

Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik e. V.

AWMF-Leitlinien-Register Nr. 078/005 **Entwicklungsstufe:** 1

Zitierbare Quelle:

medgen 2009 21: 268-275

Molekulargenetische Diagnostik der Cystischen Fibrose

Vorwort

Die Leitlinie zur Molekulargenetischen Diagnostik der Cystischen Fibrose (CF, Mukoviszidose) ergänzt die Leitlinie Molekulargenetische Labordiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik (GfH) und des Berufsverbands Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH) und die auf Europäischer Ebene vorliegenden Konsensuspapiere (Castellani et al., 2008; Dequeker et al., 2008). Die Leitlinie Molekulargenetische Labordiagnostik der GfH und des BVDH ist als Grundlage verpflichtend.

Die jetzt vorliegende Leitlinie ersetzt die zweite Fassung der Leitlinie zur molekulargenetischen Diagnostik der Cystischen Fibrose, die 2006 in medgen 18:56-62 publiziert wurde.

1. Einführung

Die Cystische Fibrose (OMIM-Nr. 219700) ist eine der häufigsten autosomal rezessiv erblichen Erkrankungen in der kaukasischen Bevölkerung mit einer Inzidenz von ca. 1/2500. Angaben zur Inzidenz der CF in verschiedenen Populationen finden sich im Report "The Molecular Genetic Epidemiology of Cystic Fibrosis" auf der website der Weltgesundheitsorganisation (WHO; <http://www.who.int/genomics/publications/en/> externer Link). Die CF ist durch dicken zähflüssigen Schleim in der Lunge charakterisiert, der die ziliäre Clearance behindert und die chronische Besiedlung der Lunge mit Staphylokokken und Pseudomonaden fördert. Das Ausmaß der pulmonalen Erkrankung ist der kritische Faktor, der die Lebenserwartung und -qualität bestimmt. Der Verlust der Lungenfunktion ist die häufigste Todesursache. Bei ca. 85% der Betroffenen liegt eine exokrine Pankreasinsuffizienz (PI) vor, bei ca. 10-20% der Neugeborenen findet sich ein Mekoniumileus. Ein weiteres Charakteristikum der CF ist der veränderte Na+/Cl- Gehalt des Schweißes, was diagnostisch eingesetzt werden kann. Der Median der Überlebenswahrscheinlichkeit der CF-Patienten beträgt derzeit mindestens 36,4 Jahre (Wissenschaftlicher Beirat "Qualitätssicherung Mukoviszidose", 2004).

Neben der typischen cystischen Fibrose mit PI oder Pankreasinsuffizienz (PS) finden sich atypische mildere Formen, die u. a. chronische Sinusitis, Pankreatitis, Nasalpolypen, disseminierte Bronchiektasen und eine congenitale bilaterale Aplasie des Vas deferens (CBAVD) einschließen (Tümmler & Stuhmann, 2003).

Das Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) - Gen (OMIM-Nr. 602421, GenBank accession number NB_000492), das auch als ABCC7-Gen (für ATP-BINDING CASSETTE, SUBFAMILY C, MEMBER 7) bezeichnet wird, liegt auf dem langen Arm von Chromosom 7 (7q31.2). Es besteht aus 27 Exons, wobei die Nummerierung von 1 bis 24 reicht, da die Exons 6b, 14b und 17b erst nachträglich beschrieben wurden. Die genomische Sequenz umfasst ca. 230 kb, die mRNA ist ca. 6,5 kb lang. Weltweit sind bisher über 1600 Mutationen im CFTR-Gen beschrieben (The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium; <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/> externer Link). Beim größten Teil dieser Mutationen handelt es sich um Mutationen mit einer Häufigkeit von <0.1% oder um "private" Mutationen. Ungefähr die Hälfte der Mutationen sind Missense-Mutationen, daneben werden Nonsense-, Frameshift- und Spleiß-Mutationen und Deletionen einzelner Kodons gefunden. Größere Deletionen oder Insertionen werden ebenfalls beobachtet. Einige wenige de novo-Mutationen sind beschrieben, es existieren aber derzeit keine verlässlichen Angaben über deren tatsächliche Häufigkeit. Die Mutationen werden in fünf verschiedene Klassen eingeteilt. Die Klasse 1 umfasst Mutationen, die zu einer massiven Reduktion der Menge an vollständigem und funktionsfähigem CFTR Protein führen, Mutationen der Klasse 2 führen zu einer Reifestörung, Mutationen der Klasse 3 zu einer Blockierung der Kanalöffnung, Mutationen der Klasse 4 zur Störung der Leitfähigkeit des Anionenkanals und Mutationen der Klasse 5 zu einer eingeschränkten Synthese oder einem vorzeitigen Abbau (letztere Mutationen werden zuweilen auch als Mutationen der Klasse 6 bezeichnet). Die Verteilung und Häufigkeit der Mutationen ist populationspezifisch. Die Hauptmutation F508del wird in Abhängigkeit von der ethnischen Zugehörigkeit europaweit bei 22% - 87% der CF-Chromosomen gefunden, bei einigen außereuropäischen Bevölkerungsgruppen ist F508del nur sehr selten vorhanden (WHO-Report). In den meisten europäischen Bevölkerungsgruppen können mit der Untersuchung von 20 bis 30 CFTR-Mutationen (mit einer Frequenz von über 1% in dieser Population) 50% bis 90% der mutierten CFTR-Allele erfasst werden. Die Kenntnis der ethnischen Zugehörigkeit der zu untersuchenden Person ist deshalb Voraussetzung für eine sinnvolle Untersuchung, da nur so die für die jeweilige Population wichtigen Mutationen ausgewählt werden können. So wurden bei deutschen CF-Betroffenen bisher mindestens 97 Mutationen beobachtet, aber nur 14 haben eine Häufigkeit von 0,5% oder mehr, wohingegen bei türkischen CF-Betroffenen bisher mindestens 43 Mutationen identifiziert wurden, von denen 19 eine Häufigkeit von 0,8% oder mehr erreichen (WHO-Report, Tabelle 1).

Tabelle 1: Die häufigsten CFTR-Mutationen bei deutschen und türkischen CF-Patienten. Die Daten sind der Tabelle 2 des WHO-Reports entnommen. Alle Mutationen, die in der jeweiligen Population eine Häufigkeit von ≥1% haben sind fett gedruckt. n.a.= Häufigkeit im Report nicht angegeben. *Im Report als 2181delA bezeichnet, in der Datenbank des Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium als 2184delA aufgeführt (es handelt sich um die Deletion eines A in der polyA-Sequenz von Nukleotid 2178-2184).

