

Martyna Ciastkowska, Mariusz Ciastkowski, Bolesław Kalicki

Nowa kategoria pacjentów w diagnostyce mukowiscydozy

A new category of patients in the diagnostic process of cystic fibrosis

Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Polska. Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Bolesław Kalicki
Adres do korespondencji: Martyna Ciastkowska, Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, CSK MON WIM, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, tel.: +48 261 817 236, +48 781 151 249, faks: +48 22 515 05 85, e-mail: mciastkowska@wim.mil.pl

Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland. Head of the Department: Associate Professor Bolesław Kalicki, MD, PhD
Correspondence: Martyna Ciastkowska, Department of Paediatrics, Paediatric Nephrology and Allergology, Military Institute of Medicine, Szaserów 128, 04-141 Warsaw, Poland, tel.: +48 261 817 236, +48 781 151 249, fax: +48 22 515 05 85, e-mail: mciastkowska@wim.mil.pl

Streszczenie

Mukowiscydoza jest wrodzonym, uwarunkowanym genetycznie zaburzeniem, spowodowanym obecnością patogennych mutacji w obu allelach genu kodującego białko CFTR. Z uwagi na jej częste występowanie w populacji europejskiej oraz ciężki, przewlekły przebieg od połowy 2009 roku wprowadzono w Polsce, na terenie całego kraju, badanie przesiewowe noworodków w kierunku mukowiscydozy. Umożliwia ono wczesne rozpoznawanie chorych i objęcie ich specjalistyczną opieką. Konsekwencją wprowadzenia badania przesiewowego jest również wyodrębnienie nowej kategorii pacjentów, z rozpoznaniem: pozytywny wynik przesiewu, niejednoznaczna diagnoza mukowiscydozy lub zespół metaboliczny zależny od genu *CFTR*. Są to dzieci z pozytywnym wynikiem przesiewu noworodkowego, u których nie obserwuje się objawów klinicznych sugerujących występowanie mukowiscydozy, a w trakcie dalszej diagnostyki stwierdza się obecność mutacji o nieznanym konsekwencjach klinicznych i/lub graniczne wyniki testu potowego. Rokowanie w przypadku tych dzieci jest niejasne, gdyż u niektórych z nich w przyszłości mogą się rozwinąć objawy mukowiscydozy bądź zespołów zależnych od genu *CFTR*, inne zaś pozostaną w pełni zdrowe. Pacjenci z niejednoznaczną diagnozą mukowiscydozy wymagają specjalistycznej opieki, co umożliwi ich dalszą obserwację, diagnostykę, a także ewentualną weryfikację rozpoznania i wdrożenie odpowiedniego leczenia. Taka strategia pozwala na stopniowe uzupełnianie wiedzy na temat mutacji o niepewnych konsekwencjach klinicznych. Istotną kwestią jest również zrozumienie przez rodzinę pacjenta, jakie możliwe następstwa niesie ze sobą pozytywny wynik przesiewu noworodkowego.

Słowa kluczowe: mukowiscydoza, CF NBS, CFSPID, CRMS

Abstract

Cystic fibrosis is a congenital genetically determined disorder caused by pathogenic mutations in both alleles of the CFTR protein gene. Due to its common occurrence in the European population as well as severe and chronic course, all neonates in Poland have been screened for this disease since 2009. This enables early diagnosis and specialist care over patients. The introduction of newborn screening has also resulted in distinguishing a new category of patients with the following diagnosis: cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis or *CFTR*-related metabolic syndrome. This group includes children with positive newborn screen results who do not present clinical symptoms suggestive of cystic fibrosis and in whom a mutation of unknown clinical consequences is detected and/or borderline sweat test results arrive in the course of further diagnosis. The prognosis in these patients is uncertain since some of them may develop symptoms of cystic fibrosis or *CFTR*-related metabolic syndrome at some point in the future while other may remain fully healthy. Patients with an inconclusive diagnosis of cystic fibrosis require specialist care, which enables their further observation, diagnosis or possible verification of the diagnosis and implementation of proper treatment. This strategy gradually supplements the knowledge on mutations that have uncertain clinical consequences. It is also significant that the patient's family understand possible consequences of a cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CFSPID).

