

# Neonatal Galactose

## اندازه گیری گالاکتوز در خون نوزادان

### مقدمه :

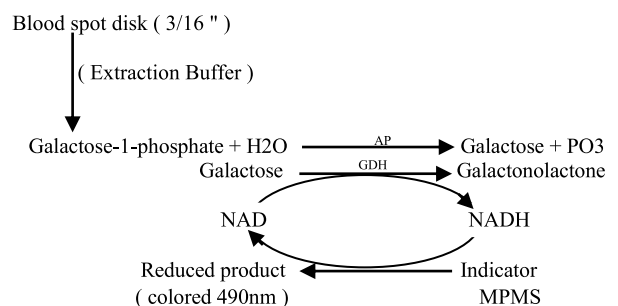
در این کیت اندازه گیری کمی غلظت توتال گالاکتوز ( گالاکتوز و گالاکتوز 1 فسفات ) در لکه ذونی بیمار تهیه شده بر کاغذ صافی مخصوص ( S & S 903 ) و بروش آنزیماتیک انجام میگردد.

### ارزیابی کلینیکی :

بیماری گالاکتوزمی در اثر اختلال در متابولیسم گالاکتوز و افزایش غلظت آن در خون ناشی از فقدان یا عدم فعالیت صحیح 3 آنزیم موثر- D , Galactose-1-phosphotransferase ,  $\alpha$ -D-Galactose-1-phosphate- Glucose-4-epimerase ( UDP- uridylyltransferase ) در تبدیل گالاکتوز به گلوکز حاصل میگردد. شیوع آن در سطح جهان حدود 1/50000 میباشد . نشانه های این بیماری در نوزادان اسهال ، استفراغ ، یرقان ، هیپوتیت ، هیپوگلیسمی ، آب مروارید و در ادامه با عدم درمان سیروز کبدی ، صدمات کلیوی و عقب ماندگی ذهنی و حتی مرگ میگردد. با توجه به اینکه تشخیص بالینی این بیماری در مراحل اولیه مشکل و تقریباً غیرممکن است، جوامع پزشکی جهان ، غربالگری ( Screening ) همه نوزادان را در بدو تولد توصیه کرده و به مرحله اجرا در آورده اند.

### اساس آزمایش :

سنجش گالاکتوز و گالاکتوز 1-فسفات با این کیت بر اساس بهره گیری از آنزیم الکالین فسفاتاز ( AP ) و گالاکتوز دهیدروژناز ( GDH ) به صورت شکل زیر انجام میگردد. به دلیل اختصاصی بودن آنزیم ، عوامل خارجی یا مصرف آنتی بیوتیک توسط نوزاد تاثیری در نتیجه آزمایش ندارد.



گالاکتوز 1-فسفات استخراج شده از خون خشک شده روی دیسک کاغذی در اثر آنزیم AP به گالاکتوز و گالاکتوز در اثر آنزیم GDH و در حضور NAD اکسید شده ، به گالاکتونولاکتون تبدیل میگردد. NADH بوجود آمده در این واکنش همزمان اندیکاتور را احیاء کرده و رنگ صورتی مایل به قرمز تبدیل می کند. این تغییر رنگ در طول موج 490 نانومتر اندازه گیری می شود.

### روش تهیه و نگهداری نمونه :

سنجش گالاکتوز روی لکه خونی که از پاشنه پای نوزاد تهیه و بر کاغذ صافی مخصوص " کارت گائری " ( S&S NO903 ) خشک می شود انجام میگردد. خونگیری معمولاً در فاصله 24 تا 72 ساعت بعد از تولد به ترتیب زیر و بر اساس روش استاندارد که توسط کمیته ملی استاندارد آزمایشگاه های بالینی ( NCCLS ) ارائه شده است انجام میگردد. برای این منظور ، خون مورد نیاز از حاشیه کناری پاشنه پای نوزاد تهیه میشود.

1- پاشنه پا را قبلاً با یک دستمال یا حوله ولرم ( حرارت 40 تا 41 درجه ) گرم کنید تا جریان خون در محل افزایش یابد.

