



# Оптимизация неонатального скрининга муковисцидоза в региональных условиях

М.Ю. Донников, В.В. Мещеряков

БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский государственный университет»; Россия, г. Сургут

**Цель исследования:** совершенствование неонатального скрининга муковисцидоза (НС МВ) путем применения плавающего порогового уровня (ППУ) иммунореактивного трипсиногена (ИРТ) и сравнение его эффективности с таковой использования фиксированного порогового уровня (ФПУ) ИРТ в региональных условиях ХМАО-Югры.

**Дизайн:** сплошное ретроспективно-проспективное когортное исследование.

**Материалы и методы.** В исследование на этапе оценки эффективности НС МВ и определения ППУ ИРТ включались данные НС МВ всех новорожденных детей на территории ХМАО-Югры с 2006 по 2017 г. (ретроспективная часть) и результаты НС МВ за 2018 г. (проверочный этап исследования, проспективная часть). ППУ ИРТ рассчитывали с помощью авторского программного обеспечения floating Level of IRT (fLIRT). Осуществлен сравнительный анализ стандартного (ФПУ ИРТ) и авторского (ППУ ИРТ) подходов по результатам НС в 2018 г.

**Результаты.** Среднегодовалая частота МВ в ХМАО-Югры (2006–2017), по данным НС, составила 1 случай на 9207 новорожденных. Внедрение авторской программы fLIRT по расчету ППУ ИРТ в 2018 г. в сравнении с использованием ФПУ позволило уменьшить число ложноположительных результатов с 1,61% до 0,41% без появления ложноотрицательных и сократить тем самым количество ретестов. Всего в 2018 г. МВ впервые диагностирован у 3 детей, причем у всех этих новорожденных результат НС МВ расценен как положительный и при стандартном подходе, и при оценке показателя ИРТ-1 методом ППУ. Чувствительность теста, по данным 2018 г., при использовании обоих методов оценки результатов НС МВ (ФПУ и ППУ) составила 100%, специфичность при использовании ФПУ — 98,4%, ППУ — 99,6%.

**Заключение.** Внедрение авторской программы расчета ППУ оптимизировало НС МВ. Использование данной компьютерной программы максимально упрощает задачу гибкой статистической обработки данных. Визуализация совокупности данных на гистограмме позволяет провести наглядный контроль результатов, параллельная цифровка результатов — аккумулировать доступную базу данных для обращений и более подробных расчетов, необходимых по каким-либо причинам в перспективе.

**Ключевые слова:** муковисцидоз, неонатальный скрининг, оптимизация, иммунореактивный трипсиноген, плавающий пороговый уровень.

**Вклад авторов:** Донников М.Ю. — обзор литературы по теме публикации, сбор первичного материала, его статистическая обработка и интерпретация; Мещеряков В.В. — определение темы исследования, разработка дизайна, интерпретация результатов.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

**Для цитирования:** Донников М.Ю., Мещеряков В.В. Оптимизация неонатального скрининга муковисцидоза в региональных условиях. Доктор.Ру. 2019; 9(164): 6–12. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-164-9-6-12



# Optimization of Regional Newborn Screening for Cystic Fibrosis

M.Yu. Donnikov, V.V. Meshcheryakov

Surgut State University; 1 Lenin Prospect, Surgut, Russian Federation 628412

**Study Objective:** To improve newborn screening (NBS) for cystic fibrosis (CF) by using floating cut-off values for immunoreactive trypsinogen (IRT), and compare their effectiveness with that of fixed IRT cut-off values, in the Khanty-Mansiysk Autonomous District–Yugra regional setting.

**Study Design:** This was a general-population cohort study with retrospective and prospective parts.

**Materials and Methods:** The retrospective part of the study was designed to assess the effectiveness of CF NBS and determine floating IRT cut-off values. In this phase, data obtained from CF NBS of all newborns in the Khanty-Mansiysk Autonomous District–Yugra between 2006 and 2017 were studied. The prospective part was a verification step based on CF NBS data collected in 2018. The floating IRT cut-off values were calculated using proprietary software (Floating Level of IRT [fLIRT]). CF NBS data collected in 2018 were used to compare the standard (fixed IRT cut-off values) and proprietary (floating IRT cut-off values) techniques.

**Study Results:** The long-term annual average prevalence of cystic fibrosis (CF) (2006–2017) in the Khanty-Mansiysk Autonomous District–Yugra was one instance per 9,207 newborns, as shown by newborn screening data. The implementation in 2018 of the proprietary fLIRT technique for determining floating IRT cut-off values reduced the rate of false-positive results (from 1.61% to 0.41%), compared with the rate when fixed cut-off values are used. This was not accompanied by an appearance of false-negative results, and thus resulted in lower rates of retesting. In 2018 an initial diagnosis of CF was made in three children, all of whom had positive CF NBS results obtained by both the standard technique and by assessment of IRT-1 levels using floating cut-off values. Based on the 2018 data, both techniques (fixed and floating cut-off values) for assessing the results of CF NBS showed 100% sensitivity. The specificity of fixed cut-off values was 98.4%, and that of floating cut-off values was 99.6%.

**Conclusion:** Implementation of the proprietary technique for determining floating IRT cut-off values optimized CF NBS. This software facilitates flexible statistical analysis to the greatest extent possible. Visual presentation of the complete dataset on a histogram allows convenient review of the results, while simultaneous conversion of the data into digital format helps create an easily accessible database for future queries and more detailed calculations, which may be required for various reasons later on.

