پژوهشی و تولیدی
بهارافشان

اندازه‌گیری کمی فعالیت *G6PD*
روش دستگاهی

مقدمه:

ثابت شده است که کمبود آنزیم G6PD اریتروسیتی در ۲ تا ۳ درصد از جمعیت دنیا وجود دارد و مسئول ایجاد تقریباً $\frac{1}{3}$ موارد آنمی‌همولیتیک 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 ضدمالاریا نظیر آمینوکینونین 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 براساس کمبود آنزیم در لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و آنمی شدید و حساسیت به باقلا و داروهای مختلف مشخص می‌شود به‌طوری‌که 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 گلبول 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.

G6PD Quantitative

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

فقط برای مصرف در آزمایشگاه	IVD	*in-vitro* diagnostic use only
شماره سفارش فرآورده	REF	Product Code
شماره ساخت فرآورده	LOT	Lot Number
تاریخ پایداری		Use by/ Expiry date
درجه حرارت نگهداری فرآورده		Store at
برای روش استفاده فرآورده با سازنده تماس بگیرید		Consult instructions for use

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

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵

Liqui - Stable

اصول آزمایش:

این کیت براساس فعالیت کاتالیتیکی آنزیم در تبدیل گلوکز ۶ فسفات به ۶ فسفوگلوکونات 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.

$$NADPH + \text{۶ فسفوگلوکونات} \xrightarrow{G6PD} NADP^+ + \text{گلوکز ۶ فسفات}$$

معرف‌ها:

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

آماده‌سازی معرف‌ها:

جهت تهیه محلول آماده به‌کار کلّ محلول تامپون را به ویال سوبسترا به‌دقت ریخته و آن را به آهستگی تکان دهید تا سوبسترا 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، هپارین 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.**

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

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵

ب) تعیین فعالیت آنزیم:

طول موج: ۳۴۰nm **درجه حرارت:** ۳۷ درجه سانتیگراد

قطر کووت: ۱ سانتی‌متر **اندازه‌گیری:** فتومتر با آب مقطر روی صفر تنظیم شود.

روش محاسبه:

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

$$\text{فعالیت G6PD (U/gHb)} = \frac{\text{(خوانش دستگاه)}}{\text{۱۰ × غلظت هموگلوبین (g/dl)}}$$

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.**

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

G6PD Quantitative Kit