

З.А. Кусова, Н.В. Петрова, Т.А. Васильева, Н.Ю. Каширская, Р.А. Зинченко, Н.И. Капранов

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

Результаты массового скрининга новорожденных на муковисцидоз в Москве

Контактная информация:

Кусова Залина Ахсаровна, врач-генетик научно-клинического отделения муковисцидоза Медико-генетического научного центра РАМН

Адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1, тел.: (499) 254-90-49, e-mail: zalinka-08@mail.ru

Статья поступила: 26.10.2010 г., принята к печати: 13.12.2010 г.

Неонатальный скрининг на муковисцидоз предполагает раннюю пресимптоматическую диагностику заболевания у новорожденных. Целью исследования было определение эффективности неонатального скрининга на муковисцидоз в Москве. В работе представлены результаты молекулярно-генетического исследования образцов ДНК 1260 новорожденных с гипертрипсиногемией (уровень иммунореактивного трипсина при первом тестировании — ИРТ I > 70 нг/мл) на наиболее частые мутации гена CFTR. Все дети родились в Москве в 2008 г. и на основании результата определения ИРТ I составили группу риска по данному заболеванию. Мутации обнаружены у 53 индивидов (47 — гетерозиготы, 6 — гомозиготы). Доля ложноотрицательных результатов составила 0,16%, что сопоставимо с общеевропейскими данными.

Ключевые слова: новорожденные, неонатальный скрининг, муковисцидоз, гипертрипсиногемия, ген CFTR, мутации.

Первые попытки проведения неонатального скрининга на муковисцидоз (МВ) предпринимались в Европе еще в начале 70-х годов прошлого столетия. В 1979 г. в ходе многочисленных исследований, учеными из Новой Зеландии и Австралии был установлено, что в плазме крови у новорожденных с МВ многократно превышен уровень иммунореактивного трипсина (ИРТ). Это послужило толчком к началу массового обследования новорожденных на МВ с использованием ИРТ в качестве основного биохимического маркера скрининга [1]. Открытие в 1989 г. гена муковисцидоза и идентификация специфических мутаций в гене CFTR¹ в общей популяции, позволило включить в протоколы скрининга анализ ДНК [2]. Европейской ассоциацией МВ была

создана рабочая группа по неонатальному скринингу. В 2007 г. в нее включены представители из России. Основной задачей группы является сбор и анализ данных из разных стран и регионов Европы для оптимизации программ массового обследования новорожденных на наследственные заболевания. По данным Европейского консенсуса, до 2008 г. по программе неонатального скрининга в Европе ежегодно обследовалось более 1,6 млн новорожденных и выявлялось порядка 400 больных детей в год. Благодаря внедрению в 2008 г. программы неонатального скрининга на МВ в Великобритании и России число детей, прошедших массовое обследование возросло до 3 млн в год.

¹ CFTR — Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator — трансмембранный регулятор муковисцидоза — белок, участвующий в транспорте ионов хлора через мембрану клетки, а также название гена, кодирующего этот белок.

Z.A. Kusova, N.V. Petrova, T.A. Vasilyeva, N.Yu. Kashirskaya, R.A. Zinchenko, N.I. Kapranov

Medical Genetics Scientific Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Results of mass screening of newborns with cystic fibrosis in Moscow

Neonatal screening of cystic fibrosis is able to provide early presymptomatic diagnosis of the disease in newborns. The objective of this study was to evaluate an effectiveness of neonatal cystic fibrosis screening in Moscow. Authors studied molecular-genetical samples of DNA in 1,260 newborns with hypertrypsinogenemia (the level of immunoreactive trypsin in first test — IRT I was > 70 ng/ml) for the presence of most frequent mutations of gene CFTR. All children were born in Moscow in 2008. They formed risk group because of results of IRT I test. Mutations were detected in 53 persons (47 heterozygotes and 6 homozygotes). The rate of false-negative results was 0.16%; the result was similar to European data.

Key words: newborns, neonatal screening, cystic fibrosis, hypertrypsinogenemia, CFTR gene, mutations.

