Administration of pilocarpine by microneedle patch as a novel method for cystic fibrosis sweat testing. *Bioeng Transl Med.* 2021 Apr 3;6(3):e10222. doi: 10.1002/btm2.10222. PMID: 34589599; PMCID: PMC8459588. Va bene inserito qui perchè si tratta del test beta-adrenergico
- B. Gonçalves AC, Marson FAL, Mendonça RMH, Bertuzzo CS, Paschoal IA, Ribeiro JD, Ribeiro AF, Levy CE. Chloride and sodium ion concentrations in saliva and sweat as a method to diagnose cystic fibrosis. *J Pediatr (Rio J).* 2019 Jul-Aug;95(4):443-450. doi: 10.1016/j.jped.2018.04.005. Epub 2018 May 19. PMID:29782810.
- C. Macedo AN, Mathiapparanam S, Brick L, Keenan K, Gonska T, Pedder L, Hill S, Britz-McKibbin P. The Sweat Metabolome of Screen-Positive Cystic Fibrosis Infants: Revealing Mechanisms beyond Impaired Chloride Transport. *ACS Cent Sci.* 2017 Aug 23;3(8):904-913. doi: 10.1021/acscentsci.7b00299. Epub 2017 Jul 31. PMID: 28852705; PMCID: PMC5571457.
- D. Pallenberg ST, Junge S, Ringshausen FC, Sauer-Heilborn A, Hansen G, Dittrich AM, Tümmler B, Nietert M. CFTR modulation with elxacaftor-tezacaftor-ivacaftor in people with cystic fibrosis assessed by the β -adrenergic sweat rate assay. *J Cyst Fibros.* 2021 Oct 28:S1569-1993(21)02107-X. doi:10.1016/j.jcf.2021.10.005. Epub ahead of print. PMID: 34756683.
- E. Salinas DB, Peng YH, Horwich B, Wee CP, Frisbee E, Maarek JM. Image-based β -adrenergic sweat rate assay captures minimal cystic fibrosis transmembrane conductance regulator function. *Pediatr Res.* 2020 Jan;87(1):137-145. doi:10.1038/s41390-019-0503-8. Epub 2019 Jul 25. PMID: 31344706; PMCID: PMC6962560.
- F. Aalbers BL, Yaakov Y, Derichs N, Simmonds NJ, De Wachter E, Melotti P, De Boeck K, Leal T, Tümmler B, Wilschanski M, Bronsveld I. Nasal potential difference in suspected cystic fibrosis patients with 5T polymorphism. *J Cyst Fibros.* 2020 Jul;19(4):627-631. doi: 10.1016/j.jcf.2019.07.001. Epub 2019 Jul 19. PMID: 31331863.
- G. Sadou Yayé H, Caudron E, Sermet-Gaudelus I, Nicolis I, Prognon P, Pradeau D. Towards harmonization of solutions used for cystic fibrosis diagnosis by nasal potential difference measurements: A formulation approach with CHESS® software. *Ann Pharm Fr.* 2022 Jan;80(1):26-34. doi: 10.1016/j.pharma.2021.05.002. Epub 2021 May 13. PMID: 33992643.
- H. Minso R, Schulz A, Dopfer C, Alfeis N, Barneveld AV, Makartian-Gyulumyan L, Hansen G, Junge S, Müller C, Ringshausen FCC, Sauer-Heilborn A, Stanke F, Stolpe C, Tamm S, Welte T, Dittrich AM, Tümmler B. Intestinal current measurement and nasal potential difference to make a diagnosis of cases with inconclusive *CFTR* genetics and sweat test. *BMJ Open Respir Res.* 2020 Oct;7(1):e000736. doi:10.1136/bmjresp-2020-000736. PMID: 33020115; PMCID: PMC7537139.
- I. Caldrea S, Bergamini G, Sandri A, Vercellone S, Rodella L, Cerofolini A, Tomba F, Catalano F, Frulloni L, Buffelli M, Tridello G, de Jonge H, Assael BM, Sorio C, Melotti P. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

- functional evaluations in a G542X+/- IVS8Tn:T7/9 patient with acute recurrent pancreatitis. *World J Clin Cases*. 2019 Nov 26;7(22):3757-3764. doi:10.12998/wjcc.v7.i22.3757. PMID: 31799301; PMCID: PMC6887611.
- J. Solomon GM, Bronsveld I, Hayes K, Wilschanski M, Melotti P, Rowe SM, Sermet-Gaudelus I. Standardized Measurement of Nasal Membrane Transepithelial Potential Difference (NPD). *J Vis Exp*. 2018 Sep 13;(139):57006. doi:10.3791/57006. PMID: 30272672; PMCID: PMC6235174.

7.4.4 Interpretazione dei risultati in pazienti in trattamento con i modulatori del CFTR

I pazienti in trattamento con i farmaci modulatori del CFTR (Kalydeco®, Orkambi®, Symkevi®, Kaftrio®) effettuano periodicamente il test del sudore (dosaggio del cloro nel sudore) per monitorare l'efficacia della terapia nel tempo, ma anche per monitorare l'aderenza del paziente alla terapia.

In questi casi il GLTS raccomanda l'uso di un modello di referto specifico (§ 7.4.5) in cui il laboratorista si limita ad interpretare e commentare il risultato analitico del test ed il clinico ad indicare eventualmente condizioni del paziente che suggeriscono la ripetizione del test.

