

G6PDH

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße			
1 7900 99 10 026	R1	1 x 20 mL	R2	4 x 5 mL
	R3	1 x 40 mL		
1 7900 99 10 040	2 x 0,5 mL TruCal G6PDH Kalibratorset mit 2 unterschiedlichen Konzentrationen			

Anwendungszweck

Diagnostisches Reagenz zur quantitativen in vitro Bestimmung von Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (G6PDH) im Vollblut auf photometrischen Systemen.

Zusammenfassung

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) ist ein zytosolisches Enzym, das die Umwandlung von Glucose-6-phosphat (G-6-P) in 6-Phosphogluconat im ersten Schritt des Pentosephosphatweges katalysiert. Der Pentosephosphatweg ist die Hauptquelle für NADPH, welches für anabole Prozesse erforderlich ist. NADPH wird als Wasserstoffdonator für zahlreiche reduktive Prozesse sowie für die Stabilität der Katalase und die Erhaltung und Regeneration der reduzierten Form des Glutathions benötigt. Sowohl Katalase als auch Glutathion sind entscheidend für die Zellentgiftung und den Schutz der Zellen vor oxidativem Stress. Da es den roten Blutkörperchen an einer anderen Quelle für NADPH mangelt sind sie ausschließlich auf G6PDH, das primäre Enzym des Pentosephosphatpfades, angewiesen. Der Mangel an Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) ist eine der häufigsten genetischen Enzymopathien des Menschen. Erhöhter oxidativer Stress, Infektionen, die Einnahme bestimmter Medikamente oder der Konsum von Favabohnen kann bei Personen mit G6PDH-Mangel zu einer hämolytischen Anämie führen. [1]

Methode

Enzymatischer (photometrischer) UV Test

Prinzip

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) katalysiert den ersten Schritt im Pentosephosphat-Shunt, oxidiert Glucose-6-Phosphat (G-6-P) zu 6-Phosphogluconat (6-PG) und reduziert NADP zu NADPH.

Die Erhöhung der NADPH Absorption ist proportional zur G6PDH Aktivität in der Probe.

Das Reagenz enthält 6-PGDH (6-Phosphogluconat-Dehydrogenase)-Inhibitoren, die die Produktion eines zweiten Moläquivalents von NADPH durch Erythrozyten 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase verhindern.

Reagenzien

Bestandteile und Konzentrationen

R1: Good's Puffer mod.	pH 7,65	> 20 mmol/L
R2: NADP		> 0,19 mmol/L
R3: G-6-P	pH 7,65	> 0,1 g/L

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn Kontamination vermieden wird. Reagenzien nicht einfrieren.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Reagenz 2: Gefahr. Enthält Natriumazid. H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H311 Giftig bei Hautkontakt. H411 Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P264 Nach Gebrauch Hände und Gesicht gründlich waschen. P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz tragen. P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P361+P364 Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P391 Verschüttete Mengen aufnehmen.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen. [2]

- Retikulozyten haben einen höheren G6PDH-Spiegel als reife Erythrozyten; es wird nicht empfohlen, den Test nach einer schweren hämolytischen Krise durchzuführen, da G6PDH falsch erhöht sein kann.
- Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien beachten. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung.

Entsorgung

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Reagenzvorbereitung

Ein Fläschchen R2 mit 5 mL R1 auflösen, vorsichtig mischen, Schaumbildung vermeiden.

Haltbarkeit:
5 Tage bei 2 – 8 °C

R3 ist gebrauchsfertig.

Reagenz vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen. Sofort nach dem Gebrauch schließen.

Benötigte Materialien

Übliche Laborausrüstung

Probenmaterial

Vollblut (EDTA, Heparin oder ACD [Acid-Citrat-Dextrose])

Probenahme nach CLSI (NCCLS) [3]

Probenvorbereitung

Hierzu wird DiaSys G6PDH Hämolysierlösung von DiaSys (Bestell-Nr. 1 7900 99 10 113) benötigt:

Hämolysierlösung	9 Teile
Probe/Kalibrator/Kontrolle	1 Teil

Vorsichtig mischen, Schaumbildung vermeiden und sofort testen.

Achtung

Die G6PDH-Aktivität wird in Units pro Gramm Hämoglobin [U/g Hb] angegeben, daher muss die Hämoglobinkonzentration vor der Durchführung des G6PDH-Assays bestimmt werden.

Stabilität

Erythrozyten G6PDH ist im Vollblut 1 Woche lang bei 2 – 8°C stabil, aber im Erythrozytenhämolysat instabil. 20/30 Minuten nach der Verdünnung kann ein Niederschlag auftreten (siehe Probenvorbereitung mit G6PDH Hämolysierlösung), wahrscheinlich aufgrund der biologischen Variabilität der Patientenprobe. Einfrieren des Probenmaterials wird nicht empfohlen. [4,5]

Testschema

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Wellenlänge	340 nm (334 – 365 nm)
Schichtdicke	1 cm
Temperatur	37 °C
Messung	Gegen Luft oder destilliertes Wasser

	Kalibrator		Probe
	Level 1	Level 2	
Gebrauchsreagenz	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Kalibrator	10 µL	10 µL	-
Probe	-	-	10 µL
Vorsichtig mischen und 10 Min. bei 37 °C inkubieren, dann zufügen:			
R3	2000 µL	2000 µL	2000 µL
Vorsichtig mischen, Extinktion (E1) nach exakt 2 Min. ablesen. Extinktion (E2) wieder nach 5 Minuten ablesen.			

