

UPUTSTVO ZA PRAVILNO UZIMANJE UZORKA KRVI NA FILTER-PAPIR ZA NOVOROĐENAČKI SKRINING NA NASLJEDNE METABOLIČKE BOLESTI

Instructions for Correct Technique of Filter-Paper Blood Spot Sampling in the Newborn Screening Programme for Congenital Metabolic Diseases

Husref Tahirović i Alma Toromanović
Klinika za dječije bolesti Univerzitetsko-kliničkog centra u Tuzli

Revijalni članak

Sažetak

U radu su data uputstva za pravilno uzimanje uzorka krvi na filter-papir za novorođenački skrining na nasljedne metaboličke bolesti. Opisan je značaj edukacije budućih roditelja, optimalno vrijeme, mjesto i postupak uzimanja uzorka krvi, važnost popunjavanja administrativnih podataka na filter-papiru, kao i važnost blagovremenog dostavljanja uzetog uzorka krvi u Laboratorij za otkrivanje urođenih metaboličkih bolesti Klinike za dječije bolesti u Tuzli.

Ključne riječi: uputstvo, uzorak krvi, filter-papir.

Review article

Summary

This paper is giving detailed instructions for the correct technique of filter-paper blood spot sampling in the course of newborn screening programme for metabolic diseases. The importance of education of future parents is emphasized, and the best time, place and procedures for blood sampling are given. In addition, the necessity for providing correct data on the filter paper cards and their immediate transfer to the screening laboratory at the Department of Pediatrics, University Hospital Tuzla are underlined.

Key words: technical instructions, blood sampling, filter-paper blood spotting.

UVOD

Novorođenački skrining u Federaciji Bosne i Hercegovine od 01.01.2005. godine je obavezna mjera zdravstvene zaštite novorođenčadi. Testiranje uzoraka krvi se obavlja u Laboratoriju za otkrivanje urođenih metaboličkih bolesti Klinike za dječije bolesti u Tuzli. Da bi dobijeni nalaz bio pravilno interpretiran i daljne procedure sprovedene, potrebno je pridržavati se tačno utvrđenih uputstava.

1. EDUKACIJA RODITELJA

Primarni zadatak institucije, odnosno njenih zaposlenika koji treba da uzmu uzorak krvi novorođenčetu, je edukacija roditelja o neonatalnom skriningu. Oni moraju upoznati roditelje o važnosti blagovremenog isključivanja ili potvrđivanja postojanja neke od navedenih bolesti, te da će u slučaju postojanja bolesti biti omogućeno blagovremeno liječenje i normalan rast i razvoj novorođenčeta, i suprotno, izostanak liječenja će voditi ka teškoj mentalnoj retardaciji. Pored toga, roditelje treba upoznati da je neonatalni skrining na fenilketonuriju i kongenitalnu hipotireozu u Federaciji Bosne i Hercegovine preporučen od Federalnog ministarstva zdravstva, i da je gledano s aspekta plaćanja besplatna zdravstvena usluga.

Za edukaciju je neophodno koristiti brošuru »Rano otkrivanje kongenitalnog hipotireoidizma i fenilketonurije« kao edukacioni materijal. U prethodno informisanih roditelja smanjuje se mogućnost nastajanja stresa u slučaju da

je testiranje neophodno ponoviti, jer oni već znaju da ponovno uzimanje uzorka ne znači da njihovo novorođenče ima jednu od navedenih bolesti, odnosno da će u slučaju postojanja bolesti njihovom novorođenčetu biti omogućeno blagovremeno liječenje, tj. normalan rast i razvoj.

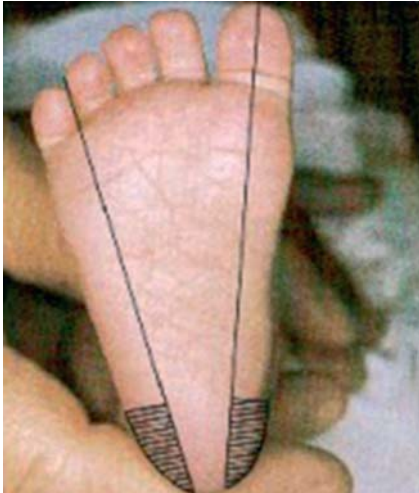
2. VRIJEME UZIMANJA UZORKA KRV I

Uzorak krvi uzima se na specijalni filter-papir svakom novorođenčetu, zdravom i bolesnom, (donesenom ili nedonesenom) između 3. i 5. dana života (od početka trećeg dana života i do kraja petog dana). U slučaju da krv nije uzeta do kraja petog dana života, treba je uzeti što je moguće prije. Međutim, roditelji i zdravstveni uposlenici treba da znaju da u slučaju postojanja bolesti ona neće biti na vrijeme otkrivena i da se liječenje neće započeti na vrijeme, odnosno da je prognoza rezultata liječenja bolesti neizvjesnija. Uzorke krvi ne treba uzimati prije početka trećeg dana života, (punih 48 sati), jer prije toga dijete nije primilo dovoljno mlijeka da bi koncentracija fenilalanina u krvi, u slučaju postojanja bolesti, dostigla patološke vrijednosti.

