

Медицински факултет, Универзитет “Св.Кирил и Методиј” – Скопје

Е Л А Б О Р А Т Н А П Р О Е К Т

НАСЛОВ НА ПРОЕКТОТ: Превенција на респираторните секвели и нутритивните дефицити кај децата со цистична фиброза дијагностицирани со неонатален скрининг

НАУЧНА ОБЛАСТ: Педијатрија

ПОТЕСНО ПОДРАЧЈЕ: Цистична фиброза

КАТЕДРА-НОСИТЕЛ НА ПРОЕКТОТ: Катедра по педијатрија

ДРУГИ КАТЕДРИ УЧЕСНИЦИ ВО ИСТРАЖУВАЊЕТО: Катедра по хумана генетика, Катедра по микробиологија со паразитологија

ГЛАВЕН ИСТРАЖУВАЧ: Проф.д-р Стојка Нацева Фуштик

ВРЕМЕНСКА РАМКА НА ПРОЕКТОТ: од 2018 до 2021

ABSTRACT

Objectives: Despite its relative frequency among autosomal recessive diseases and the availability of the sweat test, cystic fibrosis (CF) could be difficult to diagnose in early childhood, and delays can lead to severe malnutrition, lung disease, or even death. To improve the prognosis and opportunities for a better quality of life for persons with CF, early diagnosis through newborn screening (NBS) and the appropriate preventive and curative care management in specialized CF centers for affected children from the start of life are essential. Today, NBS is considered as important component in the standards of care for CF. Newborn screening protocols for CF rely on immunoreactive trypsinogen (IRT) as the primary test and on the sweat test for confirmation or exclusion of the diagnosis of CF. In order to improve the positive predictive value of the NBS program, a second tier test is mandatory. It can be either a second blood sample taken at 3 to 4 weeks of age for IRT-2, or *CFTR* gene mutation analysis using the initial blood spot. Newborn screening for CF was introduced as a national program on all newborn population in the Republic of North Macedonia from April 2019, after a pilot study in 2018. **Methods:** Two steps IRT-IRT algorithm is performed, and then a sweat test (Macroduct sweat collection system followed by Chloridometer chloride analysis) for confirmation/exclusion of the CF diagnosis when IRT values were both over the cut off (70 ng/ml and 45 ng/ml, respectively). In cases of positive or borderline sweat tests, mutation analysis of *CFTR* gene is performed: snapshot reaction for 11 most common regional *CFTR* mutations or extended gene analysis: multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), for detection of deletions/duplications, Sanger DNA sequencing or next generation sequencing. **Results:** During 2019, 15.033 newborns were screened for CF. The diagnosis of CF was confirmed in 8 cases. One case with meconium ileus was missed on screening (false negative). During 2020, 18.757 newborns were screened for CF. The diagnosis of CF was confirmed in 4 cases. If we take into account and the results of NBS-CF pilot study on 9332 newborns (2018), when 5 cases of CF were diagnosed, it applies that the incidence of the disease is variable. In all newly discovered CF cases by screening, the diagnosis was confirmed by determining of *CFTR* mutations. The most common *CFTR* mutation F508del was found with an overall incidence of 70.6%. Other more frequent mutations were G542X (11.7%) and N1303K (5.9%). Four mutations were found in one CF chromosome each (G1349D, G126D, 457TAT>G and *CFTR*dupexon22), with the last one being newly discovered with unknown consequences. **Conclusions:** Our first experiences with NBS gives us promising results and objective hope for keeping patients in good health condition.

РЕЗИМЕ

Цели: И покрај нејзината релативна зачестеност меѓу автозомно рецесивните болести и достапноста на потниот тест, цистичната фиброза (ЦФ) може да биде тешко да се дијагностицира во раното детство, а одложувањета на дијагнозата може да доведат до сериозна подхранетост, белодробни заболувања, па дури и смрт. За да се подобрат прогнозите и можностите за подобар квалитет на живот на лицата со ЦФ, неопходна е рана дијагноза преку неонатален скрининг (НС) и соодветно превентивно и куративно водење на дијагностицираните пациенти во специјализирани центри за ЦФ од почетокот на животот. Денес, НС-ЦФ се смета за важна компонента во стандардите за третман на ЦФ. Протоколите за скрининг на новороденчињата за ЦФ се базираат на имунореактивен трипсиноген (IRT) како примарен тест и на потниот тест за потврдување или отфрлање на дијагнозата на ЦФ. Со цел да се подобри позитивната предиктивна вредност на програмата НС, задолжителен е втор тест. Истиот може да биде или втор примерок од крв земен на возраст од 3 до 4 недели за IRT-2, или анализа на мутациите во CFTR генот, со користење на првата капка крв. Скринингот за новороденчињата за ЦФ беше воведен како национална програма за сите новороденчиња во Република Северна Македонија од април 2019 година, по пилот-студијата во 2018 година. **Методи:** Протоколот за НС-ЦФ се изведува со користење IRT-IRT алгоритам во два чекори, а потоа потен тест (макродукт систем за собирање на пот, проследен со анализа на хлоридите во пот со хлоридометар) за потврда / исклучување на дијагнозата на ЦФ кога двете вредности на IRT се над граничните (70 ng/ml и 45 ng/ml, соодветно). Во случаи на позитивни или гранични вредности на потниот тест, се врши анализа на мутациите во CFTR генот: анализа за 11 најчести регионални мутации во CFTR генот или проширена генетска анализа: multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), за откривање на делеции/дупликации, секвенционирање на DNA со Sanger метода или “next generation” секвенционирање на DNA. **Резултати:** Во текот на 2019 година, 15.033 новороденчиња беа скринирани за ЦФ. Дијагнозата ЦФ беше потврдена во 8 случаи. Еден случај со мекониум илеус беше пропуштен на скрининг (лажно негативен). Во текот на 2020 година, 18,757 новороденчиња беа скринирани за ЦФ. Дијагнозата на ЦФ беше потврдена во 4 случаи. Ако ги земеме предвид и резултатите од пилот-студијата на НС-ЦФ на 9332 новороденчиња (2018), кога беа дијагностицирани 5 случаи на ЦФ, произлегува дека инциденцата на болеста е варијабилна. Во сите новооткриени случаи на ЦФ со скрининг, дијагнозата е потврдена со утврдување на мутациите на CFTR генот. Добиена е вкупна инциденца од 70,6% за најчестата CFTR мутација - F508del. Други почесто откриени мутации беа G542X (11,7%) и N1303K (5,9%). Четири мутации беа пронајдени во по еден ЦФ хромозом (G1349D, G126D, 457TAT> G и CFTRdupexon22), при што последната е новооткриена мутација со непознати последици. **Заклучок:** Нашите први искуства со НС-ЦФ даваат ветувачки резултати и објективна надеж за одржување на пациентите во добра здравствена кондиција

ВОВЕД

Цистичната фиброза (ЦФ) е автосомно рецесивна наследна болест, предизвикана од мутации во двата CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) гени на долгиот крак на 7-миот хромозом. Генот ја кодира синтезата на ЦФ трансмембранозниот регулаторен (CFTR) протеин. CFTR протеинот функционира примарно како хлорен канал во апикалната мембрана на епителните клетки на засегнатите органи и го контролира движењето на сол и вода во и надвор од клетките на респираторните патишта, панкреасните дуктуси, билијарното стебло, интестинумот, vas deferens и потните канали. Опишани се повеќе од 2000 алтерации во CFTR генската секвенца (генски варијанти), при што F508del е далеку најчеста ЦФ-предизвикувачка мутација, која се наоѓа во околу 70% од ЦФ хромозомите ширум светот. Околу 85% од пациентите ја имаат оваа мутација барем на еден алел. Нуклеотидните алтерации во CFTR генот можат да ја нарушат функцијата на CFTR хлорниот канал преку различни механизми, зависно од нивната природа и од местото во генот каде што настанале промените. Според тоа, CFTR мутациите се поделени во шест класи, при што првите три класи се “тешки” мутации каде што функцијата на протеинот е скоро комплетно изгубена, а другите три класи се “умерени” мутации при кои има одредена резидуална функција на CFTR хлорниот канал.

