

# РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ ВПРОВАДЖЕННЯ В ПРАКТИКУ НЕОНАТОЛОГІЇ / RECOMMENDATIONS FOR IMPLEMENTATION IN THE PRACTICE OF NEONATOLOGY

УДК: 616-056.7-056.5:612.118-079.3  
DOI: 10.24061/2413-4260.X.4.38.2020.9

*Т.К. Знаменська<sup>1</sup>, О.В. Воробйова<sup>1</sup>,  
І.Е. Кузнєцов<sup>2</sup>, І.В. Ластівка<sup>3</sup>,  
А.В. Крємезна<sup>2</sup>, М.В. Обод<sup>2</sup>,  
І.Г. Самойленко<sup>4</sup>, В.В. Кривошеєва<sup>4</sup>,  
О.С. Лисенко<sup>5</sup>, Т.В. Голота<sup>1</sup>*

ЯКІСТЬ СУХИХ ПЛЯМ КРОВІ –  
НЕВІД'ЄМНА СКЛАДОВА ШВИДКОГО  
ВИЯВЛЕННЯ СПАДКОВИХ ХВОРОБ  
ОБМІНУ РЕЧОВИН

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології  
імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України»  
(м. Київ, Україна) <sup>1</sup>

Клініко-діагностичний центр «Фармбіотест»  
(м. Рубіжне, Україна) <sup>2</sup>

Вищий державний навчальний заклад України  
«Буковинський державний медичний університет»  
(м. Чернівці, Україна) <sup>3</sup>

Донецький національний медичний університет  
(м. Лиман, Україна) <sup>4</sup>

КНП «Лисичанська багатопрофільна лікарня»  
(м. Лисичанськ, Україна) <sup>5</sup>

## Резюме

**Вступ.** Спадкові хвороби обміну речовин (СХОР) – це група генетичних хвороб, які пов'язані з дефектами синтезу або катаболізму складних молекул, порушенням проміжного метаболізму та процесами продукування/утилізації енергії. Клінічна маніфестація СХОР є неспецифічною і нагадує септицемію, найчастіше виникає у неонатальний період у вигляді загрожуючих життю гострих метаболічних кризових станів. Найбільш ефективним методом ранньої діагностики СХОР є розширений неонатальний скринінг – біохімічне дослідження крові усіх без винятку новонароджених з метою виявлення маркерних речовин, характерних для кожної хвороби. Якість біоматеріалу (сухих плям крові) безпосередньо впливає на терміни виконання, точність та надійність результатів біохімічних досліджень. Отримання хибних результатів при дослідженні неякісно відібраних зразків крові потребує повторних лабораторних досліджень, що призводить до затримки діагностичного процесу і відтермінування початку специфічного лікування, наслідком чого зазвичай є незворотне ураження головного мозку та внутрішніх органів дитини.

**Мета роботи.** За результатами виконання розширеного неонатального скринінгу (пілотної частини програми Baby Screen) та аналізу даних літератури щодо впливу неналежної якості сухих плям крові на лабораторні визначення вмісту маркерних речовин охарактеризувати типові помилки при відборі та обробці плям крові, а також надати практичні рекомендації стосовно належного виконання вказаних процедур.

**Матеріал та методи дослідження.** У статті проаналізовано та систематизовано власні дані та інформацію з літературних джерел щодо впливу помилок при відборі зразків та приготуванні сухих плям крові на точність і надійність лабораторних визначень та швидкість діагностики спадкових хвороб обміну речовин при проведенні розширеного неонатального скринінгу.

**Результати дослідження.** Якість відбору біоматеріалу є важливою ланкою отримання достовірних результатів при проведенні розширеного неонатального скринінгу. Забір капілярної крові здійснюється у пологовому будинку з 48-72 год. (у доношених) та на 7-11 добу (у передчасно народжених) після народження з п'яти дитини. При цьому декілька крапель крові наносять на спеціальну тест-картку з фільтрувального паперу, яку висушують та відправляють до лабораторії. Дослідження крові виконується за допомогою високочутливого та точного методу хімічного аналізу – тандемної мас-спектрометрії в лабораторії «Фармбіотест», яка знаходиться в Україні. Надходження до лабораторії проб низької якості призводить до отримання хибних результатів вимірювань, що потребує повторних досліджень та відтермінує встановлення діагнозу і початок лікування, що може мати фатальні наслідки для дитини зі СХОР.

**Висновки.** Інформування медичних працівників та батьків про поточні результати лабораторного моніторингу якості сухих плям крові, типові помилки при відборі та приготуванні зразків, а також надання відповідних практичних рекомендацій – перевірений шлях до скорочення термінів діагностики, які, з огляду на важкі наслідки, є критичними для СХОР.

**Ключові слова:** розширений неонатальний скринінг; новонароджені; сухі плями крові; спадкові хвороби обміну речовин.

## 1. Розширений неонатальний скринінг – особливий різновид біохімічних досліджень

Спадкові хвороби обміну речовин (СХОР) – це велика група генетичних хвороб, які пов'язані з порушеннями проміжного (внутрішньоклітинного) обміну моносахаридів, аміно- та жирних кислот, а також з порушеннями тканинного дихання та продукування енергії у мітохондріях. У більшості випадків СХОР маніфестують у неонатальному періоді, мають прогресивний швидко прогресуючий перебіг та катастрофічні наслідки. Час маніфестації захворювання залежить від ступеня зниження каталітичної активності пошкодженого ферменту (продукту експресії дефектного гена) та метаболічного навантаження на певну біохімічну ланку обміну речовин. В тяжких випадках перші прояви захворювання проявляються через декілька годин після початку грудного вигодовування, в менш тяжких випадках – протягом перших місяців життя, що визначається темпом накопичених токсичних речовин та дією провокуючих факторів, які разом призводять до виникнення так званого «метаболічного кризи». Приблизно в половині випадків перший епізод метаболічної декомпенсації (кризового метаболічного стану) має катастрофічні наслідки – призводить до незворотних органічних уражень внутрішніх органів та мозку, або навіть смерті дитини. Через відсутність специфічних клінічних симптомів наявність СХОР, зазвичай, не вдається встановити при медичному огляді новонародженої дитини, що суттєво ускладнює діагностичний процес. Рання діагностика СХОР базується на біохімічному аналізі крові малюка і виявленні відхилень від вікової норми, які дозволяють запідозрити генетичний дефект певного ферменту. Профілактика дебюту СХОР посідає вагомe місце в системі охорони здоров'я дитячого населення і реалізується в рамках програм розширеного неонатального скринінгу. Мета цих програм – виявлення СХОР на доклінічному етапі в проміжок часу, коли накопичення токсичних метаболітів ще не призвело до тяжких наслідків: інвалідазації дитини, затримки її фізичного та розумового розвитку. Своєчасно розпочате лікування дозволяє дитині зі СХОР нормально розвиватися та вести повноцінне життя [1].

Генетична природа СХОР порівняно проста – це моногенні захворювання, спричинені точковими мутаціями певних генів, що зумовлює не лише прикладний, але і науковий інтерес до цих захворювань. Неонатальний скринінг СХОР базується на принципах біохімічної генетики та є одним з найбільш розвинутих її розділів, який виступає ефективним інструментом дослідження механізмів генетичного контролю метаболізму людини, визначення генетичного поліморфізму ферментів, аналізу етнічних та регіональних особливостей носійства дефектних алелів.