Keywords: cystic fibrosis, CF NBS, CFSPID, CRMS

WSTĘP

Mukowiscydoza (*cystic fibrosis*, CF) jest wrodzonym, uwarunkowanym genetycznie zaburzeniem, spowodowanym obecnością patogennych mutacji w obu allelach genu *CFTR*, zlokalizowanego na długim ramieniu chromosomu 7. Gen ten odpowiada za syntezę białka CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), zawierającego 1480 aminokwasów, pełniącego funkcję kanału chlorkowego zależnego od cAMP (3',5'-cyclic adenosine monophosphate – cykliczny adenozyno-3',5'-monofosforan). Białko to stanowi integralną strukturę błonową, przez którą jony mogą przepływać w obie strony. Najczęstszą z mutacji genu *CFTR* jest delecja fenyloalaniny w pozycji 508 – $\Delta F508$ ^(1,2). W jej wyniku u homozygot występują zaburzenia transportu jonowego na szczycowej powierzchni nabłonka wydzielniczego. Prowadzi to do zagęszczenia i wzrostu lepkości wydzieliny z gruczołów, która stopniowo ulega kumulacji, co powoduje upośledzenie drożności przewodów, przewlekły stan zapalny i ostatecznie destrukcję przewodów wyprowadzających gruczołów zewnątrzwydzielniczych⁽³⁾. Zaburzeniu ulega również struktura i funkcja narządów oraz układów bezpośrednio z nimi związanych (np. układu oddechowego, trzustki, przewodu pokarmowego i narządów płciowych).

Ocenia się, że częstość występowania tej jednostki chorobowej w Polsce wynosi obecnie 1:4394–1:5000 żywo urodzonych dzieci⁽⁴⁾. Z uwagi na częste występowanie mukowiscydozy w populacji europejskiej oraz jej ciężki, przewlekły przebieg ważne jest jak najwcześniejsze rozpoznanie choroby, co umożliwia szybkie wdrożenie odpowiedniego postępowania terapeutycznego. W Polsce od czerwca 2009 roku wszystkie noworodki poddawane są badaniu przesiewowemu w kierunku mukowiscydozy (*cystic fibrosis newborn screening*, CF NBS). Podstawowym badaniem, wykonywanym pomiędzy 3. a 6. dobą życia dziecka, jest oznaczanie stężenia immunoreaktywnej trypsyny lub trypsynogenu (*immunoreactive trypsin*, IRT) w kropli krwi włośniczkowej pobranej z piąty noworodka na bibułę filtracyjną. W przypadku uzyskania nieprawidłowego wyniku IRT przeprowadza się analizę DNA oraz testy potowe⁽⁵⁾. Jeżeli u badanego dziecka występuje podwyższone stężenie chlorków w pocie lub w obu allelach genu *CFTR* obecne są patogenne mutacje, należy postawić diagnozę mukowiscydozy.

Wdrożenie programu badań przesiewowych zaowocowało jednak nie tylko wcześniejszym wykrywaniem mukowiscydozy. Pojawiła się również grupa dzieci, u których nie można jednoznacznie potwierdzić bądź wykluczyć choroby ze względu na wątpliwy wynik testu chlorkowego lub wykrycie mutacji o niejednoznacznych skutkach fenotypowych^(4,5). W odniesieniu do tych pacjentów w piśmiennictwie amerykańskim zaczęto stosować termin: zespół metaboliczny zależny od genu *CFTR* (*CFTR-related metabolic syndrome*, CRMS), natomiast europejska grupa robocza do spraw przesiewu noworodków w kierunku mukowiscydozy (European Cystic Fibrosis Society, ECFS) zaproponowała

INTRODUCTION

Cystic fibrosis (CF) is a congenital genetically determined disorder caused by pathogenic mutations in both alleles of the *CFTR* protein gene located on the long arm of chromosome 7. This gene is responsible for the synthesis of the CFTR protein (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) that contains 1,480 amino acids and performs the function of a cAMP-dependent chloride channel (cAMP – 3',5'-cyclic adenosine monophosphate). This protein constitutes an integral membrane structure through which ions can travel in both directions. The most common *CFTR* mutation is deletion of phenylalanine 508 ($\Delta F508$)^(1,2). As a consequence, homozygotes develop ion transport disorders on the peak surface of the secretory epithelium. This leads to increased density and viscosity of glandular discharge which gradually accumulates causing duct patency impairment, chronic inflammation and finally results in destruction of the excretory ducts of exocrine glands⁽³⁾. Also, the structure and function of organs and systems closely associated with these glands (such as the respiratory system, pancreas, alimentary tract and genital organs) are impaired.

The prevalence of this disease in Poland is currently estimated at 1:4,394–1:5,000 live births⁽⁴⁾. Due to the common occurrence of cystic fibrosis in the European population as well as its severe and chronic course, the earliest possible diagnosis, enabling prompt implementation of proper therapeutic management, is important. Since June 2009, all children born in Poland have been screened for cystic fibrosis (*cystic fibrosis newborn screening*, CF NBS). The basic examination, conducted between the third and sixth day of life, is immunoreactive trypsin or trypsinogen (IRT) assay from heel-prick blood collected onto a filter paper. If abnormal IRT results return, a DNA analysis and sweat test are conducted⁽⁵⁾. If the child presents elevated sweat chloride levels or if pathogenic mutations are present in both *CFTR* alleles, the diagnosis of cystic fibrosis is established. The implementation of the screening programme has resulted not only in earlier detection of cystic fibrosis. It has also distinguished a group of children in whom a definitive confirmation or exclusion of the disease is impossible due to inconclusive results of the chloride test or detection of mutations with unknown phenotypic consequences^(4,5). To name these patients, American authors began using the term “CFTR-related metabolic syndrome” (CRMS) while the European Cystic Fibrosis Society (ECFS) proposed the term: “cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis” (CFSPID)^(5,6).

