

KULLANIM AMACI

Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz(G6PDH) kiti fotometrik sistemlerde insan kanındaki glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesinin kantitatif tayini için kullanılır.

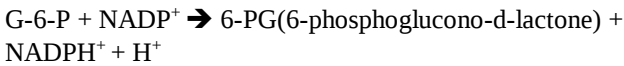
ÖZET

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH, EC 1.1.1.49) tüm hücrelerde bulunan bir sitozolik enzimdir ve pentoz fosfat yolunda önemli bir rol oynar. Bu enzim D-Glukoz-6-Fosfat'ın 6-fosfoglukono-d-lacton'a dönüşümünü katalizler. Bu süreç esnasında aynı miktarda NADPH⁺ oluşur. Aynı zamanda bu enzim pentoz fosfat yolunun hız kısıtlayıcı enzimidir.(1)

G6PDH eksikliği dünyadaki en yaygın enzim eksiklerinden birisidir, tahmini olarak dünya çapında 400 milyon kişiye bu enzim eksikliği olduğu düşünülmektedir.(2, 3) Genellikle bu enzim eksikliğine sahip bireyler asemptomatiktir. Bu bireyler artmış oksidatif stres durumlarında hemolitik anemi riskiyle karşı karşıyadırlar.(4) Artmış oksidatif strese bazı ilaçların kullanımı(ör. Klorokin), enfeksiyonlar, bakla ürünlerinin tüketilmesi gibi birçok şey sebep olabilir. Oksidatif/anti-oksidatif denge bozulduğunda eritrositler zarar görür. Bu hücreler daha sonra dalakta fagosite edilirler. İçlerindeki hemoglobin bilirubine yıkılır, bu da yüksek konsantrasyonlarda sarılığa sebep olur.(5)

TEST PRENSİBİ

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivite ölçüm kiti tam kan örneklerinde G6PDH aktivitesini ölçmek için basit ve hızlı bir yöntemdir. Enzimin aktivitesi 340 nm'de NADPH⁺'nin absorbans değişikliğinin ölçülmesi ile hesaplanır. Reaksiyon aşağıda belirtilmiştir:

**STABİLİTE VE REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI****Reaktifler:**

Ön hazırlık gerektirmeden kullanıma hazırdır. Son kullanma tarihine kadar 2-8°C'de stabil kalabilir.

Kalibratör:

Ön hazırlık gerektirmeden kullanıma hazırdır. Son kullanma tarihine kadar 2-8°C'de stabil kalabilir.

Kontroller:

Ön hazırlık gerektirmeden kullanıma hazırdır. Son kullanma tarihine kadar 2-8°C'de stabil kalabilir.

REAKTİF İÇERİĞİ

R1:	Tris Buffer
	NADP> 1 mMol
	MgSO4>10 mMol
	Maleimid> 10 mMol
	Preservatif Solüsyon (Sodyum Azid içerir)
R2:	Tris Buffer
	Glukoz-6-Fosfat> 5 mMol
	Preservatif Solüsyon (Sodyum Azid içerir)

KALİBRASYON

Kit ile sağlanan standart kullanılarak kalibre edilebilir. Önerilen rutin kalibrasyon sıklığı 30 gündür.

Standart : 200 U/dL G6PDH

Prosedür, NADPH⁺'nin 340 nm'deki molar absorpsiyon katsayısı $6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ alınarak standardize edilmiştir (Optik yol: 1 cm).

KALİTE KONTROL

Kontrollerin iki seviyesi her 24 saatte çalıştırılmalıdır.

Kontrol 1: 30 U/dL G6PDH (15-45)

Kontrol 2: 170 U/dL G6PDH (130-210)

Daha yoğun kontrol takibi gerekiyorsa, laboratuvarınız için geliştirilmiş kalite kontrol prosedürlerine bakınız.

FARKLI OTOANALİZÖR UYGULAMALARI

G6PDH reaktiflerini kullanan çeşitli otomatik cihazlar için aplikasyon prosedürleri mevcuttur. Daha fazla bilgi için lütfen Rel Assay Teknik Servis Departmanı ile iletişime geçin.

G6PDH AKTİVİTESİ HESAPLAMA FORMÜLÜ:

Otoanalizörde çıkan değer / Hemoglobin değeri = G6PDH aktivitesi (U/g Hb)

Örnek:

Bir tam kan örneğinin G6PDH kit sonucu = 240 U/dL

Hemoglobin değeri = 12 g/dL

Tam kan örneğindeki G6PDH aktivitesi: $240 / 12 = 20 \text{ U/g Hb}$

BİLEŞENLER

Tüm reaktifler kullanıma hazırdır.