**Keywords:** cystic fibrosis, newborn screening, optimization, immunoreactive trypsinogen, floating cut-off values.

**Contribution:** Donnikov, M.Yu. reviewed relevant publications and was responsible for the collection, statistical analysis and interpretation of the primary data. Meshcheryakov, V.V. selected the research topic, designed the study, and interpreted the results.

**Conflict of interest:** The authors declare that they do not have any conflict of interests.

**For citation:** Donnikov M.Yu., Meshcheryakov V.V. Optimization of Regional Neonatal Screening for Cystic Fibrosis. Doctor.Ru. 2019; 9(164): 6–12. (in Russian) DOI: 10.31550/1727-2378-2019-164-9-6-12

Донников Максим Юрьевич — научный сотрудник научно-образовательного центра Медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет». 628412, Россия, г. Сургут, пр. Ленина, д. 1. eLIBRARY.RU SPIN: 9273-3121. E-mail: donnikov@gmail.com (Окончание на с. 7.)

Основными задачами неонатального скрининга муковисцидоза (НС МВ) являются раннее выявление детей с этим наследственным заболеванием, до развития клинической картины и сокращение (в перспективе) распространенности МВ в популяции. Доказаны очевидные преимущества ранней диагностики МВ на доклиническом этапе, такие как улучшение показателей выживаемости [1], физического и когнитивного развития [2], функции дыхательной системы [3], снижение психологической нагрузки в семье пробанда в процессе диагностического поиска.

За последние 30 лет НС МВ прошел три фазы развития:

- 1) определение уровня иммунореактивного трипсиногена (ИРТ) в 1970-х гг.;
- 2) оценка его применимости в качестве биомаркера в ряде клинических исследований в начале 1980-х гг.;
- 3) внедрение и распространение измерения его содержания в программах НС в системах здравоохранения развитых стран (1980–1990-е гг.) [4, 5].

В России НС МВ был начат в ряде регионов с июня 2006 г. в качестве пилотного проекта, а с января 2007 г. является обязательным во всех регионах в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ № 185 от 22.03.2006 г. «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания».

При этом сохраняется необходимость совершенствования подходов к оценке результатов НС МВ, поскольку концентрация ИРТ в крови новорожденных весьма динамична. Считается, что даже у здоровых детей в первые три дня после рождения она может повышаться до 58 нг/мл, затем снижаться, на 4-й день вновь повышаться, снижаться на 5-й день, и еще раз увеличиваться к 8-му дню [6]. Возможные причины таких скачков — недоношенность и неонатальный стресс [7].

Кроме того, показано, что факторы внешней среды могут значительно влиять на уровень ИРТ в исследуемых образцах: так, он снижался на 40% в течение недели при хранении сухих пятен крови на бланках НС при температуре 27 °C и влажности 80% [8]. Загрязнение сухих пятен крови фекалиями новорожденного ведет к ложноположительному результату [9]. Считается, что повышенная температура (особенно в летние месяцы) способствует снижению активной концентрации исследуемого аналита в пятнах крови [9]. Данное обстоятельство для территории ХМАО-Югры играет весомую роль вследствие сложной логистики доставки в центральную генетическую лабораторию образцов крови из отдаленных территорий округа.

Подобная индивидуальная вариабельность сильно осложняет определение корректных референсных интервалов, необходимых для выявления МВ. Более того, тип питания (грудное/искусственное вскармливание) и этническая гетерогенность исследуемой популяции (популяционная вариабельность) также вносят свой вклад в размытость референсных интервалов при их оценке [10, 11]. О проблеме ложноположительных результатов измерения содержания ИРТ говорится и в Национальном консенсусе «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» [12].

В ранее представленном нами исследовании, анализировавшем результаты НС МВ в ХМАО-Югры за период 2006–2014 гг., выявлено наличие большого количества

ложноположительных результатов тестирования ИРТ-1 [13] и обоснована по этой причине необходимость уточнения региональных референсных показателей ИРТ. Пороговое значение биомаркера является верхней точкой так называемого референсного интервала, который представляет собой интервал значений, куда входят данные пациентов с характеристиками, аналогичными подобным у участников референс-группы [14].

В практической работе многие лаборатории используют референсные интервалы, опубликованные другими исследователями, установленные на другом оборудовании и для других популяций [15]. Это может привести к значительным искажениям реальных операционных характеристик лабораторного теста (чувствительности, специфичности и пр.). Более того, сам производитель наборов для НС МВ (Pribory Oy) в инструкции к ним указывает на необходимость разработки локальных референсных пороговых значений ИРТ (DELFLIA Neonatal IRT kit. Instructions for use. Reagents for 960 (384) assays (Perkin Elmer). Last revision Feb 2011).

По умолчанию предлагается использовать порог, соответствующий 99-му процентилю в исследуемой выборке ( $n = 1896$ ). Однако его абсолютные значения для пороговой концентрации ИРТ довольно значительно различаются для разных наборов: для AutoDELFLIA (автоматизированное измерение ИРТ) — 73,3 нг/мл, тогда как для DELFLIA (полуавтоматическое измерение) — 57,8 нг/мл (для наборов, использующихся с 2014 г.). Такая неопределенность и побудила нас провести собственное исследование для выяснения оптимального алгоритма расчетов пороговых уровней (ПУ) ИРТ.

