

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕФЕРЕНСНЫХ ИНТЕРВАЛОВ ЭКСЦИЗИОННЫХ
КОЛЕЦ TREC И KREC ПО ИТОГАМ ПРОВЕДЕНИЯ СКРИНИНГА
НОВорожденных на врожденные ошибки иммунитета в
2023-2024 ГОДАХ В СИСТЕМЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СЕВЕРО-
ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

Лобенская А. Ю.¹,
Петриченко А. К.¹,
Евлоева Т. У.¹,
Кругликова А. А.¹,
Серебрякова Е. А.¹,
Ялфимова Е. А.¹,
Марахонов А. В.³,
Массальская М. О.¹,
Шедова К. В.¹,
Вечкасова А. О.¹,
Морозова А. Ю.¹,
Коротее А. Л.¹,
Тузанкина И. А.²

¹ Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Диагностический центр (медико-генетический)».

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН).

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки “Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова” (МГНЦ).

**RESULTS OF NEWBORN SCREENING FOR INBORN ERRORS OF
IMMUNITY IN THE HEALTHCARE SYSTEM OF THE
NORTHWESTERN FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN
FEDERATION FOR 2023-2024**

Lobenskaya A. Yu. ^a,
Petrichenko A. K. ^a,
Evloeva T. U. ^a,
Kruglikova A. A. ^a,
Serebryakova E. A. ^a,
Yalfimova E. A. ^a,
Marakhonov A. V. ^c,
Massalskaya M. O. ^a,
Shedova K. V. ^a,
Vechkasova A. O. ^a,
Morozova A. Yu. ^a,
Koroteev A. L. ^a,
Tuzankina I. A. ^b

^a Saint-Petersburg State Medical Diagnostic Center (Genetic Medical Center), Saint-Petersburg, Russia.

^b Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

^c Federal State Budgetary Institution of Science "Medical and Genetic Research Center named after Academician N.P. Bochkov" (MGNC).

Резюме

Программа скрининга новорожденных детей играет одну из ключевых ролей в развитии здравоохранения Российской Федерации (РФ). С 2023 г. вступил в силу приказ №274н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи пациентам с врожденными и (или) наследственными заболеваниями», который расширил спектр исследуемых заболеваний в неонатальном периоде. Расширенный неонатальный скрининг (РНС) является комплексом мероприятий, направленных на проведение исследований, для диагностики 36 нозологий. Одной из обширных нозологических групп, исследуемых в РНС, являются врожденные ошибки иммунитета (ВОИ). ВОИ представляют собой постоянно расширяющуюся группу наследственных заболеваний иммунной системы, которые характеризуются повышенной восприимчивостью к инфекциям за счет реализации иммунопатологических процессов. На первом этапе скрининга проводится количественное определение колец вырезания Т-клеточных рецепторов (TREC) и колец вырезания каппа-рекомбинации (KREC) всем новорожденным, для формирования группы высокого риска и проведения этапов подтверждающей диагностики, что, в свою очередь, позволяет выявить пациентов с ВОИ еще до развития симптомов.

В данной статье рассмотрены и проанализированы результаты РНС ВОИ на территории Северо-Западного Федерального округа (СЗФО) за 2023-2024 годы. В течение двух лет в Северо-Западном федеральном округе было обследовано 209 741 новорожденных детей. В группу высокого риска по ВОИ попали 818 детей, что составило 0,39% от всех обследованных. У 45 (5,5%) детей были обнаружены признаки иммунодефицита на основании результатов иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови (ИФТ), и у 22 (49%) из них установлены генетические причины данного состояния.

Авторами продемонстрирована взаимосвязь срока гестации и веса новорожденных детей с показателями TREC и KREC, а также рассчитаны референсные интервалы для каждой из выделенных групп. Полученные в данном исследовании результаты акцентируют внимание на новорожденных из группы умеренного риска, поскольку 9% от всех обследованных по результатам РНС относятся к группе “условно здоровых детей” при этом количество копий TREC и/или KREC находится за пределами рассчитанной нижней границы референсного интервала.

На основе полученных данных были предложены модели оптимизации алгоритма диагностики врожденных ошибок иммунитета (ВОИ). Это, в свою очередь, способствует ранней постановке диагноза и более эффективному оказанию медицинской помощи пациентами с иммунными нарушениями.

Установление популяционных референсных интервалов играет ключевую роль в стандартизации методов диагностики и мониторинга состояния иммунной системы, что является важным шагом в развитии здравоохранения в целом.

Ключевые слова: Врожденные ошибки иммунитета, первичный иммунодефицит, расширенный неонатальный скрининг, референсные интервалы, KREC, TREC.

Abstract

The newborn screening program (NBS) plays a critical role in the development of the healthcare system of the Russian Federation. Since 2023, Order No. 274n “On the approval of the Procedure for providing medical care to patients with congenital and/or hereditary diseases” has expanded the scope of neonatal screening. Expanded newborn screening (ENS) now includes detection of 36 nosological conditions.

Among these, inborn errors of immunity (IEI) represent a significant and expanding group of genetic disorders characterized by increased susceptibility to infections due to underlying immunopathological mechanisms. At the initial stage, quantitative determination of T-cell receptor excision circles (TREC) and kappa-deleting recombination excision circles (KREC) is conducted for all newborns to identify individuals at risk and initiate confirmatory diagnostics. This approach enables the detection of IEI before the onset of clinical symptoms.

This article presents and analyzes the results of ENS for IEI conducted in the Northwestern Federal District (NWFD) during the period from 2023 to 2024. Over this two-year period, a total of 209 741 newborns were screened in the NWFD. Among them, 818 newborns (0.39% of those screened) were classified as high-risk for IEI. Cases of immunodeficiency were identified for 45 children based on immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes (IFT), and genetic causes of the condition were confirmed in 49% of these cases.

Statistical analysis revealed associations between gestational age and birth weight with TREC levels, and to a lesser extent with KREC levels. Reference intervals were established for defined neonatal subgroups. The findings highlight the importance of continued observation of newborns classified as moderate-risk. Notably, 9% of all screened individuals were designated as “conditionally healthy,” despite having TREC or KREC values below the lower reference limit.

Based on the obtained data, models for optimizing the screening program for IEI were proposed. This, in turn, contributes to earlier diagnosis and more effective management of patients with immune disorders, as well as enhanced personalization of therapeutic strategies.

Establishing population-based reference intervals plays a key role in standardizing methods for diagnosing and monitoring the immune system, representing an important step in the overall advancement of healthcare.

Keywords: Expanded Neonatal Screening, Inborn Errors of Immunity, KREC, Primary Immunodeficiency, reference intervals, TREC.

1 Введение

Неонатальный скрининг является одним из ключевых направлений в ранней диагностике наследственных заболеваний и реализуется в большинстве развитых стран [1].

С января 2023 года на территории Российской Федерации (РФ) проводится расширенный неонатальный скрининг (PHC), который, в том числе, охватывает группу новорожденных с врожденными ошибками иммунитета (ВОИ) или первичными иммунодефицитами (ПИД) [2]. ВОИ – это большая группа генетически детерминированных заболеваний иммунной системы (ИС), фенотипическое разнообразие которой определяется функциональным дефектом пораженного звена ИС, обуславливающим нарушение сложного каскада реакций, необходимых для элиминации чужеродных агентов из организма и развития адекватных воспалительных реакций [3].

Сам термин «первичные иммунодефициты» во всем мире постепенно уступает место более современному и точному – «врожденные ошибки иммунитета» (ВОИ) [2].

Для организации и контроля проведения программ скрининга существует ряд критериев, одобренных комитетом общественной и профессиональной политики Европейского общества генетики человека (ESHG) [4]. Одним из ключевых критериев является раннее выявление детей, для которых доступны эффективное лечение и профилактика целого ряда врожденных заболеваний до начала их клинической манифестации [5].

Своевременное лечение позволяет избежать раннего и, как правило, крайне тяжелого инфекционного процесса, вызванного бактериальной, вирусной, грибковой природой, в том числе и оппортунистической этиологии, а также проявления аутоиммунных реакций [6].

В разных странах неонатальный скрининг ВОИ реализуется на разное количество нозологических форм, что обусловлено задачами скрининга, национальными и экономическими особенностями каждой страны. Для большинства стран мира ключевой зоной интереса в рамках скрининговых программ являются тяжелые комбинированные иммунодефициты (ТКИН), однако, по мере совершенствования технологий и подходов к лечению все больше нозологических форм при ранней диагностике могут быть скомпенсированы при помощи терапии иммуноглобулинами и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [7].

В последней действующей классификации (IUIS) от 2024 года представлено 10 групп врожденных ошибок иммунитета (ВОИ), 555 нозологических форм и 17 фенотипов, вызванных мутациями в 504 различных генах [8].

Скрининг ВОИ в РФ основан на количественном определении эксцизионных колец эпизомальной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), образующихся при перестройке Т-клеточного (TREC) и В-клеточного (KREC) рецепторов [9].

