

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 14, 1976, pp. 159–160

## KURZMITTEILUNG

### Anpassung des „Weidemann-Testes“ auf Galaktose an Massenscreening

Von R. Schön

Dept. f. Neonatologie u. angeborene Störungen (Leiter: Prof. Dr. O. Thalhammer) der Univ. Kinderklinik (Vorstand: Prof. Dr. H. Asperger) Wien

(Eingegangen am 22. September/4. Dezember 1975)

**Zusammenfassung:** Durch geringfügige praktische Modifikation, vor allem aber durch die Verarbeitungsmöglichkeit von Blutproben auf Filterpapier an Stelle von flüssigem Blut, konnte der Galaktosenachweis mittels Galaktose-Dehydrogenase (Weidemann, G. (1971), diese Z. 9, 527) für Massenscreening verwendbar gemacht werden. Nach der Beschreibung der Technik werden kurz erste Ergebnisse, bzw. Vergleiche mit dem seit Jahren in unserem Screeningprogramm bewährten Guthrie-Test besprochen: der Dehydrogenase-Test erweist sich dabei als wesentlich rascher und substratspezifischer als der Guthrie-Test (Dauer 2 gegenüber 44 Stunden, falsch positive Ergebnisse von 16,87 mmol/l Galaktose oder darüber 1:42 231 gegenüber 1:3519). Er ist allerdings weniger empfindlich (16,87 mmol/l gegenüber 1,69 mmol/l Galaktose), so daß die Kombination beider Tests für ein Neugeborenen-Massenscreening sinnvoll erscheint.

#### *Suitability of the Weidemann test for galactose in mass screening*

**Summary:** With slight practical modification, especially in the preparation of blood samples on filter paper in place of liquid blood samples, it was possible to adapt the determination of galactose dehydrogenase (Weidemann, G. (1971), this Journal 9, 527) to mass screening. The technique is described, and the first results are briefly discussed and compared with those obtained over the years in our screening program with proven the Guthrie test (1): The dehydrogenase test is much quicker and shows a higher substrate specificity than the Guthrie test (duration 2 hours compared with 44 hours; false positive results of 16.87 mmol/l galactose or higher 1:42231 compared with 1:3519). It is, however, less sensitive (16.87 mmol/l compared with 1.69 mmol/l galactose), so that a combination of both tests would seem appropriate for the mass screening of new borns.

#### Einführung

Seit 1967 betreiben wir im Rahmen des Österreichischen Programmes zur Früherfassung angeborener Stoffwechselanomalien ein routinemäßiges Neugeborenen-Massenscreening auf Galaktosämie. Als Suchmethode hat sich dabei der Bakterienhemmtest von Guthrie hervorragend bewährt (1). Die einzigen technischen Probleme bei der Suche nach einer Krankheit, die bereits in der zweiten Lebenswoche zum Tode führen kann – 44 Stunden Dauer von Posteinlauf bis zum Vorliegen des Testergebnisses und nicht ganz selten falsch positive Befunde infolge Antibiotikagehalt oder Desinfektionsmittelkontamination – haben wir durch Einführen eines zusätzlichen Testes behoben.

#### Prinzip der Methode

Wir verwenden einen für Massen-Screening aus vollblutgetränkten Filterpapierkärtchen adaptierten Galaktosenachweis nach Weidemann (2). Er beruht auf dem UV-Nachweis von NADH, das nach Inkubation mit NAD und Galaktosedehydrogenase bei Anwesenheit von Galaktose entstanden ist.

#### Technik

Aus den Lösungen 1, 2 und 3 wird durch Mischen im Verhältnis von 150:5:1 die Reaktionslösung hergestellt. Bei der Zubereitung der Lösungen (1 = Trispufferlösung, 2 = NAD-Lösung, 3 = Galaktosedehydrogenase) halten wir uns an die Angaben der Originalbeschreibung (2). Die Reaktionslösung ist im Kühlschrank mindestens 10 Tage haltbar, die 156 ml reichen für mehr als 3000 Tests aus.

Aus den Proben werden 3 mm Plättchen wie für den Guthrie-Test ausgestanzt, mit einer Vakuumpipette in Tüpfelplatten (COOKE Mikrotiter M 29 A) übertragen und dort mit einem Tropfen des Reaktionsgemisches versetzt. Nach 30 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur werden 15 µl des Überstandes auf Ionenaustauscherpapier (Whatman DE 81) aufgetragen. Das Auftragen geschieht rasch und problemlos mit einem montierten Satz von zwölf 100 µl Einmalpipetten, in denen die Flüssigkeit durch Kapillarwirkung 9,5 mm (= 15 µl) hochsteigt. Die Einmalpipetten sind so in einem Kartonstreifen fixiert, daß sie genau in die 12 Vertiefungen einer Reihe der Tüpfelplatte passen (Abb. 1). Da die Flüssigkeit aus den Pipetten restlos auf das Papier gesaugt wird, können mit einem Satz mehrere Tests übertragen werden. Nach dem Trocknen unter Warmluft wird in langwelligem UV-Licht abgelesen; galaktosehaltige Proben ergeben eine hellblaue Fluoreszenz, deren Intensität von der Galaktosekonzentration abhängig ist. Die Nachweisgrenze liegt bei 16,65 mmol/l Galaktose.

Ein Test umfaßt 96 Proben, zusätzlich werden Galaktosestandards von 5,55; 16,87; 27,76; und 55,51 mmol/l (entsprechend unseren Standards von 100, 300, 500 und 1000 mg/l Galaktose) in gleicher Weise verarbeitet. Die Dauer der Untersuchung beträgt etwa 40 Minuten ab Inkubationsbeginn (30 min Inkubation, 5 min Auftragen, 5 min Trocknen und Auswerten des Testes).

#### Ergebnisse und Diskussion

Der auf diese Weise durchgeführte Galaktosenachweis ist weniger empfindlich als der Guthrie-Test (untere Nachweisgrenze 1,67 mmol/l) und die Originalmethode von Weidemann (2,78–5,55 mmol/l). Dafür ist er aber wie der Guthrie-Test für Massenscreening geeignet – in unserem Labor werden bis zu 600 Proben pro Tag verarbeitet – und wesentlich rascher und offenbar substratspezifischer als der Guthrie-Test. So fanden wir unter 42.231 getesteten Neugeborenen mit dem Fluoreszenztest nur ein falsch positives Ergebnis (Milchkontamination), im Guthrie-Test ergaben außer der auch im Fluoreszenztest auffälligen Probe weitere 11 bei Erstuntersuchung Werte von 16,65 mmol/l Galaktose oder mehr, die allerdings bei Wiederholung des Guthrie-Testes aus verschiedenen Tropfen desselben Kärtchens nicht reproduzierbar waren. (Antibiotika – oder Desinfektionsmittelkontamination?) Die trotzdem von diesen Kindern angeforderten Kontrollen ergaben durchwegs normale Werte. Die Frequenz von „falsch positiven“ ergibt demnach bei einer Kontrollgrenze von 16,5 mmol/l für den Fluoreszenztest nur 1:42.231, für den Guthrie-Test aber 1:3.519. Weitere 10 derartige falsch positive Befunde des Guthrie-Testes hatten Werte unter 16,65 mmol/l ergeben.