Mutation	Exon/Intron	Frequenz (%) bei CF-Patienten aus	
		Deutschland	Türkei
F508del	10	70,2	22,0
N1303K	21	2,5	2,4
G542X	11	2,1	2,9

G551D	11	2,0	n.a.
R553X	11	1,5	n.a.
CFTRdele2,3(21kb)	2-3	1,5	n.a.
R347P	7	1,4	n.a.
1717-1G>A	10	1,2	n.a.
3849+10kbC>T	19	1,1	n.a.
R117H	4	0,9	n.a.
2789+5G>A	14b	0,8	2,0
2143delT	13	0,6	n.a.
2183AA>G	13	0,6	2,9
3272-26A>G	17a	0,5	n.a.
W1282X	20	0,4	0,8
3659delC	19	0,4	n.a.
1078delT	7	0,3	n.a.
R334W	7	0,3	n.a.
I336K	7	0,3	n.a.
Y1092X(C>A)	17b	0,3	n.a.
M1101K	17b	0,3	n.a.
R1162X	19	0,3	n.a.
1342-2A>C	8	0,2	n.a.
I507del	10	0,2	n.a.
394delTT	3	0,15	n.a.
621+1G>T	4	0,15	n.a.
2184insA	13	0,15	n.a.
1677delTA	10	n.a.	4,5
E92K	4	n.a.	2,0
R347H	7	n.a.	1,6
2043delG	13	n.a.	1,6
G85E	3	n.a.	1,2
2181delA*	13	n.a.	1,2
296+9A>T	2	n.a.	0,8
D110H	4	n.a.	0,8
I148T	4	n.a.	0,8
M152V	4	n.a.	0,8
L571S	12	n.a.	0,8
F1052V	17b	n.a.	0,8
R1158X	19	n.a.	0,8

2. Methoden der Mutationssuche

Wegen der großen Anzahl der Mutationen, ihrer populationspezifischen Verteilung und ihrer Frequenz ist eine Stufendiagnostik sinnvoll. Je nach Fragestellung kann die Untersuchung der häufigsten Mutation bzw. der häufigsten Mutationen ausreichend sein. **Es ist zwingend erforderlich, den Umfang der Untersuchung der Fragestellung anzupassen.** Der inzwischen weit verbreitete Einsatz kommerziell erhältlicher Diagnostik-Kits zum simultanen Testen mehrerer Mutationen ist zumeist sinnvoll. Mitunter lässt sich die Fragestellung durch das weniger aufwändige und kostengünstigere Testen einzelner Mutationen beantworten. Es kann aber auch eine zusätzliche weiterführende Testung von solchen Mutationen indiziert sein, welche durch routinemäßig eingesetzte Diagnostik-Verfahren (kommerzielle Kits oder "hausgemachte" Methoden) nicht erfasst werden. Gegebenenfalls kann es notwendig werden, das gesamte Gen zunächst mit Hilfe verschiedener "Scanningmethoden" auf Veränderungen hin zu untersuchen und diese Veränderungen mit Hilfe des direkten Sequenzierens zu charakterisieren, oder ohne Voruntersuchungen mittels "Scanningmethoden" das komplette Gen gleich direkt zu sequenzieren. **Die jeweilige Methode muss vor dem Einsatz in der Diagnostik im Labor validiert, bzw. verifiziert (kommerzielle Kits) werden.**

Unabhängig davon, welche der folgenden Methoden zum gezielten Nachweis oder Ausschluss einer einzelnen Mutation eingesetzt wird, müssen stets positive und negative oder heterozygote Kontrollen in der Analyse mitgeführt werden (Ausnahme: direkte Sequenzierung).

2.1. Heteroduplexanalyse

Die weltweit häufigste CF-verursachende Mutation F508del sowie weitere Deletionen/Insertionen in diesem Bereich, wie z. B. I507del und 1677delTA, können mit Hilfe der Heteroduplexanalyse nachgewiesen werden (Rommens et al., 1990). Mit dieser Methode erhält man eine für jede Deletion charakteristische Heteroduplexbildung. Die Unterscheidung wird mit Hilfe mitgeführter heterozygoter Kontrollen getroffen. Bei allen anderen Auffälligkeiten muss deren Identität durch eine andere Methode (z. B. direktes Sequenzieren) gesichert werden.

2.2. Restriktionsenzymverdau, ACRS

Manche Mutationen führen zur Entstehung oder zum Verlust einer Erkennungssequenz für ein Restriktionsenzym. Die Mutation lässt sich mit einer PCR, einem Restriktionsenzymverdau und einer Agarosegelelektrophorese der entstandenen Spaltprodukte spezifisch nachweisen. Bei Verlust einer Erkennungssequenz muss die Mutation mit einer zusätzlichen Methode bestätigt werden.

Wenn durch die Mutation keine natürliche Erkennungssequenz für ein Restriktionsenzym entstanden oder verloren gegangen ist, kann mit Hilfe

speziell modifizierter Primer ("amplification-created restriction site", ACRS) eine artifizielle Erkennungssequenz eingeführt werden. Hierbei sollte darauf geachtet werden, dass durch die Mutation eine Erkennungssequenz für ein Restriktionsenzym erzeugt wird und nicht verloren geht, da der Verlust einer Erkennungssequenz durch unterschiedliche Mutationen im Bereich der Erkennungssequenz verursacht werden kann.

2.3. Allel-spezifische PCR

Einzelne Mutationen, wie z. B. die in Deutschland relativ häufige Mutation CFTRdele2,3(21kb) lassen sich mittels Allel-spezifischer PCR nachweisen (Dörk et al., 2000).

2.4. Diagnostik-Kits (kommerziell oder "hausgemacht")

Für das gleichzeitige Testen mehrerer Mutationen stehen eine ganze Reihe verschiedener kommerziell erhältlicher Diagnostik-Kits sowie verschiedene "hausgemachte" Methoden zur Verfügung. Anzahl und Umfang der Methoden zum Testen multipler CFTR-Mutationen sind in den letzten Jahren stetig gestiegen. Beim Einsatz kommerzieller Diagnostik-Kits müssen die in den Test-Manuals beschriebenen Fehlermöglichkeiten beachtet werden. Immer dann, wenn eine Mutation nachgewiesen wird, methodisch bedingt aber keine eindeutige Feststellung des jeweiligen Genotyps möglich ist, muss das Ergebnis mit einer anderen Methode oder durch die Untersuchung der Eltern des Probanden (siehe unten) überprüft werden. So kann bei einigen Methoden nicht zwischen Homozygotie und Heterozygotie für eine Mutation unterschieden werden. Weiterhin existieren Mutationen im CFTR-Gen, welche die Bindung eines Wildtyp-spezifischen Oligonukleotids verhindern. So kann z. B. eine F508del/F508C compound-heterozygote Probe homozygot für F508del erscheinen.

