

Durchführung von Schweisstests in der Schweiz

Jürg Barben¹, Carmen Casaulta², Renate Spinas³, Martin Schöni²
Swiss Working Group for Cystic Fibrosis (SWGCF)

¹ Ostschweizer Kinderspital St. Gallen

² Universitäts Kinderklinik, Inselspital Bern

³ Universitäts-Kinderkliniken Zürich

Zusammenfassung

Eine kürzlich durchgeführte Umfrage an allen Schweizer Kinderspitälern und pädiatrischen Abteilungen zeigt, dass in der Schweiz eine Vielzahl von Schweisstestmethoden angewendet wird, die nur in wenigen Fällen den aktuellen Richtlinien zur Durchführung und Interpretation eines Schweisstests entsprechen. Nur 62% der Zentren bestimmen Chlorid im Schweiß, die einzig weltweit anerkannte Methode zur Diagnose einer Cystischen Fibrose. Das Befolgen von international anerkannten Richtlinien zur Durchführung eines Schweisstests könnte die Anzahl falsch-positiver oder falsch-negativer Resultate reduzieren und unnötige Wiederholungstests verhindern.

Einführung

Die quantitative Messung des Chloridgehaltes im Schweiß gilt auch heute noch als Goldstandard für die Diagnose einer Cystischen Fibrose (CF)^{1, 2}. In der Schweiz, einem Land ohne Neugeborenen-Screening für CF, wird die Diagnose einer CF aufgrund der Anamnese und Klinik vermutet und anschliessend mit zwei positiven Schweisstests (und/oder einer molekulargenetischen Analyse) bestätigt. Angesichts der Tragweite einer CF-Diagnose ist gerade bei Kindern mit einer atypischen CF ein korrekt durchgeführter Schweisstest von grösster Bedeutung³⁻⁵. Dies gilt auch für Länder, die bereits ein Neugeborenen-Screening mittels immunreaktiven Trypsinogen (IRT) und Genanalyse eingeführt haben, wo der Schweisstest zur Klärung von unklaren Resultaten (z. B. Resultate einer Heterozygotie durch molekulargenetische Analysen) herbeigezogen wird^{6, 7}.

Seit der Entdeckung der abnormen Schweiß-Elektrolytkonzentration bei CF-Patienten vor 50 Jahren durch di Sant'Agnese⁸, und der Einführung der quantitativen Pilo-

carpin-Iontophorese (QPIT) durch Gibson & Cooke⁹, hat es sehr viele Erneuerungen im Schweisstest gegeben^{2, 10-12}. Einerseits sind heutzutage Systeme der Firma Wescor wie z. B. das Macroduct[®]-Sammelsystem weit verbreitet und zusammen mit der QPIT international akzeptiert. Andererseits hat die Bestimmung der Konduktivität seit ihrer Erstbeschreibung vor 40 Jahren¹³ eine immer grössere Bedeutung erhalten und verschiedene Studien haben gezeigt, dass die Konduktivität ebenso gut zur Diagnostik einer CF herangezogen werden kann, wie die QPIT^{12, 14-16}. Die Bestimmung der Konduktivität wird aber bis heute von der amerikanischen CF Foundation nicht als diagnostischer Test anerkannt¹⁷ und die Papierfilter-Methode von Gibson & Cooke gilt auch heute noch als genauester Test¹¹.

Die korrekte Durchführung eines Schweisstests ist komplex, zeitaufwendig und sehr anfällig für verschiedenste Arten von Fehlern¹⁸. Die Durchführung eines Schweisstests benötigt speziell geschultes Personal und eine konsequente Einhaltung von Richtlinien^{19, 20}. Vor allem die Gewinnung von genügend Schweiß bei kleinen Kindern ist ein wohlbekanntes Problem²¹. Verschiedene Untersuchungen in den USA haben gezeigt, dass falsch-positive Resultate (bis zu 15%) und falsch-negative Resultate (bis zu 12%) infolge ungenauer Methodik, technischer Fehler und physiologischer Probleme bei Patienten unakzeptabel häufig vorkommen^{1, 20, 22}. Ähnliche Untersuchungen über die Qualität von Schweisstests wurden auch von Australien und Neuseeland, wo bereits seit Jahrzehnten ein spezifisches Neugeborenen-Screening für CF besteht, berichtet^{6, 23}.

