

Оценка эффективности нового алгоритма неонатального скрининга на муковисцидоз в Московской области

Кондратьева Е. И.¹, Шерман В. Д.², Киян Т. А.¹, Фатхуллина И. Р.¹, Цуркин Г. В.¹, Калиненко С. Г.³

¹ Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области, Большая Серпуховская, 62, г. Москва, 115093, Россия

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова» ул. Москворечье дом 1, г. Москва, 115522, Россия

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» (ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского) ул. Щепкина 61/2, корпус 1. г. Москва, 129110, Россия

Резюме

Для переписки:

Киян
Татьяна Анатольевна
e-mail:
bogdanovatata87
@gmail.com

Актуальность: во всем мире происходит совершенствование протоколов неонатального скрининга с целью сокращения сроков диагностики, упрощения процедуры обследования, уменьшения числа ложноположительных и ложноотрицательных результатов неонатального скрининга. В большинстве европейских стран алгоритм неонатального скрининга включает молекулярно-генетическое тестирование.

Цель: оценить эффективность нового алгоритма протокола неонатального скрининга на муковисцидоз, в котором на первом этапе из одного сухого пятна крови определяется уровень ИРТ и проводится ДНК-диагностика (36 наиболее частых мутаций) у пациентов с повышенным ИРТ. Сравнить экономические затраты на проведение скрининга по двум алгоритмам (действующему и альтернативному).

Материалы и методы: неонатальный скрининг с использованием двух параллельных алгоритмов был проведен 56534 младенцам Московской области с марта по ноябрь 2022 года. Использовался действующий трехэтапный алгоритм, предусматривающий повторное взятие крови у новорожденных из группы риска через 3–4 недели после первого забора крови и проведение потовой пробы. В новом алгоритме новорожденным с повышенным уровнем ИРТ1 на 1 неделе жизни проводилось молекулярно-генетическое

исследование (поиск частых мутаций в гене *CFTR* – 36 вариантов, секвенирование отдельных локусов гена *CFTR* с целью контроля) в том же сухом пятне крови, использовавшемся для скрининга. Для уточнения диагноза на 2 этапе ДНК-диагностики использовался метод секвенирования гена *CFTR*.

Результаты: Из полученных 56534 тест-бланков из Московской области в лаборатории при проведении неонатального скрининга выявлено 607 (1,07%) новорожденных с положительным тестом ИРТ, из них отобран 501 (82,5%) образец, где уровень ИРТ1 превышал уровень cut-off (65 нг/мл), которые были направлены для молекулярно-генетического исследования с целью поиска патогенных вариантов в гене *CFTR*. Не завершили обследование 106 (17,5%) новорожденных. Положительные результаты подтверждающей диагностики получены у 6 младенцев, что составило 0,01% от числа детей, подвергшихся скринингу и 1,2% от числа детей с неонатальной гипертрипсиногенемией.

Заключение: положительные эффекты нового алгоритма заключаются в снижении психологической напряженности в семьях при обследовании за счет сокращения сроков постановки диагноза, отсутствия необходимости в повторном взятии крови на 21–28 день жизни, сокращении сроков постановки диагноза, профилактики ранних жизнеугрожающих осложнений (синдром

EDN: FEDVOK



псевдо-Барттера), нутритивной недостаточности в раннем возрасте, сокращении числа детей с незавершенным обследованием на муковисцидоз, в экономической выгоде. Негативные эффекты нового алгоритма заключаются в возможном пропуске пациента

с муковисцидозом, у которого не будет выявлено ни одного из частых патогенных вариантов в гене *CFTR* при проведении анализа в генетических лабораториях, не имеющих опыт работы с биологическим материалом пациентов с муковисцидозом.

Ключевые слова: новорожденные, неонатальный скрининг, муковисцидоз, иммунореактивный трипсин (ИРТ), ген *CFTR* (трансмембранный регуляторный белок муковисцидоза), ДНК- диагностика.

Assessment of the effectiveness of a new neonatal screening algorithm for cystic fibrosis

E. I. Kondratyeva¹, V. D. Sherman², T. A. Kyian¹, I. R. Fatkhullina¹, G. V. Tsurkin¹, S. G. Kalinenkova³

¹ Research Clinical Institute of Childhood of the Moscow Region, 62, Bolshaya Serpukhovskaya, 115093, Moscow, Russian Federation

² Research Centre for Medical Genetics, 1 Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation.