2.5. "Scanning"-Methoden

Durch Scanning-Methoden wie *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* (DGGE), *Single Strand Conformational Polymorphism* (SSCP) oder *Denaturing High Performance Liquid Chromatography* (DHPLC) können prinzipiell alle Arten von bekannten und unbekanntem Mutationen und Polymorphismen erkannt werden. Die Sensitivität dieser Methoden hängt jedoch sehr stark von der Erfahrung der Untersucher ab, so dass ihr Einsatz auf Labors mit entsprechend nachgewiesener Expertise beschränkt sein sollte. Eine nachgewiesene Sequenzveränderung muss durch eine weitere Analyse wie z. B. das direkte Sequenzieren charakterisiert werden. Scanning-Verfahren können prinzipiell auch zum gezielten Nachweis einzelner Mutationen eingesetzt werden. In diesem Fall muss die untersuchte Mutation als Positiv-Kontrolle mitgeführt werden.

2.6. Direktes Sequenzieren

Das direkte Sequenzieren aller Exons des CFTR-Gens einschließlich der Exon-Intron-Übergänge weist die höchste Sensitivität auf. Allerdings können auch hierbei heterozygot vorliegende Mutationen übersehen werden, besonders wenn die Auswertung ausschließlich einem automatischen Sequenzanalyseprogramm überlassen wird. Der gezielte Nachweis einzelner Mutationen mittels direkter Sequenzierung eines Abschnittes des CFTR-Gens ist insbesondere dann sinnvoll, wenn sich die gesuchte Mutation oder die gesuchten Mutationen (Exon 11) durch keine einfacheren und kostengünstigeren Methoden sicher darstellen lassen.

Da die direkte Sequenzierung des gesamten CFTR-Gens und auch die anderen oben genannten Methoden auf der PCR genomischer DNA basieren und die Primer in aller Regel die Exons flankieren, können große Insertionen oder Deletionen wie CFTRdele2(ins186) und CFTRdele2,3(21kb) im heterozygoten Zustand oder Intronmutationen wie 3849+10kb(C>T) unerkannt bleiben. Vor einer vollständigen Sequenzierung des CFTR-Gens sollten daher diejenigen Mutationen ausgeschlossen werden, welche mittels der Sequenzierung nicht erkannt werden können und in der Population der Testperson eine Häufigkeit von mindestens 1% haben.

2.7. MLPA

Neben den im vorherigen Kapitel erwähnten häufigeren Insertionen oder Deletionen geht man inzwischen davon aus, dass ca. 1 bis 3% aller CF-Allele von intragenischen Rearrangements (größere Deletionen, weniger häufig größere Insertionen) betroffen sind. Für den Nachweis dieser Rearrangements eignet sich die MLPA-Analyse (Multiplex-Ligation-dependent Probe Amplification). Bei der erweiterten CFTR-Untersuchung ("Komplett-Analyse", d.h. bei einer Untersuchung, bei der nicht nur nach den häufigsten Mutationen gesucht wird, sondern bei der das gesamte CFTR-Gen durch eine "Scanning"-Methode oder direktes Sequenzieren auf Mutationen untersucht wird) sollte daher zusätzlich eine geeignete Methode (z.B. MLPA) zur Identifizierung von größeren Rearrangements eingesetzt werden.

3. "Indirekter Gentest"

Für die Durchführung eines "indirekten Gentests" stehen eine ganze Reihe intra- und extragenischer, CFTR-gekoppelter Marker zur Verfügung. Die größte Informativität wird durch die Untersuchung des Dinukleotidrepeats IVS17bTA (Zielenski et al., 1991) erreicht, doch auch andere Marker haben sich als sehr sinnvoll erwiesen. Die höchste Aussagesicherheit kann erreicht werden, wenn neben den hochinformativen intragenischen Mikrosatelliten auch die flankierenden Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen in die Untersuchung einbezogen werden. Die Richtigkeit der klinischen Diagnose und der angegebenen Stammbauminformation ist für die Durchführung eines indirekten Gentests unverzichtbar. Hierauf muss im Befundbericht hingewiesen werden.

4. Indikationen und Untersuchungsstrategie

4.1. CF-Patient

Die Kenntnis der zugrunde liegenden Mutationen unterstützt die klinische Diagnose und ermöglicht eine zukünftige Pränataldiagnostik sowie die sichere Bestimmung der Überträgerschaft bei weiteren Familienangehörigen.

Es besteht die Möglichkeit einer Stufendiagnostik. Zunächst wird auf die weltweit häufigste Mutation F508del hin untersucht. F508del findet sich z. B. auf etwas mehr als 70% der CF-Chromosomen in der deutschen Bevölkerung. Das bedeutet, dass bei knapp der Hälfte der Betroffenen Homozygotie für F508del vorliegt. Die meisten anderen Betroffenen sind heterozygot für F508del, und nur ca. 9% tragen diese Mutation nicht.

In einem weiteren Schritt werden diejenigen Mutationen untersucht, welche mit einer Häufigkeit von $\geq 1\%$ auf CF-Chromosomen vorkommen (Tab. 1). Hierbei ist das simultane Testen mehrerer Mutationen z. B. mittels eines Diagnostik-Kits sinnvoll. Mit den meisten derzeit erhältlichen kommerziellen Kits lässt sich in der deutschen Population eine Detektionsrate von mehr als 85% erreichen. Eine alternative Strategie besteht im Sequenzieren einzelner Abschnitte des CFTR-Gens in Kombination mit einer vorausgehenden separaten Testung einzelner Mutationen. **Die molekulargenetische Diagnostik bei CF-Patienten sollte auf jeden Fall alle Mutationen erfassen, die in der entsprechenden Population mit einer Häufigkeit von mindestens 1% vorkommen.** Werden z. B. die Mutationen F508del, CFTRdele2,3(21kb) und 3849+10kbC>T einzeln getestet und dann die Exons 7, 11 und 21 sequenziert, so werden hierdurch alle Mutationen mit einer Häufigkeit von mindestens 1% in der deutschen Population erfasst, was einer Detektionsrate von mindestens 84% aller CF-Mutationen entspricht. Hierbei ist darauf zu achten, dass in

bestimmten Regionen der Bundesrepublik häufiger vorkommende Mutationen (z. B. M1101K in Süddeutschland auf 2,1% von 282 untersuchten CF-Chromosomen) bei entsprechender Herkunft in die Untersuchung eingeschlossen werden. In gleicher Weise muss bei der Untersuchung von Patienten aus anderen ethnischen Gruppen verfahren werden (WHO, Bobadilla et al. 2002). Bei Patienten, die aus Populationen stammen, zu denen keine Daten bezüglich Mutationsverteilung und -häufigkeit vorhanden sind, bleibt nur die Möglichkeit, auf die weltweit häufigsten Mutationen hin zu untersuchen. Dies gilt auch für Patienten, deren ethnische Zugehörigkeit nicht bekannt ist.