	İçerik	Miktar
Reaktif 1		50 mL
Reaktif 2		10 mL
Standart	200 U/dL G6PDH	500 µL
Kontrol 1	30 U/dL G6PDH (15-45)	1 mL
Kontrol 2	170 U/dL G6PDH (130-210)	1 mL

ÇALIŞMA ŞEKLİ

- Bu ürün manuel spektrofotometre, plate-okuyucu ya da otoanalizör üzerinde çalışmak üzere tasarlanmıştır.
- Farklı otoanalizörler üzerinde kullanılabilir, aplikasyon örneği aşağıda verilmiştir;

Tam kan uygulaması

Reaksiyon modu	Rate Up
Dalga boyu	340/380
Optik yol	1cm
Metot	Kinetik

	Hacim
Reaktif 1	160 µL
Reaktif 2	20 µL
Numune	1,5 µL

- R1 ve örnek pipetlenerek karıştırıldıktan 5 dakika sonra R2 eklenir. 3 dakikalık inkübasyon sonrasında kinetik olarak okuma yapılır.

En doğru ve sensitif sonuçları alabilmek için kullanılan spektrofotometre veya otoanalizörün kuvvetlerinin temiz olduğundan ve numunelerin iyi homojenize edildiğinden emin olunuz.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Lineer aralık: G6PDH kiti 400 U/dl'ye kadar lineerdir.

Eğer sonuçlarınız lineer aralığın üzerinde ise numunenizi deiyonize su ile dilüe ederek, çıkan sonucu dilüsyon faktörü ile çarpınız.

KESİNLİK

20 kontrol numunesinin 30 tekrarlı çalışılması sonucu intra ve inter-assay CV değerleri tespit edilmiştir. Intra-assay %CV 2.5; inter-assay %CV 2 olarak hesaplanmıştır.

REFERANS ARALIK

Yetişkin ve çocuklarda 7 – 21 U/g Hb

Yeni doğanlarda sonuçlar daha yüksek çıkabilir.

Her laboratuvarın kendi referans aralığını hesaplaması tavsiye edilmektedir.

SAKLAMA KOŞULLARI VE SON KULLANIM TARİHİ

Saklama koşulları: Bu ürün 2-8°C'de saklanmalıdır.

Son kullanım tarihi: Her reaktifin son kullanım tarihi şişe üzerinde ve ürün kutusunda belirtilmiştir.

NUMUNE

EDTA veya heparin ile toplanmış tam kan örnekleri gereklidir. Tam kan örnekleri +4 °C'de 1 haftaya kadar stabildir.

G6PDH aktivitesini U/g Hb olarak ifade edebilmek için numunelerde hemoglobin değerlerinin de (g/dL) ölçülmesi gereklidir.

TAM KAN ÖRNEKLERİ TEST ÇALIŞILMADAN ÖNCE İYİCE HOMOJENİZE EDİLMELİ VE BEKLETMEDEN ÇALIŞILMALIDIR!

İNTERFERENSLER

40 mg/dL'ye kadar bilirubin, 4000 mg/dL'ye kadar lipemik ve 50 mg/dL'lik askorbik asit içeren örneklerle yapılan çalışmalarda interferens gözlenmemiştir.

En iyi sonuç uygulamanın yapılacağı pipet, pipet ucu ve kuvvetlerin temiz ve yıkama solüsyonu bulaşı olmadığı durumlarda elde edilir.

GERİ KAZANIM

Hazırlanan plazma havuzunda G6PDH aktivitesi ölçüldü. Sonrasında plazma havuzuna 300 U/dL'lik G6PDH aktivitesi olan bir solüsyon 1/10 ve 1/100 oranlarında eklenerek tekrarlı ölçümler yapıldı. Sonuçta geri kazanım %90 ile %110 arasında bulundu.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- Sadece *in vitro* çalışmalarda kullanılır.
- Son kullanım tarihi geçen reaktifleri kullanmayınız.
- Reaktifleri dikkatli bir şekilde kullanınız; reaktifleri yutmayınız, göz, mukoz membran ve deri ile temastan kaçınınız.
- Farklı lot numarasına sahip kitleri karıştırmayınız.
- Ağızla çekerek pipetleme yapmayınız.
- Reaktifler sodyum azid içermektedir, lütfen reaktifleri yutmayınız.
- Reaktifler uygun laboratuvar şartları altında, alanında uzman laboratuvar çalışanları tarafından, üretim amacına uygun şekilde kullanılmalıdır.

8. Temizleme solüsyonları, temizlikte kullanılan kağıt ya da kumaş bezleri, enfekte olma ihtimaline karşı prosedürlere uygun şekilde atınız.

REFERANSLAR

- 1) Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, W.B. Saunders Co. Philadelphia (2012).
- 2) Howes RE, Piel FB, Patil AP, et al. G6PD deficiency prevalence and estimates of affected populations in malaria endemic countries: a geostatistical model-based map. *PLoS Med* 2012;9: e1001339.
- 3) Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, et al. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis* 2009;42:267–78.
- 4) Luzzatto L, Seneca E. G6PD deficiency: a classic example of pharmacogenetics with on-going clinical implications. *Br J Haematol* 2014; 164:469–80.
- 5) Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008; 371:64–74.

17.05.2022