Da in der Schweiz bisher keine Empfehlungen zur Durchführung eines Schweisstests publiziert wurden, wollten wir untersuchen, wie die Schweisstests in unserem Lande gemacht werden²⁴. Dazu haben wir im Herbst 2005 einen Fragebogen an alle Kinderspitäler (n=8) und pädiatrischen Ab-

teilungen der Kantons- bzw. Stadtspitäler (n=28) sowie an alle Pneumologiezentren, die erwachsene Patienten mit CF betreuen (n=8), verschickt (Rücklaufquote 89%). Die Resultate wurden verglichen mit amerikanischen Richtlinien des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 1994 und 2000 (www.nccls.org)^{20, 25} und den englischen Empfehlungen aus dem Jahre 2003 (www.acb.org.uk)¹⁹.

Wie ist die Situation in der Schweiz?

Alle acht Kinderspitäler sowie 78% (18/23) der angefragten pädiatrischen Abteilungen, aber keines der Pneumologiezentren für Erwachsene, führen Schweisstests durch. Insgesamt werden in diesen 26 Kliniken etwa 1560 Schweisstests pro Jahr (range: 5-200; median: 40) gemacht, wobei alle acht Kinderspitäler mehr als 100 Tests pro Jahr durchführen (*Abbildung 1*). Die Schweisstests werden in den einzelnen Kliniken von 1-15 Personen (median: 3) durchgeführt: In 31% (8/26) durch Laborantinnen, in 58% (15/26) durch das Pflegepersonal und in 15% (4/26) durch Arztgehilfinnen. In vier pädiatrischen Abteilungen muss das gesamte Pflegepersonal in der Lage sein, einen Schweisstest zu machen. Über 56% der Personen, die Schweisstests durchführen, machen weniger als 10 Tests pro Jahr; 20% machen 10-24 Tests pro Jahr und 24% mehr als 25 Tests pro Jahr.

88% (23/26) der Spitäler verwenden Wescor-Systeme: Das Macroduct[®]-Sammelsystem wird von 73% (19/26) und das neue Nanoduct[®]-Schweisstestsystem von 31% (8/26) verwendet. Nur drei Zentren verwenden die klassische Filterpapiermethode von Gibson & Cooke. Die mittlere Sammelzeit (median) beträgt 55 Minuten (range: 30-120 Min.); nur drei Spitäler (12%) halten sich an die empfohlene maximale Sammelzeit von 30 Minuten. Nur gerade 62% (16/26) der Spitäler verwenden die Chloridbestimmung im Schweiß, die einzige vom NCCLS akzeptierte Methode (*Abbildung 2*). Die Osmolarität wird in 35% (9/26), das Natrium in 42% (11/26) und die Konduktivität in 62% (16/26) der Spitäler bestimmt. Die Bestimmung der Konduktivität wird in 8 Spitälern als Diagnostikum benützt und das neue Nanoduct[®]-System wird bereits in acht Kinderkliniken verwendet, davon in der Hälfte als schnelle Screeningmethode. Die meisten Spitäler hatten ihre eigene Vorgehensweise

