

ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГІДРОГЕНАЗА, УФ, КІНЕТИЧНИЙ МЕТОД

G6PDH, UV, kinetic

Діагностичний реагент для кількісного визначення *in vitro* Глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у крові людини на фотометричних системах

Каталог. №: Y04500

Дата випуску інструкції: 2018/01/08

Версія 05



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Кат. №	Розмір набору	Вміст
Y04500	10 x 18мл	10 x 6 мл R1 + 1 x 120 мл R2

Додатково пропонуються:

Y17565SV	1 x 0.5мл	G6PDH Калібратор
Y17560	6 x 0.5мл	G6PDH Набір контролів

ПАРАМЕТРИ ТЕСТУ

Метод:	УФ, кінетичний, зростаючої реакції
Довжина хвилі:	340 нм
Температура аналізу:	37 °C
Зразок:	Цільна кров з ЕДТА, гепарин або кислотний-цитрат-декстроза (ACD)
Лінійність:	до 21.0 О/г Hb або 609 О/10 ¹² RBC
Чутливість:	0.4 О/г Hb або 11 О/10 ¹² RBC

КОРОТКИЙ ОПИС

Аналізи G6PDH найчастіше проводяться для визначення дефіциту G6PDH, який широко поширений у всьому світі. Визначено, що дефіцит G6PDH у червоних тільцях є основою для деяких гематолітичних анемії, обумовлених лікарськими засобами. Цей тип схильності до гемолізу, обумовленого лікарським засобом, часто називають "чутливістю до прімакіну", оскільки дослідження, які призвели до цієї характеристики, були зроблені під час відкриття гемолітичних властивостей цієї протималарійної сполуки.

ПРИНЦИП ТЕСТУ (Див. оригінал інструкції)

СКЛАД РЕАГЕНТІВ

КОМПОНЕНТИ	КОНЦЕНТРАЦІЯ
Реагент 1:	
NADP	1.5 мМ
Малеїмід	12 мМ
Буфер, стабілізатори, лізуючий агент	
Реагент 2:	
Глюкоза-6-фосфат	1.05 мМ
Сіль магнію, буфер	

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Реагент 1 : Для процедури на автоматичних інструментах розчиніть вміст кожного флакону з кількістю деіонізованої води, вказаної на етикетці. Обережно прокрутіть і кілька разів інвертуйте, щоб розчинити вміст. Почекайте 2-3 хв. і знову перемішайте.

Для ручної процедури тесту додайте Лізуючий Реагент як розріджувач замість деіонізованої води!

Реагент 2: Реагент 2 готовий до використання.

СТАБІЛЬНІСТЬ І ЗБЕРІГАННЯ РЕАГЕНТІВ

Умови:	Захищати від світла, закривайте негайно після використання. Не заморожуйте реагенти!
Зберігання:	при 2-8 °C
Стабільність:	до закінчення терміну придатності

Після відновлення:

Реагент 1:	при 18-26 °C	8 годин
	При 2 – 8 °C	5 днів

ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

Ціла кров, зібрана в ЕДТА, гепарин або кислотний-цитрат-декстроза (ACD), задовільна [4-8].

Оскільки активність повідомляється або в грамах гемоглобіну або в кількості еритроцитів, то перед проведенням аналізу G6PDH необхідно визначити концентрацію гемоглобіну або кількість червоних клітин.

Цілісність еритроцитів, зібраних в ACD, зберігається навіть після тривалого зберігання, тому отримання точних значень кількості червоних клітин звичайно не становить проблеми [6]. Однак кількість еритроцитів на зразках, зібраних у гепарині, стає ненадійною приблизно через 2 дні [6]. Таким чином, для гепаринізованих зразків результати краще отримувати в концентрації гемоглобіну.

Ми пропонуємо: Y04701 Загальний реагент гемоглобіну.

Для проведення випробувань на автоматичних інструментах додайте 100 мкл цільної крові до 0,9 мл G6PDH Лізуючого Реагенту і залишити на 5 хв. Добре перемішайте. Використовуйте гемолізат як зразок.

СТАБІЛЬНІСТЬ І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА [9]

Цільна кров:	при 2 – 8 °C	7 днів
Гемолізат:	нестабільний	

Не заморожувати! Утилізуйте забруднені зразки.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Загальне лабораторне обладнання.

Обладнання та реагенти для визначення концентрації гемоглобіну або аналізу кількості еритроцитів.

РУЧНА ТЕСТОВА ПРОЦЕДУРА

Відновіть R1 додаванням Лізуючого Реагенту в якості розчинника замість деіонізованої води.

