

حدود طبیعی:

مقدار	دما
6.4 - 18.5 U/g Hb	37°C

دقت:

Mean U/g Hb	Within day CV%	Between day CV%
13.2	1.48	2.65

مراجع:

1. Tietz Clinical chemistry, Saunders. 1986, 1501-12.
2. Diagnostic Hematology by Rodak, W.B, saunders, 1995.
3. Beutler, E. Blume, K.G.Kaplan, j.c. Et al: international committee for standardization in heamatology: recommended methods for red - cell enzyme analysis. Brij Haematol 1.35:331- 340, 1977.
4. Beutler, E: red cell metabolism: A manual of Biochemical methods. 3 rd ed. Orlando, Grune & Stratton, 1984.

علائم جهانی مربوط به فرآورده‌های تشخیص آزمایشگاهی

IVD	in-vitro diagnostic use only
REF	Product Code
LOT	Lot Number
تاریخ پایداری	Use by/ Expiry date
درجه حرارت نگهداری فرآورده	Store at
برای روش استفاده فرآورده یا سازنده تماس بگیرید	Consult instructions for use

پژوهشی و نوآوری



بهار افشان

اندازه‌گیری کمی فعالیت G6PD

مقدمه:

ثابت شده است که کمبود آنزیم G6PD اریتروسیتهی در ۲ تا ۳ درصد از جمعیت دنیا وجود دارد و مسئول ایجاد تقریباً ۱/۳ موارد آنمی همولیتیک ارثی می‌باشد. این نقص یک صفت وابسته به جنس است. در حدود ۱۰ درصد مردان سیاه‌پوست آمریکایی در اثر تماس با تعدادی از داروها نظیر پریماکین، نالیدیکسیک اسید، فناستین، مقادیر بالایی از ویتامین C، داروهای ضد مالاریا نظیر آمینوکیونین و سولفامیدها و یا در اثر استرس‌هایی نظیر عفونت‌های مختلف دچار همولیز می‌شوند.

فرم شدیدتر کمبود G6PD بالاخص در سفیدپوستان یهودی دیده می‌شود. این فرم بیماری بر اساس کمبود آنزیم در لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و آنمی شدید و حساسیت به باقلا و داروهای مختلف مشخص می‌شود به طوری که در این افراد همولیز شدید اتفاق می‌افتد. (فاوویسم)، از آنجایی که G6PD از طریق ژنی بر روی کروموزوم X مشخص می‌شود. بیان کامل نقص در مردان همی‌زیگوت امکان‌پذیر است و بیان نسبی در زنان هتروزیگوت که ۲ نوع جمعیت گلوبول قرمز دارند (یکی طبیعی و دیگری ناقص) دیده می‌شود. کمبود آنزیم G6PD تولید مجدد NADPH را محدود ساخته، و سلول را نسبت به افزایش اکسیداتیو هموگلوبین آماده می‌کند.

www.bird-bahar.com
E-mail: bahar@bird-bahar.com



اصول آزمایش:

این کیت براساس فعالیت کاتالیتیکی آنزیم در تبدیل گلوکز ۶ فسفات به ۶ فسفوجلوکونات که همزمان با احیا شدن $NADP^+$ به NADPH صورت می‌پذیرد طراحی شده است. فعالیت یا غلظت آنزیم G6PD از طریق ازدیاد جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود.



معرف‌ها:

این کیت حاوی یک محلول تامپون، یک محلول لیزکننده و یک سویسترا می‌باشد. معرف‌ها در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد تا تاریخ انقضای مصرف پایدار می‌باشد.

آماده‌سازی معرف‌ها:

جهت تهیه محلول آماده به‌کار کل محلول تامپون را به ویال سویسترا به‌دقت ریخته و آن را به آهستگی تکان دهید تا سویسترا کاملاً حل شود. محلول تهیه شده برای مدت ۲ ماه در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار خواهد ماند.

تهیه نمونه خون:

از مواد ضدانعقاد EDTA، هیپارین و یا ACD می‌توان جهت تهیه خون استفاده کرد. آنزیم G6PD در خون برای مدت ۷ روز در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد پایدار است، اما در نمونه لیز شده پایدار نمی‌باشد.

روش انجام آزمایش:

الف) آماده‌سازی نمونه جهت آزمایش:

یک میلی‌لیتر از محلول لیزکننده را با ۵۰ میکرولیتر خون مخلوط کنید و جهت لیز شدن کامل نمونه را برای مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید.
* تذکر: نمونه لیز شده حداکثر باید در مدت ۱۰ دقیقه تعیین فعالیت شود. همچنین G6PD در چنین شرایطی فاقد پایداری لازم جهت نگهداری درازمدت در یخچال یا فریزر می‌باشد.

ب) تعیین فعالیت آنزیم:

طول موج: ۳۴۰ nm درجه حرارت: ۳۷ درجه سانتیگراد
قطر کسوت: ۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری: فوتومتر با آب مقطر روی صفر تنظیم شود.

۱. ۵۰ میکرولیتر از نمونه لیز شده را با ۱ میلی‌لیتر از محلول آماده به‌کار مخلوط کرده و برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دهید.

۲. بعد از ۵ دقیقه جذب نمونه‌ها را در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت نمایید (A1) سپس بلافاصله برای مدت ۵ دقیقه دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و جذب نمونه‌ها را مجدداً قرائت نمایید (A2). در این صورت افزایش جذب را در مدت ۵ دقیقه به‌دست خواهید آورد که با فعالیت (غلظت) G6PD رابطه مستقیم خواهد داشت. ($\Delta A = A2 - A1$)

روش محاسبه:

$$\text{فعالیت G6PD (U/gHb)} = \Delta A \times \frac{1350 *}{\text{Hb (g/dl)}}$$

* این فاکتور به‌عنوان نمونه بوده و در هر دوره ساخت بر روی برچسب ویال ذکر خواهد شد.

* توجه: در صورت استفاده از دستگاه اتوآنالایزر، جهت محاسبه فعالیت آنزیم از فرمول زیر استفاده شود:

$$\text{فعالیت G6PD (U/gHb)} = \frac{(\text{خوانش دستگاه})}{(g/dl) \times 10} \times \text{غلظت هموگلوبین}$$

حد سنجش:

با این روش می‌توان فعالیت آنزیم G6PD را تا 30U/gHb اندازه‌گیری کرد.
* تذکر: توصیه می‌شود که هر آزمایشگاه مقادیر طبیعی G6PD را با محدوده جمعیتی خود تعیین نماید.