В русскоязычной научной литературе подобные вопросы до сих пор не обсуждались, а научные статьи описывают лишь практические результаты проведения НС на территории регионов РФ за последние годы. При анализе англоязычных научных публикаций мы опирались на исследования проблематики расчета ПУ ИРТ специалистами Школы медицины Висконсина, США [16, 17].

**Целью настоящего исследования** стало совершенствование НС МВ путем применения плавающего ПУ (ППУ) ИРТ и сравнение его эффективности с таковой использования фиксированного ПУ (ФПУ) ИРТ в региональных условиях ХМАО-Югры.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено сплошное ретроспективно-проспективное когортное исследование, в которое на этапе оценки эффективности НС МВ и определения ППУ ИРТ включались результаты всех новорожденных детей на территории ХМАО-Югры с 2006 по 2017 г. (ретроспективная часть) и результаты НС МВ за 2018 г. (проверочный этап исследования, проспективная часть).

Концентрацию ИРТ определяли с помощью коммерческих наборов DELFLIA Neonatal IRT kit, AutoDELFLIA Neonatal IRT kit (PerkinElmer, Wallac Oy, Финляндия) на флуориметрах Victor2, AutoDELFLIA (PerkinElmer, Wallac Oy, Финляндия) методом флуоресцентного иммунного анализа с разрешением по времени.

Источником статистических данных стали лабораторные журналы НС МВ, оформленные в соответствии с упомянутым выше Приказом Минздравсоцразвития № 185 от 22.03.2006 г. Была проведена оцифровка рукописных

Мещеряков Виталий Витальевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой детских болезней Медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет». 628412, Россия, г. Сургут, пр. Ленина, д. 1. eLIBRARY.RU SPIN: 2032-9578. E-mail: maryvitaly@yandex.ru (Окончание. Начало см. на с. 6.)

данных (ИРТ-1, ИРТ-2, даты забора крови; для каждого образца создавался уникальный идентификационный ID-номер). Первичная статистическая обработка выполнялась в программе MS Office Excel.

ППУ ИРТ рассчитывали с помощью программного обеспечения floating Level of IRT (fLIRT), разработанного нами совместно с IT-специалистами Сургутского государственного университета [18]. При этом выборка данных для расчета ППУ ИРТ производилась по принципу «скользящего» окна для всех подтвержденных случаев МВ (n = 32) за весь период ретроспективного наблюдения (2006–2017). Выбирались все показатели концентраций ИРТ-1, полученные за несколько дней лабораторных постановок, таким образом, чтобы общее число исследуемых образцов находилось в диапазоне 500–600. Для каждого случая МВ отбирали по 500 образцов, предшествующих случаю, и по 500 образцов, последующих за случаем МВ.

С помощью программного обеспечения fLIRT строили гистограмму для каждой исследуемой совокупности случаев, после предварительного логарифмирования набора данных (по основанию натурального числа e) проводили первичное удаление «выбросов» методом «трех сигм» и расчет 99,5 перцентиля с определением ID-номеров образцов, выходящих за границы ПУ ИРТ и предназначенных для повторного тестирования (ретеста, ИРТ-2). Образцы, выделенные в группу ретеста, экспортировались в таблицу в виде, максимально удобном для интерпретации врачами генетической лаборатории. Пороговым считали рекомендованный в указанном выше Национальном консенсусе 99,5 процентиль совокупности показателей ИРТ в пределах «скользящего окна».

В течение 2018 г. использовали стандартный (оценка ИРТ-1 по ФПУ = 57,8 нг/мл) и инновационный (оценка результатов НС МВ по ППУ > 99,5 перцентиля) подходы и сравнивали их.

Идентичность происхождения сухих пятен крови для ложноотрицательного случая МВ (с ретестом ИРТ в пределах

нормы) верифицировали методом ПЦР-диагностики 12 независимых полиморфизмов (тест-системы «КардиоГенетика Тромбофилия» и «Генетика Метаболизма Фолатов», «ДНК-Технология», Россия) для образцов сухих пятен крови, отобранных на первичный тест, ретест, и для образца цельной крови пациента с МВ.

При статистической обработке материала использовали непараметрические методы: определение моды, расчет перцентилей, исследование операционных характеристик теста — чувствительности (Se), специфичности (Sp), прогностической ценности положительного (PPV) и отрицательного (NPV) результата [19].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Массовый скрининг новорожденных на МВ в рамках Национального проекта «Здоровье» проводится в ХМАО-Югры с 01.06.2006 г. За период с июня 2006 г. по декабрь 2017 г. обследован 283 741 новорожденный, среднемноголетний охват скринингом составил 96,3%; при этом охват в период 2009–2017 гг. — в среднем 98,9% (табл. 1). Сниженные цифры охвата в начале проведения НС МВ связаны с рабочими моментами по внедрению инфраструктуры и логистики исследований на обширной территории ХМАО-Югры. В 2006–2017 гг. выявлены 32 пациента с подтвержденным диагнозом МВ.

Среднемноголетняя частота МВ в ХМАО-Югры составила 1 случай на 9207 новорожденных детей; среднемноголетние операционные характеристики теста: Se — 100,0%, Sp — 98,1%; PPV — 0,65%; NPV — 100,0%. Проведены 5563 ретеста (около 2,0% от всего количества первичных исследований), из них только 32 оказались истинно-положительными. Такое число ретестов при отсутствии МВ соответствует примерно 2,5-месячному объему выполняемых исследований НС МВ.