Оскільки мова йде про генетичні порушення структури білків-ферментів, здавалося б, що для виявлення таких порушень слід, в першу чергу, визначати залишкову активність ферментів та/або наявність мутацій відповідних генів, а не досліджувати вміст субстратів та продуктів біохімічних реакцій у крові. Однак, з огляду на те, що розширений неонатальний скринінг – це профілактичне

обстеження на декілька десятків СХОР, яке рекомендовано проводити усім, без виключення, новонародженим, виникають методичні обмеження у паралельному визначенні активності декількох десятків ферментів і значно більшого числа мутацій у генах, які їх кодують (для більшості ферментів кількість встановлених патологічних мутацій варіює від 2-3 до десятків і сотень). Ці обмеження в першу чергу пов'язані з малою кількістю біоматеріалу (зазвичай, крові), що відбирається для неонатального скринінгу. Окрім того, більшість ферментів, ушкодження яких призводить до СХОР, експресовані у гепатоцитах та відсутні у клітинах крові. Біохімічне визначення вмісту у крові широкого спектру субстратів та метаболітів дозволяє запідозрити конкретну СХОР, звзвити коло діагностичного пошуку та сконцентруватися на вимірюванні активності одного або декількох ферментів та виявленні мутацій у відповідних генах [2]. Таким чином, саме біохімічне дослідження крові новонароджених на першому масовому етапі розширеного неонатального скринінгу має критичне значення, оскільки отримання хибнонегативних результатів (виключення генетичної патології обміну речовин з діагностичного пошуку при дебюті захворювання) призводить до втрати дорогоцінного часу та обертається незворотними ушкодженнями організму дитини. Якість біоматеріалу (висушених плям крові) суттєво впливає на якість та надійність результатів біохімічних досліджень.

## 2. Висушені на фільтрувальному папері плями крові як біологічний матеріал

Кров людини – сполучна тканина, що містить клітинні елементи (еритроцити, лейкоцити і тромбоцити) (близько 40% об'єму) та плазму (близько 60% об'єму). Разом з лімфою та тканинною рідиною кров утворює внутрішнє середовище організму та завдяки постійній циркуляції забезпечує обмін речовин і взаємодію тканин та органів. Плазма крові – багатоконпонентний водний розчин органічних та неорганічних сполук: білків, амінокислот, вуглеводів, жирів, солей, гормонів, ферментів, антитіл і розчинних газів, склад якого визначається метаболічними процесами та контролюється комплексом гомеостатичних механізмів. Зміни плазматичного і клітинного складу крові відображають фізіологічний стан організму та корелюють з розвитком патологічних процесів, що зумовлює ключову роль визначення показників крові у клінічній практиці [3].

В загальному вигляді мета біохімічного аналізу крові полягає у селективному вимірюванні вмісту декількох десятків або сотень речовин, які мають подібну хімічну структуру, схожі фізико-хімічні властивості і швидко деградують у відібраних для аналізу зразках внаслідок взаємодії між собою. Особливістю біохімічних досліджень крові є дуже широкий аналітичний діапазон визначень (рівень концентрацій), наприклад, вміст білку в плазмі крові вимірюється в г/л, креатиніну – в мг/л, тироксину – мкг/л, естрадіолу – в нг/л, тобто концентрації цільових речовин вирізняються на 9 порядків (у мільярд разів), що зумовлює використання відповідних аналітичних технологій і вимірювальних інструментів. Надійність

результатів лабораторних визначень залежить не тільки від характеристик аналітичного методу та обладнання, але в значній мірі – від процедури відбору крові, умов і термінів транспортування зразків до лабораторії [4].

Термін виконання біохімічного дослідження рідкої крові, що відібрана у вакуумну або капілярну пробірку, не має перевищувати 4-6 годин після відбору зразка за умов зберігання при температурі 2-4 °С. Для забезпечення стабільності на довші терміни використовують глибоку заморозку зразків рідкої крові на сухому льоду (-80 град С). Необхідність забезпечення холодового ланцюга ускладнює та суттєво підвищує вартість біохімічних досліджень рідкої крові у віддалених лабораторіях. Висушені на фільтрувальному папері плями крові – альтернативний шлях отримання зразків для біохімічного аналізу, який має як певні переваги, так і обмеження [5].

Ідея відбору крові шляхом просочення картки з целюлози належить норвезькому досліднику Івару Бангу (Ivar Christian Bang), якого вважають засновником клінічного мікроаналізу з огляду на першу спробу використання сухих плям крові для вимірювання вмісту глюкози у 1913 р. Півстоліття потому у 1963 році вийшла стаття американських дослідників Роберта Гатрі та Ади Сузі (Robert Guthrie, Ada Susi) стосовно виявлення підвищеного рівня амінокислоти фенілаланіну у розумово відсталих дітей при аналізі сухих плям крові мікробіологічним методом (bacterial inhibition assay). Запропонований метод діагностики фенілкетонурії (ФКУ) виявився більш чутливим у порівнянні із сечовим тестом з хлоридом заліза: з 3000 обстежених розумово відсталих дітей, які знаходились у спеціалізованій медичній установі міста Рочестер (штат Нью Йорк), методом Гатрі було виявлено 23 хворих на ФКУ, сечовим тестом – 19 [6]. Публікація цієї статті стала не тільки відправною точкою впровадження неонатального скринінгу у США та інших країнах, але і активувала розвиток нового напрямку лабораторних досліджень з використанням мікрокількостей біологічного матеріалу (Clinical Microchemistry).

У 1957 році американський лікар, мікробіолог Роберт Гатрі зацікавився визначенням фенілаланіну в крові, намагаючись з'ясувати причину олігофренії у одного із своїх синів. Приводом було прохання директора Дитячого реабілітаційного центру університету м. Буффало допомогти в розробці простого та дешевого методу визначення фенілаланіну у крові. Зразки крові відбиралися з п'яти маюка на фільтрувальний папір. Після клінічної валідації методу Роберт Гатрі розпочав активну діяльність по впровадженню скринінгу новонароджених на фенілкетонурію у США і європейських країнах. Завдяки його зусиллям у 1961 році вдалося зібрати кошти та розпочати загальнонаціональне клінічне дослідження з тестування його методу. Протягом двох наступних років у 29 штатах, які погодились на участь у проєкті, було обстежено 400 000 новонароджених та виявлено 37 хворих на ФКУ. У 1963 році Массачусетс став першим штатом у США, де неонатальний скринінг на ФКУ став обов'язковим, у 1966 році ця процедура була впроваджена у більшості штатів.

Протягом наступних 50 років змінювались аналітичні методи та інструменти; в десятки разів зросла кількість маркерних речовин, що визначаються у сухих плямах крові та кількість СХОР, що можуть бути виявлені – відповідно, неонатальний скринінг трансформувався у розширений неонатальний скринінг, але матеріалом для дослідження лишається кров із п'яти, зібрана на картці з фільтрувального паперу, яку за традицією називають «картка Гатрі» ("Guthrie card"). На сьогоднішній день сухі плями крові широко застосовується не лише у неонатальному скринінгу, але і в інших в сферах охорони здоров'я, у клінічній фармакології, терапевтичному лікарському моніторингу, доклінічних і клінічних випробуваннях ліків, токсикокінетичних і фармакокінетичних дослідженнях, а також у судовій, допінг і екологічній експертизах [7].

