

18. Березина Д.Н., Шабалин А.А. Обеспеченность рациона питания витамином С детей дошкольного возраста. Вятский медицинский вестник. 2009; 1: 94.

19. Коденцова В.М. Экскреция с мочой витаминов и их метаболитов как критерий обеспеченности витаминами организма человека. Вопросы медицинской химии. 1992; 38 (4): 33–37.

20. Коденцова В.М., Вржесинская О.А. Витаминизированные пищевые продукты в питании детей: история, проблемы и перспективы. Вопросы детской диетологии. 2012; 10 (5): 32–44.

21. Студеникин В.М., Спиричев В.Б., Самсонова Т.В., Маркеева В.Д., Анисимова Т.Г., Щукин С.А., Карпунина Т.Г.

Влияние дополнительной витаминизации на заболеваемость и когнитивные функции у детей. Вопросы детской диетологии. 2009; 7 (3): 32–37.

22. Ковригина Е.С., Панков Д.Д., Ключникова И.В. Применение витаминно-минерального комплекса с разной курсовой длительностью у часто болеющих детей в условиях дневного стационара. Педиатрия. 2012; 91 (6): 122–128.

23. Best C, Neufingerl N, Del Rosso JM, Transler C, van den Briel T, Osendarp S. Can multi-micronutrient food fortification improve the micronutrient status, growth, health, and cognition of schoolchildren? A systematic review. Nutr. Rev. 2011; 69 (4): 186–204. doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00378.x.

© Коллектив авторов, 2015

Е.В. Чернышова^{1,2}, Л.А. Анастасевич^{1,2}, А.Ю. Щербина¹, С.С. Ларин^{1,3}

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СКРИНИНГА И ДИАГНОСТИКИ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ В ПЕДИАТРИИ*

¹ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ, ²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, ³ИИБГ РАН, Москва, РФ

E.V. Chernyshova^{1,2}, L.A. Anastasevich^{1,2}, A.Y. Scherbina¹, S.S. Larin^{1,3}

MODERN POSSIBILITIES OF SCREENING AND DIAGNOSIS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY IN PEDIATRICS*

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. D. Rogachev; ²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

За последнее десятилетие число зарегистрированных случаев первичных иммунодефицитных состояний (ПИДС) в мире увеличилось более чем в 10 раз, что связано с улучшением качества диагностики. Своевременная диагностика ПИДС является важнейшим критерием успеха терапии. Эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей с ПИДС в течение первых 3,5 месяцев жизни составляет 94% при отсутствии активных инфекционных процессов у ребенка к началу терапии. К тяжелым последствиям и смертельному исходу может привести вакцинация детей с иммунодефицитными состояниями. Необходимость скрининга новорожденных с целью диагностики ПИДС обусловлена и тем, что в связи с отсутствием обширных исследований в РФ не установлена эпидемиологическая частота данной патологии.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, скрининг новорожденных, карты Гуттри, TREC, KREC.

Over the past decade, the number of primary immunodeficiencies (PIDS) reported cases in the world increased by more than 10 times due to diagnosis quality improvement. Timely PIDS diagnosis is the most important criterion of therapy success. The efficacy of hematopoietic stem cell transplantation in children with PIDS during first 3,5 months of life is 94% without active infec-

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-35-00105).

Контактная информация:

Чернышова Екатерина Викторовна – младший научный сотрудник ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ
Адрес: Россия, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: (495) 287-65-70,
E-mail: ek.v.chernyshova@gmail.com
Статья поступила 14.12.15, принята к печати 10.03.16.

Contact Information:

Chernysheva Ekatherina Viktorovna – junior researcher, Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. D. Rogachev
Address: Russia, 117997, Moscow, Samora Machel str., 1
Tel.: (495) 287-65-70,
E-mail: ek.v.chernyshova@gmail.com
Received on Dec. 14, 2015, submitted for publication on Mar. 10, 2016.

tious processes in child on the therapy beginning. Vaccination of children with immunodeficiency can cause serious consequences and fatal outcome. Necessity of screening for diagnosis of primary immunodeficiency in newborns caused also by the fact that due to the lack of extensive research epidemiological frequency of this pathology in Russia has not been calculated.