DIAGNOSIS

Cystic fibrosis is suspected in patients with at least one typical clinical sign or a positive screening result, or a positive family history^(7–9). The diagnosis can be confirmed with broader testing encompassing a sweat chloride

określenie: pozytywny wynik przesiewu, niejednoznaczna diagnoza mukowiscydozy (*cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis, CFSPID*)^(5,6).

ROZPOZNANIE MUKOWISCYDOZY

Podejrzenie mukowiscydozy wysuwa się w odniesieniu do pacjentów, u których stwierdzono obecność przynajmniej jednego typowego objawu klinicznego bądź uzyskano pozytywny wynik badania przesiewowego lub którzy mają dodatni wywiad rodzinny⁽⁷⁻⁹⁾. Potwierdzenie diagnozy wymaga wdrożenia szerszej diagnostyki, obejmującej oznaczenie stężenia chlorków w pocie i analizę DNA. Stężenie chlorków w pocie powyżej 59 mmol/l spełnia kryteria rozpoznania mukowiscydozy⁽⁸⁾. Podobnie mukowiscydozę można rozpoznać u pacjentów, u których występują dwie mutacje wywołujące chorobę (sklasyfikowane w bazie danych CFTR2) w pozycji trans (tj. jedna na każdym z dwóch chromosomów homologicznych)⁽⁸⁾. Równie istotna jest ocena kliniczna tych pacjentów, obejmująca m.in. ocenę układu oddechowego (posiewy z dróg oddechowych w kierunku patogenów związanych z mukowiscydozą, odpowiednie dla wieku badania czynnościowe i obrazowe układu oddechowego), a także nieinwazyjną diagnostykę zewnątrzwydzielniczej czynności trzustki⁽⁸⁾.

BADANIA PRZESIEWOWE

Badanie przesiewowe noworodków w kierunku mukowiscydozy zostało wprowadzone w Polsce w 1999 roku jako program pilotażowy. Obejmowało cztery województwa: mazowieckie, warmińsko-mazurskie, podlaskie i lubelskie. Zakończono je w sierpniu 2003 roku. W trakcie programu zostało zmodyfikowane postępowanie diagnostyczne. W okresie od 1 stycznia 1999 do 30 czerwca 2000 roku korzystano ze strategii IRT/IRT – jeśli stężenie IRT w pobranej w 1. tygodniu życia próbce krwi mieściło się w przedziale między 99,4 i 99,7 centylem, wykonywano ponowne oznaczenie IRT w 4. tygodniu życia. Od 1 lipca 2000 do sierpnia 2003 roku obowiązywał schemat IRT/IRT/DNA. Początkowo badanie DNA obejmowało najpowszechniejszą mutację genu *CFTR* (F508del)⁽¹⁰⁾.

We wrześniu 2006 roku wznowiono CF NBS na terenie tych samych województw, w których prowadzono program pilotażowy. Początkowo korzystano z tego samego schematu diagnostycznego. Od 1 stycznia 2007 roku zaczęto stopniowo rozszerzać panel wykrywanych mutacji. W czerwcu 2009 roku badaniami przesiewowymi w kierunku mukowiscydozy objęto cały kraj. W październiku 2009 roku zmieniono dotychczasowy schemat diagnostyczny, rezygnując z drugiego oznaczania poziomu IRT. Od września 2011 roku panel mutacji obejmuje około 95% zmutowanych alleli populacji polskiej⁽¹⁰⁾.

Obecna strategia badania przesiewowego nie odbiega od schematu wprowadzonego w 2009 roku. W 3.–6. dobie życia oznacza się stężenie immunoreaktywnej trypsyny

concentration assay and DNA analysis. The concentration of chloride in sweat above 59 mmol/L meets the diagnostic criteria of cystic fibrosis⁽⁸⁾. Also, this condition can be identified in patients with two mutations causing the disease (classified in the CFTR2 database) in the trans position (i.e. one on each of two homologous chromosomes)⁽⁸⁾. The clinical assessment of these patients, involving respiratory tract examination (respiratory tract cultures for CF-related pathogens, age-adjusted functional and imaging tests of the respiratory system) and non-invasive exocrine pancreatic function tests, is equally important⁽⁸⁾.

SCREENING

Cystic fibrosis newborn screening (CF NBS) was introduced in Poland in 1999 as a pilot programme. It encompassed four provinces: Mazovia, Warmia-Masuria, Podlasie and Lublin Province, and ended in 2003. The diagnostic management was modified during the programme. From 1 January 1999 to 30 June 2000, the IRT/IRT strategy was applied: if the IRT level in a blood sample collected in week 1 of life was between the 99.4 and 99.7 percentile, IRT was re-assayed in week 4 of life. From 1 July 2000 to August 2003, the IRT/IRT/DNA strategy was used. Initially, the DNA examination encompassed the most common mutation of the *CFTR* gene (F508del)⁽¹⁰⁾.