Сухі плями крові мають певні переваги у порівнянні із зразками венозної крові для біохімічного дослідження, що відбираються шляхом венепункції. Процес відбору крові є менш інвазивним та болісним за рахунок малого обсягу зразка (60-100 мкл у кожній плямі). Сучасні лабораторні методи дозволяють кількісно визначати вміст декількох десятків речовин у зразку крові об'ємом 10-20 мкл. З огляду на це, сухі плями крові успішно використовуються у випадках, коли об'єм зразка є обмеженим з тих чи інших причин. Наприклад, при проведенні фармакокінетичних досліджень лікарських засобів, де використовується багаторазовий відбір крові у лабораторних тварин. Цей метод дозволяє спростити зберігання і транспортування біологічних зразків, оскільки не вимагає їх заморожування. На відміну від рідких зразків цільної крові, для якої обов'язковим є дотримання холодового ланцюга, сухі зразки можуть зберігатися при кімнатній температурі протягом декількох днів, при цьому вміст маркерних речовин в них залишається стабільним. При транспортуванні зразків у вигляді сухих плям також знижується ризик біологічного зараження. Сухі зразки після проведення аналізу простіше утилізувати, ніж рідкі. Сухі плями можуть бути легко отримані пацієнтом самостійно, оскільки процедура відбору не вимагає спеціальних навичок, а висушені зразки можуть бути направлені в лабораторію звичайною поштою, що суттєво знижує витрати на транспортування. Проста і швидка процедура відбору зразків, дешевизна транспортування та достатня стабільність вимірюваних речовин – саме за цими характеристиками сухі плями крові були обрані для проведення неонатального скринінгу [8].

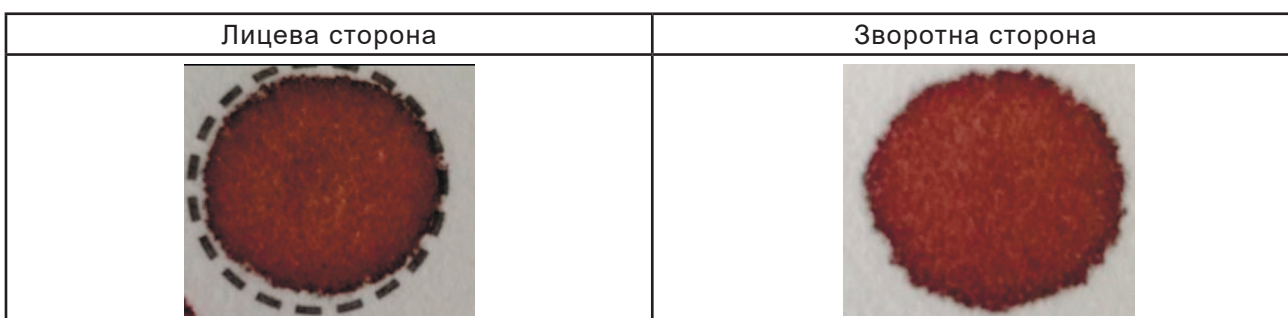
Зворотна сторона цих переваг – додаткові складності лабораторного аналізу сухих плям крові, пов'язані з неоднорідністю розподілу клітин крові і макромолекул по площині плями, впливом гематокриту на загальний розмір плям та процес екстракції маркерних речовин тощо. Удосконалення методів лабораторних досліджень сухих плям крові протягом останніх двох десятиріч дозволило успішно вирішити ці питання і забезпечити достатню селективність і чутливість вимірювань. Швидкий розвиток персоналізованої медицини посилює інтерес лікарів і пацієнтів до домашнього відбору біоматеріалу, що в свою чергу активізує впровадження відповідних методів кількісного ви-

значення цільових речовин у сухих зразках крові. Вже сьогодні такий підхід становить помітну альтернативу традиційному аналізу зразків рідкої крові або сироватки. Використання сухих плям крові на сьогоднішній день успішно поширюється не лише на цільну кров, але також і на інші біологічні рідини, такі як слина, плазма, сеча. Такі сухі зразки визначаються загальною назвою «матричні плями» (від англ. "matrix spots"). Цільові аналіти визначають в сухих плямах за допомогою широкого спектру аналітичних методів, таких як газова (ГХ, GC) або високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ, LC) в поєднанні з мас-спектрометрією (GC-MS та LC-MS/MS), імунохімічними, електрохемілюмінесцентними, молекулярно-генетичними (полімеразна ланцюгова реакція, гель-електрофорез, секвенування) та іншими методами [9].

Метод сухих плям заснований на краплинному нанесенні біологічної рідини на спеціальну поглинаючу мембрану та подальшому висушуванні проби. У класичному варіанті картка являє собою своєрідний конверт, всередині якого знаходиться прямокутна целюозна мембрана. Стандартизований відповідно специфікацій Національного комітету з клінічних лабораторних стандартів (NCCLS) фільтрувальний папір виготовляється з бавовни високої чистоти, що забезпечує відтворюване поглинання невеликих об'ємів крові при належному виконанні процедури відбору. На поглинаючій мембрані позначені круглі зони для нанесення зразка. Кров пацієнта наносять в центр кола, дотримуючись правила: одна крапля – одне коло. У дорослих пацієнтів кров, як правило, відбирають з пальця, у новонароджених – з п'яти [10].

Таблиця 1

Задовільний зразок сухої плями крові на тест-карті



### 3. Процедура забору плям крові для неонатального скринінгу

При проведенні неонатального скринінгу медичний працівник пологового будинку здійснює забір зразків крові на 48-72 годині життя доношеним дітям, та на 7-11 добу – передчасно народженим. При заборі крові на тест-картки з фільтрувального паперу існують обов'язкові умови та певні правила, дотримання яких є принципово важливим. Однією з ключових вимог є ентеральне годування дитини (грудним, донорським молоком або молочною сумішшю) не менше ніж протягом доби до забору крові (щонайменше 6 разів). При наявності важкого дефіциту одного з ферментів проміжного обміну білків, жирів або вуглеводів, що починають надходити з їжею, цього часу буде достатньо для накопичення токсичних продуктів обміну речовин і, відповідно, виявлення СХОП. Не менш важливим є дотримання правил відбору зразків крові та подальшого висушування плям, оскільки неналежне виконання цих процедур призводить до отримання хибнонегативних або хибнопозитивних результатів вимірювань [11].