Keywords: primary immunodeficiencies, newborn screening, Guthrie cards, TREC, KREC.

Одной из непростых задач для врача-педиатра является диагностика заболеваний, причиной которых являются дефекты иммунной системы. В структуре обозначенных патологий выделена группа первичных иммунодефицитных состояний (ПИДС). ПИДС – генетически детерминированные, врожденные заболевания, характеризующиеся нарушением того или иного механизма иммунной защиты. Первые описания ПИДС относятся к середине прошлого века, когда в 1952 г. английский военный врач О. Брутон сделал сообщение о 8-летнем мальчике с тяжелыми воспалительными заболеваниями, повторяющимися пневмониями и отсутствием γ -глобулина [1]. Позже синдром назвали X-сцепленной агаммаглобулинемией (или болезнью Брутона) и нашли ген (*Btk*), мутация которого связана с этим заболеванием. Особую роль в изучении ПИДС внес американский педиатр Р. Гуд, описавший роль тимуса и костного мозга в формировании иммунной системы. К настоящему моменту описано более 200 ПИДС, для большинства из которых установлена молекулярная основа патогенеза и прослежены фенотипические проявления [2, 3].

Принято считать, что ПИДС – редкая патология. Вместе с тем в исследовании, включавшем 234 академических института в 78 странах, показано, что в последние годы число установленных случаев ПИДС увеличилось более чем в 10 раз: в 2013 г. установлено 77 192 случая ПИДС, в то время как в 2003 г. – всего 5420 [4]. По мнению специалистов, рост заболеваемости ПИДС связан с улучшением качества диагностики, накоплением знаний о молекулярно-генетических механизмах, вызывающих ПИДС. По данным Европейского общества иммунодефицитов, частота ПИДС варьирует в разных странах: в Великобритании – 1:38 000, в Нидерландах – 1:25 000, в Швейцарии – 1:12 500, а в Швеции достигает 1:10 000. В Российской Федерации частота данной патологии не установлена. Целесообразно ориентироваться на наиболее высокие мировые показатели – 1:10 000, учитывая, что частота отдельных ПИДС может варьировать [4, 5].

В основу современной классификации ПИДС положено поражение того или иного звена иммунитета [2, 3]. По данным зарубежных коллег, около половины ПИДС связаны с дефектами продукции антител, 14,2% приходится на четко очерченные синдромальные иммунодефициты, 8% – на аутоиммунные заболевания, по 6% – на дефекты компонентов комплемента, системы фагоцитоза, комбинированные иммунодефициты, 3,7% составляют нарушения регуляции [4, 6].

Клинические проявления ПИДС разнообразны: рецидивирующие инфекционные забо-

левания, могут иметь место аплазия и гиперплазия лимфоидной ткани, идиопатические эндокринопатии, гематологические изменения, артропатии, гепатоспленомегалия, неврологические нарушения (ментальная недостаточность, микроцефалия, атаксия), грубое отставание в физическом развитии, скелетные дефекты и пороки сердца. Для отдельных иммунодефицитов характерно увеличение риска развития аутоиммунных, опухолевых и аллергических процессов. В отсутствие патогенетической терапии иммунодефициты характеризуются неблагоприятным исходом [2, 3, 5–7].

В настоящее время существуют методы лечения, позволяющие повысить качество и продолжительность жизни пациентов с ПИДС. При своевременной диагностике возможно и полное выздоровление. Арсенал терапевтических подходов включает в себя трансплантацию гемопоэтических клеток, заместительную терапию иммуноглобулинами, антибактериальную и антифунгицидную терапию. Показана высокая эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток для детей первых 3,5 месяцев жизни, у которых общая бессобытийная выживаемость достигла 94%; у детей старшего возраста составила 90%, при наличии бактериальных и вирусных инфекций к началу терапии – всего 50% [8]. Раннее выявление ПИДС – основополагающий фактор успеха лечения иммунодефицитов.