CF NBS was re-introduced in September 2006 in the same four provinces. Initially, the same diagnostic strategy was applied. From 1 January 2007, the panel of mutations was gradually broadened. In June 2009, screening for cystic fibrosis was conducted in the entire country. In October 2009, the previous diagnostic strategy was changed, and the second IRT assay was removed. Since September 2011, the panel of mutations tested has included approximately 95% of mutated alleles of the Polish population⁽¹⁰⁾.

The current screening strategy is the same as in 2009. Immunoreactive trypsin or trypsinogen concentration is assayed on day 3–6 of life by collecting a blood drop on a filter paper. DNA is analysed when the level of IRT is >99.4 percentile.

Initial screening tests based only on an immunoreactive trypsin assay led to numerous false positive diagnoses of cystic fibrosis^(5,10). The introduction of DNA analysis has resulted in the detection of carrier state, and expanding the DNA panel has led to the detection of changes of uncertain or insignificant clinical consequences⁽¹⁰⁾.

MUTATIONS IN THE GENE RESPONSIBLE FOR CFTR SYNTHESIS

Owing to techniques of molecular analysis, over two thousand *CFTR* mutations have been found. This helped establish diagnostic criteria for cystic fibrosis⁽¹¹⁾. These mutations were divided into five classes depending on the type of molecular abnormalities. Class I contains mutations that cause *CFTR* production disorders, class II – mutations

lub trypsynogenu w kropli krwi pobranej na bibułę filtracyjną. Przy stężeniu IRT >99,4 centyla wykonywana jest analiza DNA.

Początkowo wprowadzone testy przesiewowe, oparte wyłącznie na oznaczeniu stężenia immunoreaktywnej trypsyny, prowadziły do wielu fałszywie pozytywnych rozpoznań mukowiscydozy^(5,10). Wprowadzenie do badania analizy DNA skutkowało z kolei wykrywaniem nosicielstwa, a konsekwencją poszerzenia panelu DNA jest wykrywanie zmian o niepewnych lub nieznanach konsekwencjach klinicznych⁽¹⁰⁾.

MUTACJE GENU ODPOWIEDZIALNEGO ZA SYNTEZĘ BIAŁKA CFTR

Dzięki technikom analizy molekularnej odkryto do dziś ponad dwa tysiące mutacji genu *CFTR*, co pozwoliło na ustalenie kryteriów diagnostycznych dla mukowiscydozy⁽¹¹⁾. Mutacje podzielono na pięć klas w zależności od typu nieprawidłowości molekularnych. W klasie I zawarte są mutacje powodujące zaburzenia produkcji białka CFTR, w klasie II – mutacje związane z zaburzonym procesem jego dojrzewania, w klasie III – mutacje prowadzące do zaburzeń regulacji kanału chlorkowego, w klasie IV – mutacje powodujące dysfunkcje przewodnictwa tego kanału, a w klasie V – mutacje redukujące biosyntezę normalnego białka CFTR. Występowanie mutacji z klas IV i V na ogół wiąże się z lżejszym przebiegiem choroby^(1,3,4).

Castellani i wsp. dokonali podziału mutacji ze względu na konsekwencje kliniczne, a Borowitz i wsp. zmodyfikowali go, przyporządkowując mutacje do czterech grup (tab. 1): grupa A to mutacje powodujące mukowiscydozę, grupa B – zmiany odpowiedzialne za występowanie chorób CFTR-zależnych (tzw. CFTR-opatii), grupa C – mutacje niepowodujące żadnych skutków fenotypowych, grupa D – zmiany o nieznanach lub niepewnych konsekwencjach klinicznych⁽⁵⁾. Stwierdzenie obecności mutacji o niepewnych konsekwencjach klinicznych wymaga dalszej diagnostyki w specjalistycznym ośrodku leczenia mukowiscydozy⁽⁸⁾.

TEST POTOWY

Test potowy jest podstawowym testem w diagnostyce mukowiscydozy – wyjątkowo czułym i swoistym, wykonywanym

Grupa A <i>Group A</i>	Mutacje powodujące mukowiscydozę <i>Mutations causing cystic fibrosis</i>
Grupa B <i>Group B</i>	Zmiany odpowiedzialne za występowanie chorób CFTR-zależnych (tzw. CFTR-opatii) <i>Changes responsible for CFTR-related diseases (CFTR-pathies)</i>
Grupa C <i>Group C</i>	Mutacje niepowodujące żadnych skutków fenotypowych <i>Mutations with no phenotypic consequences</i>
Grupa D <i>Group D</i>	Zmiany o nieznanach lub niepewnych konsekwencjach klinicznych <i>Changes of unknown or uncertain clinical consequences</i>

Tab. 1. Podział mutacji genu *CFTR* ze względu na konsekwencje kliniczne w modyfikacji Borowitza i wsp.⁽⁸⁾

Tab. 1 Classification of *CFTR* mutations depending on clinical consequences as modified by Borowitz et al.⁽⁸⁾

associated with its impaired development, class III – mutations that lead to disorders in chloride channel regulation, class IV – mutations that cause chloride channel conductance dysfunction, and class V – mutations that reduce normal *CFTR* biosynthesis. The occurrence of class IV and V mutations is usually linked with a less severe disease^(1,3,4).