Labors, in denen nicht alle Mutationen getestet werden können, die in der entsprechenden Population eine Häufigkeit von mindestens 1% haben, sollten gegebenenfalls DNA-Proben an andere Labors zur Fortführung der Diagnostik weiterleiten. DNA-Proben von CF-Patienten, bei denen trotz der Untersuchung aller in Tabelle 1 genannten Mutationen (sowie gegebenenfalls weiterer häufiger Mutationen) keine vollständige Identifizierung des *CFTR*-Genotyps gelang, sollten an ein spezialisiertes Labors weitergegeben werden, wenn im eigenen Labor keine weiterführende Diagnostik möglich ist.

In einem letzten Schritt können mit Hilfe von "Scanning"-Methoden wie SSCP, DGGE oder DHPLC oder auch der Komplett-Sequenzierung Sequenzveränderungen im ganzen *CFTR*-Gen erfasst werden. **Eine komplette Untersuchung des gesamten *CFTR*-Gens ohne vorherige gezielte Suche nach den häufigsten Mutationen (siehe vorherigen Absatz) ist abzulehnen. In Ausnahmefällen (wenn durch die gezielte Mutationsuche nur ein sehr geringer Anteil von mutierten Allelen nachweisbar ist, z.B. aufgrund der ethnischen Herkunft der zu untersuchenden Person) kann gegebenenfalls auf eine vorherige gezielte Mutationsuche verzichtet werden.** Vor der Durchführung einer kompletten Untersuchung muss mit dem Auftraggeber die Indikation hierfür geklärt werden. Es ist zu beachten, dass der Ausschluss einer CF auch bei einer kompletten Untersuchung des *CFTR*-Gens nicht möglich ist, da sich mit den derzeit eingesetzten Untersuchungsverfahren nicht alle *CFTR*-Mutationen (z. B. keine Promotor- oder intronischen Spleißmutationen) nachweisen lassen.

4.2. Eltern eines CF-Patienten

Die Untersuchung der Eltern des eines CF-Patienten kann die beim Patienten nachgewiesenen Mutationen bestätigen. Weiterhin können hierdurch ggf. eine falsche Paternität oder eine Probenverwechslung entdeckt werden, was für eine eventuelle vorgeburtliche Untersuchung in der betroffenen Familie von Bedeutung ist. Bei vermeintlicher Homozygotie des CF-Patienten kann durch die Untersuchung der Eltern eine uniparentale Isodisomie oder eine Hemizygotie entdeckt oder ausgeschlossen werden, und bei vermeintlicher Compound-Heterozygotie die Möglichkeit, dass zwei Mutationen auf einem Allel liegen oder dass eine Neumutation vorliegt. Die Zuordnung der Mutationen zu den Eltern erlaubt bei weiteren Verwandten eine gezielte Untersuchung auf die jeweilige Mutation. **Im Einklang mit den Europäischen Konsensuspapieren (Castellani et al., 2008; Dequeker et al., 2008) sollte daher der Genotyp des Indexpatienten durch eine gezielte Mutationsuche bei dessen Eltern gesichert werden.**

4.3. Verwandte von CF-Patienten

Bei Geschwistern von CF-Patienten mit nachgewiesenen Mutationen ist zur Bestimmung des Überträgerstatus der Nachweis/Ausschluss der familiären Mutation ausreichend. Ist der Genotyp des Indexpatienten nicht völlig aufgeklärt, kann bei klinisch sicherer CF des Indexpatienten mittels eines indirekten Gentests, in den der Indexpatient und dessen Eltern einzubeziehen sind, in aller Regel eine Aussage zur Wahrscheinlichkeit der Anlageträgerschaft des Geschwisters gemacht werden, welche eine Sicherheit von über 99% hat. Bei einer bekannten familiären CF-Mutation kann bei entfernten Verwandten nach Ausschluss dieser Mutation eine weitere Untersuchung der häufigsten Mutationen (Häufigkeit >1%) erwünscht sein. Ziel der molekulargenetischen Untersuchung des *CFTR*-Gens entfernterer Verwandter ist die Senkung der Überträgerwahrscheinlichkeit auf einen Wert, der höchstens dem des in der jeweiligen Population üblichen Werts entspricht. Eine Untersuchung des kompletten *CFTR*-Gens ist hierfür in aller Regel nicht notwendig. Durch die Untersuchung des Partners des Verwandten auf die in der entsprechenden Population häufigste(n) Mutation(en) kann die Wahrscheinlichkeit für eine CF bei gemeinsamen Nachkommen in der Regel stärker gesenkt werden als durch die sehr aufwändige Untersuchung des Verwandten allein.

4.4. Patienten mit der Verdachtsdiagnose CF

Es ist nicht möglich, mittels einer molekulargenetischen Untersuchung die (Verdachts-) Diagnose einer CF bei einem Patienten auszuschließen, es sei denn, bei dem Patienten handelt es sich um das klinisch auffällige Geschwisterkind eines Betroffenen mit bekannten Mutationen im *CFTR*-Gen. Die Untersuchung klinisch nicht auffälliger minderjähriger Geschwister von Betroffenen ist in der Regel nicht indiziert.