Для улучшения качества диагностики Европейское и Панамериканское общества иммунодефицитов предложили использовать критерии вероятности наличия ПИДС, при наличии хотя бы одного из которых больному показаны консультация иммунолога и проведение иммунологического обследования [6]. В диагностическом арсенале врачей имеется большое количество как рутинных методов диагностики ПИДС, которые могут быть осуществлены в большинстве медицинских учреждений, так и сложных специфических методов, доступных специализированным иммунологическим центрам. К первичной лабораторной панели диагностики ПИДС могут быть отнесены клинический анализ крови с подсчетом количества лейкоцитов и их формулы, количественная оценка IgG, IgM и IgA, определение изогемагглютининов, позволяющих косвенно оценить качественные характеристики IgM, определение уровня поствакцинальных антител. Использование данной панели позволяет установить предварительный диагноз наиболее распространенных иммунодефицитов [6, 9].

Детальную диагностику применяют для уточнения диагноза и выявления редких форм ПИДС. В панель специфических тестов входят количественное определение субпопуляций Т- и

В-лимфоцитов, оценка экспрессии различных активационных маркеров, пролиферативного ответа иммунокомпетентных клеток на антигены и митогены. Оценивают способность нейтрофилов к продукции активных радикалов кислорода, бактерицидность и фунгицидность. Для окончательного подтверждения диагноза ПИДС используют молекулярные методы исследования, которые позволяют установить мутацию гена/генов, являющихся причиной заболевания [10].

Несмотря на широкие возможности диагностики ПИДС, своевременно выявить ПИДС удается не более чем у 70% больных [5, 11]. Диагноз тяжелого комбинированного иммунодефицита (ТКИН), как правило, устанавливается не ранее 6–8 месяцев жизни ребенка, а отсрочка в постановке диагноза других ПИДС может составлять 5 лет и более с момента рождения. Ситуация усугубляется и тем, что более 50% детей погибают до постановки диагноза и начала патогенетической терапии [5].

Одной из важных проблем является вакцинация новорожденных и детей первого года жизни, имеющих какое-либо иммунодефицитное состояние. Использование «живых» вакцин может приводить к тяжелым осложнениям и смертельному исходу. В 2006 г. в США детям от 6 недель до 2 месяцев была проведена вакцинация ослабленной ротавирусной вакциной. У младенцев с неустановленными ПИДС развилась тяжелая диарея, в связи с которой зарегистрировано несколько смертельных исходов [12]. На территории РФ осуществляется вакцинация детей ослабленными вакцинами против туберкулеза, краснухи, кори, паротита, полиомиелита, что является жизненной угрозой для пациентов с ПИДС с неустановленным диагнозом.

Безусловно, играет роль и стоимость терапии: в связи с увеличением длительности клинической подготовки пациента к трансплантации стоимость операции возрастает в несколько раз. Подсчитано, что средняя стоимость поздней трансплантации при ПИДС составляет \$ 360 000, в то время как стоимость ранней трансплантации ниже в 3 раза и составляет \$ 120 000 [13]. Вышесказанное позволяет сделать вывод об острой необходимости неонатального скрининга для выявления ПИДС. Анализ данных

неонатального скрининга позволит судить об истинной частоте заболевания на территории Российской Федерации.

В последние годы появился относительно недорогой и доступный метод скрининга с использованием сухих пятен крови на карточках Гутри. Метод основан на определении с использованием ПЦР в реальном времени количества кольцевых структур TREC и KREC, которые образуются в результате структурной перестройки генов T-клеточного рецепторов и иммуноглобулинов [14, 15].