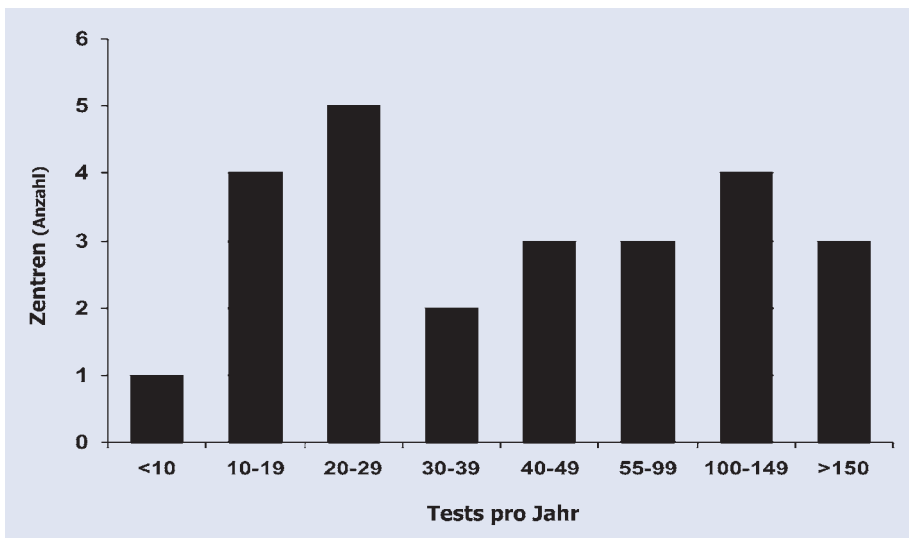


Abbildung 1: Test pro Jahr pro Zentrum

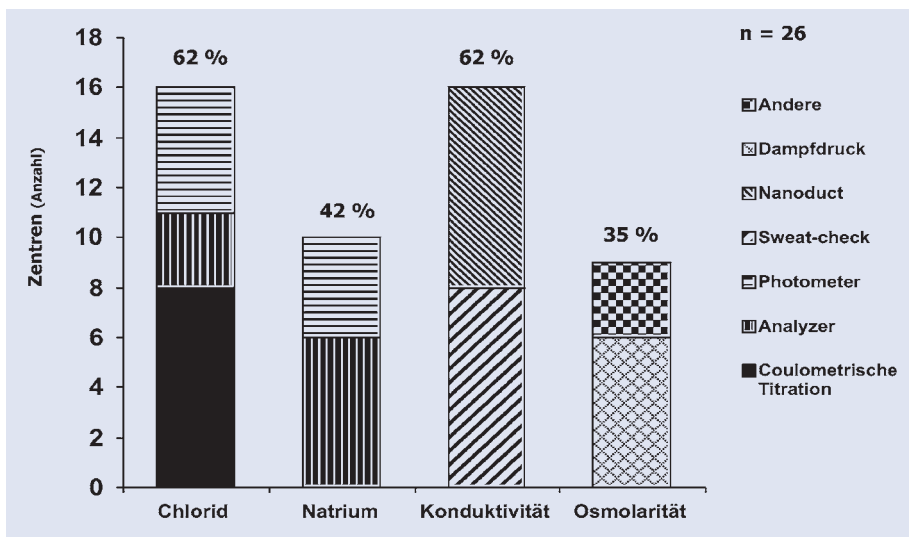


Abbildung 2: Labormethoden der Schweissanalyse

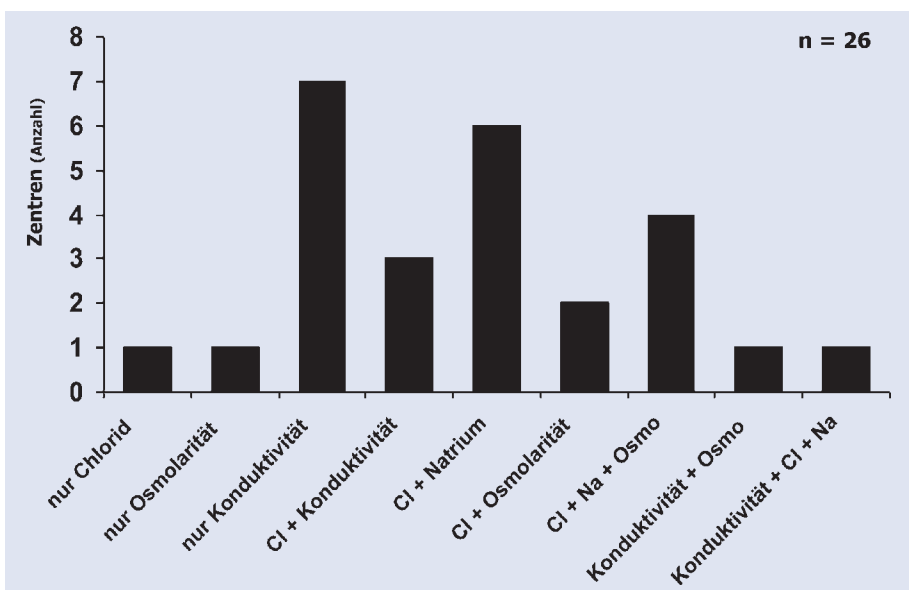


Abbildung 3: Methoden der Schweissanalyse in einzelnen Zentren

und angewandte Methodik in der Bestimmung des Schweißes (Abbildung 2 + 3). Nur gerade 63% (10/16) von denjenigen, die Chlorid im Schweiß bestimmen, verwendeten auch den empfohlenen Chloridwert von >60 mmol/L für die Diagnose einer CF; zwei Zentren verwendeten einen Chloridwert von 70 mmol/L, eines 50 mmol/L und drei 45 mmol/L. 81% (21/26) der Spitäler haben keine Limite für das minimale Alter (z. B. 2 Wochen) bzw. Gewicht (z. B. 3 kg) für die Durchführung eines Schweißstests bei Neugeborenen.

Vergleich mit internationalen Empfehlungen

Da der Schweißtest technisch sehr anspruchsvoll ist, empfehlen die englischen Richtlinien aus dem Jahre 2003¹⁹⁾ (vgl. Tabelle 1) zur Qualitätssicherung, dass ein Zentrum mindestens 50 Schweißstests pro Jahr durchführen sollte. Zusätzlich sollte speziell geschultes Personal im Minimum 10 Schweißstests pro Jahr durchführen, um die Qualität der Tests gewährleisten zu können. In der Schweiz erfüllen gerade mal 42% der Zentren diese geforderte Anzahl Schweißstests und mehr als 50% des Personals, die Schweißsteste machen, verfügen nicht über die geforderte Erfahrung von 10 Schweißstests pro Jahr.