Riferimenti bibliografici

- A. Middleton PG, Mall MA, Dřevínek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, Ramsey BW, Taylor-Cousar JL, Tullis E, Vermeulen F, Marigowda G, McKee CM, Moskowitz SM, Nair N, Savage J, Simard C, Tian S, Waltz D, Xuan F, Rowe SM, Jain R; VX17-445-102 Study Group. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med*. 2019 Nov 7;381(19):1809-1819. doi:10.1056/NEJMoa1908639. Epub 2019 Oct 31. PMID: 31697873; PMCID: PMC7282384.
- B. Heijerman HGM, McKone EF, Downey DG, Van Braeckel E, Rowe SM, Tullis E, Mall MA, Welter JJ, Ramsey BW, McKee CM, Marigowda G, Moskowitz SM, Waltz D, Sosnay PR, Simard C, Ahluwalia N, Xuan F, Zhang Y, Taylor-Cousar JL, McCoy KS; VX17-445-103 Trial Group. Efficacy and safety of the elexacaftor plus tezacaftor plus ivacaftor combination regimen in people with cystic fibrosis homozygous for the F508del mutation: a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2019 Nov 23;394(10212):1940-1948. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32597-8. Epub 2019 Oct 31. Erratum in: *Lancet*. 2020 May 30;395(10238):1694. PMID: 31679946; PMCID:PMC7571408.
- C. Barry PJ, Mall MA, Álvarez A, Colombo C, de Winter-de Groot KM, Fajac I, McBennett KA, McKone EF, Ramsey BW, Sutharsan S, Taylor-Cousar JL, Tullis E, Ahluwalia N, Jun LS, Moskowitz SM, Prieto-Centurion V, Tian S, Waltz D, Xuan F, Zhang Y, Rowe SM, Polineni D; VX18-445-104 Study Group. Triple Therapy for Cystic Fibrosis <i>Phe508del</i>-Gating and -Residual Function Genotypes. *N Engl J Med*. 2021 Aug 26;385(9):815-825. doi: 10.1056/NEJMoa2100665. PMID: 34437784.
- D. Keating D, Marigowda G, Burr L, Daines C, Mall MA, McKone EF, Ramsey BW, Rowe SM, Sass LA, Tullis E, McKee CM, Moskowitz SM, Robertson S, Savage J, Simard C, Van Goor F, Waltz D, Xuan F, Young T, Taylor-Cousar JL; VX16-445-001 Study Group. VX-445-Tezacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two Phe508del Alleles. *N Engl J Med*. 2018 Oct 25;379(17):1612-1620. doi:10.1056/NEJMoa1807120. Epub 2018 Oct 18. PMID: 30334692; PMCID: PMC6289290.
- E. 2Aalbers BL, Hofland RW, Bronsveld I, de Winter-de Groot KM, Arets HGM, de Kiviet AC, van Oirschot-van de Ven MMM, Kruijswijk MA, Schotman S, Michel S, van der Ent CK, Heijerman HGM. Females with cystic fibrosis have a larger decrease in sweat chloride in response to lumacaftor/ivacaftor compared to males. *J Cyst Fibros*. 2021 Jan;20(1):e7-e11. doi: 10.1016/j.jcf.2020.05.004. Epub 2020 May 21. PMID: 32448708.
- F. Zemanick ET, Konstan MW, VanDevanter DR, Rowe SM, Clancy JP, Odem-Davis K, Skalland M, Mayer-Hamblett N. Measuring the impact of CFTR modulation on sweat chloride in cystic fibrosis: Rationale and design of the CHEC-SC study. *J Cyst Fibros*. 2021 Nov;20(6):965-971. doi: 10.1016/j.jcf.2021.01.011. Epub 2021 Feb 8. PMID: 33573995; PMCID: PMC8349375.
- G. Ratjen F, Hug C, Marigowda G, Tian S, Huang X, Stanojevic S, Milla CE, Robinson PD, Waltz D, Davies JC; VX14-809-109 investigator group. Efficacy and safety of lumacaftor and ivacaftor in patients aged 6-11 years with cystic fibrosis homozygous for F508del-CFTR: a randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med*. 2017 Jul;5(7):557-567. doi:10.1016/S2213-2600(17)30215-1. Epub 2017 Jun 9. Erratum in: *Lancet Respir Med*. 2017 Aug;5(8):e28. PMID: 28606620.