3. MJESTO UZIMANJA UZORKA KRV I

Najsigurnije i najprikladnije mjesto za uzimanje uzorka krvi je vanjska ili unutrašnja površina pete (Slika 1). Krv

ne treba uzimati sa površine koja je ranije bila punktirana.



Slika 1. Mjesta na peti za uzimanje uzorka krvi

4. POPUNJAVANJE ADMINISTRATIVNIH PODATAKA NA FILTER-PAPIRU

Sve tražene administrativne podatke na filter-papiru treba čitko i u potpunosti napisati velikim slovima unutar predviđenog prostora plavom ili crnom

hemijskom olovkom prije uzimanja uzorka krvi (Slika 2). Ovi podaci su od velikog značaja za identifikaciju pacijenta (ime i prezime, mjesto i adresa stanovanja, broj telefona i drugo) u slučaju pozitivnog nalaza. Prilikom pisanja ne dirati prstima filter-papir označen krugovima.

5. PRIBOR ZA UZIMANJE UZORKA KRVI

Pribor za uzimanje uzorka krvi sastoji se od sterilne lancete sa ubodnim vrhom od 2 mm, sterilnog 70% alkoholnog tupfera, tupfera sterilne gaze, ručnika zagrijanog toplom vodom, filter-papira i sterilnih rukavica (Slika 3).



Slika 3. Pribor za uzimanje uzorka krvi

#	1	2	3
#	4 J A S M I N A	5 0 5 1 0 7 6	CE
#	6 A V D I Ć	7 0 3 2 3 8 1 2 3 0	8
	9 K B - Z E N I Ć A	10 0 3 2 5 5 0 0 0	SAS® 903™ LOT# L521 Cat. 5005-1903
	11	12 0 6 0 8 0 5 13	24 1 0 0 8 0 5
	14 M I R E L A	15 0 9 5 0	16 1 1
	17 A V D I Ć	18 3 3 0 0	19
	20 B E G A G I Ć A P U T 8	21	22 3 2 0 0 0
	23 Z E N I Ć A	24	25
		26 0 4 m	27 + -
		28	29 a b c
		30 + -	31 + -
		32 + -	33 + -
		34 + -	35 + -

Slika 2. Filter-papir pravilno ispunjen administrativnim podacima

6. UZIMANJA UZORKA KRVI NA FILTER-PAPIRU

- a) Stopalo novorođenčeta treba da bude u nižem položaju od položaja njegovog srca.
- b) Petu koja će biti punktirana zagrijati stavljanjem toplog vlažnog ručnika (zagrijanog toplom vodom do 42° C iz slavine) na mjesto punkcije tri do pet minuta (Slika 4). Zagrijavanje povećava



Slika 4. Zagrijavanje pete toplim vlažnim ručnikom



Slika 5. Čišćenje mjesta alkoholnim tupferom

protok krvi kroz područje iz kojeg će se uzeti krv.

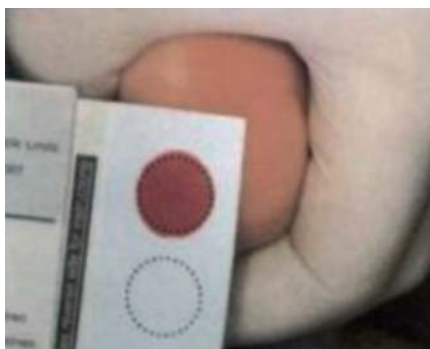
- c) Očistiti mjesto sterilnim alkoholnim tupferom (Slika 5).
- d) Očišćeno mjesto posušiti sterilnom gazom, ili sačekati da se koža spontano osuši (alkohol može uzrokovati hemolizu).
- e) Za dezinfekciju kože ne treba upotrebljavati jod ili sredstva koja ga sadrže (kao Povidon), jer ometaju određivanje TSH, koji se koristi kao parametar za dijagnozu kongenitalne primarne hipotireoze.
- f) Sterilnom lancetom izvršiti ubod dubine 2 mm (Slika 6), a zatim prvu kap krvi očistiti sterilnom gazom. Nakon toga pričekati da se formira velika kap krvi.



Slika 6. Punktiranje kože

- g) Lagano nasloniti centar kružića filter-papira na veliku kap krvi (Slika 7). Ako nakon upijanja krvi kružić nije dovoljno ispunjen onda spontanom iskapa-

vanjem naredne velike kapi krvi odmah natopiti kompletno označeni krug. Krv treba da bude vidljiva i sa druge strane.