Castellani *et al.* divided mutations based on their clinical consequences, and Borowitz *et al.* modified this classification by assigning these mutations to four groups (Tab. 1): group A – mutations that cause cystic fibrosis, group B – mutations responsible for *CFTR*-related diseases (so-called *CFTR*-pathies), group C – mutations that have no phenotypic consequences, and group D – mutations of unknown or uncertain clinical consequences⁽⁵⁾. Identification of mutations of unknown or uncertain clinical consequences requires further diagnosis in a specialist cystic fibrosis centre⁽⁸⁾.

SWEAT TEST

A sweat test is the basic test in the diagnostic process of cystic fibrosis diagnosis. It is particularly sensitive and specific, and is performed in specialist centres with considerable experience (at least 100 tests annually)⁽¹²⁾. Chloride anion assay in sweat clearly shows the difference between a healthy individual and cystic fibrosis patient^(7,11). Two results of significantly elevated chloride levels of over 60 mmol/L in two separate tests confirm the diagnosis^(11,12). A result below 30 mmol/L is considered normal, and cystic fibrosis is unlikely in these cases^(8,11). If chloride ion concentration in a sweat test ranges from 30 to 59 mmol/L, cystic fibrosis cannot be either confirmed or ruled out. According to the CF Foundation, in these cases the test should be repeated in two months (Tab. 2). If the second result is normal (<30 mmol/L) and two *CFTR* mutations have been detected of which one is classified to group B or D, the child is included to the new group of patients: CFSPID. If a mutation is identified in one allele only, the patient is considered a carrier. If the second chloride anion assay is still at the borderline level (30–59 mmol/L), CFSPID should be suspected when one group A/B *CFTR* mutation is found or when two mutations are present, including one of the B/D group. When, however, the second sweat test shows a result above 60 mmol/L or when two group A *CFTR* mutations are present, the diagnosis of cystic fibrosis is established⁽¹¹⁾.

PATIENTS WITH IMPOSSIBLE CONFIRMATION OR EXCLUSION OF CYSTIC FIBROSIS

The term CFSPID refers to children in whom a clear diagnosis or exclusion of cystic fibrosis cannot be made. It helps understand the disease better by the patient's family⁽¹¹⁾.

w ośrodkach specjalistycznych o dużym doświadczeniu (co najmniej 100 badań rocznie)⁽¹²⁾. Oznaczenie stężenia anionów chlorkowych w pocie najwyraźniej pokazuje różnicę między osobą zdrową a chorą na mukowiscydozę^(7,11). Uzyskanie w dwóch odrębnie przeprowadzonych badaniach zamiennie wysokiego stężenia chlorków, wynoszącego ponad 60 mmol/l, umożliwia rozpoznanie^(11,12). Wynik poniżej 30 mmol/l uznawany jest za prawidłowy i rozpoznanie mukowiscydozy w takich przypadkach jest mało prawdopodobne^(8,11). Jeżeli stężenie jonów chlorkowych w teście potowym zawiera się w przedziale 30–59 mmol/l, nie można jednoznacznie potwierdzić bądź wykluczyć mukowiscydozy. CF Foundation zaleca w takich przypadkach ponowne wykonanie testów potowych po dwóch miesiącach (tab. 2). Jeżeli drugi wynik jest prawidłowy (<30 mmol/l), a stwierdzono obecność dwóch mutacji genu *CFTR*, z czego jedną z nich należąca do grupy B/D, dziecko zostaje zakwalifikowane do nowej grupy pacjentów – CFSPID. Gdy mutacja występuje na jednym allelu, pacjenta określa się jako nosiciela. Jeśli w drugim pomiarze stężenie anionów chlorkowych nadal utrzymuje się na poziomie granicznym (30–59 mmol/l), należy podejrzewać CFSPID w przypadku stwierdzenia jednej mutacji genu *CFTR* z grupy A/B lub dwóch mutacji, z czego jednej z grupy B/D. Natomiast w sytuacji, gdy w drugim teście potowym uzyskano wynik powyżej 60 mmol/l lub obecne są dwie mutacje genu *CFTR* z grupy A, rozpoznawana jest mukowiscydoza⁽¹¹⁾.