Недостаточната или недоволната регулација на транспортните процеси на ниво на епителните клетки, доведува до промена на вискозно-еластичните особини на секретите, односно до создавање на густы, вискозни секрети во органите како што се белите дробови, панкреасот, репродуктивниот тракт и др. и постепен губиток на нивната функција.

ЦФ е комплексна, мултисистемска живото-засегнувачка болест, која зафаќа повеќе органи и ткива каде се експресира CFTR генот. Главните клинички манифестации се резултат на влијанието на дефектниот ген на дишните патишта, гастроинтестиналниот тракт, вклучувајќи го билијарниот систем и репродуктивниот тракт. Околу 85-90% од пациентите имаат панкреасна инсуфициенција асоцирана со малапсорпција и честа потхранетост. Но, најголемиот морбидитет и морталитет е резултат на белодробната болест. Оштетувањето на белите дробови е предизвикано од опструкција на дишните патишта од дехидрирани, густы секрети, резултирачки повторувачки и хронични ендобронхиални инфекции и перзистентен инфламаторен одговор, кој води до развој на бронхиектазии и прогресивно оштетување на белодробното ткиво.

Последните три децении, со воведување на нови терапии и организирано водење на пациентите во специјализирани ЦФ центри, дојде до значајно подобрување на преживувањето на индивидуите засегнати од болеста. ЦФ се трансформира од фатална болест во раното детство во хронично пореметување при кое се очекува повеќето индивидуи со ЦФ да живеат во адултно доба. Напредокот во преживувањето е мултифакториален и се должи на: рана дијагноза (неонатален скрининг), подобро

препознавање на поблаги фенотипови на болеста, подобрување на нутритивниот статус, поагресивен третман на пулмоналните инфекции, поефикасни техники на чистењето на дишните патишта и водење на пациентите во специјализирани ЦФ центри од мултидисциплинарни тимови на здравствени професионалци.

Во последните две децении се повеќе земји ја вклучуваат ЦФ во националните скрининг програми на превентивното здравство. Неонаталниот скрининг за ЦФ (НС-ЦФ) има за цел рано откривање на новородените афектирани од ЦФ за да им се овозможи соодветен и правовремен третман на болните. Прогнозата на болеста значително се подобрува со ран и активен третман на белодробните инфекции и холистичен пристап во водењето на болните, со рано воведување на заместителна терапија со панкреасни ензими, суплементација со липосолубилни витамини и обрнување посебно внимание на одржување на добар нутритивен статус. Постои општа согласност за бенефитот од неонаталниот скрининг за ЦФ, во однос на помала тежина на болеста, намалено оптоварување од третман на болните и редуцирано чинење на третманот. Денес НС-ЦФ се смета за суштинска компонента во стандардите за згрижување на пациентите со ЦФ.

Сите протоколи на неонатален скрининг за ЦФ се базираат на имунореактивниот трипсиноген (IRT) како примарен тест. Зголемувањето на имунореактивниот трипсин и трипсиноген во крвта на новородени со ЦФ, кое може да се одреди и во исушена капка крв земена за рутинскиот скрининг за фенилкетонурија и конгенитална хипотироза, за првпат е опишано во 1979. Покачувањето на нивото на серумскиот IRT кај новородените со ЦФ е резултат на целосна или делумна опструкција на панкреасните дуктуси уште интраутерино и одлевање на ацинусните производи, вклучувајќи ги трипсинот и трипсиногенот во васкуларниот систем. За да се избегне можноста од лажно позитивни и лажно негативни резултати, потребно е дополнително второ тестирање на IRT во 3 – 4 недела од животот, кога покачениот IRT е поспецифичен за болеста. Со повторно добивање на позитивен резултат се поставува јасно сомневање за постоење на ризик за ЦФ кај новороденото, по што следат дијагностички тестови (поттен тест и генетска анализа на CFTR мутации) за потврдување или отфрлање на дијагнозата на болеста.

Протоколите за скрининг меѓусебно се разновидни и има многу различни NBS протоколи за ЦФ низ цела Европа. Повеќето програми користат DNA анализа како втор тест, поради фактот што протоколот IRT-1/IRT-2 не е доволно сензитивен. Додека шест скрининг протоколи за ЦФ во Европа (Австрија, Португалија, Русија, Словачка, Турција и Северна Македонија) сè уште се базираат исклучиво на биохемиски тестови, или повторено мерење на IRT во/по третата недела од животот или мерење на PAP (pancreatitis-associated protein) паралелно со IRT-1, плус IRT-2 мерење по третата недела. Вредностите на IRT се намалуваат кај доенчиња без ЦФ во текот на првите 3-4 недели од животот, но остануваат високи кај

оние со ЦФ. Протоколот IRT-1/IRT-2 ја подобрува позитивната предиктивна вредност со намалување на бројот на доенчиња кои се упатуваат на поттен тест. Со биохемиските протоколи за скрининг, исто така, се избегнуваат состојби кои произлегуваат со анализата на CFTR мутациите како втора стапка, како што е откривање на носители, а се ограничува и бројот на случаи со двосмислена/несигурна дијагноза на ЦФ. Тоа се ЦФ скрининг позитивни случаи со неубедлива дијагноза (CFSPID- CF screening positive, inconclusive diagnosis), познативо САД и како случаи со CFTR-поврзан метаболен синдром (CRMS - CFTR related metabolic syndrome). Се работи за новороденчиња откриени од НС-ЦФ со нормален поттен тест и две откриени CFTR мутации, од кои најмалку една има нејасни фенотипски последици и доенчиња со интермедиерни вредности на потниот тест и една или ни една CFTR мутација. Доенчињата со неизвесна дијагноза на ЦФ (CFSPID/CRMS) бараат понатамошни испитувања што треба да се направи во соработка на Центарот за ЦФ со Лабораторијата за молекуларна генетика. Голем број од овие деца ќе останат без симптоми во текот на целиот живот, но некои од нив може да развијат клинички манифестации кои укажуваат на CFTR –поврзани нарушувања (CFTR-RD) или клинички карактеристики на ЦФ подоцна во животот. Многу повеќе CFSPID/CRMS случаи се откриваат кога DNA анализата е втора стапка во протоколот за скрининг, особено ако протоколите вклучува панел од голем број CFTR мутации.

Неонаталниот скрининг за ЦФ, се вовеле во нашата земја како национална програма на Превентивното здравство при Министерството за здравство на Република Северна Македонија од април, 2019 година, по претходна пилот студија во 2018 година. Скринингот ја вклучува целата новороденечка популација во Р.С. Македонија.

МОТИВ И ЦЕЛИ

Мотивот за проектот е преку истражувањето да ја утврдиме зачестеноста на ЦФ во нашето географско подрачје и во различните етнички групи; застапеноста на различните CFTR мутации во овој регион; како и ефектот од неонаталниот скрининг за ЦФ и раната дијагноза, поврзана со соодветен третман на болните деца, во однос на здравствениот бенефит и прогностичките параметри на болеста.

Основни принципи во современиот третман и водење на пациентите со ЦФ е да се превенираат компликациите, бидејќи многу клинички манифестации на ЦФ, за кои порано се мислеше дека се неизбежни и и реверзибилни, можат да се превенираат, да се одложат или да се подобрат со навремена дијагноза и терапија. Според тоа, навремената дијагноза со неонатален скрининг (во првиот месец од животот на детето), редовните контроли и правовремената терапија се клучни за долгорочната прогноза на индивидуите со ЦФ.

Целта на студијата е да докаже дали прогнозата на болеста значително се подобрува со ран и активен третман на белодробните инфекции, рана физикална терапија на градниот кош, рано воведување на супституциона терапија со панкреасни ензими (pancreatic enzyme replacement therapy) и липосолубилни витамини, односно со холистичен пристап во водењето на болните, со обрнување посебно внимание на одржување на добар нутритивен статус и белодробна функција.