Целью неонатального скрининга на МВ является выявление таких пациентов с минимальным количеством ложноположительных результатов [2]. Этот результат может быть достигнут путем использования различных протоколов скрининга [2–4]. В настоящее время в Европе насчитывается около 26 вариантов программ неонатального скрининга, включающих от 2 до 4 последовательных этапов обследования. Наибольшее распространение нашли такие схемы, как ИРТ/ИРТ, ИРТ/ДНК, ИРТ/ДНК/ИРТ [5–7]. Первый этап всех протоколов скрининга — определение уровня ИРТ в высушенном пятне крови новорожденного на первой неделе жизни. Такой результат теста является весьма чувствительным (85–90%), но не специфичным признаком МВ. Последнее связано с тем, что причиной гипертрипсиногемии в неонатальном периоде помимо МВ могут быть внутриутробная гипоксия плода, внутриутробные инфекции, перинатальный стресс, конъюгационная желтуха новорожденных, хромосомные аберрации (трисомии 13 и 18 хромосом), врожденная почечная недостаточность, атрезия тонкого кишечника, а также нефрогенный несахарный диабет [8–11]. В качестве теста 2-го уровня (дополнительного маркера скрининга МВ) изучается возможность использования белка, ассоциированного с панкреатитом (РАР) [12]. Были определены пороговые значения концентрации РАР (норма ≤ 8 нг/мл) в периферической крови новорожденных группы риска по МВ и разработаны комбинированные наборы для оценки уровня РАР или ИРТ + РАР [13]. По мнению ряда авторов, использование РАР в качестве биохимического маркера скрининга на МВ является альтернативой ДНК-диагностики. С одной стороны, этот тест экономически более выгоден, чем проведение анализа ДНК, с другой — позволяет избежать проблем, связанных с необходимостью получения информированного согласия родителей ребенка на проведение исследования, что имеет место при ДНК-диагностике в большинстве европейских стран. К тому же использование дополнительного маркера, возможно, приведет к снижению доли ложноотрицательных результатов скрининга. Планируется проведение пилотных исследований по изучению эффективности схемы ИРТ + РАР в Нидерландах, Германии и Франции [13]. Все вышеперечисленные программы могут и должны комбинироваться и проводиться у родственников, идентифицированных скринингом, как в семьях, имеющих больных МВ, так и в популяции в целом (каскадный скрининг).

С 2006 г. в ряде регионов, а с 1 января 2007 г. во всех субъектах Российской Федерации (РФ) МВ был включен в перечень наследственных заболеваний (наряду с фенилкетонурией, галактоземией, гипотиреозом и адреногенитальным синдромом), подлежащих обязательно неонатальному скринингу в рамках национального приоритетного проекта «Здоровье». Протокол скрининга включает 4 этапа: ИРТ I, ИРТ II (в норме ИРТ I < 70 нг/мл, ИРТ II < 40 нг/мл), потовый тест и ДНК-диагностику, причем только первые три являются обязательными [3, 11]. Генетическое обследование проводится с целью обнаружения 29 наиболее частых в российской популяции мутаций гена CFTR, составляющих 70–75% от общего числа мутантных аллелей гена. Потовая проба — третий этап протокола скрининга на МВ. В РФ зарегистрированы и успешно применяются две системы для анализа проводимости пота (непрямое определение хлоридов). Система для сбора и анализа пота «Macroduct» в комплексе с потовым анализатором «Sweat-Chek» (Вескор, США) позволяет провести потовую пробу вне лабораторных условий, время сбора пота составляет 30 мин, успешно применяется у детей с первых месяцев жизни. Специально для

обследования новорожденных был разработан аппарат «Nanoduct» (Вескор, США), объединяющий в себе систему для стимуляции потоотделения путем электрофореза 0,1% пилокарпина и анализатор проводимости пота. Благодаря минимальному количеству необходимой для теста потовой жидкости (3–6 мкл), этот аппарат незаменим при обследовании новорожденных в рамках массового скрининга. Положительными считаются результаты > 80 ммоль/л, показатели 60–80 ммоль/л — пограничными, < 60 ммоль/л — отрицательными. Важным достижением практического здравоохранения является централизованная закупка аппаратов потового анализатора «Nanoduct» для всех субъектов РФ.