Рекомендованим місцем пункції є латеральна поверхня п'яти від лінії, проведеної між 4-м та 5-м пальцями та п'ятою новонародженого. З метою уникнення можливого ушкодження окістя та розвитку такого ускладнення як п'ятковий остеомиєліт, необхідно уникати місця проекції п'яtkової кістки. Не допускається проведення масажу п'яти з огляду на можливий гемоліз та потрапляння інтестинної або внутрішньоклітинної рідини до зразка (ефект розведення). Місце пункції попередньо зігрівають протягом 3-5 хв. та протирають

тампоном, змоченим антисептиком. При заборі крові одноразовий скарифікатор необхідно спрямовувати перпендикулярно до поверхні, глибина проколу при цьому має бути не більше ніж 2,5 мм (небезпека розвитку остеомиєліту). Спочатку першу краплю крові витирають, м'яке натискання на п'яту новонародженої дитини сприяє утворенню другої краплі крові, яка наноситься на папір. Діаметр плями крові має відповідати діаметру кола, що позначено на фільтрувальному папері. При цьому важливо досягти наскрізного просочування паперу кров'ю. Належне просочування кров'ю кожного з 4-х кіл, що позначені на тест-картці, є ключовою ознакою якісного виконання процедури відбору і відповідає валідованому об'єму крові, достатньому для отримання надійних та відтворюваних результатів кількісного визначення вмісту маркерних речовин. Після належного заповнення позначених кіл кров'ю тест-картка висушується при кімнатній температурі в горизонтальному положенні впродовж двох-трьох годин, при цьому слід уникати дії тепла та прямих сонячних променів і накладання вологих бланків один на один. Особа, яка проводила забір крові на тест-картку, не торкаючись плям крові, кульковою ручкою записує наступні дані: найменування установи охорони здоров'я, в якому проведено забір зразків крові; прізвище, ім'я, по батькові матері дитини; адреса матері та телефон; дата пологів; номер історії пологів; дата взяття зразка крові, відмічає наявність у дитини природжених вад розвитку, жовтяниці, асфіксії та інфузійної терапії; термін гестації; стать та вагу дитини. Після висушування зразків тест-картка вкладається у конверт та від-

правляється до лабораторії не пізніше, ніж через 24 години з моменту забору крові [12].

Серед медичних працівників пологових будинків, які проводять забір зразків у новонароджених дітей, часто виникають питання чи можливо використовувати не капілярну кров, а венозну або повинну кров. Однозначної відповіді на дане питання на сьогодні немає. За даними міжнародних настанов щодо проведення неонатального скринінгу, забір венозної крові не є методом вибору, тому що він є більш інвазивним, ніж забір крові з п'яти. Крім того, венозний доступ зазвичай необхідний для проведення інфузійної терапії або введення лікарських засобів. У дітей, які у важкому стані, з малою вагою при народженні відбір крові з пупкового або периферичного катетера можливий. Проводити забір потрібно дуже швидко, за допомогою шприца, попередньо відібравши 2-2,5 мл крові. Подібна методика займає певний час, достатній для згортання крові і потрапляння згустків до зразка, що неприпустимо з огляду на їх непридатність до дослідження. Важливою умовою відбору за допомогою периферичного катетера є безпосереднє нанесення крапель крові на кола, що позначені на фільтрувальному папері тест-картки. Використання інших пристроїв, наприклад, капілярної трубки, також має певні обмеження. Оскільки на заповнення та наскрізного просочення кожного кола (діаметр 11 мм) потрібно близько 75-100 мкл крові, для відбору кожної плями необхідно використовувати нову капілярну трубку. Крім того, при використанні капілярної трубки можливе механічне пошкодження фільтрувального паперу (неякісний зразок), що потребує повторного відбору на нову тест-картку [13].

#### 4. Тандемна мас-спектрометрія та розширений неонатальний скринінг

Мас-спектрометрія (МС) – аналітичний метод кількісного визначення речовин у складних сумішах шляхом іонізації цільових речовин у досліджуваному зразку, селекції іонів, що утворилися, по співвідношенню маси до заряду у високочастотному електричному полі та детектування кількості окремих іонів у зразку. Селекція іонів забезпечується варіюванням параметрів електричного поля, при якому нерезонансні іони нейтралізуються на електродах. Вакуумний прилад, за допомогою якого реалізується вказаний метод, називається відповідно – мас-спектрометр. МС дозволяє детектувати іони всіх речовин, що містяться у досліджуваному зразку в певному діапазоні мас, тобто дозволяє вимірювати десятки та сотні різних речовин у одному зразку (мультиплексність). Тандемний мас-спектрометр (ТМС або МС/МС) складається з двох послідовних мас-аналізаторів і дозволяє значно точніше і надійніше вимірювати концентрації цільових речовин за рахунок детектування «дочірніх» (більш дрібних) іонів, що утворюються при дисоціації «батьківських» іонів [14].

Використання ТМС у біохімічних лабораторіях розпочалося у 80-ті роки минулого століття; у 90-ті з'явилися перші результати впровадження ТМС у практику неонатального скринінгу. Окрім мультиплексності, селективності на рівні 99,99% та чутливості на рівні нг/мл, перевагою ТМС

був дуже маленький об'єм досліджуваних зразків, який цілком відповідав сухим плямам крові. Мультиплексність була ключовою відмінністю від імунохімічних лабораторних методів, які використовувались в той час і дозволяли вимірювати вміст лише однієї речовини у зразку із значно нижчою селективністю. Протягом наступного десятиріччя ТМС кардинально змінила можливості неонатального скринінгу і дозволила в десятки разів розширити перелік СХОП, які виявляються при аналізі сухих плям крові – трансформувати неонатальний скринінг у розширений неонатальний скринінг. Так, у 1995 році у різних штатах США кількість СХОП, включених до панелі неонатального скринінгу, становила від 0 до 8 розладів, а у 2005 році – 52 СХОП [15]. Впровадження розширеного неонатального скринінгу СХОП виявилось настільки успішним у США, що Центр контролю та профілактики захворювань (CDC) назвав це одним з 10 найбільших досягнень у сфері охорони здоров'я у першому десятиріччі ХХІ ст. Швидкий прогрес скринінгу новонароджених був забезпечений впровадженням ТМС. Саме цей метод дав можливість сформувати порівняно простий, швидкий та недорогий спосіб виявлення десятків природжених вад метаболізму при дослідженні одного сухого зразка крові. Розширений неонатальний скринінг дозволяє виявити порушення обміну білків, жирів та вуглеводів, що надходять із материнським молоком, а саме: органічні ацидурії, аміноацидопатії, дефекти окислення жирних кислот та інші порушення [16].

У більшості розвинених країн на сьогоднішній день впроваджено рутинне, масове обстеження новонароджених більш ніж на 30 СХОП. Ретроспективний аналіз результатів розширеного неонатального скринінгу з використанням методу ТМС свідчить, що кількість немовлят зі спадковим порушенням метаболізму, яких він дозволяє виявити, становить приблизно 1:2000 – 1:5000 новонароджених (Therrell at al, 2015). Враховуючи статистику народжуваності, розрахункова кількість дітей зі СХОП в Україні становить 70-180 щороку. Реальна частота виникнення СХОП в Україні відома лише за чотирма захворюваннями, які виявляються в рамках Державної програми скринінгу новонароджених. Наприклад, у Польщі, з близькою до України кількістю населення та рівнем народжуваності, завдяки програмі розширеного неонатального скринінгу (на 29 захворювань) щороку виявляється біля 200 немовлят зі СХОП.

Висока ефективність раннього досимптоматичного, терапевтичного і метаболічного втручання у дітей зі спадковими метаболічними порушеннями доведена численними науковими і клінічними дослідженнями. Показано, що залежно від захворювання, ймовірність ранньої малюкової смерті знижується у 2-100 разів, ймовірність розвитку декомпенсації (метаболічного кризу) зменшується у 2-10 разів. Також в більшості випадків, суттєво зменшується ймовірність затримки фізичного та інтелектуального розвитку [17].

З огляду на значне відставання України у впровадженні розширеного неонатального скринінгу від більшості розвинутих країн світу, ТОВ «КДЦ «Фармбіотест», ДУ «ІПАГ ім. акад. О. М.