- H. Donaldson SH, Pilewski JM, Griese M, Cooke J, Viswanathan L, Tullis E, Davies JC, Lekstrom-Himes JA, Wang LT; VX11-661-101 Study Group. Tezacaftor/Ivacaftor in Subjects with Cystic Fibrosis and F508del/F508del-CFTR or F508del/G551D-CFTR. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Jan 15;197(2):214-224. doi: 10.1164/rccm.201704-0717OC. PMID: 28930490; PMCID: PMC5768901.
- I. Berkers G, van der Meer R, Heijerman H, Beekman JM, Boj SF, Vries RGJ, van Mourik P, Doyle JR, Audhya P, Yuan ZJ, Kinnman N, van der Ent CK. Lumacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis with an A455E-CFTR mutation. *J Cyst Fibros*. 2021 Sep;20(5):761-767. doi: 10.1016/j.jcf.2020.11.007. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33249003.
- J. Connett GJ. Lumacaftor-ivacaftor in the treatment of cystic fibrosis: design, development and place in therapy. *Drug Des Devel Ther*. 2019 Jul 19;13:2405-2412. doi: 10.2147/DDDT.S153719. PMID: 31409974; PMCID: PMC6650604.
- K. Abou Alaiwa MH, Launspach JL, Grogan B, Carter S, Zabner J, Stoltz DA, Singh PK, McKone EF, Welsh MJ. Ivacaftor-induced sweat chloride reductions correlate with increases in airway surface liquid pH in cystic fibrosis. *JCI Insight*. 2018 Aug 9;3(15):e121468. doi: 10.1172/jci.insight.121468. PMID: 30089726; PMCID:PMC6129116.
- L. Davies JC, Moskowitz SM, Brown C, Horsley A, Mall MA, McKone EF, Plant BJ, Prais D, Ramsey BW, Taylor-Cousar JL, Tullis E, Uluer A, McKee CM, Robertson S, Shilling RA, Simard C, Van Goor F, Waltz D, Xuan F, Young T, Rowe SM; VX16-659-101 Study Group. VX-659-Tezacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two Phe508del Alleles. *N Engl J Med*. 2018 Oct 25;379(17):1599-1611. doi:10.1056/NEJMoa1807119. Epub 2018 Oct 18. PMID:30334693; PMCID: PMC6277022.
- M. Guimbellot J, Solomon GM, Baines A, Heltshe SL, VanDalfsen J, Joseloff E, Sagel SD, Rowe SM; GOALe(2) Investigators. Effectiveness of ivacaftor in cystic fibrosis patients with non-G551D gating mutations. *J Cyst Fibros*. 2019 Jan;18(1):102-109. doi: 10.1016/j.jcf.2018.04.004. Epub 2018 Apr 21. PMID:29685811; PMCID: PMC6196121.
- N. Graeber SY, Dopfer C, Naehrlich L, Gyulumyan L, Scheuermann H, Hirtz S, Wege S, Mairbäurl H, Dorda M, Hyde R, Bagheri-Hanson A, Rueckes-Nilges C, Fischer S, Mall MA, Tümmler B. Effects of Lumacaftor-Ivacaftor Therapy on Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Function in Phe508del Homozygous Patients with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Jun 1;197(11):1433-1442. doi: 10.1164/rccm.201710-1983OC. PMID: 29327948.
- O. Kazani S, Rowlands DJ, Bottoli I, Milojevic J, Alcantara J, Jones I, Kulmatycki K, Machineni S, Mostovy L, Nicholls I, Nick JA, Rowe SM, Simmonds NJ, Vegesna R, Verheijen J, Danahay H, Gosling M, Ayalavajjala PS, Salman M, Strieter R. Safety and efficacy of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator icenticaftor (QBW251). *J Cyst Fibros*. 2021 Mar;20(2):250-256. doi: 10.1016/j.jcf.2020.11.002. Epub 2020 Dec 6. PMID:33293212.
- P. Masson A, Schneider-Futschik EK, Baatallah N, Nguyen-Khoa T, Girodon E, Hatton A, Flament T, Le Bourgeois M, Chedevegne F, Bailly C, Kyriilli S, Achimastos D, Hinzpeter A, Edelman A, Sermet-Gaudelus I. Predictive factors for lumacaftor/ivacaftor clinical response. *J Cyst Fibros*. 2019 May;18(3):368-374. doi: 10.1016/j.jcf.2018.12.011. Epub 2018 Dec 28. PMID: 30595473.
- Q. Aslam AA, Higgins C, Sinha IP, Southern KW. Ataluren and similar compounds (specific therapies for premature termination codon class I mutations) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jan 19;1(1):CD012040. doi:10.1002/14651858.CD012040.pub2. PMID: 28102546; PMCID: PMC6464785.
- R. Sermet-Gaudelus I, Nguyen-Khoa T, Hatton A, Hayes K, Pranke I. Sweat Chloride Testing and Nasal Potential Difference (NPD) Are Primary Outcome Parameters in Treatment with Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Modulators. *J Pers Med*. 2021 Jul 27;11(8):729. doi: 10.3390/jpm11080729. PMID: 34442373; PMCID: PMC8398324.
- S. Salvatore D, Carnovale V, Iacotucci P, Braggion C, Castellani C, Cimino G, Colangelo C, Francalanci M, Leonetti G, Lucidi V, Manca A, Vitullo P, Ferrara N. Effectiveness of ivacaftor in severe cystic fibrosis patients and non-G551D gating mutations. *Pediatr Pulmonol*. 2019 Sep;54(9):1398-1403. doi:10.1002/ppul.24424. Epub 2019 Jun 25. PMID: 31237430.
- T. Milla CE, Ratjen F, Marigowda G, Liu F, Waltz D, Rosenfeld M; VX13-809-011 Part B Investigator Group *. Lumacaftor/Ivacaftor in Patients Aged 6-11 Years with Cystic Fibrosis and Homozygous for F508del-CFTR. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017 Apr 1;195(7):912-920. doi: 10.1164/rccm.201608-1754OC. PMID:27805836; PMCID: PMC5440888.
- U. Rowe SM, McColley SA, Rietschel E, Li X, Bell SC, Konstan MW, Marigowda G, Waltz D, Boyle MP; VX09-809-102 Study Group. Lumacaftor/Ivacaftor Treatment of Patients with Cystic Fibrosis Heterozygous for F508del-CFTR. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 Feb;14(2):213-219. doi: 10.1513/AnnalsATS.201609-689OC. PMID: 27898234; PMCID: PMC5461999.
- V. Skilton M, Krishan A, Patel S, Sinha IP, Southern KW. Potentiators (specific therapies for class III and IV mutations) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Jan 7;1(1):CD009841. doi:10.1002/14651858.CD009841.pub3. PMID: 30616300; PMCID: PMC6353056.
- W. Davies JC, Sermet-Gaudelus I, Naehrlich L, Harris RS, Campbell D, Ahluwalia N, Short C, Haseltine E, Panorchan P, Saunders C, Owen CA, Wainwright CE; VX16-661-115 Investigator Group. A phase 3, double-blind, parallel-group study to evaluate the efficacy and safety of tezacaftor in combination with ivacaftor in participants 6 through 11 years of age with cystic fibrosis homozygous for F508del or heterozygous for the F508del-CFTR