Slika 7. Nanošenje filter-papira na kap krvi

- h) Krv nanositi samo sa jednom stranom filter-papira. Nije dopušteno nanositi krv čas na jednu, čas na drugu stranu filter-papira. Označeni krug mora biti u potpunosti ispunjen krvlju. Ne smeta ako krv pređe i preko ruba kruga. Na isti način ispuniti ostale označene krugove (Slika 8).



Slika 8. Ispunjavanje ostalih kružića filter-papira

- i) Protok krvi u toku skupljanja uzorka može biti poboljššan veoma blagim povremenim pritiskanjem područja oko ubodenog mjesta. Međutim, pretjerano pritiskanje, ili »izmuzanje«, uzrokuje miješanje tkivne tečnosti sa krvlju što čini uzorak neispravnim.
- j) Poslije uzete krvi stopalo treba podignuti iznad tijela i sterilnom gazom pritisnuti mjesto uboda do zaustavljanja krvarenja (Slika 9).



Slika 9. Zaustavljanje krvarenja poslije uzimanja uzorka krvi

- k) Nije dozvoljeno nanositi krv kapilarnom cjevčicom, jer ona može da izgrebe filter-papir i učini uzorak neupotrebljivim.
- l) Nanesenu krvnu mrlju treba sušiti najmanje 3 sata na suhom vazduhu, na otvorenoj ravnoj neupijajućoj podlozi, pri temperaturi 15 do 22° C. Pritom krvna mrlja treba da bude zaštićena od toplote i direktne sunčeve svjetlosti (Slika 10).

7. RUKOVANJE UZORKOM

Površinu označenu krugovima nije dozvoljeno dirati rukama ili rukavicama prije ili poslije uzetog uzorka, jer masnoća

sa kože ili puder sa rukavica mogu utjecati na rezultat testa. Također, treba izbjegavati kontaminaciju filter-papira hranom, anti-septicima, vodom ili drugim sredstvima. Oni mogu uzorak učiniti neupotrebljivim.

8. SLANJE UZETOG UZORKA KRVI NA FILTER-PAPIRU

Nakon sušenja, uzorak krvi na filter-papiru se stavlja u koverat (Slika 10) na kojem je prethodno štampana adresa:

Univerzitetski klinički centar
Klinika za dječije bolesti
Laboratorij za otkrivanje urođenih
metaboličkih bolesti
75000 TUZLA
Trnovac 30
Bosna i Hercegovina

i ODMAH šalje putem pošte ili lično dostavlja na Kliniku za dječije bolesti u Tuzli. Nije preporučljivo uzorke zadržavati duže od 24 sata (radi sakupljanja više uzoraka i smanjenja troškova poštarine), jer osim toga što nije preporučljivo u jedan koverat stavljati više uzoraka, kasni se sa testiranjem, što može biti uzrok prekasno postavljenoj dijagnozi i prekasno započetom liječenju. Ako se ipak u jedan koverat stavlja više od jednog uzorka, onda ih treba naizmjenično poredati, tako da dijelovi filter-papira natopljeni krvlju nisu u kontaktu.

9. ISPRAVAN UZORAK

Ispravan uzorak (Slika 11) je preduslov za izvođenje analize, odnosno dobijanje tačnog nalaza. Ima sljedeće karakteristike:



Slika 10. Stavljanje uzorka krvi na filter-papiru u kovertu

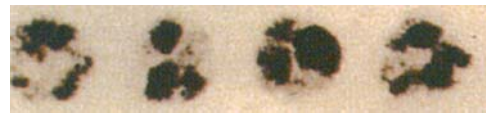
Slika 11. Ispravan uzorak

- Svi predviđeni podaci su čitko ispunjeni.
- Uzet je između 48 i 120 sati poslije poroda.
- Nije kontaminiran bilo kakvim supstancama.
- Krv je nanošena sa jednom stranom filter-papira.
- Krvlju su ispunjeni svi ocrtni kružići.
- Krv je vidljiva i sa druge strane filter-papira.
- Na površini krvlju natopljenog kružića ne vide se nikakve naslage ili grudice.
- Sušen je najmanje 4 sata na vazduhu i ravnoj neupijajućoj podlozi i nije bio izložen uticaju topline i direktne sunčeve svetlosti.
- Poslat je u Laboratorij najkasnije 24 sata od trenutka uzimanja uzorka krvi.

10. NEPRAVILNO UZET UZORAK KRV I

Neppravilno uzet uzorak krvi na filter-papir daje pogrešan rezultat. Prema pravilima Laboratorija on ne može biti

testirani i označuje se kao neupotrebljiv. U tim slučajevima potrebno je uzeti novi uzorak. Na slikama od 12 do 19 prikazani su primjeri neupotrebljivog uzorka krvi na filter-papiru i navedeni mogući uzroci njihovog nastajanja.