Накопленный 12-летний опыт по осуществлению НС МВ в ХМАО-Югры и большой объем данных позволили произвести полноценное объективное исследование полученных

Таблица 1

Результаты неонатального скрининга (НС) на муковисцидоз в ХМАО-Югры за период 2006–2017 гг.

Годы	Число живорождений	Число обследованных новорожденных	Охват НС, %	ИРТ-1(+)	ИРТ-2(+)	Подтвержденные случаи МВ	Частота МВ
2006	20 030	16 926	84,5*	113	4	1	1 : 20 030
2007	21 348	21 169	99,2	368	29	2	1 : 10 674
2008	22 766	17 738	77,9**	305	30	0	—
2009	23 350	23 318	99,9	496	57	6	1 : 3892
2010	24 509	24 405	99,6	433	45	3	1 : 8170
2011	24 893	24 695	99,2	401	40	3	1 : 8298
2012	27 320	26 761	98,0	616	100	4	1 : 6830
2013	27 462	26 863	97,8	750	160	3	1 : 9154
2014	27 384	27 299	99,7	591	130	1	1 : 27 384
2015	26 665	26 312	98,7	568	132	3	1 : 8888
2016	25 324	25 116	99,2	518	104	3	1 : 8441
2017	23 566	23 139	98,2	404	95	3	1 : 7855
<b>2006–2017</b>	<b>294 617</b>	<b>283 741</b>	<b>96,3</b>	<b>5563</b>	<b>926</b>	<b>32</b>	<b>1 : 9207</b>

Примечание. Здесь и в таблице 2, рисунках: ИРТ — иммунореактивный трипсиноген, МВ — муковисцидоз.

\* В 2006 г. неонатальный скрининг выполнялся с июня по декабрь.

\*\* В 2008 г. неонатальный скрининг выполнялся в течение всего года, кроме марта.

результатов с целью возможной оптимизации существующих алгоритмов. В сплошном ретроспективном исследовании, охватывающем период 2006–2017 гг., проанализирована информация по НС МВ обо всех 32 детях с подтвержденным диагнозом МВ.

На рисунке 1 приведены данные, отображающие показатели первичных тестов ИРТ и ретестов с соответствующим диапазоном концентраций для каждого случая МВ. У 16 человек концентрация ИРТ в ретесте была ниже концентрации первичного ИРТ (темные бары), у 14 человек — выше (светлые бары).

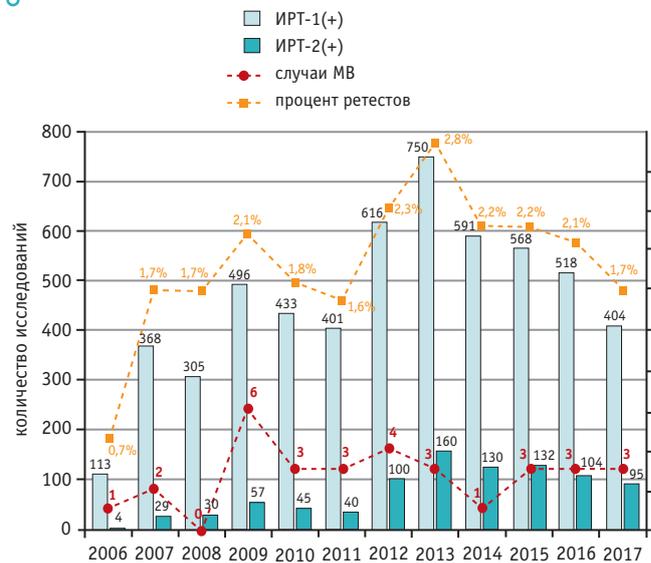
У ребенка № 1 ретест не проводился по причине отсутствия реактивов, у ребенка № 13 ретест оказался ложноотрицательным, однако при последующей проверке выяснилось, что на бланке НС была нанесена кровь другого человека (эти случаи выделены красным на диаграмме).

Красными линиями обозначены рекомендованные производителем реагента ФПУ ИРТ, при этом заметно последовательное снижение ПУ с 65,0 нг/мл до 57,8 нг/мл.

На рисунке 2 приведены диаграммы ежегодного сравнения количества образцов с концентрациями ИРТ-1, ИРТ-2 выше ФПУ и подтвержденных случаев МВ. Видно, что «просеивающая» способность НС для выявления МВ весьма высока, и в последовательных раундах скрининга возможно отобрать из десятков тысяч буквально несколько единиц образцов с истинно-положительным результатом, руководствуясь определенным пороговым значением концентрации ИРТ-1 для отбора образцов на повторное тестирование в рамках алгоритма ИРТ-1/ИРТ-2.

Нами совместно с IT-специалистами СурГУ разработано программное обеспечение fIIRT для быстрой статистической обработки наборов данных НС МВ. На первом этапе была визуализирована выборка из 5000 образцов ИРТ-1 за 2009 г. путем построения гистограммы (рис. 3), где наиболее частой оказалась концентрация ИРТ по величине моды в 12,5 нг/мл. Предварительный анализ показал, что тип распределения такой выборки — логнормальный, т. к. при логарифмировании гистограмма принимает вид нормального распределения.