Es ist allerdings sinnvoll, bei allen Patienten mit der Verdachtsdiagnose CF durch die Untersuchung der in der jeweiligen Population häufigen Mutationen zu versuchen, die Verdachtsdiagnose zu bestätigen. Häufige Symptome, die zur Verdachtsdiagnose (atypische) CF führen können, sind Auffälligkeiten eines Feten im pränatalen Ultraschall (echogener Darm oder Mekoniumileus), ein Mekoniumileus oder andere gastrointestinale Symptome bei Neugeborenen, Nasalpolypen im Kindesalter, disseminierte Bronchiektasen, chronische Pankreatitis, grenzwertige Schweißteste etc. Bei diesen Symptomen können häufig Mutationen im *CFTR*-Gen als Krankheitsursache nachgewiesen werden, es findet sich jedoch ein anderes Mutationsspektrum als bei der typischen CF. Bei Identifizierung nur einer oder keiner Mutation kann die Diagnose einer CF nicht ausgeschlossen werden. Ausgehend von der klinischen Verdachtsdiagnose kann anhand des Ergebnisses der molekulargenetischen Untersuchung allerdings eine deutliche Präzisierung der posterioren Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer CF erfolgen. Die Abbildung 1 ermöglicht die Abschätzung der posterioren Wahrscheinlichkeit unter der Voraussetzung, dass die Häufigkeit der untersuchten Mutationen in der jeweiligen Population bekannt ist.

Bei einer eventuellen kompletten Untersuchung des *CFTR*-Gens bei Patienten mit der Verdachtsdiagnose CF ist analog der in den entsprechenden Absätzen in den Abschnitten 2.6 und 2.7 aufgeführten Vorgehensweise zu verfahren.

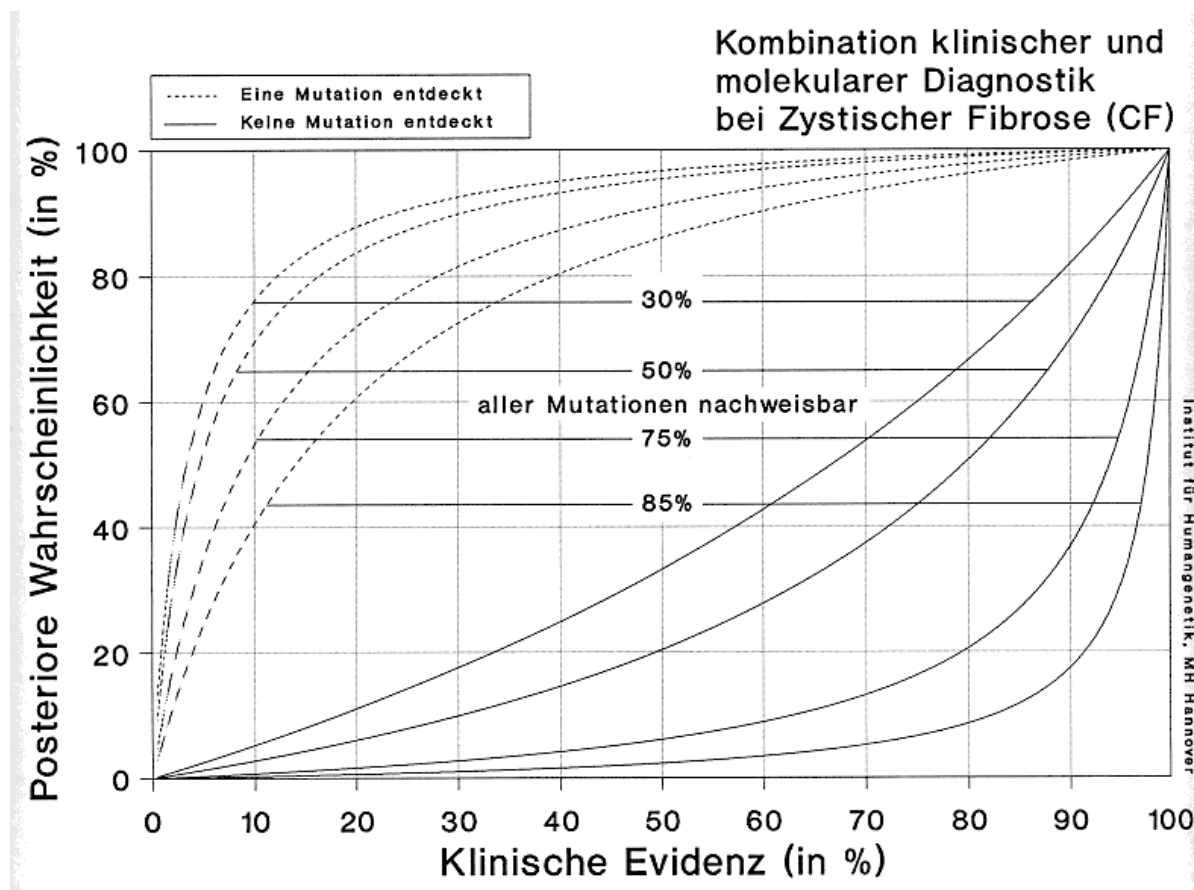


Abbildung 1: Kombination klinischer und molekularer Diagnostik bei CF. Die Graphik basiert auf der Anwendung des Bayes-Theorems. Sie ermöglicht die Abschätzung der posterioren Wahrscheinlichkeit für eine CF bei gegebener klinischer Evidenz für eine CF (apriori-Wahrscheinlichkeit) unter Berücksichtigung der Ergebnisse der molekularen Diagnostik (Aus Stuhmann et al., 1995; mit freundlicher Genehmigung des Springer-Verlages).

4.5. Allgemeine Population

Der Ausschluss der in der jeweiligen Population häufigsten Mutationen kann je nach Herkunft der untersuchten Person zu einer Reduzierung der Anlageträgerwahrscheinlichkeit auf 2% bis unter 1% führen (in der deutschen Population auf ca. 0,4%). Die Untersuchung einer Person ohne familiäre Belastung mit einer CF ist indiziert, wenn der jeweilige Partner nachgewiesener oder möglicher Überträger der CF oder hiervon betroffen ist. Ansonsten sei hier auf die Stellungnahmen des Berufsverbandes Medizinische Genetik (1990) und der Kommission für Öffentlichkeitsarbeit und ethische Fragen der Gesellschaft für Humangenetik (1991) zum "CF-Heterozygotenscreening" verwiesen, in denen insbesondere auf die Notwendigkeit der Sicherstellung einer genetischen Beratung verwiesen wird.

