

**GLUCOSE-6-PHOSPHATE
DEHYDROGENASE
PRODUCT CODE : BXC0571**

BXC0571A
R1:2x50ml , R2:1x2ml , R3:1x2ml , R4:1x35ml
در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
دستورالعمل استفاده محصول
فقط برای مصرف آزمایشگاهی

گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز

کد محصول: **BXC0571**

نمونه و پایداری نمونه ها :

گلبول های قرمز خون به همراه ضد انعقاد هپارین، EDTA، سیترات و اگزالات.

گلبول های قرمز به مدت ۷ روز در دمای ۸-۲ درجه سانتی گراد پایدار می باشد.

روش آماده سازی گلبول های قرمز خون:

مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از خون تام را با ۲ میلی لیتر از سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ شست شو دهید. در هر بار از شست و شو ۱۰ دقیقه سانترفیوژ با دور **rpm ۳۵۰۰** توصیه می شود. مراحل شست و شو را ۳ مرتبه تکرار کنید. باقی مانده گلبول های شسته شده را با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول (**R4**) مخلوط کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری کنید. سپس مجددا سانترفیوژ کرده و محلول رویی را ظرف ۲ ساعت آنالیز نمایید.

روش انجام آزمایش:

طول موج	دما	کووت	اندازه گیری
۳۴۰ نانومتر	۳۷ درجه سانتی گراد	یک سانتی متر	در مقابل آب مقطر

مواد به صورت زیر به داخل لوله های آزمایش اضافه شود:	
Buffer R1	1 ml
NADP R2	30 µl
Haemolysate	15 µl
مخلوط کرده و بعد از ۱۰ دقیقه مواد زیر اضافه شود :	
Substrate R3	15 µl
پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری خوانده شود، کرومومتر را به کار انداخته و دقیقا ۳،۲،۱ دقیقه پس از شروع واکنش جذب نوری خوانده شود.	

غلظت معرف ها:

R1	Triethanolamine Buffer	31.7 mmol/l
	EDTA	3.2 mmol/l
R2	NADP	0.34 mmol/l
R3	G-6-P	0.58 mmol/l
R4	Digitonin	0.6 mmol/l

شرایط نگهداری و آماده سازی محلول ها:

۱) (R1) Buffer : محلول آماده مصرف می باشد.

۲) (R2) NADP : یک ویال از محلول (R2) با ۲ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شود. پایداری محلول ساخته شده در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد ۴ هفته می باشد.

۳) (R3) Substrate : یک ویال از محلول (R3) با ۲ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شود. پایداری محلول ساخته شده در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد ۴ هفته می باشد.

۴) (R4) Digitonin : محلول آماده مصرف می باشد.

محلول کار:

جهت استفاده در دستگاه های اتوآنالایزر ، محلول کار را بسته به نیاز طبق جدول زیر آماده کنید. پایداری محلول ساخته شده در صورت نگهداری در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد ۳ روز می باشد.

در صورت نیاز پارامتر دستگاه ها را از بخش فنی شرکت بایرکس فارس تهیه نمایید.

تعداد تست	Buffer(R1)	NADP(R2)
۸	۳ میلی لیتر	۰/۱ میلی لیتر
۱۷	۶ میلی لیتر	۰/۲ میلی لیتر
۳۵	۱۲ میلی لیتر	۰/۴ میلی لیتر

جایگاه های معرف ها در دستگاه های آنالایزر:

Working Reagent(Buffer+NADP) = R1

R3(Substrate) = R2

گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز (G6PDH)

Kit Contents:	BXC0571A
R1 Buffer	2 x 50 ml
R2 NADP	1 x 2.0 ml
R3 Substrate	1 x 2.0 ml
R4 Digitonin	1 x 35 ml

موارد مصرف:

تعیین کمی آنزیم G6PDH در گلبول های قرمز خون انسانی.

مقدمه:

گلوکز از دو مسیر گلیکولیز و هگزوز مونو فسفات وارد چرخه سوخت و ساز می شود ، که در مسیر اول تولید NADH به عنوان کوفاکتور مهم برای آنزیم سیتوکروم ردوکتاز جهت تولید 2,3DPG و کاهش میل ترکیبی هموگلوبین به اکسیژن و رها سازی آن به بافت ها لازم و ضروری می باشد. مسیر هگزوکیناز مونوفسفات تنها مسیر تولیدکننده کوفاکتور NADPH است که در احیای گلوکاتیمون اکسید شده نقش مهمی دارد. تولید کوفاکتور NADPH وابسته به عملکرد آنزیم گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز می باشد که در اولین واکنش مسیر هگزوز مونوفسفات تولید می شود. کمبود آنزیم G6PDH شایع ترین اختلال آنزیمی گلبول قرمز می باشد. کمبود آنزیم G6PDH از نظر بالینی ممکن است با موارد همولیز حاد ، فاویسم ، هایپرپیلی روبینمی نوزاد و کم خونی همولیتیک غیر اسفروسیتیک مزمن بروز پیدا کند. داروها و عفونت ها علت شایع شروع همولیز در کمبود آنزیم G6PDH می باشد.