Рис. 2. «Просеивающая» способность неонатального скрининга на муковисцидоз в ХМАО-Югре: общее количество ретестов (абсолютное число и процент от числа первичных тестов); число положительных ретестов; число подтвержденных случаев муковисцидоза



Большой набор неоцифрованных данных (более 283 тыс. показателей уровня ИРТ-1) значительно осложнил предстоящую задачу расчета региональных ППУ ИРТ. Поэтому мы использовали принцип «горячих точек», когда для подтверждения/опровержения применимости метода ППУ были оцифрованы и использованы для статистической обработки ограниченные, «локальные» сетки данных, группирующиеся вокруг каждого подтвержденного случая МВ с размером выборки  $n \approx 1000$  для каждого случая. Таким образом, при числе случаев подтвержденного МВ за всю историю проведения НС в ХМАО-Югре, равном 32,

Рис. 1. Показатели первичного теста (иммунореактивный трипсиноген 1) и ретеста (иммунореактивный трипсиноген 2) для всех случаев муковисцидоза, выявленных во время неонатального скрининга за период 2006–2017 гг. Светлые бары: ИРТ-2 > ИРТ-1; темные бары: ИРТ-2 < ИРТ-1

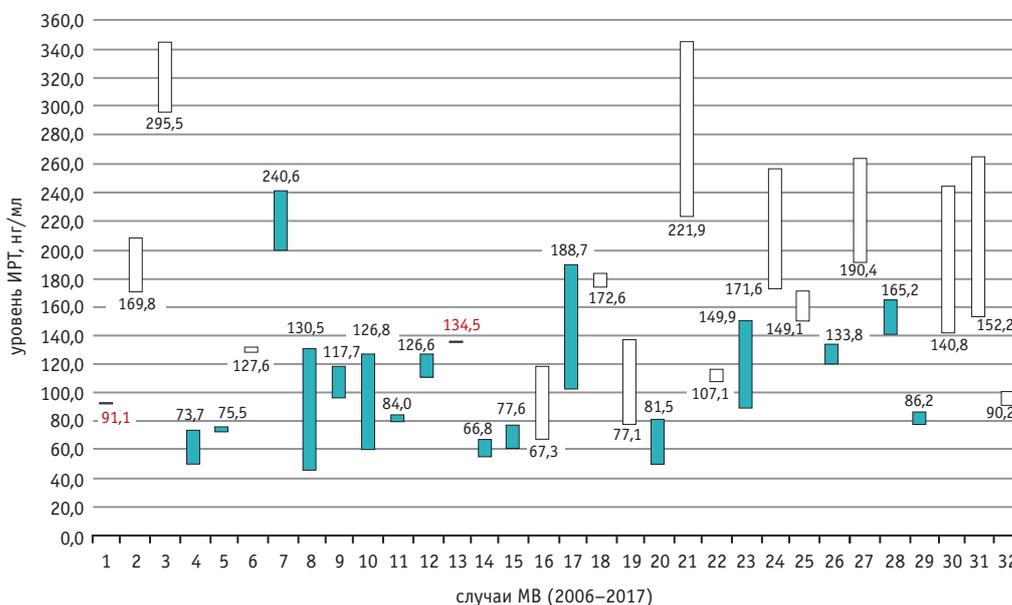
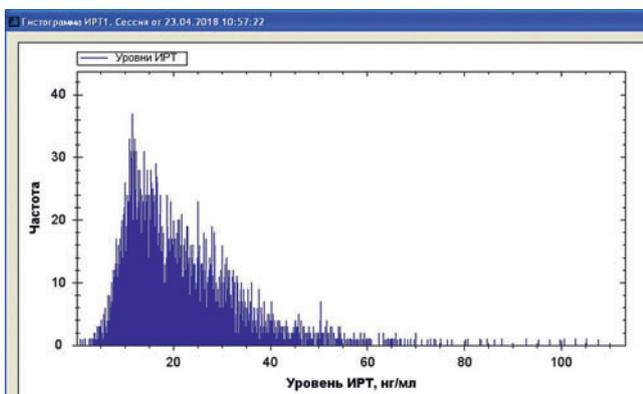


Рис. 3. Логнормальное распределение концентраций иммунореактивного трипсиногена 1 на гистограмме выборки из 5000 образцов сухих пятен крови неонатального скрининга муковисцидоза (2009)



анализируемый объем выборки значительно уменьшился ( $\approx 32\ 000$  уникальных данных).

Вся выборка была разбита на 32 локальных сети, причем в каждом сете позиция случая с МВ занимала такое место, чтобы была реализована возможность всестороннего анализа. Каждый сет данных разбивался на несколько частей, и каждая часть соответствовала объему ежедневной работы лаборатории и варьировала в пределах от 50 до 150 образцов.

Для каждого рабочего дня рассчитывался свой ППУ ИРТ, причем общее число образцов должно быть в пределах от 500 до 600 [16]. Такая совокупность образуется при объединении результатов постановок за несколько (4–8) рабочих дней.

При вычислении (пересчете) ППУ для следующего рабочего дня некоторая часть прежних данных совокупности замещается новыми, полученными в текущий рабочий день, таким образом, чтобы соблюдался критерий  $500 < n < 600$ . Подобное «окно» данных каждый следующий рабочий день сдвигается вправо при умозрительном расположении всех результатов на временной шкале (принцип «скользящего окна»). Необходимо обратить внимание на то, что для каждого сета данных ППУ вычисляется не для выборки, а для всей совокупности полученных результатов за несколько рабочих дней, что значительно повышает информационную емкость метода.