Регулярность наблюдения новорожденных с установленным диагнозом МВ следующая: каждые 2 нед до 3 мес жизни ребенка, затем — ежемесячно до полугодия, потом каждые 2 мес с полугодия до 1 года и далее — ежеквартально. Особенно важно ежемесячное динамическое наблюдение за пациентами без клинических проявлений с определением массо-ростовых показателей, проведением копрологического исследования (не менее 1 раза в месяц до 1 года жизни), определением уровня панкреатической эластазы в кале (2 раза за первый год жизни), а также роста микрофлоры в посевах мазка из ротоглотки и клинический анализ крови (1 раз в 3 мес). В случае развития обострения бронхолегочного процесса или отсутствия желаемого контроля над симптомами заболевания может потребоваться более глубокое обследование (рентгенографическое исследование легких или компьютерная томография, липидограмма кала, биохимический анализ крови, протеинограмма и др.) [3, 14].

Целью настоящего исследования стало изучение эффективности массового обследования новорожденных на МВ в рамках программы неонатального скрининга в Москве.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании анализировали образцы высушенных пятен крови 1260 новорожденных с гипертрипсиногемией (ИРТ I > 70 нг/мл). Все дети родились в Москве в 2008 г. и на основании результатов определения уровня ИРТ составили группу риска по МВ.

Выделение геномной ДНК проводили из образцов высушенных пятен крови, нанесенных на фильтровальную бумагу, с использованием набора реактивов Diatom DNA Prop (Изоген, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. В работе были использованы следующие реактивы: акриламид, бис-акриламид, двунариевая соль диамина-тетрауксусной кислоты (ЭДТА), гидроксиметил-аминометан (Трис), хлорид магния, сульфат аммония, Twin-20, хлорид натрия, бромид этидия, дезоксирибонуклеотидтрифосфаты dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Хеликон, Россия), GeneRuler™ 50 п.н. ДНК-маркер (Fermentas, Литва); рестриктазы HinfI, TaqI, протеиназа K, Taq-полимераза (Хеликон, Россия). Последовательности олигонуклеотидных праймеров, фланкирующие анализируемые участки 10 экзона (мутации F508del, 1677delTA, I507del), 13 экзона (мутации 2143delT, 2184insA), 3 экзона (мутация 394delTT) и 19 экзона (мутация 3821delT), а также точки разрыва делеции CFTRdele2,3 (21kb) (1 интрон — 3 экзон), разработаны в лаборатории ДНК-диагностики наследственных болезней МГНЦ РАМН. Идентификацию восьми мутаций гена CFTR (CFTRdele2,3 (21kb), F508del, 1677delTA, I507del, 2143delT, 2184insA, 394delTT, 3821delT) проводили методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин амплифицированных фрагментов ДНК и образую-

щихся гетеродуплексов. ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Геномную ДНК (0,5 мкг) амплифицировали в 20 мкл реакционной смеси (67 мМ Трис [рН8,4], 16,6 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,001% Tween20), содержащей по 200 мМ каждого дезоксирибонуклеотидтрифосфата, по 0,5 мкл каждого праймера (2 о.е./мл), 2,5 мМ MgCl_2 и 1,5 е.а. (единицы активности) Taq-полимеразы.

Условия амплификации: первичная денатурация при 94°C в течение 3 мин; далее — 33 цикла: 94°C — 10 сек, 60°C — 10 сек, 72°C — 10 сек, с заключительной элонгацией при 72°C в течение 3 мин. В результате мультиплексной ПЦР синтезируются фрагменты ДНК разной длины (табл. 1). Разделение продуктов амплификации проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле (акриламид и бис-акриламид в соотношении 19:1) в течение 3 ч при 280 В. Гель окрашивали бромистым этидием, визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с помощью системы (Doc Print Vilber Lourmat, Франция).