Според тоа, целите на проектот се:

- Утврдување на зачестеноста на ЦФ како наследна болест во нашата популација
- Утврдување на зачестеноста на ЦФ во различни етнички групи
- Утврдување на застапеноста на CFTR мутациите во нашето географско подрачје
- Следење на здравствената состојба на новодијагностицираните деца со ЦФ и утврдување на бенефитот од раната дијагноза преку НС-ЦФ и раниот активен превентивен и куративен третман (третман и превенција на белодробните инфекции, рана физикална терапија на градниот кош, рано воведување на супституциона терапија со панкреасни ензими и липосолубилни витамини) во однос на прогностичките параметри на болеста.
- Поволните прогностички параметри на белодробната болест се однесуваат на: спречување на хроничитет на инфекциите со *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* и намалување на бројот на хоспитализации поради егзацербација на белодробната болест
- Одржување на добар нутритивен статус како значаен параметар за сочувување на општото здравје и успорување на прогресијата на белодробната болест.

МАТЕРЈАЛ И МЕТОДИ

Со неонаталниот скрининг за ЦФ беа опфатени новородени од породилиштата во Република Северна Македонија. Во 2018 започна пилот студијата за НС-ЦФ која траеше 6 месеци (од почеток на мај до почеток на ноември), беа скринирани 9.332 новородени од 18 породилишта во Р.С. Македонија. Добиените резултати од пилот студијата го оправдаа воведувањето на неонаталниот скрининг за ЦФ како национален скрининг во Превентивната програма за заштита на мајки и деца на Министерството за здравство на Р.С. Македонија, на цела територија на државата од април 2019 год. Во текот на 2019 година беа скринирани за ЦФ 15.050 новородени, во 2020 година беа скринирани за ЦФ 18.757 новородени, а во 2021 година (до 26.04.) беа скринирани за ЦФ 5.176 новородени. На

табела 1. се прикажани вкупниот број на скринирани новородени за ЦФ и дистрибуцијата по градови и породилишта во периодот на спроведување на неонаталниот скрининг за ЦФ.

Протоколот на неонаталниот скрининг за ЦФ се состои од два чекора IRT-IRT, а потоа поттен тест за потврда / исклучување на дијагностицирање на CF кога вредностите на IRT се над утврдениот cut off: IRT1= 70 ng / ml и IRT2 =45 ng / ml. Алгоритмот на HC-ЦФ кој се спроведува во нашата земја е прикажан на слика 1.

Примероците од капка крв од петата на новородените се земаат од обучена медицинска сестра, помеѓу 24 и 72 часа од животот (кога бебето се отпуштено од родилиштето) и се аплицираат на Whatman 903 филтерот хартија (Guthrie card). Предвремено родените или болните во термин родени новороденчиња, кои обично имаат подолг престој во единиците за интензивна нега на новороденчиња, се тестираат помеѓу првата и втората недела од животот. Примероците од цела крв се сушат на собна температура во рок од 2 часа и се транспортираат или испраќаат по пошта во Лабораторијата за неонатален скрининг два пати неделно од секое породилиште. IRT во целата крв се мери со методот DELFIA time-resolved fluoroimmunoassay, со користење на неонатален DELFIA - IRT kit (DELFIA, Perkin-Elmer, Wallac Oy, Turku, Finland), а се чита со 1420 VICTOR 2D Fluorometer (Wallac Oy, Turku, Finland). Граничното ниво - cut off на IRT1 од 70 ng / ml беше утврден како 99,5-ти перцентил на вредностите на IRT добиени кај вкупно 2,058 новороденчиња со родилна тежина > 3000 грама, гестациска возраст > 38 недели и возраст > 48 часа. Втората стапка во алгоритмот се базира на барање на втор примерок од крв кај новороденчиња со покачен IRT1, 3 недели по првиот скрининг. За IRT2 се користи фиксен cut off од 45 ng / ml. Ако нивото на IRT2 е над граничното, детето кое е HC-ЦФ позитивно, се упатува на испитување на хлориди во пот – поттен тест. Доктор од ЦФ тимот се среќава со родителите/бебето пред да се направи потниот тест и им даде објаснувања на родителите за резултатите од скринингот и за самиот поттен тест.

Потниот тест се изведува според стандардизиран протокол преку квантитативна пилокарпинска јонтофореза и Macroduct систем на собирање на потта. Концентрацијата на хлориди во потта се мери во ChloroChek® Chloridometer® (ELITechGroup). Тестот за пот се анализира веднаш и за резултатот се известува на семејството истиот ден.

	2018	CF	2019	CF	2020	CF	2021	CF
Клиника	3		6		8		3	
Берово	0		16		29		1	
Битола	461	1 (м/мак.)	509		679		184	
Валандово	0		6		9		0	
Велес	188	1 (ж/алб.)	377		407		96	
Гевгелија	73		47		56		29	
Гостивар	381		472		563	2 (м/алб. и м/алб.)	141	
Дебар	0		7		2		2	
Делчево	0		1		3		1	
Кавадарци	206		279		334		86	
Кичево	59		130		142		22	
Кратово	0		6		8		5	
Кр.Паланка	0		2		2		0	
Кочани	0		139		149		54	
Куманово	285		846		931		272	
Охрид	271		307		400		134	
Пехчево	0		1		3		0	
Прилеп	380		550		613		160	
Плодност	327		416		579		186	
Св.Николе	0		10		0		0	
Ск-ГАК	1866	1 (ж/алб.)	3336	3 (ж/мак.; м/алб.; ж/алб.)	3471	2 (м/маки ж/мак.)	1065	
Ск-Ремедика	423		529		691		179	
Ск-Систина	790		1041	2 (м/алб. и м/мак.)	1327		389	
One hospital	0		0		0		3	
Ск-чаир	2463	1 (м/алб.)	2958	2 (ж/алб. и м/алб.)	4176		1113	
Санте Плус	58		77		574		144	
Струга	357	1 (м/алб.)	580		676		135	
Струмица	0		649		833		199	
Тетово	206		1218	1 (м/алб.)	1391		371	
Штип	535		535		701		202	
вкупно	9332	5	15050	8	18757	4	5176	

Табела1. Вкупен број, по породилишта, на скринирани новородени за ЦФ

Врз основа на препораките за вредности на хлориди во пот кај здрави и заболени од ЦФ, се користат следниве референтни опсези на хлориди на пот: ≤ 29 mmol/L, дијагноза на ЦФ е отфрлена или неверојатна; 30 до 59 mmol/L, интермедиерни или неуверливи вредности; ≥ 60 mmol/L, во прилог на дијагноза на ЦФ. При изведување на поттниот тест, новороденчињата/доенчињата мора да бидат нормално хидрирани, без малнутрициони едем и без знаци на системска болест. Во спротивно тие се презакажува за нова посета или доколку е потребно се хоспитализираат. Доколку бебето не се испоти, се презакажува

посета за една недела и им се дава препорака на родителите за добра хидратација и исхрана на бебето.

