

GLUKOZ-6-FOSFAT DEHİDROJENAZ

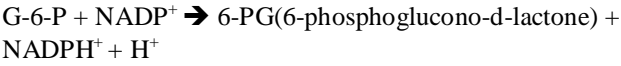
[Özet]

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD, 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)

G6PD eksikliği dünyadaki en yaygın enzim eksiklerinden birisidir, tahmini olarak dünya çapında 400 milyon kişide 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 fagositler edilirler. İçlerindeki hemoglobin bilirubine yıkılır, bu da yüksek konsantrasyonlarda sarılığa sebep olur.(5)

[Test Prensipleri]

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivite ölçüm kiti tam kan örneklerinde G6PD aktivitesini ölçmek için basit ve hızlı bir yöntemdir. Enzimin aktivitesi 340 nm'de NADPH⁺'nin absorbans değişikliğinin ölçülmesi ile hesaplanır. Reaksiyon aşağıda belirtilmiştir:



[Reaktif İçeriği]

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)

[Kullanım Alanı]

Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz(G6PD) kiti eritrositlerdeki glukoz-6-fosfat aktivitesinin belirlenmesi için kullanılır.

[Stabilite ve Reaktiflerin Hazırlanması]

Reaktifler:

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

[Kalibrasyon]

Deiyonize su ile kalibre edilebilir. Günlük kalibrasyon önerilmektedir.

Prosedür, NADPH⁺'nin 340 nm'deki molar absorpsiyon katsayısı 6.22 x 10³ M⁻¹ cm⁻¹ alınarak standardize edilmiştir (Optik yol: 1 cm).

[Hesaplama]

Bir uluslararası ünite, normal şartlar altında 1 mikromol substratı 1 dakikada katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır.

G6PD (IU/dL) = ΔAbs/dk. x 3644(Faktör değeri) (Optik yol:1 cm ise)

Eğer optik yol 1 cm'den farklı ise faktör değeri optik yol değerine bölünerek yeni bir değer hesaplanmalıdır.

G6PD Aktivite Hesaplaması Formülü:

Otoanalizörde çıkan değer / Hemoglobin değeri = G6PD aktivitesi (IU/g Hb)

Örnek:

Bir tam kan örneğinin G6PD kit sonucu = 240 IU/dL

Hemoglobin değeri = 12 g/dL

Tam kan örneğindeki G6PD aktivitesi: 240 / 12 = 20 IU/g Hb

[Performans Özellikleri]

Lineer aralık: G6PD kiti 1350 IU/dl'ye kadar lineerdir.

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

[Kesinlik]

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 aralık]

Yetişkin ve çocuklarda 7 – 21 IU/g Hb

Yeni doğanlarda sonuçlar daha yüksek çıkabilir.

Her laboratuvarın kendi referans aralığını hesaplaması tavsiye edilmektedir.

[Bileşenler]

Reaktifler kullanıma hazırdır.

İçerik	Miktar
Reaktif 1	50 mL
Reaktif 2	25 mL

[Saklama Koşulları ve Son Kullanım Tarihi]

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 ile toplanmış tam kan örnekleri gereklidir. Tam kan örnekleri 1(bir) haftaya kadar stabildir. **Tam kanda hemoglobin değerleri(g/dL) bu kitin sonucunu değerlendirebilmek için kiti kullanmadan önce mutlaka ölçülmelidir. Tam kan örnekleri test çalışılmadan önce iyice homojenize edilmeli ve olabildiğince hızlı bir şekilde çalışılmalıdır!**

[Prosedür ve Hesaplama]

Tam kan uygulaması

Ölçüm metodu	Rate Up
Dalga boyu	340/380
Optik yol	1cm
Metod	Kinetik
Okuma	Distile suya karşı okuma

	Hacim
Reaktif 1	120 µL
Dilüye Su Miktarı	120 µL
Reaktif 2	23 µL
Numune	1.5 µL

[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 küvetlerin temiz ve yıkama solüsyonu bulaşı olmadığı durumlarda elde edilir.

[Geri Kazanım]

Hazırlanan plazma havuzunda G6PD aktivitesi ölçüldü. Sonrasında plazma havuzuna 1300 IU/ml’lik G6PD aktivitesi olan bir solüsyon 1/10 ve 1/100 oranlarında eklenerek tekrarlı ölçümler yapıldı. Sonuçta geri kazanım %90 ile %110 arasında bulundu.

[Uyarılar ve Önlemler]

1. Sadece *in vitro* araştırma çalışmalarında kullanılır.
2. Son kullanım tarihi geçen reaktifleri kullanmayınız.
3. Reaktifleri dikkatli bir şekilde kullanınız; reaktifleri yutmayınız, göz, mukoz membran ve deri ile temastan kaçınınız.

4. Farklı lot numarasına sahip kitleri karıştırmayınız.
5. Ağızla çekerek pipetleme yapmayınız.
6. Reaktifler sodyum azid içermektedir, lütfen reaktifleri yutmayınız.
7. Laboratuvarda kullanılan reaktifler için uyulan genel kurallara uygun davranınız.
8. Reaktifler uygun laboratuvar şartları altında, alanında uzman laboratuvar çalışanları tarafından, üretim amacına uygun şekilde kullanılmalıdır.
9. Temizleme solüsyonları, temizlikte kullanılan kağıt ya da kumaş bezleri, enfekte olma ihtimaline karşı hemen uygun şekilde atınız.

Referanslar

1. Rifai N, Horvath AR, Wittwer C. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics 2018.
2. Howes RE, Piel FB, Patil AP, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. G6PD deficiency prevalence and estimates of affected populations in malaria endemic countries: a geostatistical model-based map. PLoS Med. 2012;9(11):e1001339.
3. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2009;42(3):267-78.
4. Luzzatto L, Seneca E. G6 PD deficiency: a classic example of pharmacogenetics with on-going clinical implications. British journal of haematology. 2014;164(4):469-80.
5. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. The lancet. 2008;371(9606):64-74.