Лук'янової НАМН України» та ВГО «Асоціація неонатологів України» у грудні 2019 року розпочали виконання пілотної частини «Програми удосконалення діагностики спадкових хвороб обміну речовин у новонароджених і дітей старшого віку в Україні» (Baby Screen, <https://baby-screen.com.ua>). Мета Програми – розширення до 31 нозології переліку СХОП, які виявляються у новонароджених та дітей старшого віку, забезпечення своєчасного медичного супроводу та лікування виявлених хворих. Підготовка до запуску Програми тривала більше 2-х років і включала вирішення комплексу лабораторних, технічних, логістичних та ІТ-питань, а також стажування лікарів-метаболістів у Варшавському Інституті Матері і Дитини (IMiD), який є провідною медичною установою в Польській Республіці, що виконує та активно розвиває неонатальний скринінг. Не випадково, що Програма «Baby Screen» в значній мірі копіює польський досвід. Це зумовлено близькими показниками кількості новонароджених, швидкою динамікою впровадження сучасних лабораторних технологій та сталим розвитком в умовах обмеженого фінансування. З огляду на економію коштів, значна частина лабораторних досліджень сухих плям крові на першому (масовому) етапі розширеного неонатального скринінгу методом ТМС виконується у приватній лабораторії. Це дозволяє перерозподіляти потоки зразків і забезпечити виконання лабораторних визначень у короткі терміни при виникненні аварійних ситуацій або технічному обслуговуванні обладнання. ТанDEMні хромато-мас-спектрометри – складні вакуумні аналітичні системи, які мають постійно працювати, оскільки час виходу на робочий режим після включення займає декілька днів. Партнерство з приватною ТМС-лабораторією дозволяє IMiD оптимізувати витрати, що пов'язані з необхідністю дублювання аналітичних інструментів, утримання додаткових приміщень, допоміжного обладнання та інженерних систем, технічним обслуговуванням та іншими процедурами, які не впливають на потік лабораторних визначень, але збільшують їх собівартість.

В рамках Програми «Baby Screen» ТОВ «КДЦ «Фармбіотест» виконує лабораторні дослідження з використанням сучасних високопродуктивних методів танDEMної мас-спектрометрії, газової та рідинної хроматографії, а також імунохімічних та молекулярно-генетичних методів – тобто виконує весь спектр лабораторних досліджень, як на першому (масовому) етапі неонатального скринінгу, так і на етапі уточнюючих досліджень, які підтверджують або спростовують підозру СХОП. Діагностику СХОП, медичний супровід та лікування хворих забезпечує ДУ «ІПАГ ім. акад. О. М. Лук'янової НАМН України», підготовкою методичних матеріалів та розповсюдженням наукової інформації стосовно розширеного неонатального скринінгу опікується ВГО «Асоціація неонатологів України» (<https://baby-screen.com.ua>).

Перший досвід виконання цієї Програми свідчить про достатньо велику кількість повторних відборів зразків крові у новонароджених з приводу низької якості сухих плям крові, що надходять до лабораторії ТОВ «КДЦ «Фармбіотест». Подолання наслідків неналежного відбору крові вимагає до-

даткових зусиль та витрат на повторний забір та аналіз зразків з метою уникнення хибнонегативних та спростування хибнопозитивних результатів. Саме короткі терміни виявлення генетичного дефекту та якомога більш ранній початок лікування дають шанс нормального розвитку дитини зі СХОП. З огляду на це, у країнах ЄС використовується окрема система термінової поштової доставки сухих плям крові до лабораторії, та аналізу кожної затримки виконання неонатального скринінгу [18].

### 5. Хибнопозитивні та хибнонегативні результати як наслідок помилок при відборі плям крові

Джерелом хибнопозитивних результатів, зазвичай, є помилкові дії при відборі плям крові, коли на першу краплю, яка просочує фільтрувальний папір, накладається додаткова крапля крові, що призводить до завищених показників вмісту маркерних речовин. До інших причин відносять індивідуальну варіацію та порівняння з середньою популяційними референтними значеннями. Враховуючи, що СХОП пов'язані з накопиченням токсичних речовин, аналіз повторно відібраних зразків та уточнюючі дослідження дозволяють успішно «відсіювати» хибнопозитивні результати, що пов'язані з неналежним відбором зразків крові або фенотиповими особливостями дитини [19].

Слід зазначити, що хибнопозитивні результати, хоча і потребують додаткових дій та матеріальних витрат для зняття підозри спадкової патології, не пов'язані з потенціальними ризиками для немовлят, тоді як хибнонегативні результати неонатального скринінгу мають важкі наслідки і становлять одну з ключових проблем ранньої діагностики СХОП. Джерелом отримання хибнонегативних результатів найчастіше також виступають помилки при відборі плям крові – недостатній об'єм зразка і, відповідно, нівелювання підвищеного вмісту маркерних речовин. Інші причини: індивідуальна варіація вмісту діагностично значущих (маркерних) речовин та часткове перекриття діапазонів їх концентрацій у здорових новонароджених та дітей зі СХОП, тобто відсутність чіткої різниці між високими показниками вмісту маркерних речовин у здорових новонароджених та низькими рівнями концентрацій – у хворих. Додатковим чинником виступає ступінь блокування біохімічних реакцій внаслідок зниженої активності пошкодженого ферменту – важкість метаболічного блоку. При залишковій активності ферментів нижче 15% від нормального рівня маркерні речовини швидко накопичуються і сягають діагностично значущих концентрацій, тоді як при залишковій активності на рівні 25-50% накопичення маркерних речовин є більш повільним і СХОП, зазвичай, проявляються на тлі провокуючих факторів (голодування, інфекційне захворювання, підвищення температури, щеплення тощо). За цих умов повторний відбір зразків та додаткові дослідження крові та сечі малюків, а також подальше спостереження у сумнівних випадках дозволяють мінімізувати кількість хибнонегативних результатів розширеного неонатального скринінгу [20].

### 6. Типові помилки при відборі плям крові

Відбір плям крові на фільтрувальний папір до-

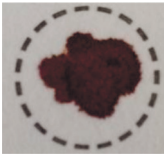
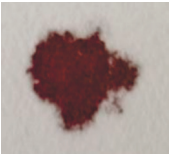
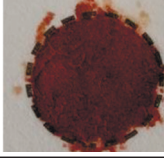
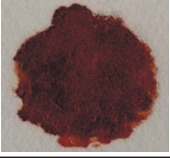
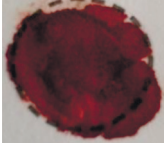
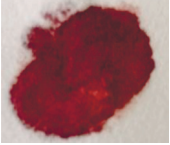
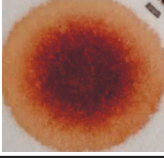
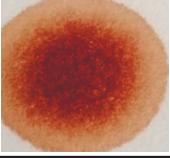

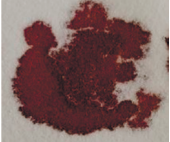
статньо проста процедура, але враховуючи те, що достовірність результатів аналізу при проведенні розширеного неонатального скринінгу прямо залежить від якості зразків, він вимагає відповідального ставлення особи, яка проводить забір крові та дотримання усіх вищезазначених правил. Кожен зразок, який надходить в лабораторію, отримує візуальну оцінку якості, зокрема перевіряється обсяг заповнення кров'ю та наявність наскрізного просочування позначених на тест-карті зон. Задовільний вважається зразок, який наведений в табл.1. З огляду на неминучість отримання хибних результатів, лабораторія не бере у роботу неякісні зразки, відповідно, втрачається дорожочинний час на встановлення контакту з батьками та лікувальною установою, доставку нової тест-картки, повторний забір, доставку до лабораторії. Позначене коло зайвих процедур, що виникають внаслідок невідповідних дій медичного працівника, відтермінує отримання результатів неонатального скринінгу щонайменше на тиждень. Для новонародженого зі СХОР така затримка у виявленні хвороби може мати фатальні наслідки. Тест-картки, на яких позначені зони (кола) повністю та рівномірно заповнені кров'ю, що просочили папір наскрізь, вважаються якісними та беруться до аналізу.