- mutation and a residual function mutation. *J Cyst Fibros.* 2021 Jan;20(1):68-77. doi: 10.1016/j.jcf.2020.07.023. Epub 2020 Sep 21. PMID: 32967799.
- X. McKone EF, DiMango EA, Sutharsan S, Barto TL, Campbell D, Ahluwalia N, Higgins M, Owen CA, Tullis E. A phase 3, randomized, double-blind, parallel-group study to evaluate tezacaftor/ivacaftor in people with cystic fibrosis heterozygous for F508del-CFTR and a gating mutation. *J Cyst Fibros.* 2021 Mar;20(2):234-242. doi: 10.1016/j.jcf.2020.11.003. Epub 2020 Dec 16. PMID:33339768.
- Y. Terlizzi V, Colangelo C, Marsicovetere G, D'Andria M, Francalanci M, Innocenti D, Masi E, Avarello A, Taccetti G, Amato F, Comegna M, Castaldo G, Salvatore D. Effectiveness of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor Therapy in Three Subjects with the Cystic Fibrosis Genotype Phe508del/Unknown and Advanced Lung Disease. *Genes (Basel).* 2021 Jul 29;12(8):1178. doi: 10.3390/genes12081178. PMID: 34440351; PMCID: PMC8391133.
- Z. Guimbellot JS, Baines A, Paynter A, Heltshe SL, VanDalfsen J, Jain M, Rowe SM, Sagel SD; GOAL-e2 Investigators. Long term clinical effectiveness of ivacaftor in people with the G551D CFTR mutation. *J Cyst Fibros.* 2021 Mar;20(2):213-219. doi: 10.1016/j.jcf.2020.11.008. Epub 2020 Nov 25. PMID:33249004; PMCID: PMC8183611.
- AA. Welsner M, Straßburg S, Taube C, Sutharsan S. Use of ivacaftor in late diagnosed cystic fibrosis monozygotic twins heterozygous for F508del and R117H-7T - a case report. *BMC Pulm Med.* 2019 Apr 11;19(1):76. doi:10.1186/s12890-019-0840-8. PMID: 30975115; PMCID: PMC6458608.
- BB. Bell SC, Barry PJ, De Boeck K, Drevinek P, Elborn JS, Plant BJ, Minić P, Van Braeckel E, Verhulst S, Muller K, Kanters D, Bellaire S, de Kock H, Geller DE, Conrath K, Van de Steen O, van der Ent K. CFTR activity is enhanced by the novel corrector GLPG2222, given with and without ivacaftor in two randomized trials. *J Cyst Fibros.* 2019 Sep;18(5):700-707. doi: 10.1016/j.jcf.2019.04.014. Epub 2019 May 3. PMID: 31056441.
- CC. Dagan A, Cohen-Cymerknoh M, Shteinberg M, Levine H, Vilozni D, Bezalel Y, Bar Aluma BE, Sarouk I, Ashkenazi M, Lavie M, Tsabari R, Blau H, Kerem E, Bentur L, Efrati O, Livnat G. Ivacaftor for the p.Ser549Arg (S549R) gating mutation -The Israeli experience. *Respir Med.* 2017 Oct;131:225-228. doi:10.1016/j.rmed.2017.08.026. Epub 2017 Sep 1. PMID: 28947035.
- DD. Mesbahi M, Shteinberg M, Wilschanski M, Hatton A, Nguyen-Khoa T, Friedman H, Cohen M, Escabasse V, Le Bourgeois M, Lucidi V, Sermet-Gaudelus I, Bassinet L, Livnat G. Changes of CFTR functional measurements and clinical improvements in cystic fibrosis patients with non p.Gly551Asp gating mutations treated with ivacaftor. *J Cyst Fibros.* 2017 Jan;16(1):45-48. doi: 10.1016/j.jcf.2016.08.006. Epub 2016 Sep 20. PMID: 27659740.
- EE. 213: Rowe SM, Jones I, Dransfield MT, Haque N, Gleason S, Hayes KA, Kulmatycki K, Yates DP, Danahay H, Gosling M, Rowlands DJ, Grant SS. Efficacy and Safety of the CFTR Potentiator Icenticaftor (QBW251) in COPD: Results from a Phase 2 Randomized Trial. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2020 Oct 5;15:2399-2409. doi:10.2147/COPD.S257474. PMID: 33116455; PMCID: PMC7547289.

7.4.5 Modello di referto

Modello di referto	Forza della raccomandazione
Il referto dovrebbe riportare:	D
1) Identificazione completa del paziente	
2) richiedente ed indirizzo di consegna	
3) Data e ora del test, data e ora del referto	
4) Peso/volume del sudore raccolto	
5) Risultati analitici (mmol/L)	
5) Dovrebbe essere indicato in modo esplicito nel referto quale analita(i) è stato misurato(i): cloro, sodio, conduttività. Indicare le ragioni se il test non viene eseguito o se non ci sono risultati disponibili	
6) Intervalli di riferimento	
7) Interpretazione dei risultati	

NOTE

- I risultati del test del sudore borderline e patologici devono essere riportati al paziente/genitori da un medico specialista in FC
- È raccomandata l'esecuzione del test del sudore nei fratelli e sorelle dei pazienti affetti

Allegato

Contenuti minimi del referto

Allegati

Form referto test del sudore a scopo diagnostico

Form referto test del sudore a scopo di monitoraggio dei pazienti in trattamento con modulatori del CFTR (§ 7.4.4)