Разные производители предлагают наборы реагентов для определения исключительно ДНК TREC, некоторые наборы позволяют одновременно количественно определять и TREC, и KREC, что является более оптимальным ввиду единовременной возможности определения и Т- и В-клеточных лимфопений. Количественный метод позволяет выявлять более мягкие варианты ВОИ, чем полуколичественные и качественные [10].

На первом этапе скрининга ВОИ в РФ формируется группа пациентов высокого риска. Отрезная точка определена в соответствии с Национальным руководством “Неонатальный скрининг” под редакцией академика РАН С.И. Куцева [11], Методическими рекомендациями [12] и инструкцией по применению набора реагентов для выделения и количественного определения ДНК TREC, KREC и качественного выявления гомозиготной делеции экзона 7 гена SMN1 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «ТК-SMA» (ТУ 21.20.23-004-17608775-2021). При снижении TREC и/или KREC ниже 100 копий/10⁵ лейкоцитов проводятся подтверждающие этапы диагностики, включающие иммунофенотипирование клеток периферической крови для оценки крупных популяций лимфоцитов, а также молекулярно-цитогенетические и молекулярно-генетическое исследования для установления генетической причины возможного иммунодефицита. Однако незамедлительно диагностика ВОИ проводится только доношенным новорожденным. Недоношенные дети в алгоритме РНС проходят подтверждающие этапы диагностики только по достижении ими 37 постконцептуальных недель. К сожалению, не все недоношенные дети доживают до этого срока. Анализ референсных диапазонов позволит оценить эффективность применяемых подходов в РНС. Согласно данным ранее проведенных пилотных проектов, нижние границы нормы TREC и KREC превышают 100 копий/10⁵ ядродержащих клеток [5,13,14]. Полученные результаты соответствовали верхней границе группы умеренного риска (для TREC 450 копий/10⁵ ядродержащих клеток и для KREC 250 копий/10⁵ ядродержащих клеток), выделенной производителем набора реагентов, используемого в рамках программы скрининга в СЗФО. Однако в структуре РНС не предусмотрено дообследование детей, попавших в данную группу, так как по результатам исследований такие дети относятся к группе «условно здоровых». Группу умеренного риска также называют «серой зоной» в скрининге. В сравнении с группой высокого риска в «серой зоне» риск выявления детей с ВОИ существенно меньше, но все-таки он присутствует. Дети, попавшие в группу умеренного риска, подлежат динамическому наблюдению врачами педиатрами и аллергологами-иммунологами по месту жительства [10].

Предполагалось, что границы пороговых значений будут скорректированы в меньшую сторону по итогам первого года скрининга [12]. Важной задачей для оценки эффективности скрининга является анализ референсных диапазонов. Для реализации данной задачи на базе СПб ГБУЗ

«Диагностический центр (медико-генетический)» проведен расчет референсных диапазонов по результатам исследований за 2023 и 2024 годы.

Цель данного исследования заключалась в описании результатов расширенного неонатального скрининга врожденных ошибок иммунитета за 2023-2024 годы в Северо-Западном федеральном округе, сравнительном анализе данных и установлении референсных интервалов количественного содержания ДНК TREC и KREC в выделенных группах новорожденных детей.

2 Материалы и методы

Первый этап скрининга проводился на базе СПб ГБУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)» и заключался в исследовании количества копий TREC и KREC в образцах ДНК новорожденных детей, рожденных на территории 11 субъектов СЗФО в период с 01.01.2023 по 31.12.2024 года. Биологическим материалом послужила капиллярная кровь, собранная на тест-бланки (DBS) PerkinElmer 226 или аналогичные Whatman №903 на 24-48 часов жизни у доношенных и на 7 сутки у недоношенных новорожденных детей. Выделение ДНК и количественную мультиплексную полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ) проводили с построением калибровочной кривой согласно требованиям ГОСТ Р ИСО 20395— 2023 [15] и согласно инструкции к набору реагентов. Для экстракции ДНК и амплификации ДНК TREC, KREC использовали набор реагентов «TK-SMA», производства ООО «АБВ-Тест», Россия. Лизис и экстракция ДНК проводилась с применением системы для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure 96 для диагностики in vitro (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd. Китай). Реакцию амплификации проводили при помощи детектирующих амплификаторов «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Общее число обследованных составило 209 741 детей. Алгоритм проведения скрининга отображен на рисунке 1.

Статистический анализ проводили в соответствии с рекомендациями Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC), требованиям ГОСТ Р 53022.3-2008 [16] с помощью пакета программ Microsoft Office (Microsoft Excel 2021, Microsoft Word 2021 для описания) и Statistica 12.0. Содержание молекул TREC и KREC учитывалось в образцах крови для всех соответствующих групп. Проверка нормальности распределения данных проводилась с использованием критериев:

- Колмогорова-Смирнова для оценки соответствия распределения значений TREC и KREC закону нормального распределения;
- Шапиро-Уилка для групп, включающих менее 5000 новорожденных;
- Андерсона-Дарлинга для групп более 5000 новорожденных.

Визуализация данных осуществлялась с применением гистограмм для анализа распределения значений; квартильного анализа для сравнения групп по массе тела и сроку гестации; диаграммы рассеяния для оценки связи между переменными.

Построение референсных интервалов для значений TREC и KREC в разных группах, осуществлялось с использованием непараметрического метода квантилей (перцентильный метод).

3 Результаты

Раздел 1. Общая характеристика данных.

В данной работе представлены результаты, полученные в ходе проведения PNC на ВОИ в СЗФО за 2023-2024 гг.

Всего было обследовано 209 741 новорожденных детей. Из числа обследованных детей общая группа высокого риска по ВОИ, направленная на подтверждающую диагностику, составила 818 (0,39%). По результатам подтверждающей диагностики у 22 детей (2,7%) были выявлены цитогенетические и молекулярно-генетические варианты, ассоциированные с ВОИ. По результатам иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови (ИФТ) у 23 (2,8%) детей имелись признаки иммунодефицита. Итого иммунодефицит подтвержден у 45 (5,5%) детей, отнесенных в группу высокого риска по результатам первого этапа PNC от всех направленных на подтверждающую диагностику.

Результаты скрининга на ВОИ с распределением по субъектам СЗФО представлены в табл. 1

Ввиду того, что скрининг ВОИ проводится с применением количественного анализа ДНК TREC и KREC и ранее описание референсных значений на больших выборках для данного метода в РФ не проводилось, впервые после начала скрининга проведен расчет референсных интервалов.

Раздел 2. Выбор методов статистического анализа.

В первую очередь, проведена оценка нормальности распределения полученных значений для всех результатов количественного исследования TREC и KREC с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Согласно проведенному анализу, полученные данные не подчинялись закону нормального распределения. Соответственно, дальнейшие статистические расчеты проводились с использованием непараметрических методов статистики [17,18].

На рисунке 2 представлены гистограммы распределения значений TREC и KREC для общей группы обследованных новорожденных. Так как выборка не подчиняется закону нормального распределения данных, на гистограммах обоих показателей наблюдалось характерное левостороннее смещение измерений, проявляющееся, соответственно, асимметрией данных.

Поскольку возраст, популяционные отличия, степень зрелости иммунной системы могут существенно влиять на результаты исследований, определение популяционных референсных интервалов содержания молекул TREC и KREC в крови новорожденных детей следует проводить с учетом этих особенностей. Ввиду того, что в PNC получение биоматериала осуществляется на 24-48 часов жизни для детей, рожденных на сроке 37 и более недель гестации, а для недоношенных (менее 37 недель гестации) взятие крови проводится на 7 сутки жизни, разделение полученных данных на группы по

срокам гестации и/или по весу новорожденного является основным критерием для формирования групп для статистического анализа.

Соответственно разработан дизайн исследования, с разделением общей выборки. Все обследуемые на ВОИ новорожденные разделены на группы:

1. По сроку гестации:

- до 28 недель (n=656 новорожденных);
- до 33 недель (n= 3 240 новорожденных);
- 33-36 недель (n= 9 564 новорожденных);
- от 37 недели (n= 196 281 новорожденных).

2. По массе тела при рождении:

- до 1,5 кг (n= 1995 новорожденных),
- от 1,5 до 2,5 кг (n= 10 825 новорожденных);
- 2,5 и более кг (n= 196 921 новорожденных).

Проверка нормальности распределения проводилась для всех выделенных групп с помощью критериев Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка и Андерсона-Дарлинга.

Согласно проведенному анализу, ни в общей когорте, ни в одной из групп, полученные данные не подчинялись закону нормального распределения. Соответственно, дальнейшие статистические расчеты проводились с использованием непараметрических методов статистики.

Для оценки взаимосвязи между сроком гестации и уровнями TREC и KREC в пределах каждой из выделенных гестационных групп был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ).

Раздел 3. Анализ TREC и KREC в зависимости от срока гестации.