Помилки при заборі плям крові можуть бути зумовлені недостатньою або надмірною кількіс-

тю крові, чи порушенням техніки відбору. У разі повторного нанесення крові на попередню частково заповнене коло або на це коло із зворотної сторони тест-картки зразки виглядають «перенасиченими», і «шаруватими». Надлишковий об'єм крові у зразках є найчастішою причиною хибно-позитивних результатів лабораторних визначень. При неналежному використанні капілярної трубки або шприца, кола виглядають «розфарбованими» та зазвичай мають механічні пошкодження. Слід уважно ставитися до зберігання чистих тест-карток, які мають знаходитися у захищеному від випадкового доступу та вологи місці. Потрапляння будь-якої рідини або бруду на тест-картку (за лишків антисептика, води, крему для рук, тальку від медичних рукавичок, грудного молока, молочної суміші тощо) призводить до її непридатності для використання. Незадовільним вважається недостатньо або неправильно висушений зразок. Помилки при висушуванні з'являються при розміщенні тест-картки у вертикальному положенні, накладанні тест-карток одна на одну, розташуванні тест-карт біля нагрівача при високій температурі, потрапленні прямих сонячних променів тощо. Типові помилки, які виникають при відборі плям крові, наведені в таблиці 2, в таблиці 3 - основні рекомендації щодо їх уникнення [21].

Таблиця 2

## Типові помилки, які виникають при відборі плям крові

№	Причина	Пояснення	Приклад Лицева Зворотня сторона	
1.	Кількість крові недостатня для тестування	Видалення фільтрувального паперу до того, як кров повністю заповнила коло та просочила папір з двох сторін; нанесення крові на фільтрувальний папір за допомогою капілярної трубки; контакт фільтрувального паперу з рукавичками або такими речовинами як, наприклад, лосьйон для рук перед або після забору крові.		
2.	Зразок нецілісний, з пошкодженнями	Нанесення крові за допомогою капілярної трубки, або шприца.		
3.	Зразок перенасичений кров'ю	Повторне нанесення крові на одну і ту ж область або на обидві сторони фільтрувального паперу.		
4.	Зразок виглядає розведеним, присутні сироваткові кільця	Надмірне здавлювання місця проколу п'ятки; контакт фільтрувального паперу з рукавичками або спиртом, антисептичним розчином, водою, лосьйоном для рук перед або після забору зразка крові		
5.	Зразок виглядає згущеним або шаруватим	Нанесення послідовних крапель крові на вже частково висохлі плями.		

## 7. Висновки

Сухі плями крові мають певні переваги у порівнянні із зразками венозної крові для біохімічного дослідження, які відбираються шляхом венепункції. Це стосується не лише процедури відбору крові, яка є менш інвазивною та болісною, але і простіших умов зберігання та транспортування біологічних зразків. На відміну від рідких зразків цільної крові, для якої обов'язковим є дотримання холодового ланцюга, сухі зразки можуть зберігатися при кімнатній температурі протягом декількох днів, при цьому вміст маркерних речовин в них залишається стабільним. Головною перевагою сухих зразків біологічного матеріалу є спрощення логістики їх зберігання і транспортування, яка вимагає мінімальної інфраструктури. У методі «сухої плями» зразок крові наноситься безпосередньо на папір, що не потребує попередньої підготовки, а після висушування його можна проаналізувати за допомогою сучасних аналітичних, імунохімічних або молекулярно-генетичних методів. До переваг цього методу слід віднести малий об'єм зразка, зручність транспортування і зберігання без спеціальної обробки, достатня стабільність діагностичних аналітів при збереженні в умовах кімнатної температури. Ризик біологічного зараження при роботі із сухими зразками крові значно менший у порівнянні із рідкими зразками крові, а процедура утилізації – простіша. Сухі плями можуть бути легко отримані пацієнтом самостійно, оскільки процедура відбору не вимагає спеціальних навичок, а висушені зразки можуть бути направлені в лабораторію звичайною поштою, що суттєво знижує витрати на транспортування. Проста і швидка процедура відбору зразків, дешевизна транспортування та достатня стабільність вимірюваних речовин у сухих плямах крові обумовила їх повсюдне використання у програмах неонатального скринінгу.

Належна якість біоматеріалу – сухих плям крові,

## Література

1. Антипкін ЮГ, Знаменська ТК, Воробйова ОВ, Кузнецов ІЕ, Дженчако ОО. Практичні кроки щодо удосконалення діагностики спадкових хвороб обміну речовин у новонароджених та дітей старшого віку в Україні. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2019; 9(1):5-15. doi: 10.24061/2413-4260.IX.1.31.2019.1.
2. George RS, Moat SJ. Effect of Dried Blood Spot Quality on Newborn Screening Analyte Concentrations and Recommendations for Minimum Acceptance Criteria for Sample Analysis. Clin Chem. 2016;62(3):466-75. doi: 10.1373/clinchem.2015.247668.
3. Губський ЮІ. Біологічна хімія: підручник. Київ-Тернопіль: Укрмедкнига; 2000. 510 с.
4. Lawson AJ, Bernstone L, Hall SK. Newborn screening blood spot analysis in the UK: influence of spot size, punch location and haematocrit. J Med Screen. 2016; 23(1):7-16. doi: 10.1177/0969141315593571.
5. George RS, Moat SJ. Effect of dried blood spot quality on newborn screening analyte concentrations and recommendations for minimum acceptance criteria for sample analysis. Clin. Chem. 2016;62(3):466-75. doi: 10.1373/clinchem.2015.247668.
6. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics. 1963;32:338-43.
7. Li W, Lee MS, editors. Dried Blood Spots: Applications and Techniques. ohn Wiley & Sons; 2014. Hannon WH, Therrell BL. Overview of the History and Applications of Dried Blood Samples. Dried Blood Spots: Applications and Techniques p. 3-15.
8. Sharma A, Jaiswal S, Shukla M, Lal J. Dried blood spots: concepts, present status, and future perspectives in bioanalysis. Drug Test Anal. 2014;6(5):399-414. doi:10.1002/dta.1646.
9. Chepyala D, Kuo HC, Su KY, Liao HW, Wang SY, Chepyala SR, et al. Improved Dried Blood Spot-Based Metabolomics Analysis by a Postcolumn Infused-Internal Standard Assisted Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry Method. Anal Chem. 2019;91(16):10702-12. doi: 10.1021/acs.analchem.9b02050.
10. HannonWH, editors. CLSI. NBS01-A6. Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programmes: Approved Standard[Internet]. 6th ed. 2013[cited 2020 Sep 12]. 52p. Available fom: <https://clsi.org/standards/products/newborn-screening/documents/nbs01>
11. Guerrero RB, Salazar D, Tanpaiboon P. Laboratory diagnostic approaches in metabolic disorders. Ann Transl Med. 2018;6(24):470. doi: 10.21037/atm.2018.11.05.
12. Про затвердження Протоколу медичного догляду за здоровою новонародженою дитиною. Наказ МОЗ України

є ключовою передумовою отримання достовірних результатів розширеного неонатального скринінгу. Надходження до лабораторії проб низької якості призводить до отримання хибних результатів вимірювань, що потребує повторних досліджень та відтермінує встановлення діагнозу і початок лікування, що може мати фатальні наслідки для дитини зі СХОР.