Form Referto Test del Sudore a scopo diagnostico

Logo Azienda/Laboratorio; eventuale certificazione

Dati identificativi completi dal paziente:

[COGNOME, NOME] [SESSO] [DATA DI NASCITA] [CODICE IDENTIFICATIVO]
[PROVENIENZA RICHIESTA][MOTIVO RICHIESTA]

Dati relativi al test:

[TEST DI SCREENING/TEST DI CONFERMA] [DATA PRELIEVO] [DATA ANALISI]
[DATA REFERTO]

Dati relativi alla procedura di stimolazione:

[METODO QUANTITATIVO DI Gibson e Cooke (iontoforesi pilocarpinica)]
[METODO MACRODUCT o CONDUTTIVIMETRICO (iontoforesi pilocarpinica)]

Dati relativi all'analita misurato:

[CLORO] [CLORO e SODIO] [EQUIVALENTI DI NaCl]

Dati relativi al principio analitico:

[dosaggio CLORO mediante: COULOMETRIA, COLORIMETRIA, MODULI ISE] [ALTRO METODO
QUANTITATIVO VALIDATO]
[dosaggio SODIO mediante: FOTOMETRO A FIAMMA, MODULI ISE]

Dati relativi al campione:

[QUANTITA' DI SUDORE RACCOLTA] [QUANTITA' DI SUDORE MINIMA ACCETTABILE]

Risultati:

CLORO e SODIO: concentrazione espressa in mmol/L
EQUIVALENTI DI NaCl: concentrazione espressa in mmol/L

Intervalli di riferimento analitici:

	<u>Età</u>	<u>Intervallo</u>	<u>Interpretazione</u>
CLORO e SODIO	fino a 6 mesi	≤29 mmol/L 30-59 mmol/L ≥60 mmol/L	normale, bassa probabilità di FC intermedia, suggestiva ma non diagnostica per FC elevata, supporta la diagnosi di FC, ripetere il test e/o analisi genetica
	oltre i 6 mesi	≤39 mmol/L 40-59 mmol/L ≥60 mmol/L	normale, bassa probabilità di FC intermedia, suggestiva ma non diagnostica per FC elevata, supporta la diagnosi di FC, ripetere il test e/o analisi genetica
EQUIVALENTI DI NaCl		≤49 mmol/L 50-79 mmol/L ≥80 mmol/L	normale, bassa probabilità di FC intermedia, confermare con dosaggio del cloro elevata, confermare con dosaggio del cloro e/o analisi genetica

Raccomandazioni:

indicare i motivi che spingono a richiedere un ulteriore test (campione insufficiente, valore intermedio o elevato, ecc.)
o ad indirizzare il paziente presso un Centro specializzato in FC (per inquadramento clinico globale e/o dosaggio cloro
e/o approfondimento diagnostico)

Aggiungere nota bibliografica relativa alle Raccomandazioni di riferimento e indicare eventuale partecipazione a
programma di Controllo Esterno della Qualità

Firma:

del Responsabile di Laboratorio o Responsabile dell'analisi

Form Referto Test del Sudore a scopo di monitoraggio dei pazienti in trattamento con modulatori del CFTR

Logo Azienda/Laboratorio; eventuale certificazione

Dati identificativi completi dal paziente:

[COGNOME, NOME] [SESSO] [DATA DI NASCITA] [CODICE IDENTIFICATIVO]
[PROVENIENZA RICHIESTA][MOTIVO RICHIESTA: MONITORAGGIO TERAPIA CON
MODULATORE DEL CFTR; SPECIFICARE MODULATORE IN ATTO][DATA INIZIO TERAPIA CON
MODULATORE IN ATTO]

Dati relativi al test:

[DATA PRELIEVO] [DATA ANALISI] [DATA REFERTO]

Dati relativi alla procedura di stimolazione:

[METODO QUANTITATIVO DI Gibson e Cooke (iontoforesi pilocarpinica)]
[METODO MACRODUCT o CONDUTTIVIMETRICO (iontoforesi pilocarpinica)]

Dati relativi all'analita misurato:

[CLORO]

Dati relativi al principio analitico:

[dosaggio CLORO mediante: COULOMETRIA, COLORIMETRIA, MODULI ISE] [ALTRO METODO
QUANTITATIVO VALIDATO]

Dati relativi al campione:

[QUANTITA' DI SUDORE RACCOLTA] [QUANTITA' DI SUDORE MINIMA ACCETTABILE]

Risultati:

CLORO: concentrazione espressa in mmol/L

Intervalli di riferimento analitici:

CLORO	Intervallo
	≤39 mmol/L
	40-59 mmol/L
	≥60 mmol/L

Raccomandazioni:

Limitare il commento al risultato analitico ed alle condizioni del paziente che suggeriscono la ripetizione del test

Aggiungere nota bibliografica relativa alle Raccomandazioni di riferimento e indicare eventuale partecipazione a programma di Controllo Esterno della Qualità