³ Moscow Regional Research Clinical Institute named after M. F. Vladimirsky, 61/2 build. 1, Shchepkina st., Moscow, 129110, Russian Federation

Summary

Relevance All over the world, neonatal screening protocols are being improved in order to reduce the time of diagnosis, simplify the examination procedure, and reduce the number of false positive and false negative results of neonatal screening. In most European countries, the best neonatal screening algorithm is molecular genetic testing.

Objective: Evaluate the effectiveness of the new cystic fibrosis screening protocol algorithm, which, in the first step, determines the immunoreactive trypsin (IRT) level from one dry spot and performs DNA diagnostics (36 most frequent mutations) in patients with increased IRT. Compare the economic costs of screening by two algorithms (existing and alternative).

Materials and methods: two parallel algorithms were used for neonatal screening. Which was performed on 56,534 infants in the Moscow Region from March to November 2022. The current three-stage algorithm was used, which involves re-blood

sampling from newborns at risk 3–4 weeks after the first blood sampling and a sweat test. In the new algorithm, newborns with an elevated IRT 1 level at the 1st week of life underwent a molecular genetic study (search for frequent mutations in the *CFTR*-36 variants gene, sequencing of individual locus of the *CFTR* gene for control purposes) in the same dry blood spot used for screening.

Results: out of 56,534 test forms received, 607 (1.07%) newborns with a positive test for IRT were identified for neonatal screening in a laboratory from the Moscow region, of which 501 (82.5%) samples were selected, where the level of RTI1 exceeded the cut-off level (65 ng / ml), which were sent for molecular genetic research in order to search for pathogenic variants in the *CFTR* gene. 106 (17.5%) newborns did not complete the examination. Positive results of confirmatory diagnosis were obtained in 6 infants, which accounted for 0.01% of the number of children who underwent

Corresponding author:

Tatiana A. Kyian

e-mail:

bogdanovatata87@gmail.com

screening and 1.2% of the number of children with neonatal hypertrypsinogenemia.

Conclusion: the positive effects of the new algorithm are to reduce psychological tension in families during examination by reducing the time of diagnosis, no need for repeated blood sampling on the 21st-28th day of life, reduction of the time of diagnosis, prevention of nutritional

deficiencies in children during the first months of life and life-threatening complications. Reducing the number of children with incomplete testing for cystic fibrosis, economic benefit. The negative effects of the new algorithm are that it is possible to miss a patient with cystic fibrosis who does not have any of the common pathogenic variants in the CFTR gene.

Keywords: newborns, neonatal screening, cystic fibrosis, immunoreactive trypsin (IRT), gene CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), DNA diagnostics

Введение

С 01.01.2023 в Российской Федерации изменен протокол неонатального скрининга на наследственные заболевания. Список тестируемых болезней расширен до 36 наименований, включающих фенилкетонурию, врожденный гипотиреоз, адреногенитальный синдром, муковисцидоз, галактоземию, спинальную мышечную атрофию (СМА), первичные иммунодефициты (ПИД) и группу наследственных болезней обмена веществ, изменены сроки взятия образцов крови у новорожденных. Неонатальный скрининг на муковисцидоз (МВ) проводится в РФ с 2006–2007 года. Выявление МВ у детей первых месяцев жизни является основной целью программы неонатального скрининга, поскольку позволяет после комплексной оценки состояния ребенка, назначить адекватную базисную терапию с целью профилактики прогрессирования необратимых изменений легочной ткани, предотвратить или отсрочить развитие жизнеугрожающих состояний. Однако для существующей модели скрининга характерны: трехэтапность алгоритма, предусматривающая повторное взятие крови у новорожденных из группы риска через 3–4 недели после первого забора крови, дополнительный визит для проведения потовой пробы, в том числе

повторно, большое количество ложноположительных результатов после первого и второго определения иммунореактивного трипсина (ИРТ), ложноотрицательные результаты на этапе определения ИРТ (4,9–7,1% в РФ), проведения потовых проб, в том числе с учетом специфики мутаций гена CFTR [1,7]. Семьи испытывают психологический стресс ожидания между определением ИРТ1 и ИРТ2 (ретест). Отмечается неполный охват новорожденных потовым тестом за счет потери пациентов на 2–3 этапах, в том числе из-за отказа родителей от дальнейшего обследования.