2- قبلاً محل لانت و اطراف آن را با ایزوپروپانل 70 درصد به خوبی پاک نموده و صبر کنید تا در جریان هوا کاملاً خشک شود.

3- با استفاده از دستکش استریل یکبار مصرف و به کمک یک لانت که طول سوزن آن حداکثر 2/4 میلی متر تجاوز نکند ، ضربه یکنواخت و آرامی به موضع خونگیری وارد کنید تا خون براحتی جاری شود.

4- قطره اول را با گاز استریل تمیز کرده و سپس فشار های متناوب و مختصری که به پاشنه وارد می شود ، قطره بزرگی شکل میگیرد . کاغذ صافی را به قطره خون نزدیک کرده و آن را به مرکز دایره بچکانید با یک تکنیک صحیح می توان چهار دایره روی کاغذ صافی را پر نمود. توجه کنید سطح دایره خونی به هیچ وجه با دست ، حتی با دستکش لمس نشود. همچنین مراقب باشید که در هنگام خونگیری هیچ خراش یا پارگی روی کاغذ بوجود نیاید.

5- کارت خونی را بصورت افقی روی پایه ای مسطح قرار دهید ، به طوریکه لکه خون با جایی تماس پیدا نکند. تقریباً سه ساعت وقت لازم است تا لکه های خون در حرارت 15 تا 25 درجه اطاق کاملاً خشک شود. در این مدت باید از قرار دادن کارتهای خونی در جریان هوای آلوده به دود و گرد و غبار و همچنین از گذاشتن آنها در معرض حرارت و تابش مستقیم خورشید جدا خودداری نمود.

6- هر یک از نمونه ها را جداگانه و به ضمیمه فرم مشخصات نوزاد در پاکتی قرار دهید. احتیاط کنید که خون یک نمونه با خون نمونه دیگر در تماس نباشد. بدین ترتیب جابجایی و حمل و نقل نمونه های خون به آزمایشگاه بدون آسیب دیدگی انجام می گیرد.

7- کارتهای خونی را می توان برای یک هفته در پاکتهای مقاوم به رطوبت نگهداری نمود. لکه های خون در پاکتهای پلاستیکی زیپ دار و حاوی سیلیکاژل در حرارت 4 تا 8 درجه یخچال تا چهار ماه و در فریزر ( 20- درجه ) به مدت طولانی پایدار خواهد ماند. نمونه های کنترل و استاندارد را نیز باید در پاکتهای آلومینیومی مخصوص خود که در داخل کیت قرار داده شده است حفظ نمود تا کیفیت آنها در طول مدت کاربری صدمه نبیند.

### مواد و وسایل داخل کیت :

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 عدد        | 1) پلیت استخراج (میکروپلیت 96 خانه مخصوص استخراج گالاکتوز از لکه خون خشک شده )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 1 عدد        | 2) پلیت شفاف فتومتری ( میکروپلیت 96 خانه )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 20 میلی لیتر | 3) معرف شماره ( 1 ) ، تامپون استخراج ( Extraction Buffer )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 5 میلی لیتر  | 4) معرف شماره ( 2 ) ، سوپسترا                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 5 میلی لیتر  | 5) معرف شماره ( 3 ) ، آنزیم الکالین فسفاتاز و گالاکتوز دهیدروژناز در محیط تامپونه                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 5 میلی لیتر  | 6) معرف شماره ( 4 ) ، محلول رنگزا                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| دو عدد       | 7) نوار های کاغذ صافی با لکه های خونی استاندارد حاوی شش غلظت و لکه های خونی جهت کنترل ( لکه کنترل ) در دو غلظت در محدوده غلظت نرمال و آنرمال ، خشک شده بر کاغذ صافی مخصوص ( Schleicher & Schuell NO 903 )<br>( 0 , 2.5 , 5 , 10 , 25 , 50 mg / dl , Whole Blood )<br>مقادیر ارزشی کنترل ها بر روی لکه کنترل درج گردیده است.<br>معرفها در یخچال 4 تا 8 درجه تا تاریخ مصرف ( قید شده در برجسب ) پایدار باقی میماند. |