Гены вариабельных доменов полипептидных цепей антигенраспознающих рецепторов состоят из множества V (variable)-, D (diversity)- и J (joining)-сегментов, число которых варьирует. Приведенное строение характерно для предшественников лимфоцитов. В результате VDJ-рекомбинации формируется полный V-домен, образованный за счет присоединения к зародышевому V-сегменту одного из DJ-сегментов. Промежуточные участки генома удаляются, образуя побочный продукт перестройки – эксцизионные кольцевые ДНК, называемые TREC (T-cell receptor excision circles) и KREC (kappa-deleting recombination excision circles). Этот процесс происходит при дифференцировке в каждом лимфоците независимо, что приводит к формированию зрелого V-гена, уникального для данной клетки [16]. Эксцизионные кольцевые ДНК являются стабильными структурами, которые в ходе деления лимфоцитов остаются в одной из дочерних клеток и не дублируются в процессе митоза, что позволяет использовать TREC и KREC как маркеры пролиферации лимфоцитов в тимусе и костном мозге соответственно [15, 17].

Как известно, функциональная активность тимуса снижается с возрастом, что приводит к изменению количества TREC в клетках периферической крови [18]. У новорожденных уровень TREC высокий, по мере взросления количество T-лимфоцитов, содержащих TREC, уменьшается из-за экспансии периферических T-клеток. В табл. 1 приводится содержание TREC в лимфоцитах периферической крови здоровых детей и взрослых. Первоначальные высокие показатели уровня TREC у новорожденных и детей первых 2 лет жизни постепенно снижаются с возрастом. Максимальная скорость снижения характерна

Таблица 1

Содержание TREC (число копий на 1 тысячу лимфоцитов) в лимфоцитах периферической крови здоровых лиц в зависимости от возраста

Возраст, годы	Медиана	Квартили		Значения TREC/тыс клеток	
		нижний	верхний	минимальное	максимальное
До 2	73,34	53,99	83,84	16,72	142,51
2–10	16,37	8,65	36,38	1,68	103,74
11–20	5,02	2,59	5,91	1,14	21,91
21–30	3,78	1,26	8,29	0,03	14,92
31–40	3,39	0,74	5,21	0,001	7,78
41–50	2,61	1,11	4,61	0,04	30,28
51–60	1,79	1,48	4,18	1,43	8,22
61 и более	1,45	1,24	1,88	1,16	2,45

Результаты программ неонатального скрининга ПИДС в США [27]

Штат	Длительность скрининга, мес	Количество участников	Случаи ТКИН	Доля ТКИН на 100 000 участников	Выживаемость новорожденных с ТКИН
Калифорния	34	1 384 606	23	1,7	21/23
Колорадо	13	70 989	1	1,4	1/1
Коннектикут	19	57 136	3	5,2	3/3
Делавер	12	11 202	1	8,9	1/1
Массачусетс	48	293 371	4	1,4	4/4
Мичиган	18	162 528	2	1,2	1/2
Миссисипи	12	37 613	1	2,7	0/1
Навахонейшн	17	3498	1	29	1/1
Нью-Йорк	24	485 912	10	2	9/10
Техас	6	183 191	2	1,1	0/2
Висконсин	60	340 037	4	1,2	4/4
Итого		3 030 083	52	1,72	45/52

для первого десятилетия жизни (с 73,3 до 16,4 копий на 1 тыс клеток, т.е. в 4,5 раза), с 10 до 20 лет отмечено дальнейшее уменьшение уровня TREC в 3,3 раза. Таким образом, в течение первых 20 лет жизни концентрация TREC снижается почти в 15 раз (с 73,3 до 3,8 копий на 1 тыс клеток). Затем прогрессия уменьшения числа TREC замедляется, но не останавливается в течение всей жизни [19, 20].