Ein Schweißtest besteht aus drei Teilen: Der Schweißinduktion, der Schweißgewinnung und der Schweißanalyse. Alle drei Stufen sind sehr empfindlich und anfällig für vielerlei Fehlermöglichkeiten.

Schweißinduktion

Zur Durchführung eines korrekten Schweißstests muss zuerst die Haut gut mit destilliertem oder deionisiertem Wasser gereinigt werden, damit tote Hautzellen und allfällige Hautlotionen bzw. Cremes entfernt werden und die oberste Hautschicht gut hydriert wird.²⁰⁾ Zur Stimulation der Schweißdrüsen werden anschliessend Pilocarpin Gel-Disk (Pilocarpin-Nitrat 2-5 g/L bzw. 0.2-0.5%) oder mit Pilocarpin (0.4-0.6% Lösung) getränkte Tupfer auf zwei kleine Hautareale am Vorderarm oder Bein aufgetragen und mittels zweier Elektroden ein schwacher Gleichstrom appliziert. Alternativ zur Verwendung von Pilocarpin an beiden Elektroden kann an der Kathode auch Bicarbonat-Lösung (8.4%) oder Magnesiumsulfat-Lösung (0.05 mmol/L)

- Ein Zentrum sollte > 50 Schweisstests pro Jahr durchführen.
- Eine Person sollte > 10 Schweisstestsammlungen pro Jahr machen.
- Die Zahl der totalen Fehlerquote (ungenügende Schweissmenge usw.) sollte nicht 10% der getesteten Patienten überschreiten (anvisierendes Ziel: 5%).
- Der Schweiß sollte während mindestens 20, maximal während 30 Minuten gesammelt werden.
- Im Neugeborenenalter kann der Schweisstest gut bei normal hydrierten Kindern im Alter von 2 Wochen bzw. > 3 kg Körpergewicht durchgeführt werden.
- Die Bestimmung des Chlorides im Schweiß ist die Methode der Wahl. Eine Chloridkonzentration von > 60 mmol/L ist diagnostisch für CF. Werte zwischen 40–60 sind grenzwertig, Werte < 40 mmol/L sind normal.
- Die Anwendung der Konduktivität braucht noch weitere Studien. Eine Konduktivität von < 60 mmol/L ist kaum mit einer CF vereinbar; Werte > 90 mmol/L sind suggestiv für eine CF.
- Die Bestimmung der Osmolarität im Schweiß ist zur Diagnose einer CF nicht empfohlen.

Tabelle 1: Schweisstest – UK-Guidelines 2003

	Chlorid (mmol/L)	Konduktivität (mmol/L)	Osmolarität (mosmol/L)
Normal	< 40	< 60	< 170
Borderline	40–60	60–80	170–200
CF	> 60	> 80	> 200

Tabelle 2: Schweisstest – Normwerte

verwendet werden. Aus Sicherheitsgründen, d. h. zur Vermeidung von allfälligen Stromschlägen, muss die Stromquelle Batteriebetrieben sein. Viele der heute verwendeten Stromquellen sind Eigenkonstruktionen, die schon viele Jahre alt sind. Die Firma Wescor® hat in den 70er Jahren mit dem *Webster sweat collection system model 3500* die erste standardisierte Stromquelle auf den Markt gebracht²⁶; ein verbessertes Modell gelang 1981 auf den Markt²⁷. Da die Möglichkeit von Hautverbrennungen mit der Menge und der Dauer des Stromes zunimmt, empfiehlt die NCCLS mit einem Gleichstrom von 0.5 mA zu starten und diesen langsam auf ein Maximum von 4 mA zu erhöhen und für 5 Minuten zu belassen²⁰. Die englischen Guidelines empfehlen eine Iontophorese von mindestens drei und maximal fünf Minuten, wobei der Gleichstrom 4 mA nie überschreiten soll¹⁹. Mit diesem Vorgehen sind Hautverbrennungen sehr selten geworden. Wärmelampen bzw. das Einwickeln des Kindes in Tücher beschleunigen die Pilocarpin-Iontophorese nicht und werden wegen einer möglichen Überhitzung des Kindes nicht empfohlen.