На рисунке 3 представлено распределение полученных в ходе скрининга результатов TREC и KREC в зависимости от срока гестации. Наибольшие значения для TREC и для KREC наблюдалось для доношенных новорожденных. На гистограмме также видно постепенное увеличение значений TREC с увеличением срока гестации, что подтверждалось при использовании метода ранговой корреляции. Наиболее выраженная корреляция между сроком гестации и количеством TREC наблюдается у группы экстремально недоношенных новорожденных, то есть у детей, родившихся до 28 недели гестации. (TREC: $\rho = 0,373$; $p < 0,001$). По мере увеличения срока гестации, коэффициент корреляции снижался, а у новорожденных из группы доношенных (от 37 недели) практически отсутствовал (TREC: $\rho = -0,0004$, $p = 0,87$), то есть связь между сроком гестации и уровнем TREC уменьшилась. В свою очередь для KREC данная зависимость не так ярко выражена. Для экстремально недоношенных детей: $\rho = 0,106$, $p = 0,006$, а для детей, рожденных на более поздних сроках гестации, получена крайне слабая корреляция. Учитывая распределение данных, представленных на гистограмме, оценка референсных диапазонов должна проводиться для каждой из гестационных групп, поскольку для экстремально недоношенных детей показатели TREC значительно ниже.

Результат квартильного анализа уровней TREC и KREC в зависимости от срока гестации визуализирован на рисунке 4 (Рисунок 4). Медианы, демонстрирующие срединное значение массива данных TREC, значительно превышают установленные в РНС пороговые значения. Для экстремально недоношенных детей медиана составила 348,5 копий/ 10^5 ядродержащих клеток, для детей, рожденных на сроке 28 недель гестации и более медиана TREC превышает 1105 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. Значения 2,5 перцентилей TREC превышают 200 копий/ 10^5 ядродержащих клеток для всех групп новорожденных за исключением группы экстремально недоношенных детей, где нижний порог составил всего 27 копий/ 10^5 ядродержащих клеток.

В соответствии с литературными данными, уровни KREC не зависят от гестационного возраста и относительно стабильны. В результате проведенного анализа, медианные значения также остаются высокими для всех проанализированных групп. Однако, оценивая нижнюю границу квартильного коридора (2,5 перцентиль), в группе экстремально недоношенных детей полученное значение находится на уровне отрезной точки (cut-off), установленной в РНС.

Общие данные расчетов, характеризующих показатели TREC и KREC в зависимости от срока гестации, представлены в таблице 2.

Раздел 4. Анализ TREC и KREC в зависимости от массы тела новорожденного.

Для визуализации данных приведены гистограммы распределения значений TREC и KREC в зависимости от веса новорожденных (Рисунок 5). Наибольшие значения результатов как для TREC, так и для KREC наблюдаются в группе доношенных новорожденных, с весом 3500-4000 г. На гистограмме представлена схожая тенденция к распределению показателей TREC и KREC, аналогичная с распределением данных, в зависимости от срока гестации.

Также проведена оценка количественных показателей TREC и KREC в группах новорожденных, разделенных по массе тела. Результат квартильного анализа представлен на рисунке 6 (Рисунок 6). Ввиду нерепрезентативной выборки новорожденных с экстремально низкой массой тела (менее 1000 г), данная группа детей включена в категорию до 1500 г.

Умеренная положительная корреляция между массой тела и показателями TREC наблюдалась у детей с экстремально низкой массой тела (<1500 г) (TREC: $\rho = 0,469$, $p < 0,001$). Для детей с массой тела более 1500 г корреляция отсутствовала или была крайне слабая, то есть отсутствовала зависимость значений TREC от массы тела новорожденного в группе детей с экстремально низкой массой тела. Медианы TREC составляли: в группе детей с массой тела при рождении до 1500 г — 786 копий/ 10^5 ядродержащих клеток, в то время как у детей с большей массой тела медианы были сопоставимы и составляли 1287 и 1115 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. Эти данные подтверждают, что у детей из группы экстремально недоношенных

наблюдаются более низкие значения TREC. Нижняя граница квартильного коридора (2,5 перцентиль) составила 45 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. Эти результаты согласуются с анализом количества TREC в зависимости от срока гестации, поскольку группа детей с экстремально низкой массой тела не выделена отдельно. В группе детей с массой тела при рождении 1500-2500 г нижняя граница составила 287 копий/ 10^5 ядродержащих клеток, а в группе с массой тела 2500 г и более — 316 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. Эти данные подтверждают, что с увеличением массы тела наблюдается тенденция к повышению значений TREC. Корреляция KREC с массой тела в группе детей до 1500 г с коэффициентом $\rho = 0,129$ и $p < 0,001$ считалась слабой, но статистически значимой, то есть достоверно отсутствовала. У новорождённых с массой тела выше 1500 г степень корреляции снижалась и практически исчезала. Однако, анализ медиан, полученных по KREC во всех выделенных группах по массе тела новорожденного, не показывала статистически значимых различий между массой тела новорожденного и количеством копий KREC и варьирует в пределах 1073-1192 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. При оценке нижней границы квартильного коридора (2,5 перцентиль) было установлено, что нижние пороговые значения KREC превышают cut-off, установленный в PHC, во всех группах. В частности, в группе детей с массой тела менее 1500 г нижнее пороговое значение (2,5 перцентиль) составило 169 копий/ 10^5 ядродержащих клеток, несмотря на ограниченную выборку, которая не была разделена на более узкие подгруппы.

Общие данные расчетов, характеризующие показатели TREC и KREC в зависимости от массы тела новорожденного, представлены в таблице 3 (Таблица 3).

У новорожденных с массой тела выше 1500 г наблюдалось снижение степени корреляции между массой тела и показателями TREC, что может указывать на относительную стабилизацию этих показателей при достижении данного порогового уровня массы тела. Наличие слабой корреляции между массой тела и уровнем KREC в группе детей с массой тела 1500 г, а также крайне слабой корреляции в группах с большим весом, может свидетельствовать о том, что на полученные уровень KREC может влиять малая выборка и отсутствие более детального распределения внутри группы, которые могут ограничивать достоверность этого вывода.

Результаты статистического анализа референсных интервалов продемонстрировали, что дети с экстремально с низкой массой тела и рожденные до 28 недель имели уровень TREC значительно ниже порогового значения, установленного в PHC (≤ 100 копий/ 10^5 ядродержащих клеток). Однако, данная группа детей крайне физиологически неоднородна и для получения корректных данных должна подлежать более глубокому анализу.

Для KREC подобной зависимости не наблюдалось, что позволило сделать вывод о необходимости незамедлительного проведения подтверждающих этапов диагностики у детей из группы высокого риска по KREC, не дожидаясь постконцептуального возраста 37 недель.

2,5 перцентиль, характеризующий нижнюю границу 95%-ного референсного интервала, во всех анализируемых группах, за исключением недоношенных новорожденных с экстремально низкой массой тела, существенно превышал установленный в РНС пороговый уровень. Следовательно, можно говорить о том, что в группе умеренного риска или “серой зоне”, выделенной в инструкции к набору реагентов, существует риск выявления детей с ВОИ, хотя он существенно меньше, чем в группе высокого риска.

Раздел 5. Анализ группы умеренного риска.

Учитывая полученные результаты, было принято решение провести анализ группы умеренного риска, полученной в ходе проведения РНС. Общая доля детей, попавших в “серую зону”, по описанному в инструкции к набору реагентов интервалу значений (TREC 101-450 копий/ 10^5 ядродержащих клеток; KREC 101-250 копий/ 10^5 ядродержащих клеток) составила 9% от общего числа обследованных новорожденных детей. В свою очередь, группа умеренного риска распределилась так: 75% составили дети по результатам исследования, у которых TREC 101-450 копий/ 10^5 ядродержащих клеток, 21% дети с результатами KREC в диапазоне 101-250 копий/ 10^5 ядродержащих клеток и 4% - дети, у которых по результатам скрининга и TREC, и KREC находились в “серой зоне”.

Результаты представлены на круговой диаграмме (Рисунок 7).

На представленной диаграмме – рисунок 8 (Рисунок 8), иллюстрируется процентное соотношение детей из группы умеренного риска по показателям TREC и KREC относительно субъекта, в котором родились дети. Резких колебаний по количеству полученных результатов из группы умеренного риска по TREC, KREC или TREC и KREC вместе, не отмечалось, из чего можно сделать вывод о том, что среди новорожденных детей в популяции СЗФО, независимо от субъекта, около 9% детей иммунокомпрометированы при рождении и требуют более пристального наблюдения со стороны педиатров и аллергологов-иммунологов по месту жительства, после выписки из родильного дома.

Важно отметить, что по полученным в ходе статистического анализа референсным интервалам для всех групп, кроме экстремально недоношенных и/или маловесных детей, среднее значение TREC соответствовало 300 копиям/ 10^5 ядродержащих клеток, что ниже установленного инструкцией к набору реагентов порога для группы умеренного риска. Полученная нижняя граница нормальных значений при оценке референсных диапазонов свидетельствует о том, что необходимо сузить группу умеренного риска со 101-450, на 101-300 копий/ 10^5 ядродержащих клеток для TREC. Для KREC полученные в ходе проведения анализа данные также позволяют рассчитать пороговые значения для группы умеренного риска. Среднее значение для KREC во всех группах составило 230 копий/ 10^5 ядродержащих клеток, что близко к указанным диапазонам в инструкции к набору реагентов (101-250 копий/ 10^5 ядродержащих клеток).

