

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ РЕАКТИВ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗА-6-ФОСФАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА ФОТОМЕТРИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

**UV, кинетический
2 Реагента (Сухие порошки)**

Y04500, G6PDH Deficiency Screen

Каталог. № : **Y04500**
Производитель: **Dialab (Австрия)**

Методика **23-10-2007**
Версия **04**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Кат. №	Состав:		
Y04500	10 x 18 мл	10 x 6 мл	Реагент 1
		1 x 120 мл	Реагент 2

Дополнительно предлагаются:

Y04550LV	1 x 60 мл	Лизирующий Реагент G6PDH
Y04560	6 x 0.5 мл	Набор контролей G6PDH
Y04701	5 x 100 мл	Реагент Общего Гемоглобина
Y04702	5 x 50 мл	Реагент Общего Гемоглобина
Y04705	1 x 2 мл	Калибратор Общего Гемоглобина

ПАРАМЕТРЫ ТЕСТА

Метод	UV, кинетический, возрастающей реакции
Длина волн	340 нм
Температура	37 °С
Образец	Цельная кровь с ЭДТК, гепарином или кислый цитрат декстрозы (ACD)
Линейность	До 21.0 Ед/г Hb или 609 Ед/10 ¹² RBC
Чувствительность	0.4 Ед/г Hb или 11 Ед/10 ¹² RBC

КОМПОЗИЦИЯ РЕАКТИВА

КОМПОНЕНТЫ	КОНЦЕНТРАЦИЯ
Реагент 1:	
NADP	1.5 мМ
Maleimide	12 мМ
Буфер, стабилизаторы, лизирующий реагент	
Реагент 2:	
Глюкоза-6-фосфат	1.05 мМ
Соль магния, буфер	
Азид натрия	< 0.1 %

ПОДГОТОВКА РЕАКТИВА

Реагент 1: Растворить содержимое каждого флакона с количеством деионизированной воды, указанном на этикетке.

Для ручной процедуры теста добавить Лизирующий Реагент в качестве растворителя вместо деионизированной воды!

Реагент 2: Реагент 2 готов к использованию.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ РЕАКТИВА

Условия:	Не допускать попадания света, закрыть немедленно после использования
Хранение:	Не замораживать реагенты! При температуре 2-8 °С
Стабильность:	До окончания срока годности
После восстановления:	при 15-25 °С 8 часов при 2-8 °С 5 дней

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Поскольку активность измеряется либо в граммах гемоглобина либо количеством эритроцитов, поэтому **необходимо определить концентрацию гемоглобина или количество эритроцитов перед проведением анализа G6PDH. Мы рекомендуем: Реагент Общего Гемоглобина Y04701.**

Целостность эритроцитов, собранных в ACD, сохраняется даже после длительного хранения, так что получение точного количества

эритроцитов обычно не представляет никакой проблемы⁶. Тем не менее, подсчет эритроцитов в образцах, собранных в гепарин, становится ненадежным примерно через 2 дня⁶. Таким образом, для гепаринизированных образцов, результаты лучше получать в концентрациях гемоглобина.

Для проведения анализов на автоматических инструментах, добавьте 100 мкл цельной крови к 0,9 мл Лизирующего реагента G6PDH и дать постоять 5 минут. Хорошо перемешать. Используйте гемолизат в качестве образца.

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦА

Цельная кровь: Стабильность: при 2-8 °С 7 дней
Гемолизат: нестабильный
Не замораживать! Выбросить загрязненные образцы.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Нет интерференции с:	При значениях до:
Медь	100 мкмоль/л
Сульфат-ионы	0.005 моль/л

Некоторые лекарства и другие вещества, как известно, влияют на уровни циркуляции G6PDH.¹¹ Ретикулоциты имеют более высокие уровни G6PDH, чем зрелые эритроциты. Рекомендуется, чтобы анализы не проводились после тяжелого гемолитического кризиса, так как уровни G6PDH могут оказаться ложно завышенными. В этих условиях, выявление дефицита может потребовать семейных исследований. Тестирование может проводиться после того, как уровень зрелых эритроцитов нормализовался.

В нормальных обстоятельствах, деятельность лейкоцитов, тромбоцитов и сыворотки относительно невелика. Тем не менее, в случаях крайней анемии учитываются сильно увеличенные уровни белых кровяных телец или очень низкие уровни активности G6PDH красных кровяных клеток.

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ТЕСТА

Восстановить R1 добавлением Лизирующего Реагента в качестве растворителя вместо деионизированной воды.