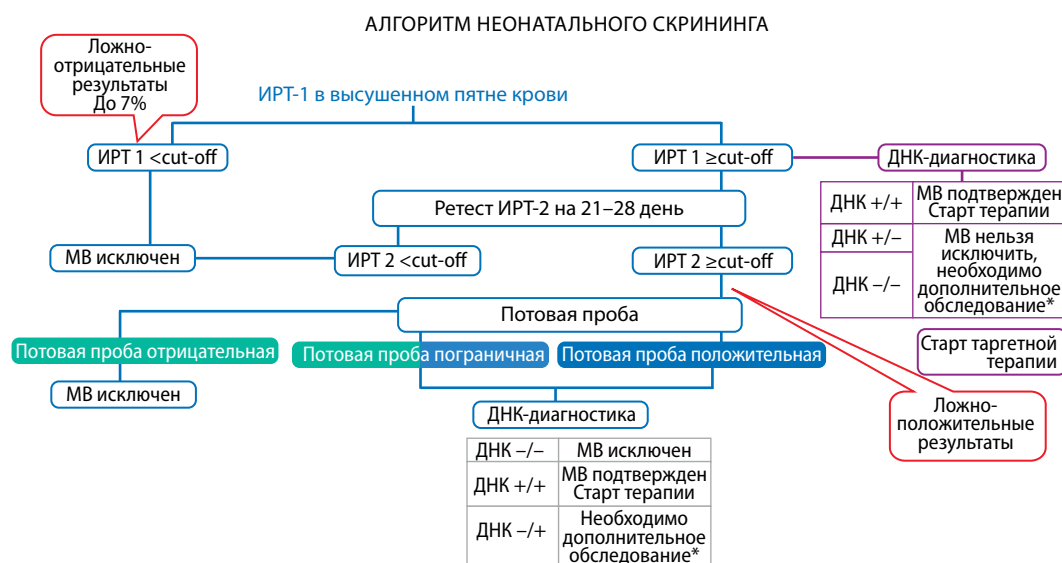
Во всем мире происходит усовершенствование протоколов неонатального скрининга с целью сокращения сроков диагностики, упрощения процедуры обследования, уменьшения числа ложноположительных и ложноотрицательных результатов неонатального скрининга, в большинстве европейских стран алгоритм неонатального скрининга включает молекулярно-генетическое тестирование [2–4].

Цель исследования: оценить эффективность нового алгоритма протокола скрининга на муковисцидоз у детей Московской области (МО). Сравнить экономические затраты на проведение скрининга по двум алгоритмам (действующему и альтернативному).

Материалы и методы

Неонатальный скрининг с использованием двух параллельных алгоритмов был проведен 56534 младенцам Московской области с марта по ноябрь 2022 года. Использовался

действующий алгоритм неонатального скрининга на муковисцидоз: ИРТ1 (первая неделя жизни)-ИРТ2 (ретест на 21–28 дней в случае повышения первого ИРТ) – потовая проба

**Рисунок 1.**

Два параллельных алгоритма: один – согласно действующему протоколу, второй – с проведением генетического исследования при обнаружении превышения ИРТ 1

(для исключения или подтверждения диагноза Муковисцидоз). И новый алгоритм, в котором новорожденным с повышенным уровнем ИРТ1 на первой неделе жизни проводилось молекулярно-генетическое исследование, что включало поиск частых мутаций в гене CFTR-36 вариантов и секвенирование отдельных локусов гена CFTR – с целью контроля. Генетическое исследование проводилось в том же сухом пятне крови, использовавшемся для скрининга. Для ДНК-диагностики отбирались образцы, в которых на первом этапе, согласно действующему протоколу неонатального скрининга, обнаружено превышение нормального уровня ИРТ1 (рис. 1).

Определение уровня иммунореактивного трипсиногена в крови новорожденных проводилось в медико-генетическом центре ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского» методом лантанидного иммунофлуоресцентного анализа с разрешением по времени на тест-системах «AutoDelfia Neonatal IRT» (Wallac Oy, Финляндия). Для проведения анализа использовался сандвич высокоспецифичных моноклональных антител против двух различных участков на молекуле ИРТ. Исследования выполнялись на полуавтоматизированном анализаторе AutoDelfia (Wallac Oy, Финляндия). Наборы позволяют определять содержание ИРТ в сухом пятне крови диаметром 3,2 мм, диапазон анализируемых концентраций

от 16–480 нг/мл. Допускается коэффициент вариации результатов измерения концентрации ИРТ не более 15%. Интерпретация полученных при скрининге значений ИРТ проводится с учетом рекомендаций фирмы-производителя тест-наборов. Для детей в возрасте до 21 дня нормальными считаются значения ИРТ до 65 нг/мл в крови. Пороговый уровень для ретеста равен 40 нг/мл.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось ООО «ГеноТехнология», выигравшей конкурс на проведение исследования. Геномную ДНК из пятен крови на фильтрах выделяли с помощью Набора реагентов для выделения ДНК из клинических образцов М-сорб (Синтол, Россия) с использованием станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот Auto-Pure96 (Allsheng, Китай). Концентрацию полученной ДНК измеряли и использовали 30 нг как матрицу для двухстадийной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, ограничивающими участки гена CFTR. ПЦР проводили по программе 95°C – 5 мин, затем 30 циклов 95°C – 15с; 52°C – 30с; 72°C – 45с.