Піпетуйте в кювету:	
Реагент 1	1000 мкл
Зразок/Контролі	10 мкл
Добре вимішайте до повної затримки еритроцитів. Залишити відстоятись при кімнатній температурі (18 – 26 °C) протягом 5 – 10 хв. Потім додайте R2:	
Реагент 2	2000 мкл
Обережно перемішайте інвертуючи кілька разів. Інкубуйте при 37°C протягом 5 хвилин і зчитайте абсорбцію A1 при 340 нм до води. Інкубуйте знову протягом 5 хв при 37 °C і зчитайте абсорбцію A2.	

ОБЧИСЛЕННЯ (світлова доріжка 1 см)

$$\Delta A / \text{хв} = \frac{A_2 - A_1}{5}$$

Активність G6PDH може бути виражена як у О/г гемоглобіну (Hb) так і в О/10¹² еритроцитів (RBC):

$$\begin{aligned} G6PDH [O/g Hb] &= \Delta A / \text{хв} \times \frac{100 \times 3.01}{0.01 \times 6.22 \times Hb (r/dl)} \times TCF \\ &= \Delta A / \text{хв} \times \frac{4839 \times TCF}{Hb (r/dl)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Або: } G6PDH (O/10^{12} RBC) &= \frac{\Delta A / \text{хв} \times 3.01 \times 10^{12} \times TCF}{0.01 \times 6.22 \times (N \times 10^6) \times 1000} \\ &= \Delta A / \text{хв} \times \frac{48390 \times TCF}{N} \end{aligned}$$

100 = фактор конвертування активності до 100 мл

3.01 = загальний об'єм реакційної суміші (мл)

0.01 = Об'єм зразка (мл)

6.22 = мілімолярна абсорбція NADPH при 340 нм

Hb (г/дл) = Концентрація гемоглобіну для кожного зразка

TCF = Коефіцієнт корекції температури (= 1 при 37°C)

10¹² = Фактор для вираження активності у 10¹² клітин

(N x 10⁶) = кількість червоних клітин (червоні клітини/мн³) для кожного зразка

N = кількість червоних клітин поділено на 10⁶

1000 = перетворення червоних клітин з мн³ у мл

ТЕМПЕРАТУРНА КОРЕКЦІЯ [14]

Температура кювети	TCF
25 °C	1.98
30 °C	1.37

РЕФЕРЕНСНИЙ ДІАПАЗОН [1]*

Наступні діапазони були отримані в результаті дослідження 98 клінічно здорових чоловіків та жінок:

При 37°C	290 – 412 О/10 ¹² RBC	10.0 – 14.2 О/г Hb
----------	----------------------------------	--------------------

Значення для новонароджених можуть бути в діапазоні дещо вище.

*Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала свій власний діапазон.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ЛІНІЙНІСТЬ

Максимальна активність, яку можна виміряти цією процедурою становить приблизно 21.0 О/г Hb або 609 О/10¹² RBC.

Якщо ΔА/хв більше ніж 0.06, повторіть визначення з використанням 5 мкл крові в якості зразка та помножте результати на 2.

ЧУТЛИВІСТЬ

Мінімальні зміни в абсорбції при 340 нм: ΔА/хв = 0.001.

Якщо припустити, що концентрація гемоглобіну 12.0 г/дл і кількості червоних тілець 4.5 x 10⁶/мм³, то можна визначити активність G6PDH 0.4 О/г Hb або 11 О/10¹² RBC.

ТОЧНІСТЬ

В аналізі n= 20	Середнє [О/л]	СВ [О/л]	КВ [%]
Зразок 1	257	23.7	9.2
Зразок 2	658	18.3	2.8
Зразок 3	1939	48.0	2.5

Між аналізами n=20	Середнє [О/л]	СВ [О/л]	КВ [%]
Зразок 1	269	30.8	11.4
Зразок 2	700	28.7	4.1
Зразок 3	2014	43.0	2.1

СПЕЦИФІЧНІСТЬ/ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Окислення глюкози-6-фосфату за допомогою G6PDH є специфічним. Будь-яке неспецифічне утворення NADPH через окислення інших субстратів ендогенними ферментами відбувається в період преінкубації.

6-Фосфоглюконатдегідрогенази повністю інгібується малеїмідом в системі реагентів.