4.6. Congenitale bilaterale Aplasie der Samenleiter (CBAVD)

In den meisten Fällen liegen einer CBAVD ohne gleichzeitige Nierenbeteiligung (CBAVD mit Nierenbeteiligung stellt wohl ein von Mutationen im CFTR-Gen unabhängiges Krankheitsbild dar) Mutationen im CFTR-Gen zugrunde, wobei sich das Spektrum der Mutationen deutlich von dem der typischen CF unterscheidet (Doerk et al., 1997). Da die Möglichkeit der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) besteht, ist es sinnvoll, im Hinblick auf eine eventuelle Pränataldiagnostik beide Partner auf Mutationen im CFTR-Gen zu untersuchen. In Deutschland finden sich am häufigsten die Genotypen F508del/R117H (ca. 21,5% aller untersuchten CBAVD-Patienten ohne Nierenbeteiligung) und F508del/IVS8-5T (ca. 8,6% aller untersuchten CBAVD-Patienten ohne Nierenbeteiligung), so dass bei Betroffenen einer CBAVD die beiden Mutationen R117H und IVS8-5T auf jeden Fall in die Untersuchung einbezogen werden sollten. Hierbei ist zu beachten, dass R117H und IVS8-5T in cis vorkommen können. R117H-5T gilt als CF-Mutation, während R117H-7T sowohl bei CF-Patienten, als auch bei CBAVD-Patienten vorkommt (Kiesewetter et al., 1993). Deshalb sollte bei Patienten, bei denen R117H und 5T nachgewiesen wurde, stets untersucht werden, ob diese beiden Sequenzveränderungen *in cis* oder *in trans* sind. Darüber hinaus ist zu beachten, dass die Bestimmung der Repeatlänge des TG-Polymorphismus im Intron 8 eine Einschätzung der klinischen Relevanz der 5 T-Variante ermöglicht. Das Risiko für eine atypische CF ist erhöht, wenn das 5T-Allel in Kombination mit TG12 bzw. TG13 in Compound-Heterozygotie mit einer typischen CF-Mutation vorliegt (Groman et al., 2004). **Im Falle eines 5T-Allels sollte daher eine Bestimmung des TG-Repeats erfolgen.**

Auch bei Untersuchung der beiden Genveränderungen R117H und 5T sowie aller in Tabelle 1 genannten Mutationen lassen sich nur bei ca. 56 % der CFTR-Allele von CBAVD-Patienten ohne Nierenbeteiligung Mutationen nachweisen, wohingegen sich mittels Analyse des kompletten CFTR-Gens Mutationen bei ca. 87% der Allele von CBAVD-Patienten ohne Nierenbeteiligung finden (Dörk et al., 1997). Darüber hinaus finden sich gehäuft (allerdings deutlich weniger als bei der CBAVD) auch bei Betroffenen einer einseitigen Aplasie der Samenleiter (CUAVD) und bei Betroffenen einer obstruktiven Azoospermie mit beidseitig tastbaren Samenleitern Mutationen im CFTR-Gen. Es ist allerdings sehr fraglich, ob sich auch bei Männern mit einer nicht-obstruktiven Azoospermie oder Oligozoospermie gehäuft krankheitsrelevante Mutationen im CFTR-Gen finden (siehe auch Castellani et al., 2008 und Dequeker et al., 2008). Die Indikation für eine CFTR-Untersuchung ist in den letztgenannten Fällen männlicher Infertilität üblicherweise nicht gegeben. Zur Vorgehensweise bei männlicher Infertilität sei auf die Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin zur genetischen Diagnostik bei Kinderwunschpaaren (Ludwig et al., 2004) verwiesen.

4.7. Pränataldiagnostik

Die Indikation zur Durchführung einer Pränataldiagnostik kann eine bekannte Heterozygotie beider Partner, die Homozygotie für CF der Schwangeren oder des Partners oder ein beim Feten festgestellter echogener Darm sein.

Sind bei der Schwangeren und deren Partner die *CFTR*-Mutationen bekannt, so ist eine sichere Pränataldiagnostik möglich. Ist eine oder sind beide Mutationen bei den Eltern eines klinisch sicheren CF-Patienten nicht bekannt, so kann eine Kopplungsanalyse zur indirekten Gendiagnostik (siehe 3.) erfolgen. Bei Feten mit echogenem Darm sollte auf die in der Population häufigsten Mutationen untersucht werden.

Immer dann, wenn der fetale und der maternale Genotyp identisch sind, muss eine Untersuchung bezüglich maternaler Zellkontamination erfolgen (näheres siehe Leitlinie zur molekulargenetischen Diagnostik).

5. Nomenklatur

Prinzipiell sollte die Nomenklatur der Mutationen im *CFTR*-Gen sich an den inzwischen allgemein akzeptierten Nomenklaturvorschlägen orientieren (den Dunnen & Antonarakis, 2001, und darin enthaltenen Referenzen). Viele Mutationen im *CFTR*-Gen sind allerdings schon lange vor den Publikationen der Nomenklaturvorschläge identifiziert worden, so dass die traditionelle Bezeichnung vieler *CFTR*-Mutationen von den jetzigen Nomenklaturvorschlägen abweicht. Es ist daher zweckmäßig, in der Regel die Nomenklatur des *Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium* zu verwenden, da diese am weitesten verbreitet ist (siehe auch Dequeker et al., 2008). Um Fehlinterpretationen vorzubeugen, sollte im Befund darauf verwiesen werden, nach welcher Nomenklatur sich die Bezeichnung der Mutationen richtet. Es sei noch darauf hingewiesen, dass die Bezeichnungen F508del und I507del die alten Bezeichnungen Δ F508 und Δ I507 weitgehend ersetzt haben.

6. Relevanz nachgewiesener Sequenzveränderungen

Das große Spektrum der klinischen Ausprägung der CF suggeriert, dass manche Mutationen "schwerwiegend" (*severe*) und andere "milder" (*mild*) sind. Es sollte beachtet werden, dass Mutationen, die mit erhaltener Pankreasfunktion (PS) einhergehen, nicht notwendigerweise "mild" sind. Patienten mit schwerwiegenden respiratorischen Symptomen können PS sein.

Weiterhin kann die komplette Untersuchung des *CFTR*-Gens zur Identifizierung von Sequenzveränderungen mit unklarer Bedeutung führen. Eine Mutation kann als krankheitsverursachend bezeichnet werden

- wenn die Proteinsynthese beeinflusst wird (Stopp-Mutation oder Leserasterverschiebung als Folge einer Insertion oder Deletion), wenn sie das korrekte Herausschneiden der Intronsequenzen beeinflusst (Veränderung der konservierten Spleißerkennungsstellen),
- wenn sie nur auf CF-Chromosomen gefunden wurde, keine andere Mutation identifiziert werden konnte und eine bekannte Mutation auf dem anderen Allel vorliegt.

Für jede Sequenzveränderung, die im Befund aufgeführt wird, muss deren klinische Bedeutung eindeutig erläutert werden. Umfangreiche Erläuterungen zur klinischen Relevanz finden sich insbesondere bei Castellani et al., 2008 (z.B. Tabelle 3), aber auch bei Dequeker et al., 2008. Weitere Informationen zu möglichen phenotypischen Auswirkungen von *CFTR*-Mutationen finden sich auch in der Datenbank des Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortiums. Findet man für seltene Mutationen keine oder nur wenig Information, muss gegebenenfalls darauf hingewiesen werden, dass keine sichere Aussage über die klinische Bedeutung gemacht werden kann.