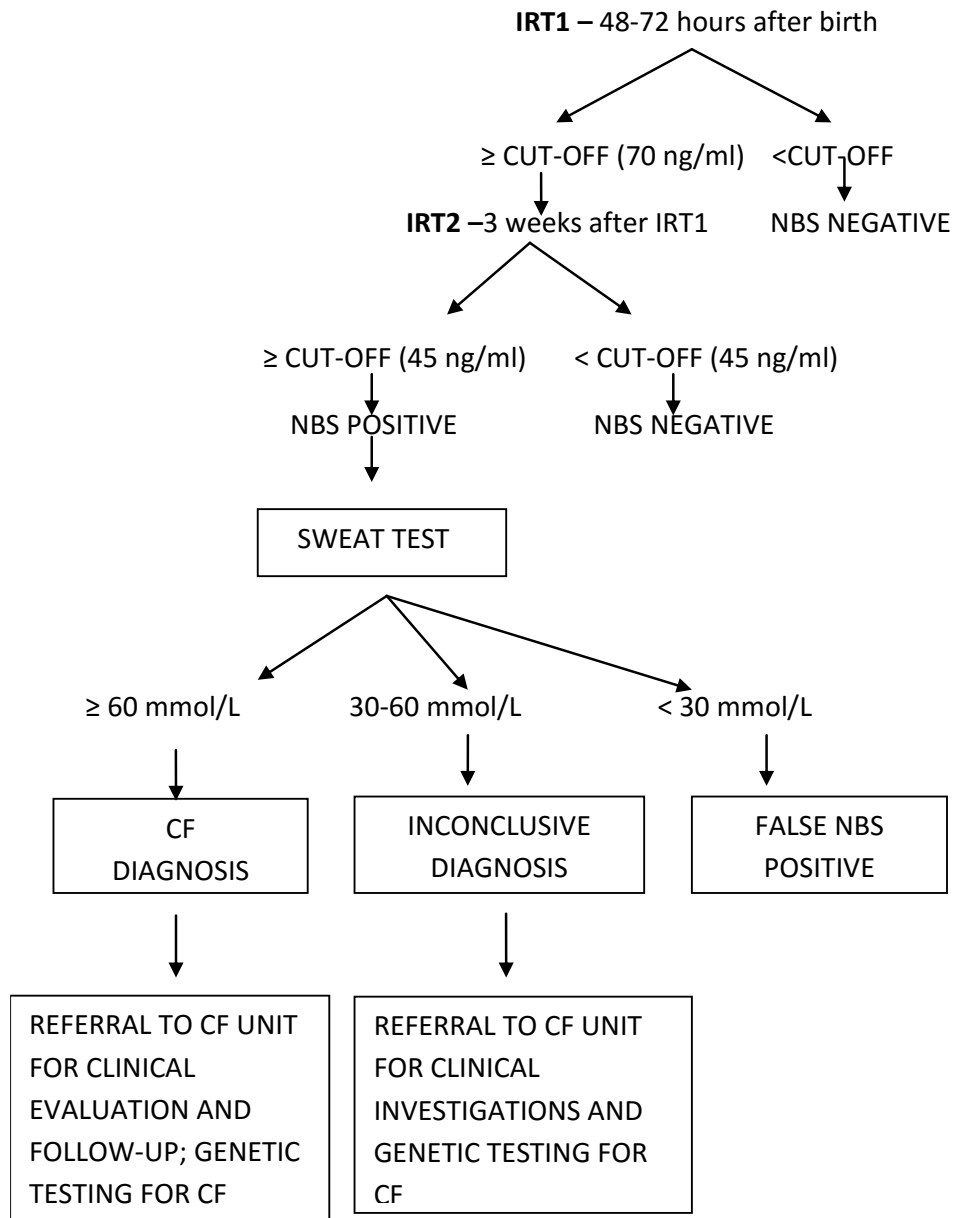
Доенчињата со позитивен резултат на потниот тест се упатуваат на специјализиран доктор за ЦФ што е можно поскоро. Докторот за ЦФ го информира семејството за потврдената дијагноза на ЦФ, им дава информации за болеста, придобивките од раната дијагностика и третманот за здравјето на детето и организира прием на детето со мајката во Одделот за ЦФ за сеопфатна проценка на детето, воведување на терапија и обука на родителите за физикална терапија во градниот кош. При првата посета, се бара потпишување на писмена информирана согласност од родителите за анализа на CFTR мутациите, односно генетска потврда на болеста.

DNA се изолира од периферна крв со употреба на стандарден метод на фенол-хлороформ екстракција. Анализата на мутациите во CFTR генот првично се изведува со SNaPshotreaction анализа за 11 најчести регионални CFTR мутации (F508del, G542X, N1303K, 621+ 1G- >T, 2184insA, V456F, G126D, G1349D, E822K, R117C, 711+ 3A- >G). Кај пациентите чии генотипови не се утврдени со првичниот молекуларен скрининг, се применуваат неколку дополнителни методи, вклучително: multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), за детекција на делеции/дупликации во CFTR генот (SALSA MLPA KIT P091 CFTR; MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands); next generation sequencing (NGS), со TruSight Inherited gene panel изведен на MiSeq Illumina Personal Sequencer и анализа на податоци на (Illumina Inc., San Diego, CA, USA).

Истата постапка се спроведува и кај новороденчињата со гранични вредности на потниот тест: посета во ЦФ центарот, повторен поттен тест, проверка на респираторните и нереспираторните симптоми кои се во согласност со дијагнозата на ЦФ и генетска анализа за 11-те најчести мутации во CFTR генот (по потпишана информативна согласност). Ако повторениот поттен тест е позитивен (≥ 60 mmol / L), детето понатаму редовно се следи во специјализираниот оддел за ЦФ како дете со ЦФ. Ако повторениот поттен тест е повторно двосмислен (помеѓу 30 и 60 mmol/L), понатамошното испитување ќе зависи од исходот на првичната генетска анализа (11 најчести регионални CFTR мутации) и клиничкиот преглед. Ако се идентификувани две мутации во CFTR гените во транс, дијагнозата на ЦФ е потврдена и детето редовно ќе се следи во Одделот за ЦФ. Ако е идентификувана една CFTR мутација и ако новороденчето/доенчето покаже било какви клинички манифестации во прилог на дијагнозата на ЦФ, се прави проширена генетска анализа. Доколку се идентификува една CFTR мутација, а доенчето не покажува никакви клинички манифестации во прилог на дијагнозата на ЦФ, повторно се врши проценка во специјалистичката амбуланта за ЦФ со повторување на потниот тест на возраст од 6 месеци. Ако потниот тест е негативен, не е потребно дополнително клиничко следење (совет во врска со статусот на носителство на

CFTR мутација). Проширена генетска анализа се прави ако има било какво клиничко сомневање за ЦФ.

Слика 1. Алгоритам за дијагноза на ЦФ со неонатален скрининг



- **Основни принципи во водењето на децата со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг**

Дијагностицираните доенчиња со ЦФ со неонатален скрининг, се прифаќаат за понатамошен третман и следење од специјализиран тим за ЦФ на Универзитетска клиника за детски болести. Сеопфатната грижа и третман на рано дијагностицираните доенчиња со ЦФ вклучува:

- Запознавање на родителите на болното доенче со болеста и основните принципи на терапија на ЦФ, со нагласување на потребата од соработка и редовни контроли на болното дете (брошура за ЦФ наменета за родителите)
- Превенција и третман на белодробните инфекции
- Обука за физикална терапија на градниот кош
- Рана проценка на симптомите на егзацербација на белодробната болест и потребата од хоспитализација
- Превенција и одложување на настанување на хронични белодробни инфекции, пред се хронична *Pseudomonas aeruginosa* инфекција, со навремена и агресивна антибиотска терапија според протокол
- Навремено воведување на супституциона терапија со панкреасни ензими со секој оброк, за превенција на малнутрицијата
- Обрнување посебно внимание на нутрицијата (висококалорична исхрана, добри диететски навики, суплементација со витамини), како есенцијален фактор за одржување на општото здравје и прогнозата на болеста.

- **Параметри за следење на децата со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг**

A. Антропометриски мерења за следење на растот и нутритивниот статус

Се мери телесната должина /висина и телесната тежина на децата со ЦФ. За мерење на телесната должина се користи антропометар со лежење со точност на читање од 1мм. За мерење на телесната тежина се користи електронска децимална вага со точност од 0,01 кг. Од извршените мерења се пресметуваат следните антрополошки параметри и индекси (според стандардни антрополошки формули):

- перцентилни вредности на телесна висина/возраст и телесна тежина/возраст
- Z scor- скор за стандардна девијација за индексите телесна висина/возраст (zH) и телесна тежина/возраст (zW). Z scor претставува девијација на вредноста на антропометрискиот параметар за индивидуата од средната

вредност за референтната популација, поделена со стандардната девијација за референтната популација

$$Z \text{ scor} = \frac{\text{измерена вредност} - \text{средна референтна вредност}}{\text{стандардна девијација за референтна популација}}$$

Добиентите резултати се споредуваат со референтни антропометриски вредности добиени од мерките на интернационалната референтна популација предложена од Американскиот Национален Центар за Здравствена Статистика (United States National Center for Health Statistics) т.н. NCHS референтни вредности, прифатени и од страна на СЗО.