PACJENCI, U KTÓRYCH NIE MOŻNA JEDNOZNACZNIE POTWIERDZIĆ LUB WYKLUCZYĆ MUKOWISCYDOZY

Termin CFSPID odnosi się do dzieci, u których nie można jednoznacznie rozpoznać ani wykluczyć mukowiscydozy. Pozwala on na lepsze zrozumienie choroby przez rodzinę pacjenta⁽¹¹⁾.

Dzieci spełniające kryteria CFSPID są traktowane bardzo różnorodnie. Trudność związana z postawieniem jednoznacznej diagnozy powoduje, że część z nich nie podlega opiece specjalistycznej, a część jest traktowana jak osoby chore⁽¹¹⁾.

W styczniu 2015 roku europejska grupa robocza do spraw przesiewu noworodków w kierunku mukowiscydozy opublikowała rekomendacje postępowania z dziećmi spełniającymi kryteria CFSPID. Pacjentów podzielono na dwie grupy, kierując się głównie wynikiem testu potowego (tab. 3). Grupa A obejmuje dzieci, u których stężenie chlorków w pocie jest prawidłowe (<30 mmol/l), ale stwierdzono obecność dwóch mutacji genu *CFTR*, z czego przynajmniej jedna ma niejasne konsekwencje kliniczne. Pacjentów z granicznym stężeniem chlorków w pocie (30–59 mmol/l) i brakiem lub występowaniem tylko jednej mutacji genu *CFTR* przyporządkowano do grupy B⁽¹¹⁾. Wytyczne różnią się w pewnych aspektach, w zależności od grupy.

Dzieci z CFSPID, zarówno z grupy A, jak i B, należy objąć specjalistyczną opieką ośrodka zajmującego się diagnostyką i leczeniem mukowiscydozy. Ośrodek ten powinien

Children that meet the CFSPID criteria are treated in various ways. Due to the difficulty associated with establishing a clear diagnosis, some of them are not under any supervision of a specialist centre while others are treated as ill individuals⁽¹¹⁾.

In January 2015, the European working group on cystic fibrosis newborn screening published recommendations on the management in children that meet the CFSPID criteria. The patients were divided into two groups, mainly based on the sweat test outcome (Tab. 3). Group A includes children with normal sweat chloride concentrations (<30 mmol/L) but with two *CFTR* mutations, of which at least one is of uncertain clinical consequences. Patients with borderline sweat chloride levels (30–59 mmol/L) and the lack of or only one *CFTR* mutation are assigned to group B⁽¹¹⁾. The management guidelines vary in some aspects depending on the group.

Children with CFSPID, both those assigned to group A and B, should be under the care of a centre specialising in the diagnosis and therapy of cystic fibrosis. This centre should provide conditions in which children would not be exposed to cross infections. Sweat tests must be repeated in both groups at 6–12 months. However, another examination should be considered in children from group A at 2 years of age, depending on the genotype. Patients from both groups undergo specialist check-ups. In group A, the first control visit should take place between 6 and 12 months of age, and the subsequent ones – once a year or more frequently, depending on the clinical state and patient's family needs. Group B should be followed every 3 months or less often, depending on the patient's clinical state. The frequency of control visits can decrease in the course of further care, but they should never be rarer than once a year. The annual clinical assessment must involve the

Wynik testu potowego (mmol/l) <i>Sweat test result (mmol/L)</i>	Mutacja genu <i>CFTR</i> <i>CFTR mutation</i>	Interpretacja <i>Interpretation</i>
<30	Brak <i>No</i>	Brak potwierdzenia CFSPID <i>CFSPID not confirmed</i>
	1 mutacja <i>1 mutation</i>	Nosicielstwo <i>Carrier state</i>
	2 mutacje, z czego jedna z grupy B/D <i>2 mutations, one of which classified to group B/D</i>	Podejrzanie CFSPID <i>CFSPID suspected</i>
30–59	1 mutacja z grupy A/B <i>1 mutation from group A/B</i>	Podejrzanie CFSPID <i>CFSPID suspected</i>
	2 mutacje, z czego jedna z grupy B/D <i>2 mutations, one of which classified to group B/D</i>	
>60	(i/lub) 2 mutacje z grupy A <i>(and/or) 2 mutation from group A</i>	Mukowiscydoza <i>Cystic fibrosis</i>

Tab. 2. Interpretacja wyników ponownego testu potowego⁽¹¹⁾
Tab. 2. Interpretation of a repeated sweat test⁽¹¹⁾