Значна кількість неякісних зразків, що були отримані в ході впровадження розширеного неонатального скринінгу в рамках «Програми удосконалення діагностики спадкових хвороб обміну речовин у новонароджених і дітей старшого віку в Україні» (Baby Screen, <https://baby-screen.com.ua>) стала приводом написання цієї статті з метою інформування медичних працівників та батьків про поточні результати лабораторного моніторингу якості сухих плям крові, а також про типові помилки при відборі та висушуванні зразків. Аналіз помилок та надання відповідних практичних рекомендацій є перевіреним шляхом зниження кількості хибних результатів лабораторних вимірювань та скорочення термінів діагностики СХОР. Слід чітко розуміти, що неналежним чином відібрані або висушені зразки крові будуть відбраковані на преаналітичному етапі у лабораторії, вимога провести повторний відбір зразків обов'язково повернеться до медичної установи, де було здійснено неякісний відбір. Це гарантовано відбудеться, оскільки рух зразків від моменту замовлення послуги до адресної доставки замовнику (батькам) результатів розширеного скринінгу новонароджених у Програмі Baby Screen контролюється медичною інформаційною системою. Ціною затримки у виявленні хвороби може стати доля, або навіть життя малюка зі СХОР.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Джерела фінансування.** Робота виконана власним коштом.



від 04.04.2005р. № 152[Інтернет]. Київ: МОЗ України; 2005р.[оновлено 2010 Кві 1; цитовано 2020 Сер 19]. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0152282-05#Text>

13. Про затвердження Тимчасового порядку проведення скринінгу новонароджених на адреногенітальний синдром та муковісцидоз і оцінку його результатів. Наказ МОЗ України від 29.03.2012р. № 221[Інтернет]. Київ: МОЗ України; 2012р.[цитовано 2020 Сер 19]. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0604-12#Text>

14. Gaugler S, Rykl J, Wegner I, von Däniken T, Fingerhut R, Schlotterbeck G. Extended and Fully Automated Newborn Screening Method for Mass Spectrometry Detection. *Int J Neonatal Screen*. 2017;4(1):2. doi: 10.3390/ijns4010002.

15. Tarini BA. The Current Revolution in Newborn Screening: New Technology, Old Controversies. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2007;161(8):767-72. doi:10.1001/archpedi.161.8.767.

16. National Newborn Screening and Genetics Resource Center. National Newborn Screening Status Report: 2005. Austin:TX; 2005.

17. Yoon HJ, Kim JH, Jeon TY, Yoo SY, Eo H. Devastating metabolic brain disorders of newborns and young infants. *Radiographics*. 2014;34(5):1257-72. doi: 10.1148/rg.345130095.

18. Знаменська ТК, Воробйова ОВ, Антипкін ЮГ, Кирилова ЛГ, Юзва ОО, Кузнецов ІЕ, та ін. Сучасні підходи до діагностики та лікування гострих метаболічних декомпенсованих станів у новонароджених зі спадковими хворобами обміну. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2019;9(3): 64-73.

19. Gurian EA, Kinnamon DD, Henry JJ, Waitsbren SE. Expanded newborn screening for biochemical disorders: the effect of a false-positive result. *Pediatrics*. 2006;117(6):1915-21. doi: 10.1542/peds.2005-2294.

20. Hewlett J, Waitsbren SE. A review of the psychosocial effects of false-positive results on parents and current communication practices in newborn screening. *J Inher Metab Dis*. 2006;29(5):677-82. doi: 10.1007/s10545-006-0381-1.

21. NBS01-A6. Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard – Sixth Edition. Wayne; 2013[cited 2020 Sep 17]. 35p. Available from: [https://clsi.org/media/1493/nbs01a6\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1493/nbs01a6_sample.pdf)

### КАЧЕСТВО СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ – НЕОТЪЕМЛЕМАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ БЫСТРОГО ОБНАРУЖЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

*Т.К. Знаменская<sup>1</sup>, О.В. Воробьева<sup>1</sup>, И.Э. Кузнецов<sup>2</sup>,  
И.В. Ластивка<sup>3</sup>, А.В. Кремезная<sup>2</sup>, М.В. Обод<sup>2</sup>,  
И.Г. Самойленко<sup>4</sup>, В.В. Кривошеева<sup>4</sup>, А.С. Лысенко<sup>5</sup>,  
Т.В. Голота<sup>1</sup>*

ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии  
имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины»  
(г. Киев, Украина) <sup>1</sup>

Клинико-диагностический центр «Фармбиотест»  
(г. Рубежное, Украина) <sup>2</sup>

Высшее государственное учебное учреждение  
Украины «Буковинский государственный медицинский  
университет»  
(г. Черновцы, Украина) <sup>3</sup>

Донецкий национальный медицинский университет  
(г. Лиман, Украина) <sup>4</sup>

КНП «Лисичанская многопрофильная больница»  
(г. Лисичанск, Украина) <sup>5</sup>

#### Резюме

**Вступление.** Наследственные болезни обмена веществ (НБОВ) – это группа генетических болезней, связанных с дефектами синтеза или катаболизма сложных молекул, нарушением промежуточного метаболизма и процессами выработки/утилизации энергии. Клиническая манифестация НБОВ является неспецифической и напоминает септицемию, чаще всего возникает в неонатальный период в виде угрожающих жизни острых метаболіческих кризисных состояний. Наиболее эффективным методом ранней диагностики НБОВ является расширенный неонатальный скрининг – биохимическое исследование крови всех без исключения новорожденных с целью выявления маркерных веществ, характерных для каждой болезни. Качество биоматериала (сухих пятен крови) непосредственно влияет на сроки выполнения, точность и надежность результатов биохимических исследований. Получение ложных результатов при исследовании некачественно отобранных образцов крови требует повторных лабораторных исследований, что приводит к задержке диагностического процесса и отсрочки начала специфического лечения, следствием чего обычно является необратимое поражение головного мозга и внутренних органов ребенка.