Schweissammlung

Die minimal notwendige Schweissmenge hängt von der Grösse der benützten Elek-

troden, der Art der Sammlung (Filterpapier, Gaze, Macroduct®-Sammelsystem), der Zeitdauer der Sammlung und der verwendeten Analysemethode ab²⁰. Ein genauer Schweisstest benötigt die Bestimmung von Elektrolyten von maximal stimulierten Schweißdrüsen, da die Chloridkonzentration bei geringer Schweisssezernierungsrate sinkt, was zu falsch-negativen Resultaten führen kann²⁸. Unmittelbar nach der Iontophorese ist die Schweisssekretion tief und hat ein Maximum nach 10 bis 30 Minuten, danach sinkt sie wieder schnell¹⁹. Zusätzlich kann die Verdunstung zur Verfälschung von Schweisstestresultaten führen, was vor allem bei kleinen Proben ein Problem ist. Deshalb empfehlen die NCCLS, dass die Schweissrate mindestens 1 g/m²/Min. betragen soll, was der Schweissmenge von 75 mg (gesammelt auf einem Filterpapier von 5 x 5 cm) oder 15 µL (gesammelt mit Macroduct®-System) in 30 Minuten Sammelzeit entspricht²⁰. Die Ausdehnung der Sammelzeit erhöht die Schweissmenge nur geringfügig und kann einzig zu vermehrter Verdunstung führen. Die englischen Richtlinien halten fest, dass der Schweiß für mindestens 20 höchstens aber für 30 Minuten gesammelt werden sollte¹⁹. Im Gegensatz zu England, wo rund 40% der Zentren die klassische Filterpapiermethode von Gibson

& Cooke verwenden¹⁹, benützen in der Schweiz nur drei Zentren diese Methode, obwohl diese immer noch als die genaueste Schweisstestmethode angesehen wird¹¹. Entsprechend den englischen und amerikanischen Richtlinien sollte die Fehlerquote des Schweisstests (z. B. ungenügende Schweissmenge) nicht mehr als 5% betragen, ausser es handelt sich um Neugeborene, wo eine adäquate Schweissammlung oft sehr schwierig ist^{19, 20}.

Schweissanalyse

- Die Bestimmung des **Chlorides** im Schweiß ist gemäss den amerikanischen²⁰ und englischen Richtlinien¹⁹ nach wie vor die einzig akzeptierte diagnostische Methode für eine CF. Colorimetrische und coulometrische Methoden sowie Ionen-selektive Elektroden sind erprobte Tests zur Bestimmung des Chlorids im Schweiß.²⁵ Im Allgemeinen gelten Chloridwerte unter 40mmol/L als normal, Werte zwischen 40–60 mmol/L als grenzwertig und Werte über 60 mmol/L als diagnostisch für CF (*Abbildung 4, Tabelle 2*)^{1), 2), 11), 29), 30)}. Chloridbestimmungen im Schweiß sollten immer angesichts des Alters interpretiert werden: Daten von Untersuchungen an Neugeborenen zeigen, dass Chloridwerte über 40 mmol/L bei Säuglingen sehr suggestiv für eine CF sind³¹. Im Gegensatz dazu können auch einige Erwachsene mit anderen Lungenerkrankungen Chloridwerte zwischen 60–70 mmol/L haben³². Angesichts der grossen Heterogenität in der klinischen Manifestation einer CF bzw. den atypischen Fällen hat die European Cystic Fibrosis Diagnostic Working Group kürzlich empfohlen, bereits Chloridwerte zwischen 30–60 mmol/L als neue Grenzwerte zu betrachten⁴.
- **Natrium** ist im Schweiß von CF-Patienten erhöht, aber die Werte unterscheiden Patienten mit CF nicht so gut von Gesunden wie Chlorid. Der Wert des Chlorid/Natrium-Quotienten ist umstritten und aktuell nicht geklärt¹⁹. Der Chlorid/Natrium-Quotient steigt mit dem Alter, wobei das Natrium schneller ansteigt als das Chlorid³³. Einige Labors bestimmen das Natrium als Qualitätskontrolle, andere wiederum benützen den Chlorid/Natrium-Quotienten um CF-Patienten (Quotient > 1) von anderen gastroenterologischen Krankheiten