Пипетировать в кювету:	
Реагент 1	1000 мкл
Образец/Контроли	10 мкл
Тщательно перемешать, чтобы полностью задержать эритроциты. Дать постоять при комнатной температуре (15-25 °С) в течение 5-10 минут. Затем добавить R2:	
Реагент 2	2000 мкл
Осторожно перемешать путем переворачивания несколько раз. Инкубировать при 37 °С в течение 5 минут и измерить оптическую плотность A1 при 340 нм против воды. Инкубировать снова в течение точно 5 минут при 37 °С и измерить оптическую плотность A2.	

ПОДСЧЕТ (световая дорожка 1 см)

$$\Delta A/\text{min} = A2 - A1/5$$

Активность G6PDH может быть выражена как в Ед/г гемоглобина (Hb), или как Ед/10¹² эритроцитов (RBC):

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

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

100 = коэффициент для преобразования активности до 100 мМ
3.01 = общий объем реакционной смеси (мл)
0.01 = Объем образца (мл)
6.22 = миллимолярная абсорбция NADPH при 340 нм
Hb (г/дл) = концентрация гемоглобина для каждого образца
TCF = поправочный коэффициент на температуру (= 1 при 37 °С)
(Nx10⁶) = количество красных клеток (красные клеток/мм³) для каждого образца
N = количество эритроцитов, поделенное на 10⁶
1000 = преобразование красных кровяных телец из мм³ в мл

ТЕМПЕРАТУРНАЯ КОРРЕКЦИЯ

Температура кювет	TCF
25 °С	1.98
30 °С	1.37

КОНТРОЛЬНЫЙ ДИАПАЗОН*

Следующие диапазоны были получены путем изучения 98 клинически здоровых мужчин и женщин:

at 37°C	197 - 516 U / 10 ¹² RBC	6.6 – 17.2 U / g Hb
at 30°C	146 - 376 U / 10 ¹² RBC	4.8 – 12.5 U / g Hb
at 25°C	99 - 262 U / 10 ¹² RBC	3.3 – 8.7 U / g Hb

Значения для новорожденных могут быть в диапазоне несколько выше.

* Настоятельно рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала свой собственный диапазон.

ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА (См. оригинал инструкции).

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ЛИНЕЙНОСТЬ

Максимальная активность G6PDH, которая может быть измерена этой процедурой, составляет приблизительно 21,0 Ед/г Hb или 609 Ед/10¹² RBC.

Если ΔА/мин. больше, чем 0,06, повторить определение с использованием 5 мкл крови в качестве образца и умножить результат на 2.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Минимальные изменения поглощения: ΔА/мин = 0,001.

Если предположить, что концентрация гемоглобина составляет 12,0 г/дл и количество красных кровяных телец 4,5×10⁶/мм³, активность G6PDH со значениями 0,4 Ед/г Hb или 11 Ед/10¹² RBC может быть обнаружена.

ТОЧНОСТЬ

В анализе к-во = 20	Среднее значение (Ед/л)	СО (Ед/л)	КВ (%)
Образец 1	257	23.7	9.2
Образец 2	658	18.3	2.8
Образец 3	1939	48.0	2.5
Между анализами к-во = 20	Среднее значение (Ед/л)	СО (Ед/л)	КВ (%)
Образец 1	269	30.8	11.4
Образец 2	700	28.7	4.1
Образец 3	2014	43.0	2.1

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ

Сравнительное исследование между методом Dialab G6PDH (y) и коммерчески доступным (x) дало следующие результаты:

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

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Все контрольные материалы со значениями G6PDH, полученными данным методом, могут быть использованы.

Мы рекомендуем:

Кат. № **Состав**
Y04560 6 x 0.5 мл **НАБОР КОНТРОЛЕЙ G6PDH**

КАЛИБРОВКА

Процедура стандартизована на основе миллимолярной абсорбции NADPH, которая составляет 6,22 при 340 нм. Измерение скорости увеличения поглощения (ΔА) при 340 нм служит для количественной оценки ферментативной активности.

АВТОМАТИЗАЦИЯ

По требованию для автоматизированных анализаторов могут быть проведены специальные адаптации.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

1. Эти реагенты предназначены только для диагностики in vitro.
2. Обычные меры предосторожности, соблюдаемые при обращении с лабораторными реагентами, должны быть соблюдены. При утилизации отходов соблюдать все местные, государственные и федеральные законы.
3. Реагент R1 является токсичным. Может вызвать генетические нарушения и/или раздражение глаз, дыхательных путей и кожи. Носить соответствующую защитную одежду.
4. Реагент R2 содержит азид натрия, который может реагировать со свинцом и медью, образуя высоко взрывоопасные азиды металлов. Избегайте накопления азидов, смывая с большим количеством воды.

УПРАВЛЕНИЕ ОТХОДАМИ

Ссылаться на местные легальные требования по уничтожению отходов.



ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com