V. Параметри за следење на белодробната болест

- Следење на инфекциите на дишните патишта со микробиолошки преглед на спутум/аспират, секои 2 месеци. Инфекцијата се дефинира како хронична (хронична инфекција со *Staphylococcus aureus* или *Pseudomonas aeruginosa*) ако повеќе од 50% од примероците на спутум во тек на годината се позитивни за таа бактерија.
- Следење на бројот на егзацербациите на белодробната болест, дефинирани според критериумите на Fuchs (промени во спутумот, зголемена кашлица, диспнеа, малаксаност, замор, температура >38°C, анорексија, губиток на тежина, симптоми од синусите, промена во аускултаторниот наод на белите дробови, пад на FEV₁ ≥10%, рендгенолошки промени). За дефиниција на егзацербација на белодробната болест која бара хоспитализација за и.в. антибиотска терапија, минимален број на критериуми е 4.
- Проценка на рендгенолошки промени на белите дробови на рендгенграфија на граден кош во антеро-постериорна (AP) позиција, која се прави еднаш годишно. За системска евалуација на промените на радиограмите на градниот кош се користи модифицираниот Chrispin-Norman-овиот радиолошки скор (CNR-skor). Со овој скор нумерички се квантифицира тежината на рендгенолошките промени, врз основа на патолошките сенки. На AP радиограмот на градниот кош двете белодробни крила се делат на горна и долна зона со линија која поминува низ средината на хилусите, во ниво на нормалната локализација на хоризонталната фисура. Според тоа, радиограмот е поделен во 4 квадрата и во секој квадрат се проценува тежината на промените (хиперинфлација, бронхиални линеарни сенки, прстенасти сенки, метласти сенки и големи меки сенки) на скала од 0 до 2. Висината на скорот е поголема во колку белодробната болест е потешка, а максималниот скор е 38.

Скорот овозможува компарација на радиограмите на градниот кош и следење на еволуцијата на белодробната болест.

РЕЗУЛТАТИ

Во тек на 6 месечната пилот студија на неонатален скрининг за ЦФ во 2018 година, беа скринирани 9332 новороденчиња, а дијагностицирани беа 5 случаи со ЦФ. Во текот на 2019 година, 15.033 новороденчиња беа скринирани за ЦФ. Дијагнозата на ЦФ беше потврдена во 8 случаи. Еден случај со мекониум илеус беше пропуштен на скрининг (лажно негативен). Во текот на 2020 година, 18.757 новороденчиња беа скринирани за ЦФ. Дијагнозата на ЦФ беше потврдена во 4 случаи (табела 2). Според тоа, може да се каже дека инциденцата на болеста е променлива. Вкупно 43.139 новороденчиња скринирани за ЦФ во текот на анализираниот период од 27 месеци (6 месеци пилот-студија и 21-месец национален скрининг период), до 31.12.2020 година. Стапката на повикување на новороденчињата за втора капка (recall rate) беше 0,44% (n = 190) (табела 2). Од 41 (0,095%) скрининг позитивни случаи (IRT1 и IRT2 > cut off), дијагнозата на ЦФ беше потврдена кај 17 (0,039%) новороденчиња со позитивен поттен тест. Во однос на полот на новодијагностицираните деца со ЦФ со неонатален скрининг, 10 се машки и 7 женски. На табела 2 е даден и бројот на новородени кои се скринирани за ЦФ во 2021 година, заклучно со 26.04., но истите не се вклучени во статистичката анализа. Во тек на четири месеци од оваа година нема ни еден дијагностициран случај со ЦФ преку неонатален скрининг, а има еден пропуштен случај со ЦФ на скрининг (лажно негативен), повторно со мекониум илеус на раѓање.

Години	Вкупно скринирани новородени	Новородени повикани за втора капка (recall rate)	Дијагностицирани со CF
2018	9332	42 (0,45%)	5 (0,05%)
2019	15050	60 (0,398%)	8 (0,05%)
2020	18757	88 (0,469%)	4 (0,02%)
2021	5176	35 (0,68%)	0

Табела 2. Вкупен број новородени скринирани за ЦФ, стапка на повторно повикување и број на дијагностицирани со ЦФ по години

Нашите први резултати од НС-ЦФ покажаа висока инциденца на болеста во нашиот географски регион од 1: 2538 живородени новороденчиња, што е меѓу највисоката во Европа. Откривме многу голема разлика во инциденцата на болеста помеѓу македонската и албанската неонатална популација. Дванаесет од откриените случаи на ЦФ беа етнички Албанци (70,6%), а 5 беа етнички Македонци (29,4%). Според тоа, инциденцата на ЦФ забележана кај албанската неонатална популација (1: 1284) е скоро 4 пати поголема од инциденцата откриена кај македонските новороденчиња (1: 4530).

Просечната возраст на доенчињата при дијагностицирање на ЦФ преку НС-ЦФ беше 29 дена (опсег од 23 до 43 дена). 15 од сите дијагностицирани случаи на крајот на првиот месец од животот, веќе имале симптоми во прилог на дијагнозата на ЦФ: ненапредување во тежина (најчесто под родилната тежина при првиот преглед), чести столици, малнутриција со хипопротеинемија (5), кашлица, колонизација/инфекција со *Staphylococcus aureus* (9), пневмонија (2), мекониум илеус (1) и хипонатремија/хипохлоремија со метаболна алкалоза (1). Две бебиња, кои беа панкреасно суфициентни, немаа никакви симптоми на болеста при дијагностицирањето.

Генотипот на новооткриени пациенти со ЦФ со неонатален скрининг е прикажан во Табела 3. Најдено е дека инциденца најчестата CFTR мутација што предизвикува ЦФ - F508del е 70,6%. Други почести мутации биле G542X (11,7%) и N1303K (5,9%). Најдени се четири мутации во по еден CFTR алел: G1349D, G126D, 457TAT> G и CFTRdupexon22. Последната е новооткриена мутација со непознати последици, најдена кај случај со панкреасна суфициенција, кај кој дијагнозата на ЦФ беше потврдена со два позитивни поттни теста.

Genotype (legacy name)	Genotype (cDNA name)	Number
F508del/ F508del	c.1521_1523delCTT/c.1521_1523delCTT	10
F508del/G542X	c.1521_1523delCTT/c.1624G>T	3
F508del/G1349D	c.1521_1523delCTT/c.4046G>A	1
G542X/N1303K	c.1624G>T/c.3909C>G	1
N1303K/G126D	c.3909C>G/c.377G>A	1
457TAT>G/CFTRdupexon22	c.325_327delTATinsG/ CFTRdupexon22*	1

*HGVS (Human Genome Variation Society) nomenclature:

NC_000007.14:g.(117041992_117054830)_(117054908_117069810)dup

Табела 3. Генотип на ЦФ пациентите дијагностицирани со неонатален скрининг

- **Следење на нутритивниот статус на децата со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг**

Неонаталниот скрининг и правремена соодветна терапија кај новодијагностицираните деца со ЦФ (заместителна терапија со панкреасни ензими, супституција со липосолубилни витамини, додаток на сол) има корисен ефект врз растот и нутритивниот статус и спречува развој на протеинска малнутриција и состојби на дефицит на липосолубилни витамини. 15 од 17 новодијагностицирани новороденчиња/доенчиња со ЦФ имаа симптоми на панкреасна инсуфициенција, со чести столица, ненапредување или губиток во тежина, хипопротеинемија со хипоалбуминемија. На табела 4. е прикажано движењето на тежината, висината и другите нутритивни параметри (zW, zH) кај дијагностицираните деца со ЦФ со неонатален скрининг од раѓање, во време на дијагноза (пред започнување на супституциона терапија со панкреасни ензими) и прогресијата на истите (по воведување на супституциона терапија со панкреасни ензими и други суплементи) на 3 и 6 месечна возраст.

Најголем дел од доенчињата при дијагноза на болеста со HC-ЦФ на 1 месечна возраст биле под родилна тежина ($M \pm SD$ zW = -1.056 ± 0.82), за да по воведување на супституциона терапија со панкреасни ензими и други суплементи бележат прогресивен пораст во тежина, достигнувајќи нормални вредности за возраста на 3 месечна ($M \pm SD$ zW = -0.44 ± 1.07) и 6 месечна ($M \pm SD$ zW = -0.23 ± 0.91) возраст. Во однос на висината, просечната висина на 3 месечна ($M \pm SD$ zH = -0.52 ± 1.16) и 6 месечна возраст ($M \pm SD$ zH = -0.08 ± 1.19) биле во граница на нормала.