Для определения нуклеотидных замен проводили гидролиз амплифицированных фрагментов соответствующей рестриктазой. 20 мкл смеси для рестрикции содержали 5 мкл ПЦР-продукта, 15 мкл буфера и 5 е.а. рестриктазы. Полученную смесь инкубировали в течение 16 ч при температуре 37°C.

Сравнение популяционных частот мутаций в различных выборках проводили с использованием критерия Фишера согласно общепринятой методике [15]. Частоту мутантных аллелей гена CFTR рассчитывали по формуле:

$$p = n/2N,$$

где n — число мутантных аллелей гена CFTR, N — объем выборки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования из 1260 проанализированных образцов ДНК мутации были обнаружены у 53 индивидов (47 — гетерозиготы, 6 — гомозиготы). Число мутантных аллелей гена CFTR составило 59 (2,3%), в том числе: F508del обнаружена в 42 (71%) случаях, CFTRdele2,3 (21kb) — в 8 (14%), 2184insA — в 3 (5%), 3821delT — в 1 (2%), L138insA — в 3 (5%), 2143delT — в 2 (3%) образцах ДНК. Частота мутаций F508del и CFTRdele2,3 (21kb), так называемая «славянская» мутация, соответ-

ствует общепопуляционным данным [16]. Мы установили, что частота мутантных аллелей гена у новорожденных с гипертрипсиногенемией (с первым положительным тестом на ИРТ) составляет 0,02103, что значительно выше частоты мутаций в российской популяции (0,00642) [17], определенной нами ранее ($p = 0,003$).

Из числа новорожденных с установленным генотипом CFTR ($n = 53$) только у 17 (32%) выявлено повышение уровня ИРТ II > 40 нг/мл на ретесте. Всем проведена потовая проба согласно принятой схеме [2, 18]. У 8 (47%) из обследованных, результат потовой пробы был отрицательным, и диагноз МВ исключен. В 2 (12%) случаях результат потовой пробы имел пограничные значения (60–80 ммоль/л), требующие дополнительного обследования. Этих детей в течение года наблюдали в отделении муковисцидоза ДГКБ № 13 им. Н.Ф. Филатова (Москва). Повторные исследования потовой жидкости не выявили изменений, характерных для заболевания, диагноз был исключен. В 7 (41%) случаях диагноз МВ был подтвержден.

В ходе исследования выявлены двое детей с генотипами CFTRdele2,3 (21kb)/CFTRdele2,3 (21kb) и F508del/L138insA, которые не вошли в группу риска по наследственным заболеваниям. Причиной этого стал отрицательный результат скрининга — положительным был только первый из двух последовательно проведенных тестов (у одного ребенка ИРТ I был равен 236 нг/мл, ИРТ II — 12 нг/мл; у второго — ИРТ I и ИРТ II составили 92 и 28 нг/мл, соответственно). Первому ребенку на момент постановки диагноза исполнился 1 год 4 мес. При осмотре врачами отделения МВ массо-ростовые показатели ребенка соответствовали возрастной норме, в анамнезе — неоднократные острые респираторные инфекции, жирный стул, госпитализация с подозрением на острую кишечную непроходимость. Результаты исследования потовой жидкости были положительными (> 80 ммоль/л). В настоящее время ребенок находится под наблюдением в Московском центре МВ. Второй ребенок был выявлен нами позже. На момент обнаружения заболевания ему исполнилось 2 года 8 мес. До 1,5 лет ребенок наблюдался в детской поликлинике по месту жительства. В анамнезе — рецидивирующий обструктивный бронхит. Пригласить родителей на консультацию и обследование ребенка в центр МВ нам не удалось, т.к. семья ребенка переехала из Москвы. Таким образом, в 2008 г. из 1260 новорожденных с первым положительным результатом ИРТ повторный ИРТ-тест имел ложноотрицательный результат в двух случаях, что составляет 0,16%. Это подтверждает тот факт, что определение уровня ИРТ в крови новорожденных в первые месяцы жизни является весьма чувствительным (85–90%) [14], но неспецифичным признаком.