4 Выводы

1. В группу высокого риска по ВОИ попало 818 новорожденных (0,39%) из 209 741 обследованных на базе СПб ГБУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)» в рамках РНС за 2023-2024 годы.
2. В результате проведенного анализа выявлена статистически значимая взаимосвязь между уровнем TREC, массой тела новорожденного, а также сроком гестации. В группе недоношенных детей с экстремально низкой массой тела меньше 1500 г при рождении расчетные пороговые значения ниже, установленных в РНС. Учитывая, что группа экстремально недоношенных детей значительно меньше остальных, необходимо провести детальный анализ по неделям гестации и массе тела после получения дополнительных результатов скрининга в РФ. Это позволит более точно оценить референсные интервалы в данной группе.
3. Для детей, рожденных на сроке 28 недель и более, с массой тела более 1500 г, значения 2,5 перцентиля значительно выше установленного в РНС порогового уровня и находились в диапазоне от 215,8 до 380 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. Полученные результаты свидетельствуют о возможности выявления детей с ВОИ в диапазоне от 100 до 380 копий/ 10^5 ядродержащих клеток. Повышение пороговых значений в алгоритме скрининга ВОИ приведет к увеличению эффективности РНС, но увеличит группу высокого риска на 9%.
4. Для молекул KREC референсные интервалы демонстрируют, что дети с экстремально низкой массой тела и рожденные до 28 недель имеют уровень KREC выше порогового значения, установленного в РНС (≤ 100 копий/ 10^5 ядродержащих клеток). Исходя из этого, все дети со значениями KREC ≤ 100 копий/ 10^5 ядродержащих клеток должны незамедлительно пройти подтверждающие этапы диагностики. Рассчитанные в рамках данного исследования референсные интервалы сопоставимы со значениями для группы умеренного риска, определенными инструкцией к набору реагентов, используемых для проведения РНС ВОИ в СЗФО. Таким образом, дети с количеством копий ДНК TREC в интервале 101-300/ 10^5 ядродержащих клеток и копий ДНК KREC 101-230/ 10^5 ядродержащих клеток, полученными в рамках РНС, относятся к группе умеренного риска по ВОИ.

5 Обсуждение

За первые 2 года реализации массового обследования новорожденных на ВОИ, РНС зарекомендовал себя как перспективный метод выявления новорожденных не только с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью или агаммаглобулинемией до развития тяжелых инфекционных осложнений, но и детей с более мягкими формами ВОИ.

Понимание референсных интервалов позволяет оценивать биологические вариации и устанавливать адекватные диапазоны показателей для дальнейшего клинического использования. Это, в свою очередь, помогает врачам более точно интерпретировать результаты исследований и принимать обоснованные решения о диагностических и лечебных тактиках.

Референсные интервалы требуют дальнейшего пересмотра и более углубленного подхода, в зависимости от исходных показателей срока гестации и веса новорожденного, направленного на РНС. Однако уже сейчас, по прошествии двух лет, можно говорить о том, что, согласно полученным данным, необходимо оптимизировать алгоритм скрининга и незамедлительно подвергать этапам подтверждающей диагностики детей, рожденных после 33 недели гестации и/или с весом более 1500 грамм.

Полученные в ходе исследования референсные интервалы способствуют более точной интерпретации результатов, а также принятию своевременных и обоснованных диагностических и терапевтических решений.

Помимо новорожденных, попавших в группу высокого риска, и направленных на подтверждающую диагностику, не меньше внимания стоит уделить группе умеренного риска, которая выделяется в инструкции набора реагентов, используемого для проведения РНС в СЗФО. Дети, попавшие в группу умеренного риска, где, по данным многих авторов, а также согласно полученным в ходе данного исследования референсным значениям, могут быть дети с ВОИ, требуют более пристального внимания со стороны педиатрической службы.

Финансирование/ Funding

Исследование проведено без внешнего финансирования. / The study was conducted without external funding.

Конфликт интересов/ Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. / The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Таблица 1. Результаты PNC ВОИ в СЗФО за 2023-2024 годы.
Table 1. Results of Expanded Neonatal Screening for Inborn Errors of Immunity (IEI) in the Northwestern Federal District (NWFD) for 2023-2024.

Субъект СЗФО Region of the NWFD	Количество обследованных новорожденных / Number of examined newborns	Группа высокого риска по ВОИ / High-risk group for IEI		Выявленные молекулярно-генетические/цитогенетические варианты, ассоциированные с ВОИ / Identified molecular genetic/cytogenetic variants associated with IEI	Выявленные случаи с признаками иммунодефицита по ИФТ без установленной молекулярно-генетической/цитогенетической причины/ IFT-positive immunodeficiency cases without confirmed genetic/cytogenetic cause
		в абс. числах	в % от количества новорожденных	в абс. числах	в абс. числах
Республика Карелия	8239	34	0,41	0	1
Республика Коми	12201	46	0,37	1	2
Архангельская область	14013	48	0,34	0	0
Ненецкий автономный округ	853	4	0,46	0	0
Вологодская область	16974	65	0,38	1	4
Калининградская область	14942	57	0,38	2	0

Ленинградская область	17907	84	0,46	3	1
Мурманская область	10427	32	0,30	0	1
Новгородская область	7347	41	0,55	0	0
Псковская область	7805	21	0,26	0	0
г. Санкт-Петербург	99033	369	0,37	15	14
Всего:	209741	818	0,39	22	23

Таблица 2. Референсные интервалы количества молекул TREC и KREC в группах по сроку гестации.
Table 2. Reference intervals of TREC and KREC counts across gestational age groups.

		TREC				KREC		
	До 28 недель Up to 28 weeks	28-33 недели 28-33 weeks	33-36 недель 33-36 weeks	От 37 недель From 37 weeks	До 28 недель Up to 28 weeks	28-33 недели 28- 33 weeks	33-36 недель 33-36 weeks	От 37 недель From 37 weeks
Медиана Median	348,5	1173,6	1657,5	1105	972	1292	1603,8	1083
Нижняя граница (2,5-й перцентиль) Lower bound (2.5th percentile)	27,2	215,8	380	314	119	250,5	322,7	255,9
Верхняя граница (97,5-й перцентиль) Upper bound (97.5th percentile)	2343,5	4096	4687	3479,8	4098,5	4675	5260,4	3620
Среднее Mean	553,7	1411,8	1812,8	1306,8	1230,2	1590,4	1900,3	1296,7
Наименьшее значение Minimum value	5	7	13	0,9	18	15	1	1
Наибольшее значение Maximum value	4876	7284	8153	7931	6603	7796	8032	7984

CI95% для медианы 95% Confidence Interval (CI) for the median	287,7; 409,2	1129,9; 1217,3	1540; 1585	1100,4; 1109,6	874,5; 1069,5	1242,3; 1341,7	1572,6; 1635	1078,2; 1087,9
Нижняя граница (99%) референсный интервал Lower bound (99%) reference interval	13,6	121,4	255,8	237	69,4	161,6	228	185
Нижняя граница (99,9%) референсный интервал Lower bound (99.9%) reference interval	6,3	20	55,6	115	41,7	77,2	62,6	52
Коэффициент ранговой корреляции Спирмена Spearman's rank correlation coefficient	$\rho = 0,373, p < 0,001$	$\rho = 0,256, p < 0,001$	$\rho = 0,086, p < 0,001$	$\rho = -0,0004, p = 0,87$	$\rho = 0,106, p = 0,006$	$\rho = 0,059, p < 0,001$	$\rho = 0,100, p < 0,001$	$\rho = -0,069, p < 0,001$

Таблица 3. Референсные интервалы количества молекул TREC и KREC для групп по весу новорожденных.
Table 3. Reference intervals of TREC and KREC counts across birth weight groups.

	TREC			KREC		
	до 1,5 кг	1,5-2,5 кг	от 2,5 кг	до 1,5 кг	1,5-2,5 кг	от 2,5 кг
Медиана Median	788	1288	1115	1073	1192	1099
Нижняя граница (2,5-й перцентиль) Lower bound (2.5th percentile)	45	287	316	169	235	260
Верхняя граница (97,5-й перцентиль) Upper bound (97.5th percentile)	3495	4201	3528	4034	4543	3720
Среднее Mean	1012	1537	1322	1338	1483	1321
Наименьшее значение Minimum value	5	3,73	0,9	18	1	1
Наибольшее значение Maximum value	6459	7880	8050	7669,173	7822	8031
CI95% для медианы 95% Confidence Interval (CI) for the median	737,29; 838,71	1264,04; 1311,96	1110,35; 1119,65	1016,85; 1129,15	1166,37; 1218,34	1094,03; 1103,97
Нижняя граница (99%) референсный интервал Lower bound (99%) reference interval	27	201	239,45	104,9	164	188

Нижняя граница (99,9%) референсный интервал Lower bound (99.9%) reference interval	7	33	119	53,9	43,81	53
Коэффициент ранговой корреляции Спирмена Spearman's rank correlation coefficient	$\rho = 0,469, p < 0,001$	$\rho = -0,028, p = 0,003$	$\rho = -0,044, p < 0,001$	$\rho = 0,129, p < 0,001$	$\rho = -0,013, p = 0,16$	$\rho = 0,032, p < 0,001$

РИСУНКИ

Рисунок 1. Алгоритм скрининга БОИ в СЗФО.