Для большинства форм комбинированных ПИДС типичным является низкое содержание TREC и KREC в периферической крови. Низкий уровень эксцизионных кольцевых молекул ДНК детектируется с момента рождения и на протяжении всей жизни пациента с ПИДС. Присутствие материнских Т-лимфоцитов в крови детей, страдающих ТКИД, не приводит к возникновению ложно-положительных результатов, так как материнские Т-лимфоциты содержат крайне мало TREC [21]. В ходе исследования гендерных различий выявлено не было. Оценка соотношения TREC/KREC эффективна у больных старшего возраста с клиникой ПИДС и неоднозначными изменениями в иммунологических тестах. Она же может быть использована для оценки функционирования иммунной системы в случаях восстановления иммунитета после трансплантации костного мозга, а также для определения ответа на антиретровирусную терапию при лечении ВИЧ-инфекции [22].

В ряде зарубежных исследований была показана высокая эффективность диагностики ПИДС по уровню TREC для анализа поражений различных звеньев иммунной системы [23–29]. В нескольких штатах США проведена пилотная программа неонатального скрининга ПИДС, которая впервые была апробирована в 2008 г. в США в штате Висконсин. Позднее к этой программе присоединились штаты Массачусетс, Нью-Йорк, Калифорния, Колорадо, Коннектикут, Делавэр, Мичиган, Миссисипи. К августу 2014 г. исследование охватило 3 030 083 новорожденных (табл. 2) [30]. В период проведения программы на территории участвующих штатов не было пропущено ни одного случая ПИДС. Было

выявлено 52 случая ПИДС, 10 из которых представляют собой группу так называемых «размытых» («leaky») ТКИД. «Размытые» ТКИД представляют собой заболевания с неполными гипоморфными мутациями ТКИД-генов, в результате чего функционирование клеточного и гуморального иммунитета ослаблено. Ранее считалось, что диагностика «размытых» иммунодефицитов с помощью оценки TREC в периферической крови нецелесообразна, однако в масштабном скрининге показано обратное. Определение уровня TREC эффективно для типичных ТКИД, патогенез которых связан с мутациями в генах *IL2RG*, *IL7RA*, *ADA*, *RAG1*, *JAK3*, *DCLRE1C*, *RAG2*, *CD3D*, *TC7A*, тетрасомией длинного плеча хромосомы 12, «размытые» ТКИД – с мутациями в *RAG1*, *RMRP*, *IL2RG*, *DCLRE1C* [31, 32]. Подсчет концентрации KREC (кольцевых эксцизионных молекул ДНК в В-лимфоцитах) в крови позволяет выявить дефекты В-клеточного звена: синдром Неймегена, X-сцепленная агаммаглобулинемия [33–35]. У всех пациентов с мутациями в *RAG1*-гене детектированы низкие значения уровня TREC и KREC, что фенотипически соответствовало Т-В-НК+ клеткам.

Обширный скрининг новорожденных на ПИДС позволил выявить пациентов с ПИДС до начала активных клинических проявлений, и все дети получили своевременное лечение. Как следствие, терапия привела к улучшению прогноза и уменьшению смертности от ПИДС. В результате исследования была установлена истинная частота ПИДС на территории штатов, которая составила 1:58 000 вместо предполагаемой 1:100 000 [27].

Скрининг новорожденных проводят в Швеции, Италии, Японии, Великобритании, Израиле [4]. В ряде исследований была показана не только специфичность метода определения TREC и KREC, но и его экономическая эффективность. Рассматривая потенциальные затраты скрининга новорожденных, McGhee и соавт. использовали двухуровневый протокол тестирования [36]. По этому протоколу определяли уровень IL7 с последующим определением уровня TREC для

положительных образцов. В свою очередь, Кее Chan, Joie Davis и соавт. предложили использовать одиночное определение уровня TREC. Обе стратегии (McGhee и Кее Chan) показали высокую специфичность (до 99,1%) и высокую чувствительность (99,6%). При этом расходы на реализацию двухуровневого протокола составляли \$ 5, в то время как на проведение одноуровневого теста требовалось \$ 4.22 [13].