zapewnić warunki, w których dzieci nie będą narażone na ryzyko zakażeń krzyżowych. Testy potowe muszą zostać powtórzone w obu grupach w wieku 6–12 miesięcy, natomiast u dzieci z grupy A, w zależności od genotypu, należy rozważyć przeprowadzenie kolejnych badań w 2. roku życia. U pacjentów z obu grup przeprowadzane są specjalistyczne kontrole. W grupie A pierwsza kontrola powinna się odbyć pomiędzy 6. a 12. miesiącem życia, a kolejne wyznacza się raz do roku lub częściej, zależnie od stanu klinicznego i potrzeb rodziny pacjenta. W grupie B kontrole należy przeprowadzać co 3 miesiące lub rzadziej, zależnie od stanu klinicznego pacjenta. Ich częstotliwość może się zmniejszyć w trakcie dalszej opieki, jednak nie powinny się one odbywać rzadziej niż raz do roku. W corocznej ocenie klinicznej należy wziąć pod uwagę ocenę rozwoju, przyrost masy ciała i stan układu oddechowego. Badania laboratoryjne lub radiologiczne powinny być zlecane tylko ze wskazań klinicznych. ECFS uznało bazę CFTR2 za ważne źródło informacji na temat mutacji oraz ich wpływu na organizm. W związku z tym częścią oceny stanu klinicznego powinna być analiza danych z bazy CFTR2, które należy przedyskutować z rodzicami^(11,13).

Ważnym aspektem jest współpraca z rodzicami dzieci objętych obserwacją. Muszą oni zostać poinformowani o wynikach badań oraz zrozumieć, że u dziecka nie zdiagnozowano ostatecznie CF, a rozpoznanie będzie corocznie weryfikowane. Rodzina oraz lekarz pierwszego kontaktu powinni otrzymać precyzyjne informacje, w jaki sposób skontaktować się z ośrodkiem specjalistycznym w razie wystąpienia niepokojących objawów, takich jak brak prawidłowego przyrostu masy ciała, biegunka lub przedłużające się objawy ze strony układu oddechowego (>2 tygodnie)^(11,13). W obu grupach zalecana jest realizacja szczepień zgodnie z kalendarzem szczepień. Dodatkowo u pacjentów z grupy B wykonuje się corocznie szczepienie przeciwko grypie. Jeśli u pacjenta należącego do grupy B wystąpi kaszel, antybiotyki powinny zostać włączone do leczenia wcześniej niż w populacji ogólnej. W sytuacji, gdy kaszel trwa ponad dwa tygodnie, dziecko powinno zostać przebadane w ośrodku specjalistycznym. U dzieci z grupy B zalecane jest standardowe wykonywanie badania bakteriologicznego raz w roku, jeżeli istnieją do tego wskazania kliniczne. W przypadku grupy A nie osiągnięto konsensusu co do przeprowadzania standardowo badania bakteriologicznego^(11,13).

	Stężenie chlorków w pocie <i>Sweat chloride concentration</i>	Mutacje genu CFTR <i>CFTR mutation</i>
Grupa A <i>Group A</i>	Prawidłowe (<30 mmol/l) <i>Normal (<30 mmol/L)</i>	2 mutacje – przynajmniej jedna o niejasnych konsekwencjach klinicznych <i>2 mutations – at least one with unclear clinical consequences</i>
Grupa B <i>Group B</i>	Graniczne (30–59 mmol/l) <i>Borderline (30–59 mmol/L)</i>	Brak lub występowanie 1 mutacji <i>No or 1 mutation</i>

Tab. 3. Podział pacjentów z CFSPID według ECFS⁽¹¹⁾

Tab. 3. Division of CFSPID patients according to the ECFS⁽¹¹⁾

evaluation of the child's development, weight gain and respiratory system condition. Laboratory tests or radiological examinations should be ordered only for clinical indications. The ECFS acknowledge the CFTR2 database as an important source of information on mutations and their influence on the organism. Therefore, the analysis of data from the CFTR2 database and discussion on them with parents, should be a part of the clinical assessment^(11,13).

The cooperation with parents of observed children is significant. They must be informed about test results and understand that their children have not been definitively diagnosed with CF, and the diagnosis will be verified annually. Parents and general practitioner should receive precise information on how to contact the specialist centre in case of alarming symptoms, such as the lack of normal weight gain, diarrhoea or prolonged respiratory signs (>2 weeks)^(11,13).

Both groups are advised to follow the vaccination schedule. Additionally, group B patients are vaccinated against influenza once a year. If a group B patient develops cough, antibiotics should be started earlier than in the general population. If cough persists for more than two weeks, the child should be examined in the specialist centre. A standard bacteriological examination conducted once a year is recommended in group B children if there are clinical indications. As for group A, the consensus about standard bacteriological examinations has not been reached^(11,13).

Irrespective of the type of patients, children and their parents should be encouraged to have a healthy lifestyle and avoid tobacco smoke exposure. Parents of group B children must be informed that in the period of high ion losses with sweat salt consumption should not be limited. Parents of CFSPID patients ought to be referred to a genetic clinic and their data should be collected in national databases^(11,13).

CONCLUSION

Cystic fibrosis newborn screening has resulted in the occurrence of a new group of patients with a diagnosis termed CFSPID or CRMS. The prognosis in these patients is uncertain since some of them may develop symptoms of cystic fibrosis or CFTR-related metabolic syndrome in the future while others may remain fully healthy. Patients with CFSPID require specialist care which enables their further observation, diagnosis or possible verification of the diagnosis and implementation of proper treatment. This strategy will gradually supplement the knowledge on mutations with uncertain clinical consequences. It is also significant that the patient's family understand possible consequences of an inconclusive diagnosis of cystic fibrosis.