Полученные фрагменты анализировали с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле. Для этого смешивали 7 мкл реакционной смеси, полученной после ПЦР, и 2 мкл буфера для нанесения на электрофорез. И 9 мкл пробы вносили в лунки 2%

агарозного геля, дополнительно в отдельную лунку вносили 2–5 мкл (0,5–1 мкг) маркера молекулярных масс ДНК (диапазона длин 100–1000 п.н.). Электрофорез проводили при напряжении 10–15 вольт/см длины геля в течение 30 минут. Результаты электрофореза просматривали в ультрафиолетовом свете при длине волны 254 нм. Полученные фрагменты очищали из ПЦР-смеси набором Cleanup Standard (Евроген, Россия) и секвенировали методом Сэнгера. Анализ результатов секвенирования проводили с использованием программы VectorNTI Advance 10.3.0, в качестве референс-последовательности был взят ген человека CFTR (NG_016465). Всего анализировали 27 участков гена, которые могут содержать частые клинические значимые мутации.

Секвенирование гена *CFTR* одному пациенту без определенного генотипа в лаборатории ООО «ГеноТехнология», проводили методом NGS согласно алгоритму в лаборатории ДНК-диагностики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова» (ФГБНУ «МГНЦ»). Информация о генотипе по гену *CFTR* пациентов РФ взята из базы данных научно – клинического отдела ФГБНУ «МГНЦ» и регистров. Секвенирование экзона проводилось на секвенаторе нового поколения IlluminaNextSeq500 методом парно-концевого чтения (2x75п.о.). Для пробоподготовки была использована методика селективного захвата участков ДНК, относящихся к кодирующим областям более 20000 генов (набор IlluminaTruSeq® ExomeKit). Обработка данных секвенирования проведена с использованием стандартного автоматизированного алгоритма, предлагаемого ThermoFisher Scientific (Torrent Suite™), а также программного обеспечения NGSDData.

Для названия выявленных вариантов использовалась номенклатура, представленная на сайте <http://varnomen.hgvs.org/recommendations/DNA20.05> [1, 5, 12]. Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки проектов «1000 геномов» и Genome Aggregation Database (gnomAD v.2.1.1). Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов

использованы база данных OMIM, база данных по патогенным вариантам HGMD® Professional версия 2021.1, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и литературные данные.

Оценивали варианты гена *CFTR* согласно Национальному консенсусу «Муковисцидоз, определение, диагностические критерии, терапия» [12], данным вебсайтов: базы МГНЦ по генетике [<http://seqdb.med-gen.ru/>], базы CFTR1 [<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>], Базы CFTR2 [<https://cftr2.org/>], Exome Aggregation Consortium [<http://exac.broadinstitute.org/>], Genome Aggregation Database [<http://gnomad.broadinstitute.org/>], Exome Variant Server [<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>], 1000 Genomes Project [<http://browser.1000genomes.org/index.html>], dbSNP [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>], dbVar [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/>], OMIM [<http://www.omim.org/>], Human Gene Mutation Database [<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/in-dex.php>], Clin Var [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clin-var/>], Human Genome Variation Society [<http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html>], DECIPHER [<https://decipher.sanger.ac.uk>] [1, 5, 12, 13].

Потовый тест проводился методом определения проводимости пота с помощью системы для сбора и анализа пота «Нанодакт» (Вескор, США) на базе отделения муковисцидоза ГБУЗ МО «НИКИ детства МЗ МО». Данная система для сбора и анализа пота разработана специально для обследования новорожденных. Время проведения пробы около 30–40 минут. Для получения результата достаточно нескольких микролитров. Проба может быть проведена ребенку с весом более 2 кг и в возрасте 48 часов жизни. Норма при определении проводимости <50 ммоль/л NaCl, пограничный результат 50–79 ммоль/л, положительный результат ≥80 ммоль/л NaCl.