Figure 1. Algorithm for SCID screening in the Northwestern Federal District (NWFD).

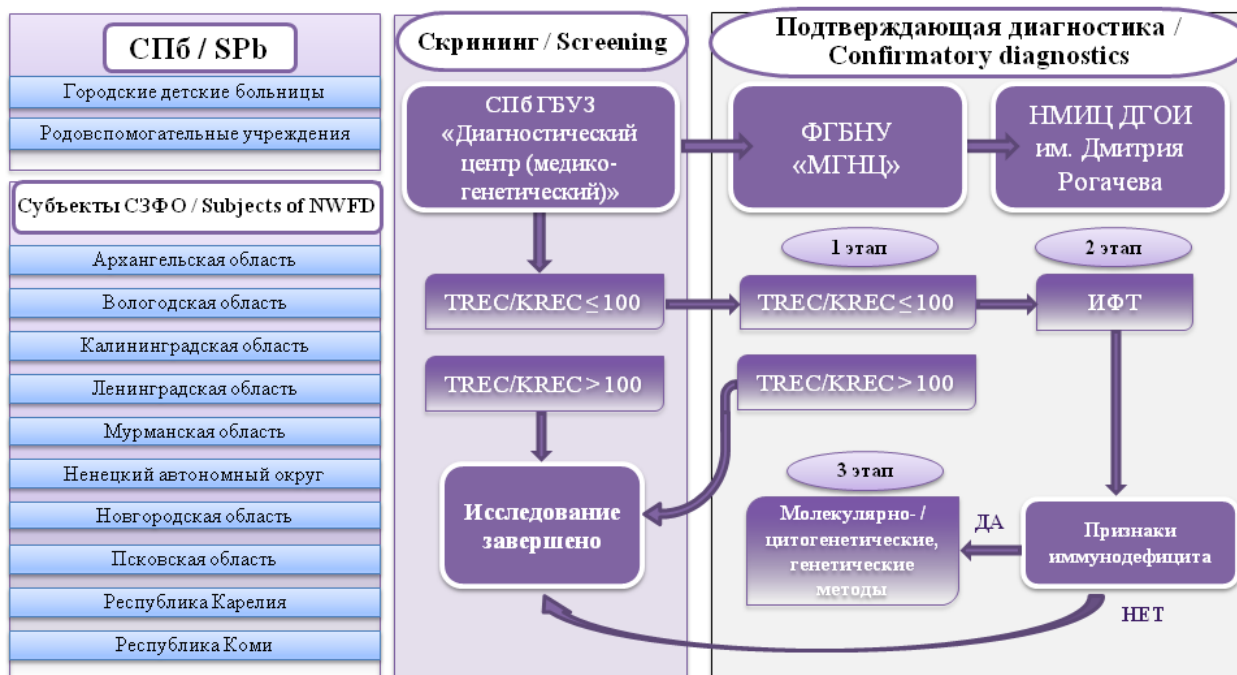


Рисунок 2. Гистограмма распределения значений TREC, KREC среди общей группы обследованных за 2023-2024 год. Ось X: значения TREC, KREC (копий/ 10^5 ядродержащих клеток). Ось Y: плотность распределения.

Figure 2. Histogram of TREC and KREC value distribution among the overall examined group for 2023-2024. X-axis: TREC and KREC values (copies per 10^5 cells). Y-axis: Density of result distribution.

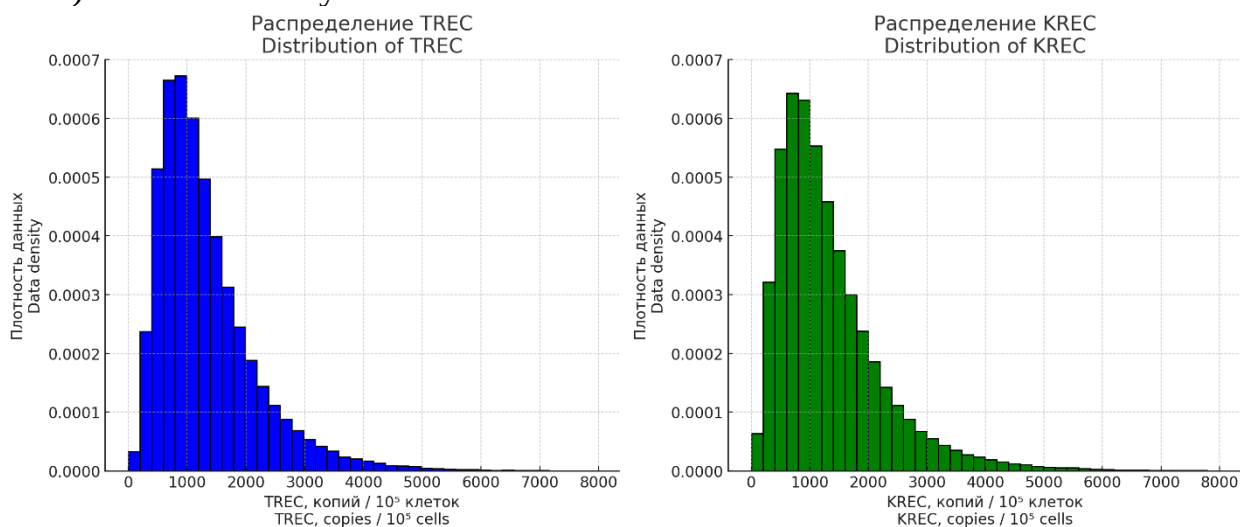


Рисунок 3. Распределение значений TREC и KREC в зависимости от срока гестации.

Figure 3. TREC and KREC distribution by gestational age.

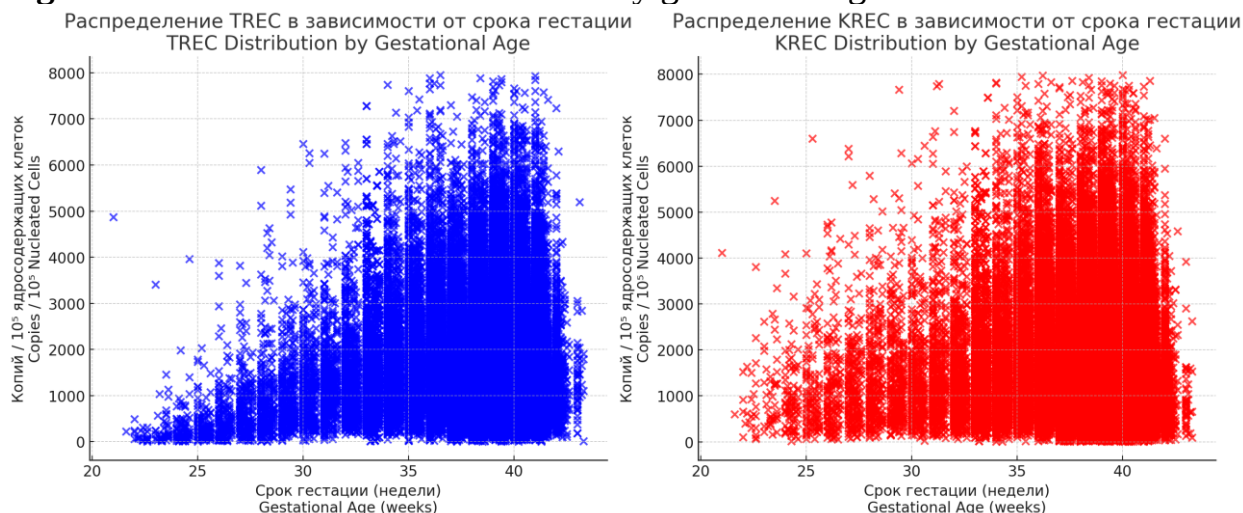


Рисунок 4. Распределение значений TREC и KREC в группах разного срока гестации. Пороговое значение — 100 копий / (10^5) ядродержащих клеток (отмечено красной линией).

Figure 4. Distribution of TREC and KREC values across different gestational age groups. Threshold value — 100 copies / (10^5) nucleated cells (indicated by a red line).