Путем последовательного отбора в качестве оптимального ПУ ИРТ был выбран 99,5 процентиля, что соответствует европейским [20] и российским [12] рекомендациям. Использование меньших значений процентов при расчете ППУ (99-й, 95-й) показало сильное занижение порога ИРТ-1 и нецелесообразность дальнейшего моделирования с процентами, меньшими, чем 99,5 (рис. 4). Использование алгоритма расчета ППУ ИРТ-1 для трех случаев МВ из 32 с самыми низкими цифрами ИРТ-1 (67,3; 66,8; 77,6 нг/мл) подтвердил его применимость даже для этих случаев (рис. 5).

На рисунке 5 приведены ППУ ИРТ, рассчитанные для всех случаев МВ, в сравнении с фиксированными уровнями. Видно, что диапазон ППУ колеблется в пределах 61,1–72,2 нг/мл, и практически везде уровни ИРТ-1 при МВ слишком высоки, чтобы попасть в число ложноотрицательных результатов (на диаграмме обозначены только 9 таких

Рис. 4. Использование программного обеспечения floating Level of IRT для расчета плавающего порогового уровня иммунореактивного трипсиногена 1 в соответствии с разными процентилями в локальной выборке из 500 образцов сухих пятен крови

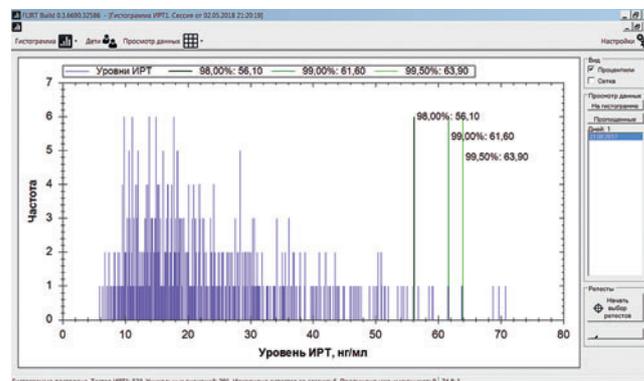
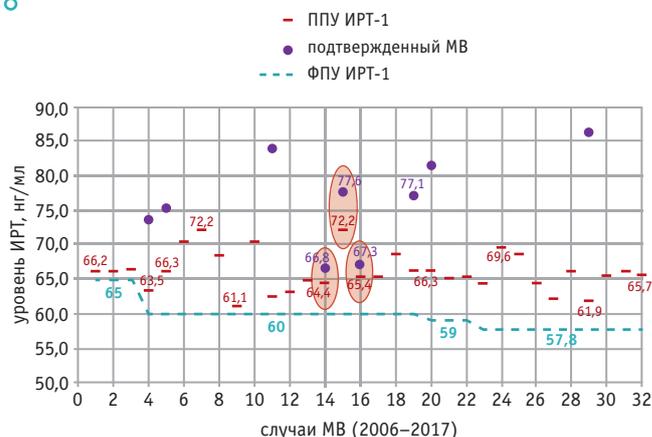


Рис. 5. Сравнение плавающего порогового уровня (ППУ) иммунореактивного трипсиногена 1 с фиксированным пороговым уровнем (ФПУ) для всех случаев муковисцидоза (МВ), выявленных в программе неонатального скрининга МВ за 2006–2017 гг. в ХМАО–Югры. Фиолетовые точки — уровни ИРТ-1 в диапазоне 60,0–90,0 нг/мл (выше 90,0 нг/мл на диаграмме не отражены); овалами выделены три случая МВ, для которых значения ППУ ИРТ-1 максимально приближены к значениям первичного теста ИРТ-1



случаев, все остальные уровни ИРТ-1 — за пределами области построения графика). Овалами выделены 3 случая МВ, при которых концентрация ИРТ-1 «вплотную» приближается к ППУ, однако во всех этих случаях ИРТ-1 > ППУ.

При анализе данных НС МВ за период 2014–2017 гг., когда применялся при расчетах ФПУ ИРТ 57,8 нг/мл, отмечено, что при использовании ППУ наблюдается значительное снижение количества результатов ИРТ-1 выше ППУ и, соответственно, количества направляемых на ретест образцов.

В течение 2018 г. проводился сравнительный анализ эффективности НС МВ с использованием двух подходов — стандартного (учет ФПУ = 57,8 нг/мл) и разработанного нами (оценка ИРТ-1 по ППУ > 99,5 процентиля), результаты

Сравнительная оценка результатов неонатального скрининга муковисцидоза в 2018 г. при использовании фиксированного и плавающего пороговых уровней иммунореактивного трипсиногена

Количество исследований ИРТ-1 за 2018 г.	Положительный ИРТ-1, n (%)		Ложноположительные результаты ИРТ-1, n (%)		Установлено случаев МВ в 2018 г.		
	1	2	1	2	всего	положительный тест ИРТ-1	
						1	2
22 226	360/1,62	93/0,42	357/1,61	90/0,41	3	3	3

Примечание: 1 — стандартный подход (ИРТ > 57,8 нг/мл); 2 — метод плавающего порогового его уровня (ИРТ > 99,5 перцентиля).

представлены в таблице 2. Внедрение компьютерной программы по оценке ИРТ-1 на основе ППУ [18] позволило практически в 4 раза снизить необходимость проведения ретеста без уменьшения эффективности диагностики МВ. Всего в 2018 г. МВ впервые диагностирован у 3 детей, причем у всех этих новорожденных результат НС МВ расценен как положительный и при стандартном подходе, и при оценке показателя ИРТ-1 методом ППУ.