- Мідь повністю інгібує G6PDH в концентрації 100 мкмоль / л, а іони сульфату (0,005 моль / л) знижують рівні G6PDH активності [10].
- Як відомо, певні лікарські засоби та інші речовини впливають на рівні циркуляції G6PDH [11].
- Ретикулоцити мають вищі рівні G6PDH, ніж зрілі червоні клітини. Рекомендується, щоб аналізи не проводились після важкої гемолітичної кризи, оскільки рівні G6PDH можуть бути помилково завищеними. За таких умов, виявлення дефіциту може вимагати проведення сімейних досліджень. Тестування можна проводити після того, як рівень зрілих червоних клітин буде в нормі.
- За звичайних умов, активність, спричинена лейкоцитами, тромбоцитами та сироваткою, порівняно невелика. Проте, як повідомляє Ешлер [12] та інші [13], більш точне вимірювання активності червоних клітин G6PDH, особливо при наявності анемії та / або лейкоцитозу, може бути досягнуто шляхом використання зразків крові, що не містять кров'яних згустків, для аналізу. Таким чином, у випадку граничного значення, отриманого з цільною кров'ю, може бути необхідним повторити аналіз на відсутність кров'яних згустків у зразку.

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ

Порівняння між Dialab G6PDH (y) та доступного на ринку тесту (x) дало наступні результати:

$$y = 0.97 x + 0.07; r = 0.994$$

КАЛІБРУВАННЯ

Процедура стандартизована на основі мілімолярної абсорбції NADPH, яка становить 6,22 при 340 нм. Вимірювання швидкості збільшення абсорбції (ΔА) при 340 нм служить для кількісної оцінки ферментативної активності.

Використання калібратора не є обов'язковим. Ми рекомендуємо Dialab **G6PDH калібратор**.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Надійність результатів випробувань слід контролювати за допомогою контрольних матеріалів зі встановленими значеннями всередині кожного аналізу. Ми рекомендуємо Dialab **G6PDH Набір контролів**.

Кожна лабораторія повинна встановлювати корегувальні дії у разі відхилення у відновленні контролю.

АВТОМАТИЗАЦІЯ

По потребі для автоматичних аналізаторів можуть бути проведені спеціальні адаптації.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Реагент 1: Небезпечний. H302: Шкідливий при ковтанні. H314: Викликає серйозні опіки шкіри та пошкодження очей. H317: Може спричинити алергічну реакцію шкіри. H318: Викликає серйозне пошкодження очей. H335: Може викликати подразнення дихальних шляхів. P260: Не вдихайте пил/дим/газ/туман/пари/розпилювальний аерозоль. P264: Помийте ретельно руки та обличчя після обробки. P270: Не їсти, не пити, не палити під час використання продукту. P271: Використовуйте лише у добре вентильованій зоні. P272: Забруднений одяг не дозволяється виносити з робочого місця. P280: Носити захисні рукавиці/захисний одяг/захист для очей. P301+P330+P331: У ВИПАДКУ КОВТАННЯ: Промийте рот. НЕ викликати блювання. P302+P352: ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: промити великою кількістю води з милом. P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ (або волосся): Зніміть негайно весь забруднений одяг. Промийте шкіру водою/душом. P304+P340: ПРИ ВДИХАННІ: Винести потерпілого на свіже повітря та забезпечити зручне дихання. P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: ретельно промити водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і легко знімаються. Продовжити промивання. P310: Негайно звернутися до ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ЦЕНТРУ або лікаря/терапевта. P312: Подзвоніть у ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР або лікарю/терапевту, якщо почуваєтеся погано. P333+P313: При виникненні подразнення або висипання: зверніться по медичну консультацію/допомогу. P363: Випрати забруднений одяг перед повторним використанням. P403+P233: Зберігати в добре провітрюваному приміщенні. Зберігати контейнер щільно закритим. P501: Утилізуйте вміст у каналізаційну систему, промивши великою кількістю води, відповідно до місцевих вимог.
2. Реагент 2 містить азид натрію (<0.1г/л), який може взаємодіяти зі свинцем та міддю, утворюючи високо вибухонебезпечні азиди металів. Уникайте накопичення азиду.
3. Будь ласка, зверніться до паспорту безпеки і дотримуйтеся необхідних застережень щодо використання лабораторних застережень.
4. Для діагностичних цілей, результати слід завжди оцінювати за медичною історією пацієнта, клінічними оглядами та іншими даними.
5. Тільки для професійного використання!

ПОВОДЖЕННЯ З ВІДХОДАМИ

Утилізувати відповідно до місцевих вимог.



ВИРОБНИК

Діалаб ГмБХ

Виробництво та продаж хіміко-технічної продукції та лабораторних приладів в ІЗ НОЕ-Зюд, Хондаштрассе, Обджект М55, 2351

Вінер-Нойддорф

Тел.: +43 (0) 2236 660910-0,

Факс: +43 (0) 2236 660910-30,

e-mail: office@dialab.at



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»

вул. Симона Петлюри, 25

м. Івано-Франківськ, 76014

тел.: +38 (0342) 775 122

факс: +38 (0342) 775 123

e-mail: info@diameb.ua

www.diameb.ua