Firma:

del Responsabile di Laboratorio o Responsabile dell'analisi

7.5 Responsabilità

7.5.1 Responsabilità dell'esecuzione del test e della formazione

Responsabilità dell'esecuzione del test e della formazione	Forza della raccomandazione
E' probabile che la familiarità con la procedura e la frequenza della analisi influenzino la performance del test del sudore Per questo motivo non è accettabile per un'organizzazione o un individuo eseguire uno scarso numero di test ed è richiesta l'esecuzione di un numero sufficiente di test/anno per mantenere competenza e qualità	D
Il test del sudore deve essere eseguito da personale pienamente formato e con esperienza: la formazione dovrebbe essere pienamente documentata; la procedura dovrebbe essere documentata come una SOP (Standard Operating Procedure); dovrebbero essere attive appropriate procedure di rivalidazione	C
La raccolta del sudore può essere eseguita da varie figure professionali sanitarie	C
L'analisi del sudore dovrebbe essere eseguita da personale biomedico qualificato e esperto o da clinici pienamente formati con regolare validazione: formazione e validazione dovrebbero essere pienamente documentate	C
Un professionista di Laboratorio dovrebbe avere la responsabilità della formazione e verifica della competenza e rivalidazione di tutto lo staff che esegue i test del sudore	C
La responsabilità del test del sudore, sia le fasi di stimolazione e raccolta, sia la fase analitica, dovrebbe essere di un chimico clinico (o funzione equivalente) e dovrebbe essere chiaramente compresa da tutti gli operatori e utilizzatori; dovrebbe essere attivato e compreso da tutti gli operatori un meccanismo per riferire qualsiasi dubbio sulla performance del test	C

NOTE

- Ogni **Centro di Riferimento** o **Servizio di Supporto FC** dovrebbe eseguire **almeno 200 test/anno**. Nelle Regioni in cui non sia raggiungibile tale numerosità campionaria, il numero minimo di test/anno corrisponderà a quello del Centro di Riferimento Regionale
- Ogni **operatore** deve avere una formazione specifica documentata
- Ogni **operatore esperto** deve eseguire **almeno 50 test/anno**. Nelle Regioni in cui non sia raggiungibile tale numerosità campionaria, il numero minimo di test/operatore/anno corrisponderà a quello del Centro di Riferimento Regionale. Il tasso di fallimenti deve essere nei limiti definiti in Tab. 1 dello standard europeo⁴
- Ogni **nuovo operatore** deve eseguire almeno 3 test del sudore nei neonati di età <6 mesi senza ottenere campioni insufficienti ed almeno 3 test del sudore nei bambini (età >6 mesi) e 2 test del sudore negli adulti senza ottenere campioni insufficienti
- **IMPORTANTE:** il personale che esegue il test conduttivimetrico deve avere lo stesso livello di esperienza richiesto al personale che esegue il test di Gibson-Cooke o Macroduct

Risultati Audit EU (2015)

L'analisi dei campioni è eseguita dal personale di laboratorio in 85% dei casi e da altri operatori sanitari nel rimanente 15% (12% personale clinico; 3% altro (biologo, fisioterapista, infermiera)).

8. BIBLIOGRAFIA

1. Massie J, Greaves R, Metz M, Wiley V, Graham P, Shepherd S, Mackay R. Australasian Guideline (2nd Edition): an Annex to the CLSI and UK Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Diagnosis of Cystic Fibrosis. Clin Biochem Rev. 2017 Nov;38(3):115-130. PMID: 29332976; PMCID: PMC5759161
2. LeGrys VA, Briscoe D, McColley SA. Sweat Testing: Specimen Collection and Quantitative Chloride Analysis. CLSI Guideline C34. 2019
3. Comité Nacional de Neumonología; Comité Nacional de Nutrición; Comité Nacional de Gastroenterología; Grupo de Trabajo de Kinesiología. Guía de diagnóstico y tratamiento de pacientes con fibrosis quística. Actualización [Guideline for the diagnosis and treatment of patients with cystic fibrosis. Update]. Arch Argent Pediatr. 2021 Feb;119(1):s17-s35. Spanish. doi:10.5546/aap.2021.s17. PMID: 33459002
4. Cirilli N, Southern KW, Barben J, Vermeulen F, Munck A, Wilschanski M, Nguyen-Khoa T, Aralica M, Simmonds NJ, De Wachter E; ECFS Diagnostic Network Working Group. Standards of care guidance for sweat testing; phase two of the ECFS quality improvement programme. J Cyst Fibros. 2022 Jan 19:S1569-1993(22)00025-X. doi: 10.1016/j.jcf.2022.01.004. Epub ahead of print. PMID: 35063396
5. Cirilli N. Il test del sudore: un test tanto vecchio quanto essenziale da meritare un gruppo di lavoro dedicato. *Orizzonti* 2018, 15(2):44-5
6. Guidelines for the performance of sweat test for the investigation of Cystic Fibrosis in the UK 2nd version. An evidence-based guideline (March 2014) (www.acb.org.uk)
7. Gokdemir Y, Karadag BT. Sweat Testing and Recent Advances. Front Pediatr. 2021 May 4;9:649904. doi: 10.3389/fped.2021.649904. PMID: 34017807; PMCID:PMC8129525.
8. Hangül M, Pekcan S, Köse M, Acican D, Şahlar TE, Erdoğan M, Kendirci M, Güney D, Öznavruz H, Demir O, Ercan Ö, Göçlü F. The Incidence of Cystic Fibrosis in the Central Region of Anatolia in Turkey Between 2015 and 2016. Balkan Med J. 2019 May 10;36(3):179-183. doi:10.4274/balkanmedj.galenos.2018.2018.1332. Epub 2018 Dec 28. PMID: 30592194; PMCID: PMC6528529.
9. Sosnay PR, White TB, Farrell PM, Ren CL, Derichs N, Howenstine MS, Nick JA, De Boeck K. Diagnosis of Cystic Fibrosis in Nonscreened Populations. J Pediatr. 2017 Feb;181S:S52-S57.e2. doi:10.1016/j.jpeds.2016.09.068. PMID: 28129813.
10. Padoan R, Quattrucci S, Amato A, Carnovale V, Salvatore D, Salvatore M, Campagna G. The Diagnosis of Cystic Fibrosis in Adult Age. Data from the Italian Registry. Diagnostics (Basel). 2021 Feb 16;11(2):321. doi:10.3390/diagnostics11020321. PMID: 33669477; PMCID: PMC7920411.
11. Xu J, Yin Y, Zhang L, Zhang J, Yuan S, Zhang H. Four case reports of Chinese cystic fibrosis patients and literature review. Pediatr Pulmonol. 2017 Aug;52(8):1020-1028. doi: 10.1002/ppul.23744. Epub 2017 Jun 13. PMID: 28608624.
12. Brown KL, Flume PA. Pediatric and Adult Recommendations Vary for Sibling Testing in Cystic Fibrosis. J Genet Couns. 2018 Sep;27(5):1049-1054. doi:10.1007/s10897-018-0220-1. Epub 2018 Feb 10. PMID: 29429040.
13. Pierandrei S, Blaconà G, Fabrizzi B, Cimino G, Cirilli N, Caporelli N, Angeloni A, Cipolli M, Lucarelli M. Two novel and correlated CF-causing insertions in the (TG)mTn tract of the CFTR gene. PLoS One. 2019 Oct 8;14(10):e0222838. doi: 10.1371/journal.pone.0222838. PMID: 31593572; PMCID:PMC6782095.
14. Castellani C, Linnane B, Pranke I, Cresta F, Sermet-Gaudelus I, Peckham D. Cystic Fibrosis Diagnosis in Newborns, Children, and Adults. Semin Respir Crit Care Med. 2019 Dec;40(6):701-714. Epub 2019 Nov 3