**Цель работы.** По результатам выполнения расширенного неонатального скрининга (пилотной части

### QUALITY OF DRIED BLOOD SPOTS IS AN INTEGRAL COMPONENT OF PROMPT DETECTION OF INBORN ERRORS OF METABOLISM

*T.K. Znamenska<sup>1</sup>, O.V. Vorobiova<sup>1</sup>, I.E. Kuznecov<sup>2</sup>,  
I.V. Lastivka<sup>3</sup>, A.V. Kremezna<sup>2</sup>, M.V. Obod<sup>2</sup>,  
I.H. Samoylenko<sup>4</sup>, V.V. Kryvosheieva<sup>4</sup>,  
O.S. Lysenko<sup>5</sup>, T.V. Holota<sup>1</sup>*

SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology  
named after academician O.M. Lukyanova of the NAMS  
of Ukraine» (Kyiv, Ukraine) <sup>1</sup>

Clinic-Diagnostic Center "Pharmbioest"  
(Rubizhne, Ukraine) <sup>2</sup>

Higher State Educational Establishment  
of Ukraine «Bukovinian State  
Medical University»  
(Chernivtsi, Ukraine) <sup>3</sup>

Donetsk National Medical University  
(Lyman, Ukraine) <sup>4</sup>

CNC «Lysychansk multi-field hospital»  
(Lysychansk, Ukraine) <sup>5</sup>

#### Summary

**Introduction.** Inborn Errors of Metabolism (IEM) are constituted a group of genetic diseases that are associated with defects in the synthesis or catabolism of complex molecules, impaired intermediary metabolism and energy production/utilization processes. The clinical manifestation of IEM is nonspecific, that looks similar to septicemia, and most often occurs in the neonatal period with life-threatening acute metabolic crises. Expanded Newborn Screening (ENS) – a biochemical study of the blood of all newborns without exception with the purpose to identify molecular markers of these diseases proved to be the most effective instrument of early IEM diagnostics. The quality of the biological samples (dried blood spots, DBS) in great extent determines the timing, accuracy, and reliability of the results of biochemical measurements. Obtaining of equivocal results in the case of analysis of poor quality DBS requires repeated laboratory tests, that delays the diagnostic process and postpones the start of specific treatment, which usually results in irreversible damage of the brain and internal organs of the child.

**The aim of this work** is to (i) review the first results of the implementation of Expanded Newborn Screening in Ukraine (pilot part of the Baby Screen Project), and to analyze literature data regarding the negative impact of poor quality DBS on laboratory determination of IEM marker

программы Baby Screen) и анализа данных литературы о влиянии ненадлежащего качества сухих пятен крови на лабораторные определения содержания маркерных веществ охарактеризовать типичные ошибки при отборе и обработке пятен крови, а также предоставить практические рекомендации по надлежащему исполнению указанных процедур.

**Материал и методы исследования.** В статье проанализированы и систематизированы собственные данные, а также информация из литературных источников о влиянии ошибок при отборе образцов и приготовлении сухих пятен крови на точность и надежность лабораторных определений, скорость диагностики наследственных болезней обмена веществ при проведении расширенного неонатального скрининга.

**Результаты исследования.** Качество отбора биоматериала является важным звеном получения достоверных результатов при проведении расширенного неонатального скрининга. Забор капиллярной крови осуществляется в роддоме с 48-72 ч (у доношенных) и на 7-11 сутки (в недоношенных детей) после рождения из пятки ребенка. При этом несколько капель крови наносят на специальную тест-карту из фильтровальной бумаги, которую высушивают и отправляют в лабораторию. Исследование крови выполняется с помощью высокочувствительного и точного метода химического анализа - тандемной масс-спектрометрии в лаборатории «Фармбиотест», которая находится в Украине. Поступления в лабораторию проб низкого качества приводит к получению ложных результатов измерений, что требует повторных исследований и переносит установления диагноза и начало лечения, что может иметь фатальные последствия для ребенка с НБОВ.

**Выводы.** Информирование медицинских работников и родителей о текущих результатах лабораторного мониторинга качества сухих пятен крови, типичных ошибках при отборе и приготовлении образцов, а также предоставление соответствующих практических рекомендаций – проверенный путь к сокращению сроков диагностики, которые, учитывая тяжелые последствия, являются критическими для НБОВ.

**Ключевые слова:** расширенный неонатальный скрининг; новорожденные; сухие пятна крови; наследственные болезни обмена веществ.

**Контактна інформація:**

**Знаменська Тетяна Костянтинівна** – д.мед.н., професор, заступник директора з перинатальної медицини ДУ "Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України", завідувач відділу неонатології, Президент Всеукраїнської Громадської організації "Асоціація неонатологів України" (м. Київ, Україна)  
**Контактна адреса:** вул. Платона Майбороди, 8, м. Київ, 040508, Україна.  
**Контактний телефон:** +380674038120  
**e-mail:** tkznamenska@gmail.com  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>  
**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authorid/detail.uri?authorId=6507801010>

**Контактная информация:**

**Знаменская Татьяна Константиновна** – д.мед.н., профессор, заместитель директора по перинатальной медицине ГУ "Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины", заведующий отделом, Президент Всеукраинской общественной организации "Ассоциация неонатологов Украины" (г. Киев, Украина)  
**Контактный адрес:** ул. Платона Майбороды, г. Киев, 040508, Украина.  
**Контактный телефон:** +380674038120  
**e-mail:** tkznamenska@gmail.com  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>  
**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authorid/detail.uri?authorId=6507801010>

**Contact Information:**

**Tetiana Znamenska** – DM, Professor, Deputy Director for Perinatal Medicine SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology NAMS of Ukraine" National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Head of the Department of Neonatology SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology NAMS of Ukraine" National Academy of Medical Sciences of Ukraine, President of the All-Ukrainian Public Organization "Association of Neonatologists of Ukraine" (Kiev, Ukraine)  
**Contact address:** Kyiv, str. Platon Mayboroda, 8, 040508, Ukraine.  
**Contact phone:** +380674038120  
**E-mail:** tkznamenska@gmail.com  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>  
**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authorid/detail.uri?authorId=6507801010>

substances contents in the specimens, (ii) to characterize the typical errors in blood sampling and drying of blood spots, and (iii) to provide practical recommendations for the proper performance of these procedures.

**Materials and methods.** Own data of retrospective analysis of the questionable ENS results was superimposed with dried blood specimens, that were investigated in the Pharmbiotest ENS Lab to outline most common inaccuracies. Based on the comparison of these data with the relevant publications it was formulated the practical recommendations for improving quality of DBS preparation to ensure the accuracy and reliability of laboratory measurements and speed up IEM diagnostics.

**Results.** The quality of biomaterial selection is an important part of obtaining reliable results during expanded newborn screening. Capillary blood is collected in the maternity hospital from 48-72 hours (full-term) and for 7-11 days (in preterm babies) after the birth from the heel of babies. In this case, a few drops of blood are applied to a special test card made of filter paper, which is dried and sent to the laboratory. Blood tests are performed using a highly sensitive and accurate method of chemical analysis - tandem mass spectrometry in the laboratory "Pharmbiotest", located in Ukraine. Taking into analysis the low-quality samples lead to questionable results, which requires repeated DBS sampling and re-examining. This proved to be the most common cause of delaying IEM detection, diagnosis establishment, and initiation of treatment, which can be fatal for a child with severe IEM forms.

**Conclusions.** Informing healthcare professionals and parents about the current results of laboratory monitoring of dried blood spots quality, typical errors in blood sampling and following on-site procedures and negative consequences of its improper performance, as well as providing clear practical recommendations of how these procedures should be done is a proven way of improving and speeding up IEM diagnostics.

**Key words:** Expanded Newborn Screening; Newborns; Dried Blood Spots; Inborn Errors of Metabolism.