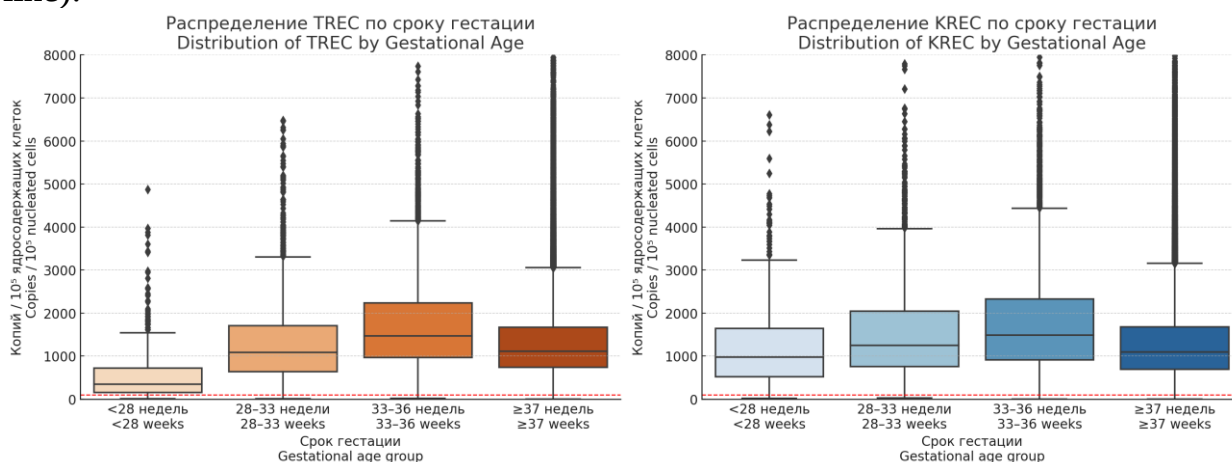


Рисунок 5. Распределение значений TREC и KREC в зависимости от массы тела новорожденных.

Figure 5. Distribution of TREC and KREC values by newborn body weight.

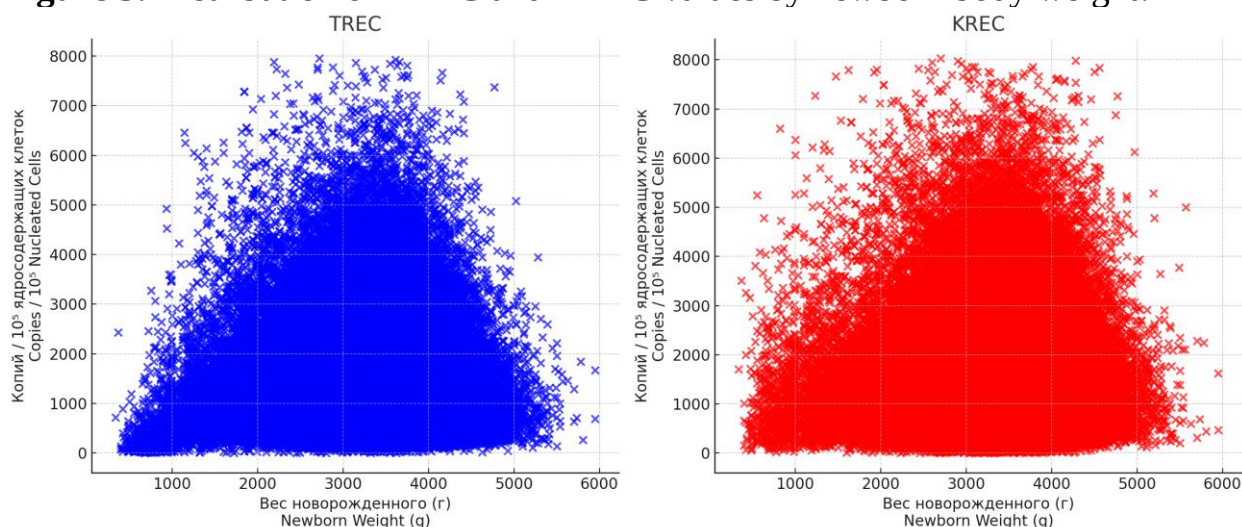


Рисунок 6. Распределение значений TREC и KREC в группах разного веса новорожденных. Пороговое значение — 100 копий / (10^5) ядросодержащих клеток (отмечено красной линией).

Figure 6. Distribution of TREC and KREC values across different birth weight groups. Threshold value — 100 copies / (10^5) nucleated cells (indicated by a red line).

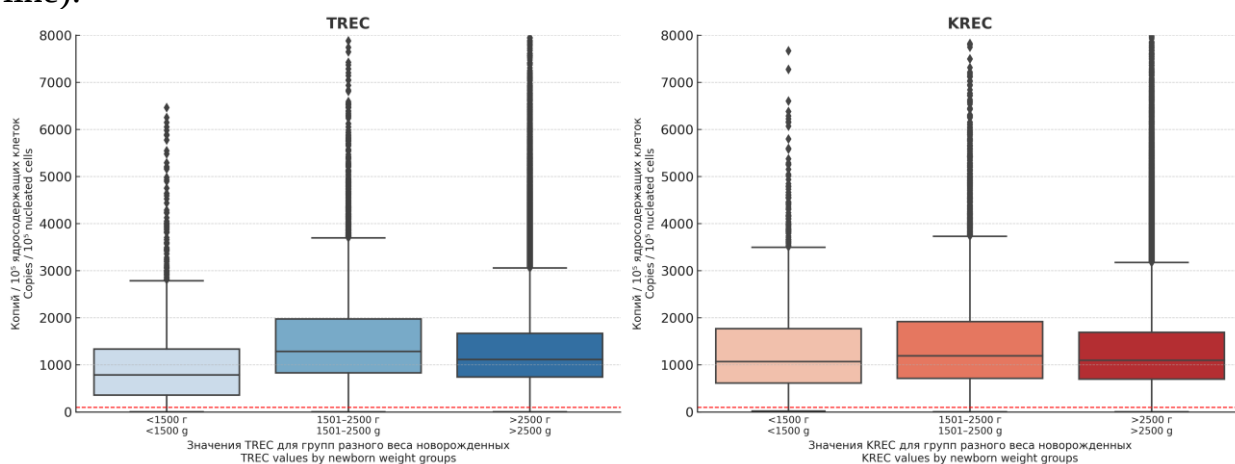


Рисунок 7. Распределение группы умеренного риска по TREC, KREC.
Figure 7. Distribution of the moderate risk group by TREC, KREC.

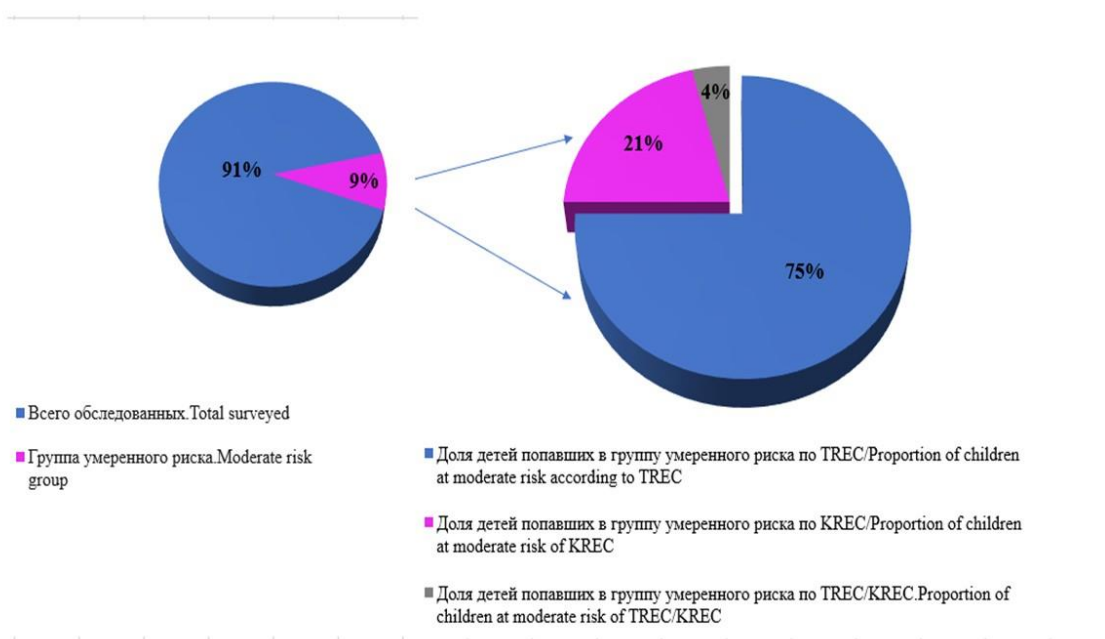
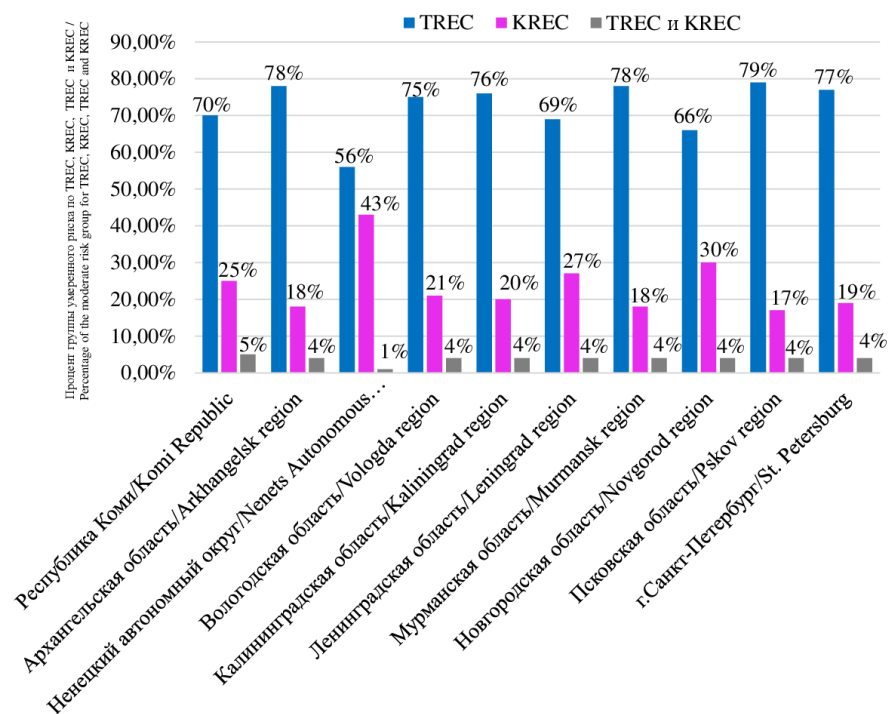