Се теста, по данным 2018 г., при использовании обоих методов оценки результатов НС МВ (ФПУ и ППУ) составила 100%, Ср при использовании ФПУ — 98,4%, ППУ — 99,6%.

Среднее значение (мода) ППУ ИРТ-1 в 2018 г. было 65,4 нг/мл против рекомендуемого изготовителем реагента ФПУ 57,8 нг/мл, минимальный ППУ — 61,9 нг/мл, максимальный — 66,2 нг/мл. Анализ НС всех случаев установленного МВ за период 2006–2018 гг. (35 детей) показал, что каждый из 35 показателей ИРТ-1 был больше соответствующего ему ППУ как при ретроспективном, так и при проспективном исследовании.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение неонатального скрининга муковисцидоза (НС МВ) позволило обеспечить раннюю (уже в периоде новорожденности) диагностику заболевания и своевременно начать его базисную терапию. Ретроспективный анализ результатов НС МВ за период 2006–2017 гг. позволил установить среднемноголетнюю частоту МВ на территории ХМАО-Югры, которая составила 1 случай на 9207 живорожденных детей. Знание этого эпидемиологического показателя важно с точки зрения планирования ресурсов здравоохранения: затрат на диагностику (включая генную),

дорогостоящее лечение и реабилитацию пациентов с МВ на региональном уровне.

Применение при НС МВ фиксированного порогового уровня (ФПУ) иммунореактивного трипсиногена (ИРТ) 1, рекомендованного изготовителем реагента, дает большое количество ложноположительных результатов (до 2,0% от общего числа ИРТ-1), следствием чего становятся нерациональные затраты на проведение ретеста (ИРТ-2). Негативным является и психологическое состояние родителей в ожидании повторного исследования уровня ИРТ в течение первого месяца жизни ребенка.

Разработанный метод расчета плавающего порогового уровня (ППУ) ИРТ (> 99,5 перцентиля) продемонстрировал не меньшую результативность (критерий non-inferiority trial), чем традиционно используемый ФПУ ИРТ, по отсутствию ложноотрицательных результатов. Внедрение компьютерной авторской программы Floating Level of IRT [18] по определению ППУ позволяет значительно (примерно в 4 раза) уменьшить число ложноположительных результатов, необходимость проведения ретеста и повысить специфичность теста с 98,4% до 99,6% с сохранением 100%-ной чувствительности.

Использование данной компьютерной программы максимально упрощает задачу гибкой статистической обработки данных (возможность для оператора менять по своему усмотрению размер «окна», изменять уровни перцентилей и пр.). Визуализация совокупности данных на гистограмме позволяет провести наглядный контроль результатов, параллельная оцифровка результатов — аккумулировать доступную базу данных для обращений и более подробных расчетов, необходимых по каким-либо причинам в перспективе.

**Благодарности:** авторы выражают искреннюю благодарность ряду лиц, без которых данная работа была бы невозможна: заведующему Окружной медико-генетической консультацией (г. Сургут) Л.Н. Колбасину за информационную поддержку; врачу клинической лабораторной диагностики Н.В. Кунцевич за неоценимую помощь при оцифровке данных; IT-специалисту СурГУ И.Н. Девицыну за участие в разработке и постоянное совершенствование компьютерной программы fIRT, использованной в исследовании.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tridello G., Castellani C., Meneghelli I., Tamanini A., Assael B.M. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ Open Res.* 2018; 4(2). pii: 00109-2017. DOI: 10.1183/23120541.00109-2017
2. Sims E.J., McCormick J., Mehta G., Mehta A.; Steering Committee of the UK Cystic Fibrosis Database. Neonatal screening for cystic fibrosis is beneficial even in the context of modern treatment. *J. Pediatr.* 2005; 147(3 suppl.): S42–6. DOI: 10.1016/j.jpeds.2005.08.002
3. Castellani C., Massie J., Sontag M., Southern K.W. Newborn screening for cystic fibrosis. *Lancet Respir. Med.* 2016; 4(8): 653–61. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)00053-9
4. Crossley J.R., Elliott R.B., Smith P.A. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet.* 1979; 1(8114): 472–4. DOI: 10.1016/S0140-6736(79)90825-0
5. Кусова З.А., Петрова Н.В., Васильева Т.А., Каширская Н.Ю., Зинченко Р.А., Капранов Н.И. Результаты массового скрининга новорожденных на муковисцидоз в Москве. *Вопр. соврем. педиатрии.* 2010; 9(6): 26–30. [Kusova Z.A., Petrova N.V., Vasil'eva T.A., Kashirskaya N.Yu., Zinchenko R.A., Kapranov N.I. Rezultaty massovogo skrininga novorozhdennykh na mukovistsidoz v Moskve. *Vopr. sovrem. pediatrii.* 2010; 9(6): 26–30. (in Russian)]
6. Korzeniewski S.J., Young W.I., Hawkins H.C., Cavanagh K., Nasr S.Z., Langbo C. et al. Variation in immunoreactive trypsinogen