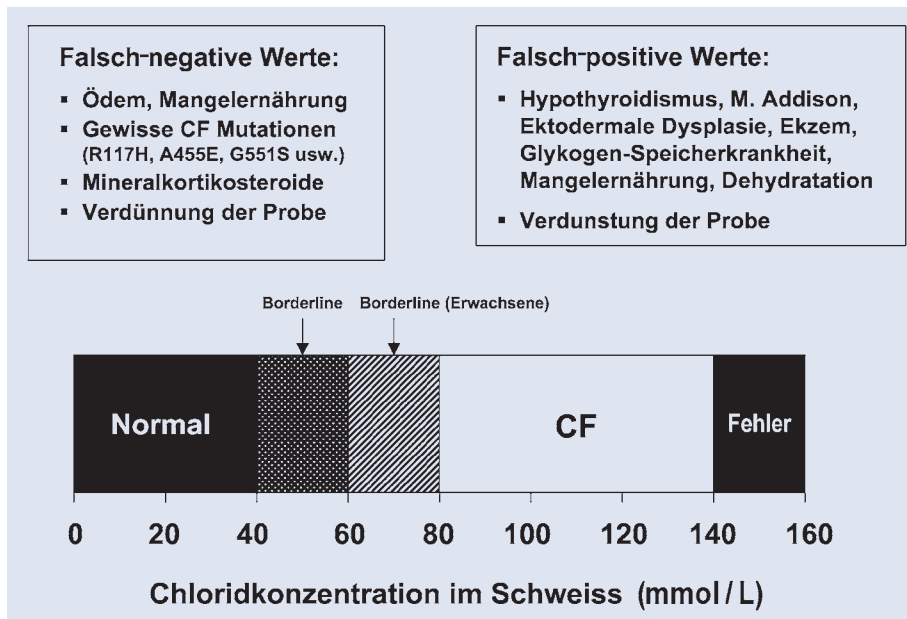


Abbildung 4: Schweißtest – Chloridwerte

wie z. B. Zöliakie (Quotient < 1) zu unterscheiden. Die Daten von Augarten et al.³⁴⁾ zeigen sogar Unterschiede im Chlorid/Natrium-Quotienten zwischen Homo- und Heterozygoten: $Cl/Na = 0.7 \pm 0.4$ für Gesunde, $Cl/Na = 1.2 \pm 0.1$ für CF Patienten und $Cl/Na = 0.94 \pm 0.1$ für Heterozygote.

- **Osmolarität** im Schweiß reflektiert die totale Konzentration der Anionen und Kationen im Schweiß, wobei auch die ungeladenen Moleküle wie Harnstoff und Aminosäuren eine Rolle spielen³⁵⁾. Die Osmolarität korreliert sehr gut mit dem Natrium im Schweiß, aber sie kann im Vergleich zu Chlorid deutlich schlechter zwischen CF-Patienten und Gesunden diskriminieren¹⁶⁾. Die Referenzwerte für eine normale Osmolarität betragen zwischen 50–150 mmol/kg; Werte über 200 mmol/kg sind vereinbar mit einer CF²⁹⁾. Grenzwerte liegen zwischen 150–200 mmol/kg²⁹⁾, wobei andere Autoren Werte unter 170 mmol/kg als normal betrachten³⁵⁾. Die Messung der Osmolarität im Schweiß kann als Screeningmethode helfen, ist aber zur Diagnose einer CF nicht empfohlen¹⁴⁾, ¹⁹⁾, ²⁹⁾.
- **Konduktivität** ist die Eigenschaft einer Lösung, Strom zu leiten. Da sie von der Konzentration und der Beweglichkeit der Ionen in der Lösung abhängt, ist sie eine indirekte Messung der Ionen. Die Konduktivität im Schweiß ist ungefähr 15 mmol/L höher als die Chloridkon-

zentration, da noch andere Ionen wie Bikarbonat und Laktat im Schweiß eine Rolle spielen¹⁵⁾, ²⁰⁾. Die Bestimmung der Konduktivität im Schweiß wurde erstmals vor 50 Jahren durch Licht & Schwachman beschrieben³⁶⁾ und wenige Jahre später als einfacher diagnostischer Schweißtest bei Kindern eingeführt¹³⁾. In der Zwischenzeit haben viele Autoren zeigen können, dass die Bestimmung der Konduktivität mittels Macroduct®-Sammelmethode und dem Sweat-Check®-Analyzer genau so effektiv für die CF-Diagnose ist wie die Chloridbestimmung¹²⁾, ¹⁵⁾, ¹⁶⁾, ³⁷⁾. Die Firma Wescor hat nun ein neues Schweißtestgerät (Nanoduct®) entwickelt, das sowohl den Schweiß induzieren als auch – während es mit dem Patienten verbunden ist – analysieren kann³⁸⁾. Dieses neue Gerät ist sehr einfach zu handhaben, braucht nur noch 3 μ l Schweiß und zuverlässige Resultate sind innerhalb 30 Minuten ohne zusätzliches Labor an einem Display ablesbar¹⁴⁾, ³⁸⁾. Trotz allen diesen Studien akzeptiert die NCCLS die Konduktivität nicht als diagnostisches Mittel²⁰⁾ und bis heute wurde einzig der Sweat-check® als Screeningmethode durch die NCCLS anerkannt¹¹⁾. Gemäss der amerikanischen CF-Gesellschaft sind Konduktivitätswerte von < 50 mmol/L normal und Werte > 50 mmol/L sollten mittels QPIT betätigt werden¹⁷⁾, ²⁹⁾. Gemäss Wescor, dem Hersteller des Sweat-check® und Nanoduct®, ist eine