7. Wissenschaftlich begründete humangenetische Beurteilung molekulargenetischer Befunde

Die Befunderstellung einer molekulargenetischen Postnatal- und Pränataldiagnostik bedarf einer wissenschaftlich begründeten humangenetischen Beurteilung. Sie sollte eine an der diagnostischen Fragestellung des Einzelfalls orientierte Interpretation des Befundes und eine Stellungnahme zu seiner klinischen Bedeutung enthalten.

7.1 Die schriftliche humangenetische Beurteilung eines molekulargenetischen Befundes sollte auch für Ärzte ohne humangenetisches Spezialwissen verständlich sein. Der Befund selbst und die Schlussfolgerungen müssen klar hervorgehoben sein und die diagnostische Fragestellung muss beantwortet werden. Gegebenenfalls muss im Befundbericht auf die genetische Beratung und ihre Bedeutung im Hinblick auf die Konsequenzen des erhobenen Befundes für den Untersuchten und dessen Familie hingewiesen werden.

7.2 Im Einzelnen sollte die schriftliche humangenetische Beurteilung eines molekulargenetischen Befundes Folgendes enthalten:

- Seitenzahl und Gesamtseitenzahl (z. B. 1 von 2);
- Name und Adresse des untersuchenden Labors sowie Name des verantwortlichen Laborleiters;
- Name und Adresse des anfordernden Arztes, der Klinik, des Instituts etc.;
- Befunddatum;
- Name und Geburtsdatum der untersuchten Person, gegebenenfalls deren ethnische Zugehörigkeit (wegen der eventuellen Bedeutung für die Wahrscheinlichkeit eines Mutationsausschlusses, wenn keine Mutation gefunden wird), Labornummer oder Aktenzeichen zur eindeutigen Identifizierung der untersuchten Person bzw. Probe;
- Art des eingesandten Untersuchungsmaterials (z.B. EDTA-Blut, Amnionzellen, Chorionzotten etc.);
- Entnahmedatum wenn bekannt;
- Eingangsdatum;
- Angabe der Diagnose oder Verdachtsdiagnose (Mukoviszidose, V.a. Mukoviszidose) und der Indikation (CF in der Familie) bzw. diagnostischen Fragestellung (zum Ausschluss Heterozygotenstatus);
- Kennzeichnung auswärtig erhobener Vorbefunde mit Angabe des entsprechenden Labors;
- angewandte Methode(n) und Untersuchungsumfang (Benennung der untersuchten Mutationen, Detektionsrate unter Berücksichtigung der Ethnizität);
- kurze und eindeutige Angabe des Untersuchungsergebnisses als Genotyp in der international gültigen Nomenklatur (... heterozygot für die typische CF-Mutation F508del; ... keine der häufigeren CF-verursachenden Mutationen nachgewiesen);
- Angabe von Polymorphismen nur dann, wenn dies zur Erfüllung des Untersuchungsauftrags erforderlich ist oder wenn zur Abklärung des Befundes nach dem Stand der Wissenschaft auch die Untersuchung verwandter Personen erforderlich war;

- an der diagnostischen Fragestellung des Einzelfalls orientierte Interpretation des Befundes und eine Stellungnahme zur klinischen Bedeutung des Befundes (Bestätigung der (Verdachts-) Diagnose; ... hat eine Wahrscheinlichkeit von ...%, heterozygoter Träger einer mit der angewandten Methode nicht nachweisbaren Mutation im CFTR-Gen zu sein, ... können ...% der in der Bevölkerung vorliegenden mutierten CFTR-Allele ausgeschlossen werden...);
- ggf. Empfehlung zu weiteren Untersuchungen oder Untersuchungen von Familienangehörigen oder des Partners;
- Unterschrift der verantwortlichen Person/en.

Internetadressen

WHO-Report;

<http://www.who.int/genomics/publications/en/> externer Link

The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium;

<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/> externer Link

Referenzen:

- Berufsverband Medizinische Genetik e. V. (1990) Stellungnahme zu einem möglichen Heterozygoten-Screening bei zystischer Fibrose. Med. Genet. 2: 6
- Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP, Farrell PM (2002) Cystic fibrosis: A worldwide analysis of CFTR mutations - correlation with incidence data and application to screening. Hum. Mutat. 19: 575-606
- Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS (2008) Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. J. Cyst. Fibros. 7: 179-196
- den Dunnen JT, Antonarakis SE: Nomenclature for the description of human sequence variations. Hum Genet 109(1):121-124, 2001.
- 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 (2008) Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders - updated European recommendations. Eur. J. Hum. Genet. Advance online publication. 6 August 2008
- Deutsche Gesellschaft für Humangenetik (GfH) und Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH) (2007) Molekulargenetische Labordiagnostik. Medgen 19: 460-462
- Dörk T, Dworniczak B, Aulehla-Scholz C, Wieczorek D, Böhm I, Mayerova A, Seydewitz HH, Nieschlag E, Meschede D, Horst J, Pander HJ, Sperling H, Rajten F, Passarge E, Schmidke J, Stuhmann M (1997) Distinct spectrum of CFTR gene mutations in congenital absence of vas deferens. Hum. Genet. 100: 365-377
- Dörk T und 75 Ko-Autoren (2000) Characterization of a novel 21-kb deletion, CFTRdelt2,3(21kb), in the CFTR gene: a cystic fibrosis mutation of slavic origin common in Central and East Europe. Hum. Genet. 106: 259-268
- Groman JD, Hefferon TW, Casals T, Bassas B, Estivill X, DesGeorges M, Guitard C, Koudova M, Daniele Fallin M, Nemeth K, Fekete G, Kadasi L, Friedman K, Schwarz M, Bombieri C, Pignatti PF, Kanavakis E, Tzetis M, Schwartz M, Novelli G, D'Apice MR, Sobczynska-Tomaszewska A, Bal J, Stuhmann M, Macek M Jr, Claustres M, Cutting GR (2004) Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign. Am J Hum Genet 74:176-179
- Ludwig M, Gromoll J, Hehr U, Wieacker P (2004) Empfehlungen zur genetischen Diagnostik bei Kinderwunschpaaren. Stellungnahme der Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsgenetik der Deutschen Gesellschaft für Reproduktionsmedizin. J Reproduktionsmed Endokrinol 1:190-193, zitiert in medgen 16: 434-437 (2004)
- Kiesewetter S, Macek M Jr, Davis C, Curristin SM, Chu CS, Graham C, Shrimpton AE, Cashman SM, Tsui LC, Mickle J, Amos J, Highsmith WE, Shuber A, Witt DR, Crystal RG, Cutting GR (1993) A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. Nature Genet. 5: 274-278
- Kommission für Öffentlichkeitsarbeit und ethische Fragen der Gesellschaft für Humangenetik e. V. (1991) Stellungnahme zum Heterozygoten-Bevölkerungsscreening. Med. Genet. 3: 11
- Rommens JM, Kerem BS, Greer W, Chang P, Tsui LC, Ray P (1990) Rapid non-radioactive detection of the major cystic fibrosis mutation. Am. J. Hum. Genet. 46: 395-396
- Stuhmann M, Krawczak M, Schmidke J (1995) Möglichkeiten und Grenzen der molekulargenetischen Diagnostik der Mukoviszidose. Monatsschr. Kinderh. 143: 835-838
- Tümmler B, Stuhmann M (2003) Molekulargenetische Grundlagen der zystischen Fibrose. Internist (Suppl. 1) 44:S7-S15
- Wissenschaftlicher Beirat "Qualitätssicherung Mukoviszidose" (2004) Qualitätssicherung Mukoviszidose - Übersicht über den Gesundheitszustand der Patienten 2003, Herausgeber Stern M, Sens B, Wiedemann B, Busse O, Damm G, Wenzlaff P, in Kooperation mit dem Mukoviszidose e.V.; Zentrum für Qualitätsmanagement im Gesundheitswesen, Hannover
- Zielenski J, Markiewicz D, Rininsland F, Rommens J, Tsui LC (1991) A cluster of highly polymorphic dinucleotide repeats in intron 17b of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. Am. J. Hum. Genet. 49: 1256-1262