9. ALLEGATI

9.1 Elenco dei Centri di Riferimento Regionale/Servizi di Supporto per la Fibrosi Cistica e Laboratori di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale in Italia dove si esegue il Test del Sudore

ABRUZZO

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE SAN LIBERATORE
VIALE RISORGIMENTO
64032 ATRI

BASILICATA

C.R.R. PER LA FIBROSI CISTICA
A.O. "S. CARLO" DIVISIONE PEDIATRIA
VIA POTITO PETRONE
85100 POTENZA

CALABRIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE "GIOVANNI PAOLO II"
VIA SENATORE ARTURO PERUGINI
88046 LAMEZIA TERME

CAMPANIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA DEL BAMBINO
AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA "FEDERICO II°"
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE TRASLAZIONALI
VIA S. PANSINI, 5
80131 NAPOLI

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA ADULTI
AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA "FEDERICO II°"
DIPARTIMENTO DI MEDICINA INTERNA E PATOLOGIA CLINICA, CATTEDRA DI GERIATRIA
VIA S. PANSINI 5
80131 NAPOLI

EMILIA ROMAGNA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA
CLINICA PEDIATRICA
VIA GRAMSCI, 14
43100 PARMA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE M. BUFALINI - AUSL CESENA
PEDIATRIA E PATOLOGIA NEONATALE
VIALE GHIROTTI, 286
47023 CESENA (FO)

FRIULI VENEZIA GIULIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
RCSS MATERNO-INFANTILE BURLO GAROFOLO
PEDIATRIA

VIA DELL'ISTRIA, 65/1
34100 TRIESTE

LAZIO

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
AOU POLICLINICO UMBERTO I° - SAPIENZA UNIVERSITÀ DI ROMA
CLINICA PEDIATRICA
VIALE REGINA ELENA, 324
00161 ROMA

CENTRO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE BAMBINO GESÙ
PADIGLIONE GIOVANNI PAOLO II
PIAZZA S. ONOFRIO, 4
00165 ROMA

LIGURIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
ISTITUTO G. GASLINI CLINICA PEDIATRICA I
LARGO G. GASLINI, 5
16100 GENOVA
E LABORATORIO PER LO STUDIO DEGLI ERRORI CONGENITI DEL METABOLISMO
ISTITUTO G. GASLINI
LARGO G. GASLINI, 5
16100 GENOVA

LOMBARDIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
CLINICA PEDIATRICA "G. E D. DE MARCHI", FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA, OSPEDALE MAGGIORE
POLICLINICO
VIA DELLA COMMENDA 9
20122 MILANO
E LABORATORIO DI GENETICA MEDICA
FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA, OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
VIA COMMENDA, 12
20122 MILANO

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA ADULTI (*)
FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA, OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
VIA FRANCESCO SFORZA 35, PADIGLIONE SACCO
20122 MILANO

C.R.S. CENTRO REGIONALE DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA
AZIENDA OSPEDALIERA SPEDALI CIVILI DI BRESCIA
PIAZZALE SPEDALI CIVILI 1
25123 BRESCIA

LABORATORIO DI RIFERIMENTO REGIONALE PER LO SCREENING NEONATALE
OSPEDALE DEI BAMBINI "V. BUZZI" – ASST FATEBENEFRATELLI SACCO

VIA CASTELVETRO N° 24
20154 MILANO

MARCHE

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
A.O.U. OSPEDALI RIUNITI
SOS FIBROSI CISTICA
VIA CONCA, 71
60126 TORRETTE DI ANCONA

MOLISE

C.R.R. Centro Fibrosi Cistica
ASREM
Ospedale "A. Cardarelli"
Contrada Tappino s.n.c.
86100 Campobasso

PIEMONTE-VALLE D'AOSTA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
SEDE OSPEDALE REGINA MARGHERITA
PNEUMOLOGIA PEDIATRICA
PIAZZA POLONIA, 94
10126 TORINO