Цена на потовую пробу с учётом расходовных материалов брались из прейскуранта Научно-исследовательского клинического института детства Министерства здравоохранения Московской области, и составила – 6500 рублей (<https://nikid.ru/patients/paid-services/>). Цена на молекулярно-генетическое исследование 9900 рублей (<https://med-gen.ru/meditsinskie-uslugi/>).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы IBM SPSS Statistics 26. Непараметрическим методом для независимых выборок рассчитывалась за с помощью критерия Пирсона (χ^2) и точного критерия Фишера (двухсторонний) при значениях 1–5, с поправкой

Йейтса при значениях 5–9. Для оценки рисков использовали показатель OR – «отношение шансов», при его доверительном интервале 95% (CI) и значении $p < 0,05$. Для описания выборки использовался критерий среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD).

Результаты и обсуждения

В Московской области с марта по ноябрь 2022 года число тест-бланков, переданных в лабораторию для проведения неонатального скрининга, составило 56534. Количество новорожденных с положительным тестом на ИРТ 1 в МО составило 607 (1,07%) из них отобран 501 (82,5%) образец, где уровень ИРТ 1 превышал уровень cut-off (65 нг/мл), которые были направлены для молекулярно-генетического исследования с целью поиска патогенных вариантов в гене *CFTR*. Не завершили обследование 106 (17,5%) новорожденных. Положительные результаты подтверждающей диагностики получены у 6 младенцев, что составило 0,01% от числа детей, подвергшихся скринингу и 1,2% от числа детей с неонатальной гипертрипсиногенемией (табл. 1).

Положительные результаты подтверждающей диагностики получены у 6 младенцев, из них 5 детям был установлен диагноз с помощью молекулярно-генетического теста сразу после проведения ИРТ1, и одному ребенку дополнительно проводилось секвенирование для уточнения диагноза.

Результаты молекулярно-генетического исследования показали, что 2 варианта нуклеотидной последовательности гена *CFTR* были выявлены у 5 детей из 6, диагноз которым был установлен параллельно по результатам потовой пробы согласно действующему алгоритму.

У одного ребенка с повышенным уровнем ИРТ 1, положительными результатами двух потовых тестов и клиническими проявлениями (кашель с 1 месяца, обострения бронхита ежемесячно на фоне ОРИ, кишечный синдром в виде стеатореи), при молекулярно-генетическом исследовании на частые патогенные варианты в гене *CFTR*, а также методом секвенирования не было выявлено патогенных вариантов, согласно результатам ООО «ГеноТехнология» (табл. 2). Пациенту проведено повторное секвенирование методом NGS в ФГБНУ «МГНЦ». (табл. 2). У пациента было найдено 2 варианта нуклеотидной последовательности гена *CFTR*: F508del/2143delT, которые относятся к частым вариантам нуклеотидной последовательности, и их определение является рутинной практикой. По аллельной частоте первый вариант (F508del) находится на первом месте (аллельная частота – 52,61%), а второй вариант (2143delT) – на шестом месте (аллельная частота – 2,02%), согласно данным регистра муковисцидоза от 2020 года (https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf) [5]. Оба варианта входят в панели для частых мутаций лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» согласно клиническим рекомендациям и национальному консенсусу с 2016 года [1].

Генетическое исследование детей Московской области показало, что 5 (83,0%)

Этапы скрининга	n (%)
Количество обследованных новорожденных	56534 (100,0%)
Число новорожденных с положительным ИРТ1	607 (1,07%)
Незавершенные ретесты	106 (17,5%)
Число новорожденных с положительным ИРТ2	501 (82,5%)
Ложноположительные результаты после ИРТ 2	495 (98,8%)
Положительные результаты – диагноз МВ	6 (1,2%)

Таблица 1.

Результаты неонатального скрининга за март-ноябрь 2022 г.

Таблица 2.
Характеристика детей с установленным диагнозом муковисцидоз в МО
Примечание:
* ребенок, которому было проведено дополнительное генетическое исследование в ФГБНУ «МГНЦ»

№	пол	ИРТ, нг/мл	ИРТ2, нг/мл	Потовый тест, ммоль/л	Генотип	Диагноз
1	м	509	378	107	F508del/F508del	МВ
2	м	386	340	112	F508del/F508del	МВ
3	ж	166	96,7	117	F508del/F508del	МВ
4	м	153	194	113	F508del/F508del	МВ
5	ж	210	–	125	F508del/2143delT	МВ*
6	ж	292	–	118	F508del/F508del	МВ

детей с МВ были гомозиготы по генотипу F508del/F508del, который встречался достоверно чаще по отношению к 1 (17,0%) пациенту с компауд-гетерозиготным вариантом F508del/2143delT (OR = 25; 95%CI (1,2–520,76)).