Konduktivität von > 80 mmol/L vereinbar mit einer CF³⁸⁾, was kürzlich in einer Studie bestätigt werden konnte¹⁴⁾, ³⁸⁾. Andere empfehlen zur CF-Diagnostik einen Wert von > 90 mmol/L¹⁹⁾, ³⁷⁾.

Grenzen des Schweißtests

Ein Schweißtest kann in jedem Alter durchgeführt werden, wobei es manchmal schwierig sein kann, genügend Schweiß bei Neugeborenen zu erhalten²¹⁾, ³⁹⁾. Frühgeborene schwitzen selten in den ersten zwei Wochen, hingegen schwitzen die meisten Neugeborenen ab dem ersten Lebenstag⁴⁰⁾. Die englischen Richtlinien empfehlen einen Schweißtest erst im Alter von zwei Wochen bzw. ab einem Gewicht von 3 kg durchzuführen¹⁹⁾. Andere Autoren meinen, dass ein Schweißtest bereits am 3. Lebenstag bei Kindern ab der 36. SSW bzw. einem Körpergewicht von über 2 kg durchgeführt werden kann²¹⁾. Ein Schweißtest sollte sicher nicht in den ersten zwei Lebenstagen gemacht werden, da in den ersten 24 Stunden nach Geburt die Schweißelektrolyte vorübergehend ansteigen¹⁸⁾.

Ein Schweißtest sollte bei dehydrierten Kindern, aber auch Kindern mit Ekzemen oder Ödemen bzw. unter Therapie mit systemischen Steroiden nicht durchgeführt werden, da keine zuverlässigen Resultate zu erwarten sind¹⁹⁾. Ebenso können andere Erkrankungen wie Mangelernährung, M. Addison, Hypothyroidismus usw. zu falsch-negativen bzw. falsch-positiven Resultaten führen (vgl. Abbildung 4)¹⁾, ¹⁸⁾.

Wir danken allen Spitälern und pädiatrischen Abteilungen, die an dieser Umfrage aktiv teilgenommen haben.

Korrespondenz:

Dr. J. Barben
Leiter Pneumologie/Allergologie
Ostschweizer Kinderspital
9006 St. Gallen
juerg.barben@kispisg.ch

Referenzen

- 1) Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. Am J Resp Crit Care Med 2006; 173: 475–478.
- 2) Rosenstein BJ, Cutting GR, for the Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: A consensus statement. J Pediatrics 1998; 132: 589–595.
- 3) Bush A, Wallis C. Time to think again: Cystic fibrosis is not an «all or none» disease. Pediatr Pulmonol 2000; 30: 139–144.
- 4) De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J et al. Cystic fibrosis: termino-