Параметрите на нутритивниот статус и растот на пациентите со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг, на 1 и 2 годишна возраст (за оние кои ја достигнале таа возраст), се прикажани на табела 5. Средните вредности на телесна тежина и висина, изразени преку zW и zH на 1 година ($M \pm SD$ zW = 0.3 ± 0.92 ; $M \pm SD$ zH = 0.36 ± 0.90) и 2 години ($M \pm SD$ zW = 0 ± 0.57 ; $M \pm SD$ zH = 0.56 ± 0.94) се во граница на нормални за возраста.

Резултатите укажуваат дека раната дијагноза на ЦФ со неонатален скрининг, ги превенира нутритивните дефицити и заостатокот во раст, кои се чести компликации на ЦФ.

Реден бр. пациент	Дата на раѓање	Родилна ТТ (гр)	Родилна ТД (см)	Прв преглед ТТ (гр)	Прв преглед zW	Три месеци ТТ (гр)	Три месеци zW	Три месеци ТД (см)	Три месеци zH	Шест месеци ТТ (гр)	Шест месеци zW	Шест месеци ТВ (см)	Шест месеци zH
1.Н-И	09/06/2018	2790	49	2570	-0.8	5310	-0.8	56	-1.9	7400	-0.8	63	-1.7
2.И-И	20/08/2018	3240	51	2850	-1.9	4000	-1.8	55	-1.8	5600	-1.7	62	-1.5
3.А-Ч	04/10/2018	3040	50	2920	-1.6	4400	-1.4	58	-0.6	7400	0.2	65	-0.3
4.Б-Б	23/10/2018	3300	50	3150	-1.6	5200	-0.8	57	-1.5	7200	-0.6	65	-1
5.А-Н	14/04/2019	3000	50	3300	-1.1	4800	-0.8	56	-1.4	6800	-0.4	64	-0.7
6.Б-Ј	16/09/2019	3120	50	4460	0.9	6500	1.3	60	0.2	8000	0.9	68	0.7
7.М-С	01/07/2019	3140	49	3300	0	5620	-0.3	60	-0.4	7500	-0.3	70	0.8
8.А-К	29/09/2019	3850	52	3710	-0.8	5800	-0.2	62	0.3	7950	0.2	69	0.4
9.Л-С	09/10/2019	3160	50	3250	-1.5	6350	0.4	64	1.1	8400	0.6	71	1.2
10.А-А	14/10/2019	4360	52	4160	-0.2	7600	1.7	64	1.1	9600	1.8	71	1.1
11.Л-С	20/11/2019	2770	50	2650	-2.3	4220	-1.7	55	-2.3	6300	-1.6	63	-1.7
12.Е-К	09/12/2019	2380	47	2300	-1.9	4060	-1.9	56	-1.4	5900	-1.4	63	-1.1
13.И-К	06/08/2020	2600	50	3300	-1.4	4750	-1.2	58	-1.1	7000	-0.3	65	-0.3
14.Д-Т	14/10/2020	3650	51	3960	-0.5	6710	0.7	61	-0.03	8800	-0.4	68	0.1
15.М-М	17/10/2020	3300	51	3300	-1.4	5900	-0.1	65	1.5	8000	0.2	75	2.6
16.С-М	26/10/2020	2710	48	2710	-0.8	5200	-0.2	59	-0.2	6950	-0.2	66	0,03

Табела 4. Следење на нутритивниот статус во првите шест месеци од животот

Реденброј Пациенти	Дата на раѓање	Една година ТТ (гр)	Една година zW	Една година ТВ (см)	Една година zH	Две години ТТ (гр)	Две години zW	Две години ТВ (см)	Две години zH
1. Н-И	09/06/2018	9400	-0,7	78	0,7	11900	-0,3	89	1
2. И-И	20/08/2018	7880	-1,6	70	-1,5	10800	-0,8	81	-1
3. А-Ч	04/10/2018	9900	0,3	76	0,6	12900	0,7	89	1,4
4. Б-Б	23/10/2018	9700	-0,4	77	0,3	12500	0,1	88	1
5. А-Н	14/04/2019	9520	0	74	-0,1	12200	0,3	86	0,4
6. Б-Ј	16/09/2019	10500	0,9	75	0,3				
7. М-С	01/07/2019	11000	0,7	78	0,7				
8. А-К	29/09/2019	10550	0,3	78	0,7				
9. Л-С	09/10/2019	10900	0,6	79	1,1				
10. А-А	14/10/2019	12000	1,6	82	2,1				
11. Л-С	20/11/2019	10600	0,3	77	0,3				
12. Е-К	09/12/2019	8200	-1,3	72	-0,8				
13. И-К	06/08/2020								
14. Д-Т	14/10/2020								
15. М-М	17/10/2020								
16. С-М	26/10/2020								

Табела 5. Следење на нутритивниот статус во 1 и 2 година од животот

- **Следење на белодробната болест кај децата со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг**

Засегањето на белите дробови е најчеста причина за морбидитет и морталитет и одлучувачки фактор од кој ќе зависи квалитетот и должината на животот на индивидуите со ЦФ. Оштетувањето на белите дробови е предизвикано од опструкција на дишните патишта од дехидрирани, густы секреты, резултирачки повторувачки и хронични ендобронхиални инфекции и претеран инфламаторен одговор, кој води до развој на бронхиектазии и прогресивно оштетување на белодробното ткиво. Третманот на белодробната болест кај рано дијагностицираните пациенти со ЦФ преку неонатален скрининг, со рано воведување на физикална терапија на градниот кош и ран и активен/агресивен третман на белодробните инфекции, има за цел да се одржи белодробната функција, да се редуцираат пулмоналните егзацербации, да се успори прогресијата на структурните оштетувања на белите дробови

Карактеристично за ЦФ е склоноста белите дробови да се колонизираат со специфични бактерии, при што спектарот на патогени микроорганизми на белодробните инфекции се разликува значително од оној кај другите пациенти со хронични белодробни болести. Главно се среќаваат бактериски видови од околината, како што се *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, фунги, атипични микобактерии, додека *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella* и бактерии од ендегената флора кои се присутни при другите белодробни болести, кај ЦФ ретко се наоѓаат. Значајно обележје на ЦФ се хроничните респираторни инфекции кои можат да почнат многу рано во животот на пациентите, посебно хроничната *Pseudomonas aeruginosa* белодробна инфекција. *Pseudomonas aeruginosa* денес е доминантен патоген кај пациентите со ЦФ. Развојот на хроничната инфекција со *P. aeruginosa* е асоциран со: пониски вредности на белодробните функционални параметри (FEV1); побрзо влошување на FEV1; зголемена стапка на морбидитет и скратено средно преживување. Поради тоа, еден од приоритетите во водењето на пациентите со ЦФ е спречување или одложување на развој на хроничната *Pseudomonas aeruginosa* белодробна инфекција.

- Следење на инфекциите на дишните патишта со микробиолошки преглед на орофарингиален аспирант секои 2 месеци. Инфекцијата се дефинира како хронична (хронична инфекција со *Staphylococcus aureus* или *Pseudomonas aeruginosa*) ако повеќе од 50% од примероците на спутум во тек на годината се позитивни за таа бактерија.

Кај нашата група на пациенти со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг, најчеста белодробна инфекција беше со *Staphylococcus aureus* (кај 9 пациенти), од кои 6 беа со MR- *Staphylococcus aureus*, а 3 со MS- *Staphylococcus aureus*. Кај ниеден пациент не

се разви хронична *Staphylococcus aureus* инфекција. *Pseudomonas aeruginosa* белодробна инфекција беше дијагностицирана кај 3 пациенти. По спроведување на ерадикационата антибиотска терапија по протокол (2 недели и.в. двојна антипсеудомонас антибиотска терапија и продолжена 3 месечна инхалациона терапија со Colistin), *Pseudomonas aeruginosa* инфекцијата беше ерадицирана и не се дозволи развој на хроничната *Pseudomonas aeruginosa* белодробна инфекција кај ниеден пациент од групата ЦФ пациенти дијагностицирани со неонатален скрининг.