В заключение можно сделать вывод об эпидемиологической, экономической и имиджевой целесообразности описываемого метода скрининга новорожденных для предварительного выявления пациентов с ПИДС в Российской Федерации. Окончательный диагноз должен ставиться после комплексного обследования с использованием спектра иммунологических и молекулярно-генетических методов.

Литература

1. Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics*. 1952; 9 (6) (1): 722–728.
2. Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125: 182–194.
3. URL: ESID Registry. <http://www.cnt.ki.se/esidregistry/intro.html> (дата обращения 21.03.2014).
4. Modell V, Knaus M, Modell F, Roifman C, Orange J, Notarangelo LD. Global overview of primary immunodeficiencies: a report from Jeffrey Modell Centers worldwide focused on diagnosis, treatment, and discovery. *Immunol. Res.* 2014; 60 (1): 132–144.
5. Puck JM. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: Steps toward implementation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 120: 760–768.
6. Щербина А.Ю., Косачева Т.Г., Румянцев А.Г. Первичные иммунодефициты: вопросы диагностики и лечения (Лекция). Вопросы гематологии/онкологии и иммунологии в педиатрии. 2010; 9 (2): 23–32.
7. Ballow M. Safety of IVIG therapy and infusion-related adverse events. *Immunol. Res.* 2007; 38 (1–3): 122–132.
8. Pai S. Transplantation Outcomes for Severe Combined Immunodeficiency, 2000–2009. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371 (5): 434–446.
9. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммунодефициты: диагностика и иммунотерапия. Лечащий врач. 1999; 2 (3): 63–69.
10. Costabile M, Quach A, Ferrante A. Molecular Approaches in the Diagnosis of Primary Immunodeficiency Diseases. *Human Mutation*. 2006; 27 (12): 1163–1173.
11. Кондратенко И.В., Болотов А.А. Первичные иммунодефициты. М.: ИД Медпрактика-М, 2005: 231.
12. Puck MD, Jennifer M. Neonatal Screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID). *Current Opinion in Pediatrics*. 2011; 23 (6): 667–673.
13. Chan K, Puck JM. A Markov model to analyze cost-effectiveness of screening for severe combined immunodeficiency (SCID). *Molecular Genetics and Metabolism*. 2011; 104: 383–389.
14. Verbsky J, Thakar M, Routes J, et al. The Wisconsin approach to newborn screening. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 129: 622–627.
15. Baker MW, Grossman WJ, Laessig RH, et al. Development of a routine newborn screening protocol for severe combined immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 124: 522–527.
16. Ярилин А.А. Иммунология. М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2010.
17. Chan K, Puck JM. Development of population based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 115: 391–398.
18. Douek DC, McFarland RD, Keiser PH, Gage EA, Massey JM, Haynes BF, Polis MA, Haase AT, Feinberg MB, Sullivan JL, Jamieson BD, Zack JA, Picker LJ, Koup RA. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*. 1998; 396 (6712): 690–695.
19. Донецкова А.Д. Новый подход к исследованию Т-лимфоцитоза с помощью определения Т-рецепторных эксцизионных колец в эксперименте и клинике: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2013: 26.
20. Lorenzi AR, Patterson AM, Pratt A, Jefferson M, Chapman CE, Ponchel F, Isaacs JD. Determination of thymic function directly from peripheral blood: a validated modification to an established method. *J. Immunol. Methods*. 2008; 339 (2): 185–194.