- logy and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006; 61: 627–635.
- 5) Knowles MR, Durie PR. What is cystic fibrosis? *N Engl J Med* 2002; 347: 439–442.
 - 6) Mackay R, George P, Kirk J. Sweat testing for cystic fibrosis: A review of New Zealand laboratories. *J Paediatr Child Health* 2006; 42: 160–164.
 - 7) Massie J, Clements B, Australian Paediatric Respiratory Group. Diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening: the Australasian experience – twenty years and five million babies later: a consensus statement from the Australasian Paediatric Respiratory Group. *Pediatr Pulmonol* 2005; 39: 440–446.
 - 8) di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics* 1953; 12: 549–563.
 - 9) Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; 23: 545–549.
 - 10) Carter EP, Barrett AD, Heeley AF, Kuzemko JA. Improved sweat test method for the diagnosis of cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1984; 59: 919–922.
 - 11) LeGrys VA. Assessing quality assurance for sweat chloride testing. *Clin Lab Sci* 1992; 5: 354–357.
 - 12) Mastella G, Di Cesare G, Borruso A, Menin L, Zanolla L. Reliability of sweat-testing by the Macroduct collection method combined with conductivity analysis in comparison with the classic Gibson and Cooke technique. *Acta Paediatr* 2000; 89: 933–937.
 - 13) Shwachman H, Dunham R, Philipps WR. Electrical conductivity of sweat. A simple diagnostic test in children. *Pediatrics* 1963; 32: 85–89.
 - 14) Barben J, Ammann RA, Metlagel A, Schöni MH. Conductivity determined by a new sweat analyzer compared with chloride concentrations for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 2005; 146: 183–188.
 - 15) Hammond KB, Nelson L, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994; 124: 255–260.
 - 16) Heeley ME, Woolf DA, Heeley AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2000; 82: 420–424.
 - 17) Cystic Fibrosis Foundation CDC. Update 1. 1993. Bethesda, Cystic Fibrosis Foundation.
 - 18) Beauchamp M, Lands LC. Sweat-testing: A review of current technical requirements. *Pediatr Pulmonol* 2005; 39: 507–511.
 - 19) Green A, Elborn S, Fahie-Wilson MN, Kirk JM, Wallis CE, Weller P. Guidelines for the performance of the sweat test for the investigation of cystic fibrosis in the UK. 2003. www.acb.org.uk.
 - 20) LeGrys VA, Rosenstein BJ, Doumas BT, Miller WG, D'Orazio P, Eckfeldt JH et al. Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis; approved Guideline – 2nd edition. Publication No C34-A2. 2000. Villanova, Pennsylvania, USA, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Ref Type: Report.
 - 21) Eng W, LeGrys VA, Schechter MS, Laughon MM, Barker PM. Sweat-testing in preterm and full-term infants less than 6 weeks of age. *Pediatr Pulmonol* 2006; 40: 64–67.
 - 22) LeGrys VA, Wood RE. Incidence and implications of false-negative sweat reports in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1988; 4: 169–172.
 - 23) Massie J, Gaskin K, Van Asperen P, Wilcken B. Sweat testing following newborn screening for cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000; 29: 452–456.
 - 24) Barben J, Casaulta C, Spinaz R, Schoeni MH, on behalf of the Swiss Working Group for Cystic Fibrosis. Sweat testing practice in Swiss hospitals. *Swiss Med Wkly* 2007; 137 (13/14).
 - 25) LeGrys VA, Burritt MF, Gibson LE, Hammond KB, Kraft K, Rosenstein BJ. Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis; approved guideline. Publication No C34-A2. 1994. Villanova, Pennsylvania, USA, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
 - 26) Webster HL. Instruction manual. Model 3500. Webster sweat collection system. 1979. Wescor Inc. Logan, Utah.
 - 27) Webster HL, Barlow WK. New approach to cystic fibrosis diagnosis by use of an improved sweat-induction/collection system and osmometry. *Clin Chem* 1981; 27: 385–387.
 - 28) Gibson LE, di Sant'Agnese PA. Studies of salt excretion in sweat. *J Pediatr* 1963; 62: 855–867.
 - 29) LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. *J Pediatr* 1996; 129: 892–897.
 - 30) LeGrys VA. Sweat analysis proficiency testing for cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30: 476–480.
 - 31) Farell PM, Kosciak RE. Sweat chloride concentration in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. *Pediatrics* 1996; 97: 524–528.
 - 32) Davis PB, Del Rio S, Muntz JA, Dieckman L. Sweat chloride concentration in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 34–37.
 - 33) Kirk JM, Keston M, McIntosh I, Essa S. Variation of sweat sodium and chloride with age in cystic fibrosis and normal population: further investigations in equivocal cases. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 145–152.
 - 34) Augarten A, Hacham S, Kerem E, Sheva Kerem B, Szeinberg A, Laufer J et al. The significance of sweat Cl/Na ratio in patients with borderline sweat test. *Pediatr Pulmonol* 1995; 20: 369–371.
 - 35) Schöni MH, Kraemer R, Rossi E. Early diagnosis of cystic fibrosis by means of sweat microosmometry. *J Pediatr* 1984; 104: 691–694.
 - 36) Licht TS, Stern M, Shwachman H. Measurement of the electrical conductivity of sweat. *Clin Chem* 1957; 3: 37.
 - 37) Lezana JL, Vargas MH, Karam-Bechara J, Aldana RS, Furuya MEY. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. *J Cystic Fibrosis* 2003; 2: 1–7.
 - 38) Webster HL, Quirante CG. Micro-flowcell conductometric sweat analysis for cystic fibrosis diagnosis. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 399–407.
 - 39) Barben J, Desax MC, Ammann RA, Schöni MH. Limitations of sweat conductivity determinations with Nanoduct analyzing system for rapid sweat testing in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2005; 26: 403s (abstract).
 - 40) Harpin VA, Rutter N. Sweating in preterm infants. *J Pediatr* 1982; 100: 614–618.