В Москве за период с июня 2006 г. по октябрь 2010 г. по программе неонатального скрининга было обследовано 552342 новорожденных (табл. 2). У 5364 (0,97%) из них было отмечено повышение уровня ИРТ на первом этапе скрининга (ИРТ I > 70 нг/мл). При повторном исследовании гипертрипсиногенемия сохранялась у 905 (16,9%) младенцев. Все они были приглашены в Московский центр МВ для дальнейшего обследования согласно протоколу скрининга. Однако на проведение потовой пробы явилось только 645 (71%) семей. В 29% случаев родители по тем или иным причинам отказались от дальнейшего обследования, что не позволило уточнить частоту МВ в Москве. По предварительным данным, частота заболевания по Москве составляет 1:10042 новорожденных (см. табл. 2). Вероятно, истинная частота МВ по Москве значительно выше приведенной.

Таблица 1. Идентификация восьми мутаций в гене CFTR

Название мутаций	Длина амплифицируемого фрагмента (п.н.)	
	норма	мутация
CFTRdele2,3(21 kb)	нет фрагмента	212
F508del	99	96
I507del		96
1677delTA		97
2143delT	89	88
2184insA		90
394delTT	80	78
3821delT	72	71

Современная очистка дыхательных путей методом
высокочастотной осцилляции грудной клетки

 ДИНА ИНТЕРНЕШНЛ

Лечение и реабилитация

Дышать становится легче



Система Vest обеспечивает:

- ✓ Улучшенное удаление секрета
- ✓ Стабилизацию или улучшение легочных функций
- ✓ Улучшенную устойчивость к физической нагрузке
- ✓ Уменьшение случаев пневмонии



115478 г. Москва, Каширское ш., 24, стр.13 • Тел./факс: (495) 323-61-92, 323-10-01 • www.dinaint.com vlada@dinaint.com

RADIOMETER 

 ДИНА ИНТЕРНЕШНЛ

ЗАО «Дина Интернешнл» - официальный дистрибьютор компании RADIOMETER MEDICAL ApS



Реализация концепции

«непрерывного наблюдения за младенцем»:

TCM4 - Транскутанная многоканальная система
для измерения $trcO_2$ и $trcCO_2$ у новорожденных.

- ▶ Снижает летальность новорожденных на 20-30%
- ▶ Обеспечивает мгновенное и непрерывное получение информации
- ▶ Снижает количество проб крови младенца, для определения pO_2 и pCO_2



115478 г. Москва, Каширское ш., 24, стр.13 • Тел./факс: (495) 323-61-92, 323-10-01 • www.dinaint.com vlada@dinaint.com

Таблица 2. Результаты неонатального скрининга на муковисцидоз в Москве в 2006–2008 гг.

Характеристики	2006 г.	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г. (до октября)	Всего
Число обследованных новорожденных	60 372	109 860	124 772	125 772	101 566	552 342
Положительный ИРТ I, абс.	563	729	1 260	1 374	1448	5364
Положительный ИРТ II, абс.	52	100	179	258	316	905
Проведен потовый тест, %	67	71	72	72	71	70,6
Диагностированные случаи МВ, абс.	5	15	7	17	10	54
Частота	1 : 12 074	1 : 7324	1 : 17 824	1 : 7398	1 : 10 157	1 : 10 228

Примечание. МВ — муковисцидоз; ИРТ — иммунореактивный трипсин.

При ретроспективном анализе данных выяснилось, что за время проведения неонатального скрининга в Москве (с июня 2006 г.) в четырех случаях имел место ложноотрицательный скрининг. Двое детей были выявлены в ходе настоящего исследования. Еще двоим диагноз МВ был поставлен в возрасте от 6 мес до 2,8 лет по клинической картине заболевания, положительному результату потового теста и анализу ДНК. В настоящее время в отделении муковисцидоза ДГКБ № 13 им. Н.Ф. Филатова наблюдается 54 ребенка в возрасте от 2 мес до 4,5 лет, выявленных по программе неонатального скрининга с июня 2006 г. по октябрь 2010 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая эффективность неонатального скрининга на муковисцидоз, в очередной раз пришли к выводу, что