Slika 12. Nedovoljna količina krvi

Mogući uzrok:

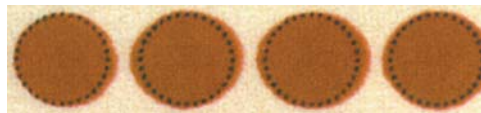
- Filter-papir odmaknut od kapi krvi prije nego što je kružić natopljen
- Površina kružića kontaminirana rukavicama, prstima, puderom, kremom ili losionom za ruke ili drugim supstancama prije uzimanja uzorka krvi.
- Nakon uboda nije dobijeno dovoljno krvi.



Slika 13. Uzorak izgleda izgreban i ishaban

Mogući uzrok:

- Krv stavljena iz kapilarne cjevčice ili drugih uređaja.



Slika 14. Uzorak vlažan i bezbojan

Mogući uzrok:

- Uzorak nije sušen najmanje 4 sata.



Slika 15. Uzorak previše natopljen krvlju

Mogući uzrok:

- Stavljeno previše krvi, obično iz kapilarne cjevčice.
- Krv stavljena na obje strane filter-papira.



Slika 16. Uzorak izgleda kao da je razrijeđen, promijenio boju ili kontaminiran

Mogući uzrok:

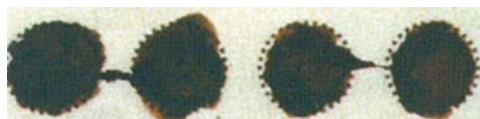
- Stiskana površina oko ubodenog mjesta.
- Filter-papir bio u kontaktu sa alkoholom, losionom za ruke, vodom, pudrom, mliječnom hranom, antiseptičnim supstancama prije ili poslije uzimanja uzorka.
- Direktno izlaganje uzorka toplini.



Slika 17. Uzorak sa serumskim prstenovima

Mogući uzrok:

- Nije posušen alkohol sa mjesta na kojem treba da se punktira koža.
- Filter-papir bio u kontaktu sa alkoholom, losionom za ruke i sl.
- Snažno pritiskivano mjesto oko uboda.
- Uzorak sušen neprikladno.
- Natapanje filter-papira krvlju iz kapilarne cjevčice.
- Polje označeno krugom više puta dodirivano prstima.
- Označeni krugovi ispunjavani sa obje strane filter-papira.



Slika 18. Uzorak izgleda grudvast i slojevit

Mogući uzrok:

- Produženo vrijeme nanošenja krvi na filter-papir.
- Krv prskana na filter-papir.
- Krv sporo tekla sa mjesta uboda (nije napravljen dovoljno dubok ubod).



Slika 19. Krv nije prešla na drugu stranu papira

Mogući uzrok:

- Plitak ubod
- Mala kap krvi
- Kratko zadržavanje filter-papira na kap krvi
- Krv sporo tekla sa mjesta uboda (nije napravljen dovoljno dubok ubod).

11. UZIMANJE DRUGOG UZORKA KRVI NA FILTER- PAPIRU

Prematurusima i bolesnoj novorođenčadi koja su liječena u jedinici intenzivne njege (posebno onima koji su primala dopamin, ili su bila podvrgnuta eksangvino transfuziji) nakon što se oporave i onoj koja su bila izložena sredstvima koja sadrže jod (dezinficijensi, kontrastna sredstva, amiodarone), bez obzira na to što je prvi nalaz testa bio uredan, treba uzeti i drugi uzorak krvi 2 do 4 sedmice poslije prvog. Zato je neophodno da sestra koja je uzimala prvi uzorak roditeljima navedene novorođenčadi uruči

novi koverat sa filter-papirom i lancetom, s napomenom da se ponovno uzme krv na filter-papiru u nadležnoj pedijatrijskoj ambulanti i da se uzeti uzorak pošalje na adresiranu ustanovu.

LITERATURA

1. Davis G, Poholek R. Stability of dried blood spots on paper, as used in screening neonates for hypothyroidism. *Clin Chem* 1979;25(1):24-5.
2. Georgia department of Human resources. Georgia newborn screening manual for metabolic disease & hemoglobinopathies. *A Practitioner's Guide* 1990: 5-10.
3. Mei JV, Alexander JR, Adam BW, Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. *J Nutr* 2001;131 (5):1631S-1636S.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Newborn Screening Specimen Collection Standards. *Pennsylvania bulletin* 1997;17(6): 1-5.
5. Sarnavka V. Novorođenački skrining. *Pediatr Croat* 2004; 48 (Supl 1):197-203.
6. Tahirović H, Toromanović A. Rano otkrivanje kongenitalnog hipotireoidizma i fenilketonurije. *Tuzla: Klinika za dječije bolesti, Publikacija broj 5, 2005:1-8.*