21. Puck JM. The case for newborn screening for severe combined immunodeficiency and related disorders. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2011; 1246: 108–117.
22. Borte S, Wang N, Oskarsdóttir S, von Döbeln U, Hammarström L. Newborn screening for primary immunodeficiencies: beyond SCID and XLA. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2011; 1246: 118–130.
23. Lindegren ML, Kobrynski L, Rasmussen SA, Moore CA, Grosse SD, Vanderford ML, Spira TJ, McDougal JS, Vogt RF Jr, Hannon WH, Kalman LV, Chen B, Mattson M, Baker TG, Khoury M. Applying public health strategies to primary immunodeficiency diseases: a potential approach to genetic disorders. *MMWR Recomm. Rep.* 2004; 53 (RR-1): 1–29.
24. Routes JM, Grossman WJ, Verbsky J, Laessig RH, Hoffman GL, Brokopp CD, Baker MW. Statewide newborn screening for severe T-cell lymphopenia. *JAMA*. 2009; 302: 2465–2470.
25. Borte S, von Döbeln U, Fasth A, Wang N, Janzi M, Winiarski J, Sack U, Pan-Hammarstrom Q, Borte M, Hammarstrom L. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood*. 2012; 119 (11): 2552–2555.
26. Lingman Framme J, Borte S, von Döbeln U, Hammarstrom L, Oskarsdottir S. Retrospective analysis of TREC based newborn screening results and clinical phenotypes in infants with the 22q11 deletion syndrome. *J. Clin. Immunol.* 2014; 34 (4): 514–519.
27. Vogel BH, Bonagura V, Weinberg GA, Ballow M, Isabelle J, DiAntonio L, Parker A, Young A, Cunningham-Rundles C, Fong CT, Celestin J, Lehman H, Rubinstein A, Siegel S, Weiner L, Saavedra-Matiz C, Kay DM, Caggana M. Newborn screening for SCID in New York State: experience from the first two years. *J. Clin. Immunol.* 2014; 34 (3): 289–303.
28. Chien YH, Chiang SC, Chang KL, Yu HH, Lee WI, Tsai LP, Hsu LW, Hu MH, Hwu WL. Incidence of severe combined immunodeficiency through newborn screening in a Chinese population. *J. Formos. Med. Assoc.* 2015; 114 (1): 12–16.
29. Verbsky JW, Baker MW, Grossman WJ, Hintermeyer M, Dasu T, Bonacci B, Reddy S, Margolis D, Casper J, Gries M, Desantes K, Hoffman CL, Brokopp CD, Seroogy CM, Routes JM. Newborn screening for severe combined immunodeficiency; the Wisconsin experience (2008–2011). *J. Clin. Immunol.* 2012; 32 (1): 82–88.
30. Kwan A. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA*. 2014; 312 (7): 729–738.
31. Borte S, von Döbeln U, Hammarström L, et al. Guidelines for newborn screening of primary immunodeficiency diseases. *Curr. Opin. Hematol.* 2013; 20: 48–54.
32. Serana F, Sottini A, Chiarini M, et al. Use of V(D) J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. *Journal of Translational Medicine*. 2013; 11: 119.
33. Borte S, Wang N, Oskarsdottir S, et al. Newborn screening for primary immunodeficiencies: beyond SCID and XLA. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2011; 1246: 118–130.
34. Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, Okada S, Kobayashi M, Agematsu K, Takada H, Mitsui N, Oshima K, Ohara O, Suri D, Rawat A, Singh S, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Reichenbach J, Seger R, Ariga T, Hara T, Miyawaki T, Nonoyama S. Quantification of κ-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128 (1): 223–225.
35. Adams SP, Rashid S, Premachandra T, Harvey K, Ifederu A, Wilson MC, Gaspar HB. Screening of neonatal UK dried blood spots using a duplex TREC screening assay. *J. Clin. Immunol.* 2014; 34 (3): 323–330.
36. McGhee SA, Stiehm ER, Cowan M, Krogstad P, McCabe ER. Two-tiered universal newborn screening strategy for severe combined immunodeficiency. *Mol. Genet. Metab.* 2005; 86: 427–430.