Чувствительность скрининга, рассчитываемая как отношение числа пациентов с подтвержденным диагнозом с положительным результатом НС к сумме пациентов с МВ с положительным и ложноотрицательным результатом НС (6/6) составила 100%, если бы исследование было выполнено в лаборатории, обладающей необходимыми компетенциями. При проведении данного исследования, учитывая, что один пациент был пропущен при проведении ДНК диагностики, чувствительность скрининга составила всего 83%.

С учетом сотрудничества с лабораторией ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ», у которой имеется опыт работы в области поиска вариантов гена *CFTR* и наличие собственной базы данных мутаций при проведении секвенирования, была рассчитана средняя стоимость проведения неонатального скрининга с использованием действующего алгоритма неонатального скрининга на муковисцидоз и нового алгоритма и определена экономическая и временная выгода нового

алгоритма неонатального скрининга на 1 пациента (табл. 3). Средняя арифметическая величина времени от получения результата ИРТ2 до проведения потовой пробы была рассчитана по данным амбулаторных карт 45 детей Московской области с выявленным муковисцидозом по неонатальному скринингу с 2019 по 2022 год и составила 24,7±10,7 дня, а медиана этого периода – 14 [3–159].

Согласно данным таблицы 3, действующий алгоритм неонатального скрининга занимает от 37,7–66,4 дней для подтверждения диагноза, средняя стоимость исследования составляет 14 200 рублей, а с учетом молекулярно-генетического исследования – 24100 рублей для 1-го пациента. Время нового алгоритма в среднем составит 16–31 дней, а средняя стоимость в 2,4 раза дешевле, по сравнению с действующим алгоритмом.

При оценке временного показателя, с учетом использования действующего алгоритма, выявлено, что в период ожидания до постановки диагноза МВ психологический стресс испытывало 500 семей на протяжении одного-двух месяцев, что составило 0,9% от 56534 детей Московской области. При новом алгоритме 6 семей (0,011% от 56534 соответственно) испытывало психологический стресс в течение одного месяца&

Таблица 3.
Сравнительная экономическая и временная характеристика нового и действующего алгоритмов неонатального скрининга на одного новорожденного.

Время проведения исследований (дни)	Действующий алгоритм	Новый алгоритм	Время проведения исследований (дни)
2–3 день жизни	ИРТ 1 +		2–3 день жизни
21–28 день жизни	ИРТ 2 +	ДНК – диагностика (9900 руб.)	14–28 день
24.7±10.7 дня	Потовая проба (6500 руб.)	–	–
Итого: 37,7–66,4	Итого: 14200 руб.	Итого: 9900 руб.	Итого: 16–31 день
21 день	ДНК (9900 руб.)	–	–
Итого: 58,7–87,4	Итого: 24100 руб.	Итого: 9900 руб.	Итого: 16–31 день

Обсуждение

Результаты исследования показали несомненную эффективность нового алгоритма неонатального скрининга при условии проведения исследований в молекулярно-генетической лаборатории, имеющей опыт работы по ДНК диагностике муковисцидоза. Показано, что диагноз может быть установлен значительно раньше и с меньшим финансовым и психологическим стрессом для семей с ребенком, имеющим ложноположительный результат неонатального скрининга.

Ранее, в 2019 году было показано, что число новорожденных с положительным тестом на ИРТ в 50 регионах РФ составило 9138 человек, то есть 0,9% от числа обследованных. Из них – 1388 новорожденных (0,1%) имели положительный результат ретеста на 21–28 день жизни и были направлены на потовую пробу [6]. Все это сопровождалось длительным ожиданием и психологическим стрессом в 1388 семьях.

Учитывая тот факт, что результат одного пациента не был получен сразу после проведения диагностики в ООО «ГеноТехнология», а после проведения дополнительного

молекулярно-генетического исследования в ФГБНУ «МГНЦ» и результат оказался частым вариантом нуклеотидной последовательности гена *CFTR* согласно Регистру пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации 2020 года, были сделаны выводы о необходимости проведения молекулярно-генетических исследований для скрининга в лабораториях, в которых имеется опыт работы по поиску вариантов нуклеотидной последовательности гена *CFTR*, а также при наличии собственной базы данных мутаций при проведении секвенирования и специалистов, владеющих навыками проведения биоанализа, полученных сиквенсов. Невыполнение этого требования снижает специфичность и чувствительность нового алгоритма неонатального скрининга.

Рекомендовано внедрять новый алгоритм неонатального скрининга, так как при его использовании реализуется возможность выполнять одновременно определение ИРТ и молекулярно-генетическое исследование в пятнах крови новорожденных.