– Следење на бројот на егзацербациите на белодробната болест, дефинирани според критериумите на Fuchs (промени во спутумот, зголемена кашлица, диспнеа, малаксаност, замор, температура $>38^{\circ}\text{C}$, анорексија, губиток на тежина, симптоми од синусите, промена во аускултаторниот наод на белите дробови, пад на $\text{FEV}_1 \geq 10\%$, рендгенолошки промени). За дефиниција на егзацербација на белодробната болест која бара хоспитализација за и.в. антибиотска терапија, минимален број на критериуми е 4.

Сите пациенти со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг беа хоспитализирани при поставување на дијагноза на болеста, за проценка на состојбата и започнување на терапија, како и за тренинг на родителот за спроведување на терапијата. 7 пациенти од 17 имаа и повторни хоспитализации (1-4), поради егзацербациите на белодробната болест или за спроведување на ерадикационата антибиотска терапија поради *Pseudomonas aeruginosa* белодробна инфекција. Останатите 10 пациенти немаа егзацербации на белодробната болест кои бараа хоспитализации.

– Проценка на рендгенолошки промени на белите дробови на рендгенграфија на граден кош во антеро-постериорна (AP) позиција, која се прави еднаш годишно. За системска евалуација на промените на радиограмите на градниот кош се користи модифицираниот Chrispin-Norman-ов радиолошки скор (CNR-skor). Со овој скор нумерички се квантифицира тежината на рендгенолошките промени, врз основа на патолошките сенки. На AP радиограмот на градниот кош двете белодробни крила се делат на горна и долна зона со линија која поминува низ средината на хилусите, во ниво на нормалната локализација на хоризонталната фисура. Според тоа, радиограмот е поделен во 4 квадрата и во секој квадрат се проценува тежината на промените (хиперинфлација, бронхиални линеарни сенки, прстенести сенки, метласти сенки и големи меки сенки) на скала од 0 до 2. Висината на скорот е поголема во колку белодробната болест е потешка, а максималниот скор е 38. Скорот овозможува компарација на радиограмите на градниот кош и следење на еволуцијата на белодробната болест.

Проценка на радиограмите на градниот кош со CNR-skor на една годишна возраст на пациентите со ЦФ дијагностицирани со неонатален скрининг (12 пациенти) покажа

просечна вредност на скорот 4 (0-6), а исто така и на две годишна возраст (5 пациенти) просечниот CNR-skor беше 4 (2-6).

Првиот пациент со ЦФ дијагностициран со неонатален скрининг во пилот студијата, беше новородено со мекониален илеус, разрешен хирушки со ресекција на дел од илеум и илеостома. Детето беше хоспитализирано на Клиниката за детски болести при дијагноза на болеста. И покрај стабилизирање на состојбата и прогресивниот напредок на детето, на 4 месечна возраст, по хирушко затварање на илеостомата, настанаа пост-хирушки компликации со перитонит и сепса, кои беа причина за летален исход на пациентот на Клиниката за детска хирургија. Леталниот исход не е резултат на основната болест.

ДИСКУСИЈА

ЦФ е мултисистемско генетско заболување што резултира со компликации во повеќе органи, но особено белите дробови и панкреасот. Од откривањето на CFTR генот поврзан со болеста, има голем напредок во разбирањето и третманот на пациентите со ЦФ. ЦФ е трансформирана од фатално заболување во раното детство во хронично нарушување во кое се очекува повеќето пациенти со ЦФ да живеат во адултна доба. Раната дијагноза преку неонатален скрининг, мултидисциплинарното водење на пациентите во специјализирани центри за ЦФ и оптимизираниот и превентивен третман се најважни фактори кои го сменија текот и лицето на болеста.

ЦФ е комплексна хронична болест, која бара континуиран третман во текот на целиот живот. И покрај големиот напредок во разбирањето и третманот на болеста во последните децении, како и драматично зголеменото преживување на пациентите, ЦФ останува сериозно нарушување. Здравјето на пациентите и долгорочниот исход зависи од навремената дијагноза и ефикасноста на третманот. Како лоши прогностички параметри за квалитетот на животот на пациентот и преживувањето се сметаат малнутрицијата и рано воспоставување на хронична белодробна инфекција со *Pseudomonas aeruginosa* или други микроорганизми, која води до хронична инфламација и прогресивно белодробно оштетување.

Имплементацијата на национална програма за неонатален скрининг на цистична фиброза има за цел рано откривање на децата со ова заболување, во првите недели од животот, дури и пред појава на клиничките знаци, со што ќе се овозможи одржување на добра здравствена кондиција кај истите, односно фокусот на водењето на овие болни да биде насочен кон контрола на манифестациите на болеста кај симптоматските деца или одржување на здравиот аспект кај асимптоматските деца.

Докажаните бенефити од воведување на неонаталниот скрининг за ЦФ, односно од раната дијагноза и правилниот третман на болните деца, кои ги покаже оваа студија вклучуваат:

- Одржување на добро општо здравје на децата со ЦФ
- Одржување на добар нутритивен статус и нормален раст и развој
- Превенција на хроничните белодробни инфекции со *Pseudomonas aeruginosa* или други микроорганизми
- Редуцирање на бројот на белодробни егзацербации и бројот на хоспитализации на децата со ЦФ
- Намалување на стресот и анксиозноста во фамилиите на болните деца со ЦФ.

За време на периодот на НС-ЦФ, два случаи со мекониум илеус беа пропуштен на скрининг, односно неонаталниот скрининг тест за ЦФ беше лажно негативен. Добро е познато дека доенчињата со мекониум илеус обично имаат вредности на IRT-1 под пресечните и често лажно негативни резултати на НС-ЦФ. Затоа, секој случај на мекониум илеус треба да се смета како ЦФ додека не се докаже спротивното.

Инциденцата на CF во Република Северна Македонија, проценета во краток период на опсервација додека се спроведува програмата на НС-ЦФ, е една од највисоките во Европа, во просек 1: 2500. Северна Македонија е мултиетничка земја. Во новороденечката популација, Македонците со словенско потекло се мнозинство, со застапеност од 53%, 30% се етнички Албанци, 7% се Роми, 5% се Турци и 5% се од други етникуми. Неонаталниот скрининг за ЦФ откри огромна разлика во инциденцата на болести помеѓу двете најголеми новороденечки популации во земјата, македонската (1: 4530) и албанската (1: 1284). Затвореноста на албанското население низ вековите, вклучително и консангини бракови, придонеле за поголемо носителство на патолошкиот CFTR ген кај оваа популација. Понатамошните години на НС-ЦФ ќе ни дадат поточна проценка на инциденцата на ЦФ во нашата географска област и помеѓу различни етнички групи.

ЗАКЛУЧОК

Проширувањето на неонаталниот скрининг за ЦФ низ Европа и ширум светот во последните децении, укажува дека овој скрининг се смета за значајна вредна инвестиција. Неонаталниот скрининг за ЦФ беше воведена кај целата новороденечка популација во Република Северна Македонија во 2019 година, вклучена во програмата за превентивна грижа на мајки и деца на Министерството за здравство. Нашите први искуства со НС-ЦФ ни даваат ветувачки резултати и објективна надеж за одржување на пациентите во добра здравствена состојба. Неонаталниот скрининг за ЦФ доведува до подобрување на

долгорочните здравствени исходи и преживување на пациентите со ЦФ. Скринингот е ефективна стратегија на јавното здравство. Во ерата на третмани со CFTR модулатори кои го корегираат основниот молекуларен дефект на болеста, раната дијагноза со НС-ЦФ ќе овозможи во иднина навремено воведување на оваа терапија.