определение уровня ИРТ в качестве маркера скрининга на муковисцидоз является высокочувствительным, но неспецифичным методом. Доля выявленных ложноотрицательных результатов скрининга в 2008 г. составила 0,16%. Это сопоставимо с общеевропейскими данными. Частота мутантных аллелей гена CFTR у новорожденных с гипертрипсиногемией при первом тесте на ИРТ значительно выше, чем в российской популяции. Истинная частота МВ в Москве вероятно превышает 1:10042 новорожденных. Значение скрининга на МВ в России в целом может быть оценено только через несколько лет при условии регулярного финансирования программы. Кроме того, для получения ощутимых результатов, сопоставимых с мировыми, необходимо понимание важности не только своевременного выявления больных МВ, но и создания необходимых условий для их наблюдения и лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Brice P., Jarrett J., Mugford M. Genetic screening for cystic fibrosis: An overview of the science and the economics // *J. Cystic Fibrosis*. — 2007; 6: 255–261.
- Castellani C., Southern K.W., Brownlee K. et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening // *J. Cystic Fibrosis*. — 2009; 8: 153–173.
- Kharrazi M., Kharrazi L.D. Delayed diagnosis of cystic fibrosis and the family perspective // *J. Pediatr*. — 2005; 147: 21–25.
- Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы. Методические рекомендации / под ред. Н.И. Капранова, Н.Ю. Каширской — М.: 4ТЕ Арт, 2008. — 124 с.
- Cheillan D., Vercherat M., Chevalier-Porst F. et al. 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. Disease*. — 2005; 28: 813–818.
- Rock M.J., Mischler E.H., Farrell P.M. et al. Newborn screening for cystic fibrosis is complicated by age-related decline in immunoreactive trypsinogen levels // *Pediatrics*. — 1990; 85 (6): 1001–1007.
- Comeau A.M., Parad R.B., Dorkin H.L. et al. Population-based newborn screening for genetic disorders when multiple mutation DNA testing is incorporated: a CF newborn screening model demonstrating increased sensitivity but more carrier detections // *Pediatrics*. — 2004; 113 (6): 1573–1581.
- Crossley J.R., Elliott R.B., Smith P.A. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn // *Lancet*. — 1979; 1 (8114): 472–474.
- Giusti R. New York State Cystic Fibrosis Newborn Screening Consortium. Elevated IRT levels in African-American infants: implications for newborn screening in an ethnically diverse population // *Pediatr. Pulmonol*. — 2008; 43: 638–641.
- Heeley A.F., Fagan D.G. Trisomy 18, cystic fibrosis, and blood immunoreactive trypsin // *Lancet*. — 1984; 1: 169–170.
- Priest F.J., Nevin N.C. False positive results with immunoreactive trypsinogen screening for cystic fibrosis owing to trisomy 13 // *J. Med. Genet*. — 1991; 28: 575–576.
- Sarles J., Barthelémy S., Ferec C. et al. Blood concentrations of pancreatitis associated protein in neonates: relevance to neonatal screening for cystic fibrosis // *Arch. Dis. Child Fetal*. — 1999; 80 (2): 118–122.
- Iovanna J.L., Ferec C., Sarles J., Dagorn J.C. The pancreatitis-associated protein (PAP). A new candidate for neonatal screening of cystic fibrosis // *C.R. Acad. Sci III*. — 1994; 317 (6): 561–564.
- Толстова В.Д., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Массовый скрининг новорожденных на муковисцидоз в России // *Фарматека*. — 2008; 1: 1–5.
- Животовский Л.А. Популяционная биометрия. — М.: Наука, 1991. — 271 с.
- Петрова Н.В. Определение относительных частот некоторых мутаций гена CFTR и анализ гаплотипов сцепленных с ними ДНК-маркерных локусов в популяции России: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1996. — 24 с.
- Петрова Н.В., Тимковская Е.Е., Зинченко Р.А., Гинтер Е.К. Анализ частоты некоторых мутаций в гене CFTR в разных популяциях России // *Медицинская генетика*. — 2006; 2: 32–39.
- Southern K.W., Munck A., Pollit R. et al. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe // *J. Cystic Fibrosis*. — 2007; 6: 57–65.