Заключение

1. Положительные эффекты нового алгоритма заключаются в снижении психологической напряженности в семьях за счет сокращения сроков постановки диагноза, отсутствия необходимости в повторном взятии крови на 21–28 день жизни, дополнительных затрат на посещение медико-генетических центров.
2. Экономическая выгода для государства и для семьи, по сравнению с действующим алгоритмом заключается в сокращении сроков постановки диагноза, сокращении числа детей с незавершенным обследованием на МВ (выявление 2 генетических вариантов в гене *CFTR*)
3. Ранняя диагностика является профилактикой ранних жизнеугрожающих осложнений (синдром псевдо-Барттера), нутритивной недостаточности в раннем возрасте.
4. Негативные эффекты нового алгоритма в том, что можно «пропустить» пациента с МВ, у которого не будет выявлено ни одного из частых патогенных вариантов в гене *CFTR*. Рекомендовано проведение молекулярно-генетических исследований для скрининга в лабораториях с опытом работы по поиску вариантов нуклеотидной последовательности гена *CFTR*, и наличие собственной базы данных вариантов нуклеотидной последовательности.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е. И. Кондратьева – оценка, структурирование материала, обсуждение рукописи и техническое сопровождение, подготовки публикации, окончательная проверка.

В. Д. Шерман – оценка, структурирование материала, обсуждение рукописи и техническое сопровождение.

Т. А. Киян – написание и обсуждения материала, интерпретация результатов исследования.

И. Р. Фатхуллина – обзор литературы, написание материала.

Г. В. Цуркин – обзор литературы.

С. Г. Калиненко – проведение неонатального скрининга, подбор пятен с положительным ИРТ, обработка и описание полученных тест-бланков новорожденных Московской области, оценка результатов неонатального скрининга.

AUTHORS CONTRIBUTION

E. I. Kondratyeva – concept and design of the study, evaluation, structuring of the material, manuscript discussion and technical support, publication preparation, final revision.

V. D. Sherman – evaluation, structuring of the material, manuscript discussion and technical support.

T. A. Kyian – writing and discussion of the material, interpretation of the study results.

I. R. Fatkhullina – literature review, writing of the material.

G. V. Tsurkin – literature review.

S. G. Kalinenkova – conducting neonatal screening, selection of spots with positive IRT, processing and description of the obtained test blanks of newborns of the Moscow region, evaluation of the results of neonatal screening.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Финансирование данной работы выполнена в рамках НИР № 122012400392–4 «Разработка стратегии молекулярно-генетического тестирования в новом алгоритме неонатального скрининга на муковисцидоз. Опыт внедрения на примере Московской области».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

FUNDING

This work was funded within the framework of research work № 122012400392–4 “Development of molecular genetic testing strategy in the new algorithm of neonatal screening for cystic fibrosis. Implementation experience on the example of the Moscow region”.

CONFLICT OF INTEREST.

The authors did not declare any conflicts of interest.

All authors approved the final version of the article before publication, agreed to be responsible for all aspects of the work, implying proper review and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

Кондратьева Елена Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра наследственных заболеваний легких, заместитель директора по научной работе; заведующий научно-клиническим отделом муковисцидоза

Шерман Виктория Давидовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза

Киян Татьяна Анатольевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела наследственных и метаболических заболеваний

Фатхуллина Ирина Ринатовна, врач-педиатр отделения муковисцидоза, научный сотрудник отдела наследственных и метаболических заболеваний

Цуркин Георгий Васильевич, врач-педиатр отделения муковисцидоза

Калиненко Светлана Георгиевна, кандидат медицинских наук, врач-лабораторный генетик, заведующая медико-генетической лабораторией

Elena I. Kondratyeva, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Center for Hereditary Lung Diseases, Deputy Director for Scientific Work; *Scopus Author ID: 35196167800, ORCID: 0000-0001-6395-0407*

Victoria D. Sherman, Ph.D., leading researcher of the scientific and clinical department of cystic fibrosis; *ORCID: 0000-0003-2206-1528*

Tatiana A. Kyian, Ph.D., senior researcher of the department of hereditary and metabolic diseases; *Scopus Author ID: 57205414678; ORCID: 0000-0001-8281-1162*

Irina R. Fatkhullina, pediatrician of cystic fibrosis department, researcher of the department of hereditary and metabolic diseases; *Scopus Author ID: 7929055500, ORCID: 0000-0001-8005-5121*

Georgiy V. Tsurkin, pediatrician of cystic fibrosis department, researcher of the department of hereditary and metabolic diseases; *ORCID: 0009-0000-0087-8268*