Рисунок 8. Распределение групп умеренного риска по TREC и KREC в СЗФО в 2023-2024 г.

Figure 8. Distribution of medium-risk groups based on TREC and KREC in the Northwestern Federal District (SZFO) in 2023-2024.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Анастасия Юрьевна Лобенская, Заведующий биохимической лабораторией, врач клинической лабораторной диагностики. СПб ГБУЗ "Диагностический центр (медико-генетический)";

адрес: 194044, Санкт-Петербург, ул. Тобольская, дом 5, Россия;

телефон/факс: 8 (812) 241-24-85 / 8(911)846-68-64;

e-mail: lobenskaya@mail.ru

Anastasia Lobenskaya, Head, Laboratory of biochemistry, Doctor of clinical laboratory diagnostics;

Saint-Petersburg State Medical Diagnostic Center (Genetic Medical Center);

address: 194044 Saint Petersburg, Tobolskaiia st. 5, Russia;

telephone/fax: 8 (812) 241-24-85 / 8(911)846-68-64;

e-mail: lobenskaya@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Анастасия Константиновна Петриченко, Врач клинической лабораторной диагностики;

Anastasia Petrichenko, Doctor of clinical laboratory diagnostics;

Танзила Уматгиреевна Евлоева, Врач клинической лабораторной диагностики;

Tanzila Evloeva, Doctor of clinical laboratory diagnostics;

Анастасия Анатольевна Кругликова, К.б.н., Биолог;

Anastasia Kruglikova, PhD, Biologist;

Елена Андреевна Серебрякова, Заведующий консультативным отделением, врач-генетик высшей квалификационной категории;

Elena Serebryakova, Head of the Consultative Department, Medical Geneticist of the Highest Qualification Category;

Андрей Владимирович Марахонов, к.б.н., Доцент, Заведующий лабораторией наследственных нарушений иммунитета;

Andrey Marakhonov, PhD, Associate Professor, Head of the Laboratory of Hereditary Immune Disorders;

Маргарита Олеговна Массальская, Биолог;

Margarita Massalskaya, Biologist;

Ксения Валерьевна Шедова, Врач клинической лабораторной диагностики;

Kseniia Shedova, Doctor of clinical laboratory diagnostics;

Анастасия Олеговна Вечкасова, Врач-генетик;
Anastasia Vechkasova, Doctor geneticist;

Антонина Юрьевна Морозова, Биолог высшей квалификационной категории;
Antonina Morozova, Biologist of the Highest Qualification Category;

Александр Леонидович Коротеев, К.м.н., Главный врач, главный внештатный специалист по медицинской генетике Комитета по здравоохранению Санкт-Петербурга и Министерства здравоохранения РФ в СЗФО;

Alexander Koroteev, PhD, Chief Physician, Chief freelance Specialist in medical genetics of the St. Petersburg Health Committee and the Ministry of Health of the Russian Federation in the Northwestern Federal District;

Ирина Александровна Тузанкина, Д.м.н., Профессор, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник. ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; ведущий научный сотрудник химико-технологический институт ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»;

Irina Tuzankina, MD, PhD, Prof., Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Researcher at the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Leading Researcher at the Chemical Technology Institute of the Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin (UrFU).

Блок 3. Метаданные статьи

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕФЕРЕНСНЫХ ИНТЕРВАЛОВ ЭКСЦИЗИОННЫХ КОЛЕЦ TREC И KREC ПО ИТОГАМ ПРОВЕДЕНИЯ СКРИНИНГА НОВОРОЖДЕННЫХ НА ВРОЖДЕННЫЕ ОШИБКИ ИММУНИТЕТА В 2023-2024 ГОДАХ В СИСТЕМЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
RESULTS OF NEWBORN SCREENING FOR INBORN ERRORS OF IMMUNITY IN THE HEALTHCARE SYSTEM OF THE NORTHWESTERN FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN FEDERATION FOR 2023-2024

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

РЕФЕРЕНСНЫЕ ИНТЕРВАЛЫ TREC И KREC В РНС
REFERENCE INTERVALS OF TREC AND KREC IN NBS

Ключевые слова: Врожденные ошибки иммунитета, первичный иммунодефицит, расширенный неонатальный скрининг, референсные интервалы, KREC, TREC.

Keywords: Expanded Neonatal Screening, Inborn Errors of Immunity, KREC, Primary Immunodeficiency, reference intervals, TREC.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 11,

Количество таблиц – 3,

Количество рисунков – 8.

30.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ф№ ссыл ки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или её DOI
1	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.	Voronin S.V., Kutsev S.I. Neonatal screening for hereditary diseases in Russia: yesterday, today, and tomorrow. <i>Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie</i> [Neonatology: News, Opinions, Training], 2022, Vol. 10, no. 4, pp. 34–39. (In Russ.)	DOI: 10.33029/2308-2402-2022-10-4-34-39
2	Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Ochs H.D., Oksenhendler E., Picard C., Puck J., Torgerson T.R., Casanova J.L., Sullivan K.E. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee // <i>J. Clin. Immunol.</i> 2020. Vol. 40, no. 1., pp. 24–64.	Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Chatila T., Cunningham-Rundles C., Etzioni A., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Ochs H.D., Oksenhendler E., Picard C., Puck J., Torgerson T.R., Casanova J.L., Sullivan K.E. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee // <i>J. Clin. Immunol.</i> 2020. Vol. 40, no. 1., pp. 24–64.	DOI: 10.1007/s10875-019-00737-x
3	Кузьменко Н.Б., Щербина А.Ю. Классификация первичных иммунодефицитов как отражение современных представлений об их патогенезе	Kuzmenko N.B., Shcherbina A.Yu. Classification of primary immunodeficiencies as a reflection of modern ideas about their pathogenesis and	DOI: 10.17650/2311-1267-2017-4-3-51-57.

	и терапевтических подходах // Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2017. Т. 4, № 3. С. 51–57.	therapeutic approaches. <i>Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology.</i> , 2017, Vol. 4, no. 3, pp. 51-57. (In Russ.)	
4	Cornel M.C., Rigter T., Weinreich S.S., Burgard P., Hoffmann G.F., Lindner M., Loeber J.G., Rupp K., Taruscio D., Vittozzi L. A framework to start the debate on neonatal screening policies in the EU: an Expert Opinion Document // <i>European Journal of Human Genetics</i> . 2014. Vol. 22, no. 1, pp. 12–17.	Cornel M.C., Rigter T., Weinreich S.S., Burgard P., Hoffmann G.F., Lindner M., Loeber J.G., Rupp K., Taruscio D., Vittozzi L. A framework to start the debate on neonatal screening policies in the EU: an Expert Opinion Document // <i>European Journal of Human Genetics</i> . 2014. Vol. 22, no. 1, pp. 12–17.	DOI: 10.1038/ejhg.2013.90.
5	Гордукова М.А., Корсунский И.А., Чурсинова Ю.В., Бяхова М.М., Оскорбин И.П., Продеус А.П., Филипенко М.Л. Определение референсных интервалов TREC и KREC для скрининга новорожденных с иммунодефицитными состояниями в РФ // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21, № 3. С. 527–538.	Gordukova M.A., Korsunsky I.A., Chursinova Yu.V., Byakhova M.M., Oscorbin I.P., Prodeus A.P., Filipenko M.L. Determining reference ranges for TREC and KREC assays in immune deficiency screening of newborns in Russian Federation // <i>Medical Immunology (Russia)</i> . 2019. Vol. 21, no. 3, pp. 527–538. (In Russ.)	DOI: 10.15789/1563-0625-2019-3-527-538
6	Кондратенко И.В. Первичные иммунодефициты // Медицинская иммунология. 2005. Т. 7, № 5-6. С. 467–476.	Kondratenko I.V. Primary immunodeficiencies // <i>Medical Immunology (Russia)</i> . 2005. Vol. 7, no. 5-6, pp. 467–476. (In Russ.)	DOI: 10.15789/1563-0625-2005-5-6-467-476
7	Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Oksenhendler E., Picard C., Puel A., Puck J., Seppänen M.R.J.,	Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Franco J.L., Holland S.M., Klein C., Morio T., Oksenhendler E., Picard C., Puel A., Puck J.,	DOI: 10.1007/s10875-022-01289-3