Conflict of interest

Authors of this publication do not report any financial or personal connections with other people or organizations which would have bad influence on the content of the publication or which would claim the rights to this publication.

Niezależnie od grupy pacjentów należy zachęcać dzieci i ich rodziców do prowadzenia zdrowego stylu życia oraz przestrzegać przed ekspozycją na dym tytoniowy. W przypadku chorych z grupy B konieczne jest poinformowanie rodziców, że w okresie wysokich strat jonów wraz z potem nie powinno się ograniczać spożywania soli. Rodziców dzieci z CFSPID należy skierować do poradni genetycznej, natomiast dane pacjentów powinny być gromadzone w ogólnokrajowych bazach danych^(11,13).

PODSUMOWANIE

Konsekwencją wprowadzenia badania przesiewowego noworodków w kierunku mukowiscydozy jest wyodrębnienie nowej kategorii pacjentów, z rozpoznaniem określanym terminem CFSPID lub CRMS. Rokowanie w przypadku tych dzieci jest niejasne, gdyż u niektórych z nich w przyszłości mogą rozwinąć się objawy mukowiscydozy bądź zespołów zależnych od genu *CFTR*, a inne pozostaną w pełni zdrowe. Pacjenci ze stwierdzonym CFSPID wymagają specjalistycznej opieki, co umożliwi ich dalszą obserwację, diagnostykę, a także ewentualną weryfikację rozpoznania i wdrożenie odpowiedniego leczenia. Taka strategia pozwoli na stopniowe uzupełnianie wiedzy na temat mutacji o niepewnych konsekwencjach klinicznych. Istotną kwestią jest również zrozumienie przez rodzinę pacjenta, jakie możliwe następstwa niesie ze sobą niejednoznaczna diagnoza mukowiscydozy.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo / References

1. Sopolnińska E, Kalicki B, Mossakowska-Dudek A *et al.*: Mukowiscydoza – 13-letnia obserwacja chorej. *Pediatr Med Rodz* 2007; 3: 211–215.
2. Witt M, Majka L: Mukowiscydoza – choroba dobrze poznana, jednak ciągle zagadkowa. *Alerg Astma Immun* 1997; 2: 157–161.
3. Słuszniak A, Kurtyka Z, Lemańska D: Badania przesiewowe noworodków w kierunku mukowiscydozy w Polsce południowo-wschodniej. *Przegl Lek* 2011; 68: 59–62.
4. Woś H, Sankiewicz-Szkółka M, Więcek S *et al.*: Diagnostic problems in cystic fibrosis – specific characteristics of a group of infants and young children diagnosed positive through neonatal screening, in whom cystic fibrosis had not been diagnosed. *Dev Period Med* 2015; 19: 25–31.
5. Zybert K, Tramś E, Milczewska J *et al.*: Niejednoznaczna diagnoza mukowiscydozy u dzieci z pozytywnym wynikiem badania przesiewowego. *Pediatr Pol* 2016; 91: 312–317.
6. Ooi CY, Castellani C, Keenan K *et al.*: Inconclusive diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening. *Pediatrics* 2015; 135: e1377–e1385.
7. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C *et al.*: Diagnostic Working Group: Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006; 61: 627–635.
8. Smyth AR, Bel SC, Bojcin S *et al.*: Standardy opieki Europejskiego Towarzystwa Mukowiscydozy: wytyczne i najlepsze praktyki. *Pediatr Pol* 2016; 91: S30–S53.
9. Kalicki B, Sopolnińska E, Jung A *et al.*: Mukowiscydoza – aktualne spojrzenie na diagnostykę i leczenie. *Pediatr Med Rodz* 2007; 3: 158–167.
10. Sands D, Zybert K, Mierzejewska E *et al.*: Diagnosing cystic fibrosis in newborn screening in Poland – 15 years of experience. *Dev Period Med* 2015; 19: 16–24.
11. Sands D, Tramś E, Zybert K: CFSPID – czyli pozytywny wynik przesiewu noworodkowego, ale niejednoznaczna diagnoza mukowiscydozy. *Pediatr Pol* 2016; 91: 338–344.
12. Walkowiak J, Pogorzelski A, Sands D *et al.*: Zasady rozpoznawania i leczenia mukowiscydozy. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy 2009 Poznań – Warszawa – Rzeszów. *Standardy Medyczne/Pediatrica* 2009; 6: 352–378.
13. Munck A, Mayell SJ, Winters V *et al.*: ECFS Neonatal Screening Working Group: Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CFSPID): A new designation and management recommendations for infants with an inconclusive diagnosis following newborn screening. *J Cyst Fibros* 2015; 14: 706–713.