Svetlana G. Kalinenkova, Ph.D., laboratory geneticist, Head of Medical Genetic Laboratory; *Scopus Author ID: 57195365457, ORCID: 0000-0003-3611-2365*

Литература | References

- [Clinical guidelines for cystic fibrosis (cystic fibrosis)]. ID:372. 2021. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/372_2 Accessed 05.05.2023 (in Russ.)
Клинические рекомендации по кистозному фиброзу (муковисцидозу) 2021 г. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/372_2
- Castellani C., Duff A. J. A., Bell S. C. et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. *J Cyst Fibros*. 2018 Mar;17(2):153–178. doi: 10.1016/j.jcf.2018.02.006.
- Fabie N. A. V., Pappas K. B., Feldman G. L. The Current State of Newborn Screening in the United States. *Pediatr Clin North Am*. 2019 Apr;66(2):369–386. doi: 10.1016/j.pcl.2018.12.007.
- Rajabi F. Updates in Newborn Screening. *Pediatr Ann*. 2018 May 1;47(5): e187–e190. doi: 10.3928/19382359-20180426-01.
- [Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation]. 2020. Available at: https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf. Accessed 05.05.2023 (in Russ.)
Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2020 год. https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf.
- Sherman V. D., Kondratyeva E. I., Voronkova A. Y., Kashirskaya N. Y., Shabalova L. A., Nikonova V. S., Zhekaite E. K., Kutsev S. I. Influence of neonatal screening for cystic fibrosis by the example of patients of the moscow region. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2017;(18):124–128. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2017-18-124-128.
- Шерман В. Д., Кондратьева Е. И., Воронкова А. Ю., Каширская Н. Ю., Шабалова Л. А., Никонова В. С., Жекайте Е. К., Куцев С. И. Влияние неонатального скрининга на течение муковисцидоза на примере группы пациентов московского региона. *Медицинский Совет*. 2017; (18):124–128. doi: 10.21518/2079-701X-2017-18-124-128.
- Voronin S. V., Kutsev S. I. Neonatal screening for hereditary diseases in Russia: yesterday, today, and tomorrow. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obucheniye = Neonatology: News, Opinions, Training*. 2022; 10 (4): 34–9. (in Russ.) doi: 10.33029/2308-2402-2022-10-4-34-39.
- Воронин С. В., Куцев С. И. Неонатальный скрининг на наследственные заболевания в России: вчера, сегодня, завтра // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2022. Т. 10, № 4. С. 34–39. doi: 10.33029/2308-2402-2022-10-4-34-39.
- Friedman J. M., Cornel M. C., Goldenberg A. J., Lister K. J., Sénécal K., Vears D. F.; Global Alliance for Genomics and Health Regulatory and Ethics Working Group Paediatric Task Team. Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations. *BMC Med Genomics*. 2017 Feb 21;10(1):9. doi: 10.1186/s12920-017-0247-4.
- Esquerda M., Palau F., Lorenzo D., Cambra F. J., Bofarull M., Cusi V., Interdisciplinar En Bioetica G. Ethical questions concerning newborn genetic screening. *Clin Genet*. 2021 Jan;99(1):93–98. doi: 10.1111/cge.13828.

10. Travert G., Heeley M., Heeley A. History of Newborn Screening for Cystic Fibrosis-The Early Years. *Int J Neonatal Screen.* 2020 Jan 31;6(1):8. doi: 10.3390/ijns6010008.
11. Barben J., Castellani C., Dankert-Roelse J. et al. The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros.* 2017 Mar;16(2):207–213. doi: 10.1016/j.jcf.2016.12.012.
12. [National consensus (2nd edition) “Cystic fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy” 2018]. / Edd by E. I. Kondratieva, N. Yu. Kashirskaya, N. I. Kapranova. Moscow. LLC “Company BORGES” Publ., 2018, 356 p. (in Russ.)
Национальный консенсус (2-е издание) «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» 2018/ Под редакцией Е. И. Кондратьевой, Н. Ю. Каширской, Н. И. Капранова – М.: ООО «Компания БОРГЕС», 2018, 356 с.
13. Kondrat'eva E.I., Kashirskaya N. Yu., Roslavtseva E. A. A review of the national consensus «Cystic fibrosis: determination, diagnostic criteria, therapy» for dietitians and gastroenterologists. *Vopr. det. dietol. (Pediatric Nutrition).* 2018; 16(1): 58–74. (In Russ.)
Кондратьева Е. И., Каширская Н. Ю., Рославцева Е. А. Обзор национального консенсуса «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» для диетологов и гастроэнтерологов. Вопросы детской диетологии. 2018; 16(1): 58–74.