	Somech R., Su H.C., Sullivan K.E., Torgerson T.R., Meyts I. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee // <i>Journal of Clinical Immunology</i> . 2022. Vol. 42, no. 7, pp. 1473–1507	Seppänen M.R.J., Somech R., Su H.C., Sullivan K.E., Torgerson T.R., Meyts I. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee // <i>Journal of Clinical Immunology</i> . 2022. Vol. 42, no. 7, pp. 1473–1507	
8	Poli M.C., Aksentijevich I., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Hambleton S., Klein C., Morio T., Picard C., Puel A., Rezaei N., Seppänen M.R.J., Somech R., Su H.C., Sullivan K.E., Torgerson T.R., Meyts I., Tangye S.G. Human Inborn Errors of Immunity: 2024 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. International Union of Immunological Societies, 2025. 79 p.	Poli M.C., Aksentijevich I., Bousfiha A., Cunningham-Rundles C., Hambleton S., Klein C., Morio T., Picard C., Puel A., Rezaei N., Seppänen M.R.J., Somech R., Su H.C., Sullivan K.E., Torgerson T.R., Meyts I., Tangye S.G. Human Inborn Errors of Immunity: 2024 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. International Union of Immunological Societies, 2025. 79 p.	URL: https://wp-iuis.s3.eu-west-1.amazonaws.com/app/uploads/2025/01/08170257/IEI-Final-Update-of-2024-Report-Jan-2025.pdf
9	Корсунский И.А., Кудлай Д.А., Продеус А.П., Щербина А.Ю., Румянцев А.Г. Неонатальный скрининг на первичные иммунодефицитные состояния и Т-/В-клеточные лимфопении как основа формирования групп риска детей с врожденными патологиями // <i>Педиатрия</i> . 2020. Т. 99, № 2. С. 8-15.	Korsunsky I.A., Kudlay D.A., Prodeus A.P., Shcherbina A.Yu., Rumyantsev A.G. Neonatal screening for primary immunodeficiency conditions and T-/B-cell lymphopenias as a basis for forming risk groups of children with congenital pathologies // <i>Pediatrics</i> , 2020. Vol. 99, no. 2., 8-15. (In Russ.)	DOI: 10.24110/0031-403X-2020-99-2-8-15

10	Продеус А.П., Одинаева Н.Д., Воронин С.В., Захарова И.Н., Тузанкина И.А., Володин Н.Н., Жданов К.В., Пампура А.Н., Садыкова Д.И., Кондратьева Е.И., Корсунский А.А., Дегтярева Е.А., Савостьянов К.В., Трусова С.А., Лобенская А.Ю., Никонова Е.С., Лебедева А.С., Лошкова Е.В., Денисова В.Д., Румянцев А.Г. Методические рекомендации по маршрутизации, мониторингу и тактике ведения иммунокомпрометированных детей групп риска и пациентов с врожденными ошибками иммунитета // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2024. Т. 103, № 6. С. 218–245	Prodeus A.P., Odinaeva N.D., Voronin S.V., Zakharova I.N., Tuzankina I.A., Volodin N.N., Zhdanov K.V., Pampura A.N., Sadykova D.I., Kondratyeva E.I., Korsunsky A.A., Degtyareva E.A., Savostyanov K.V., Trusova S.A., Lobenskaya A.Yu., Nikonova E.S., Lebedeva A.S., Loshkova E.V., Denisova V.D., Rumyantsev A.G. Guidelines for routing, monitoring and management tactics of immunocompromised children at risk and patients with congenital immune defects // <i>Pediatrics n.a. G.N. Speransky</i> , 2024. Vol. 103, no. 6, pp. 218-245. (In Russ.)	DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-6-218-245
11	Неонатальный скрининг: национальное руководство / под ред. Куцева С.И. ГЭОТАР-Медиа, 2024. 360 с.	Neonatal'nyi skrinig: National leadership. Moscow: GEOTARMedia; 2024. 360 p (In Russ.)	DOI: 10.33029/9704-7737-3-NEO-2023-1-360
12	Воронин С.В., Зинченко Р.А., Ефимова И.Ю., Куцев С.И., Марахонов А.В., Мухина А.А., Новичкова Г.А., Першин Д.Е., Родина Ю.А., Румянцев А.Г., Щербина А.Ю. Неонатальный скрининг, постнатальная диагностика и тактика доклинического лечения и профилактики первичных иммунодефицитов	Voronin S.V., Zinchenko R.A., Efimova I.Yu., Kutsev S.I., Marakhonov A.V., Mukhina A.A., Novichkova G.A., Pershin D.E., Rodina Yu.A., Rumyantsev A.G., Shcherbina A.Yu. Neonatal screening, postnatal diagnosis and tactics of preclinical treatment and prevention of primary	DOI: 10.24110/0031-403X-2023-102-2-11-33

	у детей // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2023. Т. 102, № 2. С. 11–33.	immunodeficiencies in children. // Guidelines by the experts from the National Association of Experts in Primary Immunodeficiencies (NAEPID) and the Association of Medical Genetics (AMG) of Russia // <i>Pediatrics n.a. G.N. Speransky</i> , 2023, Vol. 102, no. 2, pp. 11-33 (In Russ.)	
13	Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Останкова Ю.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян А.А. Определение референтных интервалов циркулирующих в крови эксцизионных колец TREC и KREC у лиц старше 18 лет // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 6. С. 1227-1236.	Saitgalina M.A., Liubimova N.E., Ostankova Yu.V., Kuznetzova R.N., Totolian A.A. Determination of reference values for TREC and KREC in circulating blood of the persons over 18 years // <i>Medical Immunology</i> , 2022, Vol. 24, no. 6, pp. 1227-1236 (In Russ.)	DOI: 10.15789/1563-0625-DOR-2587
14	Дерябина С.С., Тузанкина И.А., Черемохин Д.А., Шершнева В.Н., Кудлай Д.А., Литвинова М.Ю., Власова Е.В. Пилотный проект неонатального скрининга на первичные иммунодефициты в Свердловской области – от скрининга к диспансеризации // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2023. Т. 102, № 3. С. 95–106.	Deryabina S.S., Tuzankina I.A., Cheremokhin D.A., Shershnev V.N., Kudlay D.A., Litvinova M.Yu., Vlasova E.V. Pilot regional project of neonatal screening for primary immunodeficiencies in Sverdlovsk Oblast of Russia. From screening to prophylactic medical checkup // <i>Pediatrics n.a. G.N. Speransky</i> . 2023. Vol. 102, no. 3, pp. 95–106. (In Russ.)	DOI: 10.24110/0031-403X-2023-102-3-95-106
15	ГОСТ Р ИСО 20395—2023 «Биотехнология. Требования к оценке эффективности методов количественного определения последовательностей нуклеиновых кислот»	GOST R ISO 20395—2023. Biotechnology. Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences — Quantitative PCR and	https://meganorm.ru/Data/810/81003.pdf

	мишеней. Количественная ПЦР и цифровая ПЦР» // М.: Стандартиформ, 2023. 50 с. (Национальные стандарты Российской Федерации).	digital PCR. Moscow: Standartinform, 2023. 50 p. (National Standards of the Russian Federation). Enacted on March 1, 2024. Identical to ISO 20395:2019.	
16	ГОСТ Р 53022.3—2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов» // М.: Стандартиформ, 2009. — 18 с. — (Национальные стандарты Российской Федерации). — Введен в действие с 1 января 2010 г.	GOST R 53022.3—2008. Clinical laboratory testing technologies. Requirements for the quality of clinical laboratory investigations. Part 3. Guidelines for evaluating the clinical informativeness of laboratory tests. Moscow: Standartinform, 2009. 18 p. (National Standards of the Russian Federation). Enacted on January 1, 2010.	https://meganorm.ru/Data2/1/4293829/4293829238.pdf
17	Horn P.S., Pesce A.J. Reference intervals: an update // <i>Clinica Chimica Acta</i> . 2003. Vol. 334, no. 1–2, pp. 5–23.	Horn P.S., Pesce A.J. Reference intervals: an update // <i>Clinica Chimica Acta</i> . 2003. Vol. 334, no. 1–2, pp. 5–23.	DOI: 10.1016/s0009-8981(03)00133-5
18	Linnet K. Two-stage transformations for normalization of reference distributions evaluated // <i>Clinical Chemistry</i> . 1987. Vol. 33, pp. 381–386.	Linnet K. Two-stage transformations for normalization of reference distributions evaluated // <i>Clinical Chemistry</i> . 1987. Vol. 33, pp. 381–386.	DOI: 10.1093/clinchem/33.3.381