SEDE OSPEDALE "S. LUIGI" (*)
CLINICA UNIVERSITARIA
DIVISIONE DI PNEUMOLOGIA
REGIONE GONZOLE, 10
10043 ORBASSANO (TO)

PUGLIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA PEDIATRIA "B. TRAMBUSTI"
E
LABORATORIO DI FIBROSI CISTICA – U.O.C. LABORATORIO DI GENETICA MEDICA
AZIENDA OSPEDALIERO UNIVERSITARIA CONSORZIALE – POLICLINICO
PIAZZA GIULIO CESARE, 11
70124 BARI

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE "G. TATARELLA" DI CERIGNOLA
STRUTTURA COMPLESSA DI MEDICINA INTERNA
VIA XX SETTEMBRE
71042 CERIGNOLA (FG)

SARDEGNA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
AZIENDA OSPEDALIERA "G. BROTTU"
STRUTTURA COMPLESSA DI PEDIATRIA
PIAZZALE RICCHI, 1

09134 CAGLIARI

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE CIVILE DI ALGHERO c/o U.O. DI PEDIATRIA
VIA DON MINZONI, 159
LA PIETRAIA 07041 ALGHERO (SS)

SICILIA

C.R.R. SERVIZIO PER LA DIAGNOSI E LA CURA DELLA FIBROSI CISTICA
ARNAS Civico - Presidio "G. DI CRISTINA"
VIA DEI BENEDETTINI, 5
90134 PALERMO

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO
AOU "G. MARTINO" POLICLINICO
CENTRO HUB FIBROSI CISTICA
VIA CONSOLARE VALERIA, 1
98124 MESSINA

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA
AZIENDA OSPEDALIERO UNIVERSITARIA - POLICLINICO "GASPARE RODOLICO-SAN MARCO"
UOC BRONCOPNEUMOLOGIA E FIBROSI CISTICA
VIA CARLO AZEGLIO CIAMPI
95121 CATANIA

TOSCANA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
AZIENDA OSPEDALIERO-UNIVERSITARIA MEYER
VIALE PIERACCINI 24
50139 FIRENZE

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE DELLA MISERICORDIA
VIA CIMABUE 109
58100 GROSSETO

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA (*)
ASL 6 LIVORNO
VIALE ALFIERI, 36
57126 LIVORNO

TRENTINO-ALTO ADIGE

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA
OSPEDALE S. MARIA DEL CARMINE, UNITÀ OPERATIVA DI PEDIATRIA
PIAZZALE S. MARIA 6
38068 ROVERETO
38068 ROVERETO (TN)

UMBRIA

C.R.R. CENTRO FIBROSI CISTICA
 PRESIDIO OSPEDALIERO DI GUBBIO E GUALDO TADINO
 PIAZZA UNITÀ D'ITALIA
 06024 BRANCA GUBBIO (PG)

VENETO

C.R.R. CENTRO REGIONALE VENETO
 AZIENDA OSPEDALIERA-UNIVERSITARIA INTEGRATA DI VERONA
 PIAZZALE STEFANI, 1
 37126 VERONA

S.S. SERVIZIO DI SUPPORTO FIBROSI CISTICA (*)
 OSPEDALE "S. MARIA DI CA' FONCELLO"
 PIAZZA OSPEDALE 1
 31100 TREVISO

(*) TUTTI I CENTRI FC CHE RIPORTANO QUESTO ASTERISCO NON ESEGUONO IL TEST DEL SUDORE NELLA LORO SEDE, MA PRESSO IL CENTRO REGIONALE FIBROSI CISTICA DI COMPETENZA TERRITORIALE

9.2 Elenco delle varianti note del gene CFTR che possono essere associate a test del sudore negativo/borderline

Per la corretta interpretazione delle varianti rilevate a seguito di indagine genetica per fibrosi cistica si raccomanda di consultare frequentemente i seguenti siti: CFTR2 (<https://cftr2.org>) e CFTR France (<https://cftr.iurc.montp.inserm.fr/cftr>).

Di seguito l'elenco delle varianti genetiche suddivise tra quelle che causano FC e quelle con conseguenze cliniche variabili.

Varianti che causano FC	Varianti con conseguenze cliniche variabili
c.3718-2477C>T (3849+10kbC>T)(1)	c.3208C>T (R1070W)(1)
c.2491G>T (E831X)(1)	c.3454G>C (D1152H)(1)
c.1654C>T (Q552X)(1)	c.350G>A (R117H)(1)
c.617T>G (L206W)(1)	c.[1210-12[5];1210-34TG[12]] (5T;TG12)(1)
c.1055G>A (R352Q)(1)	c.3353C>T (S1118F)(2)
c.2834C>T (S945L)(1)	c.1658G>A (R553Q)(2)
c.349C>T (R117C)(1)	c.445G>A (G149R)(2)
c.274G>A (E92K)(1)	c.926C>A (A309D)(2)
c.941G>A (G314E)(2)	c.14C>T (P5L)(2)

Le mutazioni sono classificate secondo GenBank Accession NM_000492.4.

In parentesi le referenze secondo la nomenclatura tradizionale (legacy): (1) <https://cftr2.org/>; (2) <http://www.genet.sickkids.on.ca>

Riferimenti bibliografici

- A. Analisi genetica in Fibrosi Cistica, Consensus 2019: <https://www.sifc.it/documenti-e-pubblicazioni/linee-guida/>
- B. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. J Cyst Fibros 2008;7(3):179-96
- C. Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, Cuppens H, des Georges M, Ferec C, Macek M, Pignatti PF, Scheffer H, Schwartz M, Witt M, Schwarz M, Girodon E. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. Eur J Hum Genet. 2009 Jan;17(1):51-65