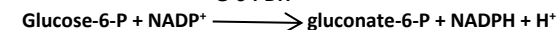
روش:

Enzymatic

اساس آزمایش:

آنزیم G6PDH باعث کاتالیز اکسیداسیون گلوکز ۶- فسفات به ۶- فسفوگلوکونات به همراه تولید همزمان NADPH می شود. فعالیت آنزیم با اندازه گیری میزان تولید NADPH متناسب می باشد که این میزان در طول موج مناسب اندازه گیری می شود.

G-6-PDH



**GLUCOSE-6-PHOSPHATE
DEHYDROGENASE
PRODUCT CODE : BXC0571**

BXC0571A
R1:2x50ml , R2:1x2ml , R3:1x2ml , R4:1x35ml
در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
دستورالعمل استفاده محصول
فقط برای مصرف آزمایشگاهی









**گلوکز ۶ - فسفات دهیدروژناز
کد محصول: BXC0571**

بهداشت و ایمنی:

این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است. در هنگام کار با معرف های آزمایشگاهی، رعایت کردن اقدامات احتیاطی مورد نیاز ضروری می باشد. این معرف ها غیر قابل خوردن و نوشیدن می باشند. در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین شده عمل شود.

منابع:

1. Beutler E. Drug induced haemolytic anaemia and non-spherocytic haemolytic anaemia. In Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (Yoshida A and Beutler E., Eds)pp 3-12, Academic, Orlando

	For In Vitro Diagnostics Use Only
	Lot Number
	Catalogue Number
	Storage Temperature
	Expiry Date (Year / Month)
	Warning, Read Enclosed Documents
	Instructions For Use
	Manufactured By

خطی بودن:

در مواردیکه $\Delta A > 0.06$ باشد، نمونه به نسب ۱+۹ با سرم فیزیولوژی رقیق و در عدد ۱۰ ضرب شود.
در صورتیکه فعالیت آنزیم G6PDH بسیار پایین بود، تغییرات جذب را بعد از ۵ دقیقه از خوانش اول اندازه گیری کرده و عدد به دست آمده را به ۵ تقسیم کنید تا A / minute بدست آید.

مقادیر نرمال:

245 – 299 mU/10 ⁹ erythrocytes
6.97 – 20.5 U/g Hb
6970 – 20500 mU/g Hb
هر آزمایشگاه باید انطباق پذیری مقادیر مورد انتظار را با توجه به جمعیت بیمار خود بررسی کرده و الزاماً مقادیر مرجع خود را تعیین نماید. برای اهداف تشخیصی نتایج G6PDH باید همراه با تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایش های بالینی و یافته های دیگر تفسیر شود.

محدودیت و تداخل:

از نمونه های شدیداً لیپمیک یا لیز استفاده نشود.
در برخی از موارد به علت بالا بودن میزان G6PDH در رتیکولوسیت ها، نتایج به صورت کاذب بالا می باشد. بنابراین انجام تست بعد از وقوع بحران های همولیتیک توصیه نمی شود.

استفاده در دستگاه اتوماتیک:

در صورت استفاده از دستگاه های اتوآنالایزر، پارامتر را از شرکت دریافت کنید.

کنترل کیفیت:

Biorexfars G6PDH Deficient Control Cat No. BXC0572

Biorexfars G6PDH Normal Control Cat No. BXC0573

محدودیت ها و شکاف های کنترل باید بر حسب نیازمندی های خاص کشور و آزمایشگاه تطبیق شود. مقادیر بدست آمده باید بر طبق محدودیت های محرز شده کاهش یابد. اگر مقادیر بدست آمده خارج از محدودیت ها باشند، هر آزمایشگاه باید سنجش های صحیحی انجام دهد.

محاسبات:

G6PDH Activity :
(mU/erythrocytes /ml Blood) 340 nm ΔA /min \times 33650

میزان فعالیت آنزیم G6PDH به دو صورت گزارش می شود :

۱- بر اساس واحد mU/10⁹ erythrocytes

۲- بر اساس واحد mU/g haemoglobin

* برای محاسبه میزان فعالیت آنزیم G6PDH بر اساس mU/10⁹ erythrocytes و مقایسه محدوده نرمال، می بایست :

$$\frac{\text{mU/erythrocytes /ml}}{\text{RBC Count/ml}} = \text{mU/10}^9 \text{ erythrocytes}$$

مثال :

عدد به دست آمده برای فعالیت آنزیم G6PDH از دستگاه آنالایزر mU/erythrocytes/ml 500 می باشد و میزان شمارش شده برای RBC توسط دستگاه سل کانتر 5 x 10⁹ می باشد که طبق فرمول بالا :

$$500 / 5 = 100 \text{ mU/10}^9 \text{ erythrocytes}$$

* برای محاسبه میزان فعالیت آنزیم G6PDH بر اساس mU/g haemoglobin می بایست :

$$\text{mU/g Hb} = \frac{\text{mU/erythrocytes/ml} \times 100}{\text{Hb} \left(\frac{\text{g}}{\text{dl}} \right)}$$

مثال :

عدد به دست آمده برای فعالیت آنزیم G6PDH از دستگاه آنالایزر mU / erythrocytes / ml 600 می باشد و میزان هموگلوبین اندازه گیری شده 15 g/dl می باشد که طبق فرمول بالا :

$$\frac{600 \times 100}{15} = 4000 \text{ mU/g Hb}$$