Verfahren zur Konsensbildung:

Die Aktualisierung der vorangegangenen Version dieser Leitlinie erfolgte durch die ursprünglichen Verfasser:

Prof. Dr. med. Manfred Stuhmann-Spangenberg, Hannover, Dr. rer. nat. Christa Aulehla-Scholz, Stuttgart, Prof. Dr. rer. nat. Bernd Dworniczak, Münster, Prof. Dr. rer. nat. Jochen Reiss, Göttingen.

Die Erstellung der Vorversion der Leitlinie erfolgte unter Beteiligung folgender Institutionen und Personen:

Der Leitlinienentwurf wurde von den deutschen Teilnehmern des CF-Ringversuchs 2004 einstimmig angenommen. Die Verfasser bedanken sich bei Dr. Nadja Bogdanova Markov, Münster, Prof. Peter Steinbach, Ulm, Dr. Ingrid Bauer, Rostock, Birgit Neitzel, München, Dr. Sibylle Jakubiczka, Magdeburg und Dr. Gabriele Wildhardt, Ingelheim, für Anregungen und Hinweise.

Verabschiedung der aktualisierten Version durch:

Deutsche Gesellschaft für Humangenetik (GfH)

Vorsitzender

Prof. Dr. André Reis, Institut für Humangenetik, Universität Erlangen

Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH)

Präsident

Dr. Bernt Schulze, Hannover

Leitlinien-Kommission der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

Prof. Dr. Manfred Stuhmann-Spangenberg, Hannover (Sprecher), PD. Dr. Thomas Liehr, Jena, PD Dr. Barbara Fritz, Marburg (Delegierte des BVDH), Dr. Dieter Gläser, Neu-Ulm (Delegierter des BVDH)

Anschrift der Verfasser

Prof. Dr. med. Manfred Stuhmann-Spangenberg

Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

Carl-Neuberg-Str.1

30625 Hannover

Tel. 0511-532 3719

Fax 0511-532 5865

Dr. rer. nat. Christa Aulehla-Scholz

Institut für Klinische Genetik, Olga-Hospital
Bismarckstr. 3
71176 Stuttgart
Tel. 0711-992-4008
Fax 0711-992-4000 Prof. Dr. rer. nat. Bernd Dworniczak
Institut für Humangenetik
Universität Münster
Vesaliusweg 12-14
48149 Münster
Tel. 0251-83-56990
FAX 0251-83-55431

Prof. Dr. rer. nat. Jochen Reiss
Institut für Humangenetik
Universität Göttingen
Heinrich-Düker-Weg 12
37073 Göttingen
Tel. 0551-39 12926
FAX 0551-39 9303

Erstellungsdatum: September 1997
Veröffentlicht: medgen 9 (1997) 553-559

1. Überarbeitung: 2006 durch Prof. Dr. med. Manfred Stuhmann-Spangenberg, Hannover, Dr. rer. nat. Christa Aulehla-Scholz, Stuttgart, Prof. Dr. rer. nat. Bernd Dworniczak, Münster, Prof. Dr. rer. nat. Jochen Reiss, Göttingen.

2. Überarbeitung: 10.2.2009 durch Prof. Dr. med. Manfred Stuhmann-Spangenberg, Hannover, Dr. rer. nat. Christa Aulehla-Scholz, Stuttgart, Prof. Dr. rer. nat. Bernd Dworniczak, Münster, Prof. Dr. rer. nat. Jochen Reiss, Göttingen.

Verabschiedung: 11.2.2009 durch den Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

Erstellungsdatum:

12/1997

Letzte Überarbeitung:

02/2009

Nächste Überprüfung geplant:

03/2014

Die "Leitlinien" der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften sind systematisch entwickelte Hilfen für Ärzte zur Entscheidungsfindung in spezifischen Situationen. Sie beruhen auf aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen und in der Praxis bewährten Verfahren und sorgen für mehr Sicherheit in der Medizin, sollen aber auch ökonomische Aspekte berücksichtigen. Die "Leitlinien" sind für Ärzte rechtlich nicht bindend und haben daher weder haftungsbegründende noch haftungsbefreiende Wirkung.

Die AWMF erfasst und publiziert die Leitlinien der Fachgesellschaften mit größtmöglicher Sorgfalt - dennoch kann die AWMF für die Richtigkeit des Inhalts keine Verantwortung übernehmen. **Insbesondere für Dosierungsangaben sind stets die Angaben der Hersteller zu beachten!**

Stand der letzten Aktualisierung: 02/2009
© Deutsche Gesellschaft für Humangenetik
Autorisiert für elektronische Publikation: [AWMF online](#)
HTML-Code aktualisiert: 09.09.2011; 15:42:49