- concentrations among Michigan newborns and implications for cystic fibrosis newborn screening. *Pediatr. Pulmonol.* 2011; 46(2): 125–30. DOI: 10.1002/ppul.21330
7. Rock M.J., Mischler E.H., Farrell P.M., Wei L.J., Bruns W.T., Hassemer D.J. et al. Newborn screening for cystic fibrosis is complicated by age-related decline in immunoreactive trypsinogen levels. *Pediatrics.* 1990; 85(6): 1001–7.
  8. Li L., Zhou Y., Bell C.J., Earley M.C., Hannon W.H., Mei J.V. Development and characterization of dried blood spot materials for measurement of immunoreactive trypsinogen. *J. Med. Screen.* 2006; 13(2): 79–84. DOI: 10.1258/096914106777589623
  9. Ryckman K.K., Berberich S.L., Shchelochkov O.A., Cook D.E., Murray J.C. Clinical and environmental influences on metabolic biomarkers collected for newborn screening. *Clin. Biochem.* 2013; 46(1–2): 133–8. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.09.013
  10. Cheillan D., Vercherat M., Chevalier-Porst F., Charcosset M., Rolland M.O., Dorche C. False-positive results in neonatal screening for cystic fibrosis based on a three-stage protocol (IRT/DNA/IRT): should we adjust IRT cut-off to ethnic origin? *J. Inherit. Metab. Dis.* 2005; 28(6): 813–8. DOI: 10.1007/s10545-005-0067-0
  11. Cortes E., Roldan A.M., Palazon-Bru A., Rizo-Baeza M.M., Manero H., Gil-Guillen V.F. Differences in immunoreactive trypsin values between type of feeding and ethnicity in neonatal cystic fibrosis screening: a cross-sectional study. *Orphanet J. Rare Dis.* 2014; 7(9): 166. DOI: 10.1186/s13023-014-0166-9
  12. Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия». Координаторы: Е.И. Кондратьева, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов. М.; 2016. 205 с. [Natsional'nyi konsensus "Mukovistsidoz: opredelenie, diagnosticheskie kriterii, terapiya". Koordinatory: E.I. Kondrat'eva, N.Yu. Kashirskaya, N.I. Kapranov. M.; 2016. 205 s. (in Russian)]
  13. Донников М.Ю., Мещеряков В.В., Колбасин Л.Н., Урванцева И.А. Неонатальный скрининг и генная диагностика муковисцидоза в Ханты-Мансийском автономном округе-Югре. Медицина и образование в Сибири: сетевое научное издание. 2015; 3. URL: [http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=1810](http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1810) (дата обращения — 23.09.2019). [Donnikov M.Yu., Meshcheryakov V.V., Kolbasin L.N., Urvantseva I.A. Neonatal'nyi skrining i gennaya diagnostika mukovistsidoza v Khanty-Mansiiskom avtonomnom okruge-Yugre. Meditsina i obrazovanie v Sibiri: setevoe nauchnoe izdanie. 2015; 3. URL: [http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=1810](http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1810) (data obrashcheniya — 23.09.2019). (in Russian)]
  14. Казакова М.С., Луговская С.А., Долгов В.В. Референсные значения показателей общего анализа крови взрослого работающего населения. *Клин. лаб. диагностика.* 2012; 6: 43–9. [Kazakova M.S., Lugovskaya S.A., Dolgov V.V. Referensnye znacheniya pokazatelei obshchego analiza krovi vzroslogo rabotayushchego naseleniya. Klin. lab. diagnostika. 2012; 6: 43–9. (in Russian)]
  15. Horowitz G.L. Reference intervals: practical aspects. *EJIFCC.* 2008; 19(2): 95–105.
  16. Therrell B.L., Hannon W.H., Hoffman G., Ojodu J., Farrell P.M. Immunoreactive trypsinogen (IRT) as a biomarker for cystic fibrosis: challenges in newborn dried blood spot screening. *Mol. Genet. Metab.* 2012; 106(1): 1–6. DOI: 10.1016/j.ymgme.2012.02.013
  17. Kloosterboer M., Hoffman G., Rock M., Gershan W., Laxova A., Zhanhai J. et al. Clarification of laboratory and clinical variables that influence cystic fibrosis newborn screening with initial analysis of immunoreactive trypsinogen. *Pediatrics.* 2009; 123(2): e338–46. DOI: 10.1542/peds.2008-1681
  18. Донников М.Ю., Мещеряков В.В., Девицын И.Н. Свидетельство № 2017663099 об официальной регистрации программы ЭВМ. Floating Level of IRT. Заявитель и правообладатель БУ ВО «Сургутский государственный университет» (RU). 2017619871; заявл. 03.10.2017; опубл. 24.11.2017. Реестр программ для ЭВМ. 1 с. [Donnikov M.Yu., Meshcheryakov V.V., Devitsyn I.N. Svidetel'stvo № 2017663099 ob ofitsial'noi registratsii programmy EVM. Floating Level of IRT. Zayavitel' i pravoobladatel' BU VO "Surgutskii gosudarstvennyi universitet" (RU). 2017619871; zayavl. 03.10.2017; opubl. 24.11.2017. Reestr programm dlya EVM. 1 s. (in Russian)]
  19. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера; 2002. 312 с. [Rebrova O.Yu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA. M.: Media Sfera; 2002. 312 s. (in Russian)]
  20. Castellani C., Southern K.W., Brownlee K., Dankert Roelse J., Duff A., Farrell M. et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J. Cyst. Fibr.* 2009; 8(3): 153–73. DOI: 10.1016/j.jcf.2009.01.004