ОБЈАВЕНИ И ПРЕЗЕНТИРАНИ ТРУДОВИ ОД ИСТРАЖУВАЊЕТО

- Fustik S, Anastasovska V, Plaseska Karanfilska D, Spirevska L, Stamatova A. Results from newborn screening (NBS) pilot study for cystic fibrosis in R.Macedonia. Journal of Cystic Fibrosis 2019; 18 (Suppl.1) – 42nd European Cystic Fibrosis Conference (Liverpool)
- Fustik S, Anastasovska V, Plaseska Karanfilska D, Spirevska L, Pesevska M, Terzikj M, Stamatova A. First results from national newborn screening program for cystic fibrosis in Republic of North Macedonia. Journal of Cystic Fibrosis 2020; 19 (Suppl.1) – 43rd European Cystic Fibrosis Conference (Digital Conference)
- Anastasovska V, Fustik S, Pesevska M, Fakovic N, Stamatova A. Different ethnical distribution of the incidence of cystic fibrosis in Republic of North Macedonia, Journal of Cystic Fibrosis 2021; 20 (Suppl.1) – 44th European Cystic Fibrosis Conference (Digital Conference)
- Fustik S, Anastasovska V, Plaseska Karanfilska D, Spirevska L, Stamatova A, Pesevska M, Terzikj M, Fakovic N. Two years neonatal screening for cystic fibrosis in Republic of North Macedonia. Journal of Cystic Fibrosis 2021; 20 (Suppl.1) – 44th European Cystic Fibrosis Conference (Digital Conference).
- Fustik S, Anastasovska V, Plaseska-Karanfilska D, Stamatova A, Spirevska L, Pesevska M, Terzikj M, Vujovic M. Early results with the newborn screening for cystic fibrosis in North Macedonia: Two years experience. Accepted for publication in Balkan Journal of Medical Genetics (June, 2021 - manuscript ID: BJMG MS#1005-21).
-
-

ЛИТЕРАТУРА

1. Smyth AR, Bell SC, Bojcin S, BryonM, Duff A, Flume P et al. European cystic fibrosis society standards of care: Best practice guidelines. *J Cyst Fibros*. 2014; 13:S23–S42.
2. Castellani C, Duff AJ, Bell SC, Heijerman HG, Munck A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: The 2018 revision. *J. Cyst Fibros*. 2018;17:153–178.
3. Castellani C, Souther KW, Brownlee K, Roelse JD, Duff A, Farrell et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros*. 2009;8:153–173.
4. Travert G, Heeley M, Heeley A. History of newborn screening for cystic fibrosis—The early years. *Int J Neonatal Screen*. 2020, 6, 8; doi:10.3390/ijns6010008.
5. ScotetV, Gutierrez H, Farrell PM. Newborn screening for CF across the globe—Where is it worthwhile? *Int J Neonatal Screen*. 2020, 6, 18; doi:10.3390/ijns6010018.
6. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic fibrosis foundation consensus report. *J Pediatr*. 2008; 153(2): S4–S14.
7. Farrell PM, White TB, Howenstine MS, Munck A, Parad RB, Rosenfeld M, et al. Diagnosis of cystic fibrosis in screened populations. *JPediatr*. 2017;181S:S33-44.
8. Noveski P, Madjunkova S, Mircevska M, Plaseski T, Filipovski V, Plaseska-Karanfilska D. SNaPshopt assay for the detection of the most common mutations in infertile men. *PLoS One*. 2014; 9(11):e112498. doi: 10.1371/journal.pone.0112498.
9. Terzic M, Jakimovska M, Fustik S, Jakovska T, Sukarova-Stefanovska E, Plaseska-Karanfilska D. Cystic fibrosis mutation spectrum in North Macedonia: A step toward personalized therapy. *Balkan J Med Genet*. 2019;22(1):35-40.
10. Naehrlich L. The changing face of cystic fibrosis and its implications for screening. *Int. J. Neonatal Screen*. 2020, 6, 54; doi:10.3390/ijns6030054
11. Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, Laxova A, Zeng L, Lai HC, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. *Pediatrics*. 2001;107:1–13.
12. Mak DYF, Sykes J, Stephenson AL, Lands LC. The benefits of newborn screening for cystic fibrosis: The Canadian experience. *J Cyst Fibros*. 2016; 15:302–308.
13. Siret D, Bretaudeau G, Branger B, Dabadie A, Dagorne M, David V, et al. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms: a 10-year retrospective study in a French region (Brittany). *Ped Pulmonol*. 2003;35:342–9

14. Schluter DK, Southern KW, Dryden C, Diggle P, Taylor-Robinson D. Impact of newborn screening on outcomes and social inequalities in cystic fibrosis: a UK CF registry-based study. *Thorax*. 2020;75:123–131.
15. Davies G, Stocks J, Thia LP, Hoo AF, Bush A, Aurora P, et al. Pulmonary function deficits in newborn screened infants with cystic fibrosis managed with standard UK care are mild and transient. *EurRespir J*. 2017; 50:1700326[<https://doi.org/10.1183/13993003.00326-2017>].
16. Tridello G, Castellani C, Meneghelli I, Tamanini A, Assael BM. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ Open Res* 2018; 4: 00109-2017 [<https://doi.org/10.1183/23120541.00109-2017>].
17. Nshimyumukiza L, Bois A, Daigneault P, Lands L, Laberge AM, Fournier D, et al. Cost effectiveness of newborn screening for cystic fibrosis: a simulation study. *J Cyst Fibros*. 2014;13(3):267-74.
18. Castellani C, John Massie J, Marci Sontag, Kevin W Southern. Newborn screening for cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2016.4(8):653-661.doi: 10.1016/S2213-2600(16)00053-9.
19. Barben J, Castellani C, Dankert-Roelse J, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, et al. The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros*. 2017;16:207–213.
20. Mayell SJ, Munck A, Craig JV et al. European consensus for the evaluation and management of infants with equivocal diagnosis following newborn screening for cystic fibrosis. European CysticFibrosis Society Neonatal Screening Working Group. *J Cyst Fibros* 2009; 8:71-78
21. Munck A, Mayell SJ, Winters V, Shawcross A, Derichs N, Parad R, et al. Cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CFSPID): A new designation and management recommendations for infants with an inconclusive diagnosis following newborn screening. *J Cyst Fibros* 2015;14:706-13.
22. Southern KW ,Barben J, Gartner S, Munck A, Castellani C, Mayell SJ, et al. Inconclusive diagnosis after a positive newborn bloodspot screening result for cystic fibrosis; clarification of the harmonised international definition. *J Cyst Fibros*. 2019, 18:778–780.
23. Munck A. Inconclusive diagnosis after newborn screening for cystic fibrosis. *Int J Neonatal Screen*. 2020, 6, 19; doi:10.3390/ijns6010019.
24. Rusakow LS , Frank J. Accurso FJ. Immunoreactive trypsinogen levels in infants with cystic fibrosis complicated by meconium ileus. *Screening* 1993; 2:13-17.
25. Repeto T, Mergni G, Revenni N, Zavataro L, Braggion C. Delay in meconium emission: should it be considered a risk for cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2011; 11 (Suppl.1):S12/46.
26. CastellaniC and Massie J. Newborn screening and carrier screening for cystic fibrosis: alternative or complementary? *Eur Respir J* 2014; 43:20–23.

27. de Jong PA, Achterberg JA, Kessels OAM et al. Modified Chrispin-Norman chest radiography score for cystic fibrosis: observer agreement and correlation with lung function. *Eur Radiol* 2011; 21:722–729
28. Gilligan, PH. Infections in patients with cystic fibrosis: diagnostic microbiology update. *Clin Lab Med*. 2014; 34: 197–217.
29. Mogayzel, PJ Jr, Naureckas, ET, Robinson, KA..., and Cystic Fibrosis Foundation Pulmonary Clinical Practice Guidelines Committee. Cystic Fibrosis Foundation pulmonary guideline. Pharmacologic approaches to prevention and eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Ann Am Thorac Soc*. 2014; 11: 1640–1650.
30. Levy, H and Farrell, PM. New challenges in the diagnosis and management of cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2015; 166: 1337–41.

Учесници во проектот (истражувачи)

- Виш научен сор. д-р сци Виолета Анастасовска
- Мр. д-р Лидија Спиревска
- Д-р Ана Стаматова
- Милица Пешевска (дипл.биолог)
- Д-р Оливера Јорданова
- Драган Симоновски (дипл.биолог)
- Научен сор. д-р Гордана Мирчевска
- Виш научен сор. д-р Весна Котевска
- Проф.д-р Соња Бојациева
- Научен сор. д-р Валентина Цвеовска
- Асист. Д-р Весна Мицевска
- Научен сор. д-р Илија Кировски

Надворешни соработници/истражувачи од Истраживачкиот центар за генетско инжењерство и биотехнологији „Георѓи Д. Ефремов“, МАНУ:

- Проф. д-р Дијана Плашеска Каранфилска
- Д-р Марија Терзиќ