Berechnung

Manuelle Berechnung der G6PDH Aktivität (U/L bei 37 °C)

ΔE Kalibrator Level 1 = E2 Kalibrator Level 1 – E1 Kalibrator Level 1
 ΔE Kalibrator Level 2 = E2 Kalibrator Level 2 – E1 Kalibrator Level 2
 ΔE Probe = E2 Probe – E1 Probe

$\Delta E/\text{minute}$ ($\Delta E/\text{min}$): $\Delta E/\text{min} = (E2 - E1) / 5$ berechnen

G6PDH (U/L, 37 °C) =

$\Delta E/\text{Min} \times (\text{Gesamt volumen}/\text{Probenvolumen}) \times (1/\epsilon \text{ d}) \times 1000$

Gesamt volumen = $(1 + 0,01 + 2) = 3,01 \text{ mL}$

Probenvolumen = $0,01 \text{ mL}$

$\epsilon = 6,3 = \text{Millimolare Extinktion von NADPH bei } 340 \text{ nm}$

$d = 1 \text{ cm} = \text{Schichtdicke}$

1000 = Faktor, um Aktivität in Liter umzurechnen

G6PDH (U/L, 37 °C)

$= \Delta E/\text{Min} \times (3,01/0,01) \times (1/6,3 \times 1) \times 1000$

$= \Delta E/\text{Min} \times (301 \times 1000) / 6,3$

$= \Delta E/\text{Min} \times (301000) / 6,3$

$= \Delta E/\text{Min} \times 47778$

Manuelle Berechnung der G6PDH Aktivität

(U/g Hämoglobin bei 37 °C)

Unter Berücksichtigung des Gesamthämoglobin Wertes (Total Hb) in [g/dL] wird die nachfolgende Formel angewendet:

$$\text{G6PDH [U/g Hb]} = \frac{\text{G6PDH [U/L, 37 °C]}}{\text{Gesamt Hb [g/dL]} \times 10}$$

Kalibratoren und Kontrollen

DiaSys TruCal G6PDH wird zur Kalibrierung empfohlen. TruCal G6PDH Kalibratorwerte sind rückführbar auf einen handelsüblichen Test. DiaSys TruLab G6PDH für die interne Qualitätskontrolle messen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruLab G6PDH 3 Level	1 7900 99 10 045	3 x 0,5 mL

Leistungsmerkmale

Datenerhebung am MINDRAY BS300

Die unten genannten exemplarischen Daten können bei unterschiedlichen Messbedingungen leicht abweichen.

Messbereich bis 3200 U/L (linear). Wird dieser Bereich überschritten, halbes Probenvolumen verwenden und das Ergebnis mit 2 multiplizieren.	
Nachweisgrenze*	29 U/L

* niedrigste messbare Konzentration, die von Null unterschieden werden kann; Mittelwert + 3 SD (n = 20) einer analytischen Probe.

Störende Substanz	Interferenzen < 10 % bis
Kupfer	Starker Inhibitor
Sulfat	Starker Inhibitor
Ascorbinsäure	50 mg/dL
Bilirubin (total)	40 mg/dL
Lipämie (Triglyceride) (Intralipid®)	4000 mg/dL
Weitere Informationen zu Interferenzen finden Sie bei Young DS. [6]	

Präzision		
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2
Mittelwert [U/L]	191	1374
VK [%]	1,4	0,7
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2
Mittelwert [U/L]	192	1373
VK [%]	1,7	0,9

Methodenvergleich (n=21)	
Test x	Mitbewerber G6PDH
Test y	DiaSys G6PDH
Steigung	0,988
Achsenabschnitt	-13 U/L
Korrelationskoeffizient	r = 0,991

Umrechnungsfaktor

G6PDH [U/L] x 0,0167 = G6PDH [µkat/L]

Referenzbereiche [7]

Erwachsene: 7,9 – 16,3 U/g Hb

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

Literatur

- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics 4th ed. Elsevier Saunders 2006. p. 626-27, 630-31.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240–1243.
- NCCLS. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline—Third Edition. NCCLS document H18-A3 (ISBN 1-56238-555-0). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.
- 2004.Beutler E. et al., Brit. J. Haem. 43, 469 (1979)
- Castro SM, Weber R, Dadalt V, Santos VF, Reclos GJ, Pass KA, Giugliani R. Evaluation of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Stability in Blood Samples under different Collection and Storage Conditions. Clinical Chemistry 2005 51(6): p. 1080.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics 4th ed. Elsevier Saunders 2006. p. 2271.
- Lowe M.L. et al., Clin. Chem. 18, 440 (1972)
- Pinto P.V.C. et al., J. Clin Invest. 45, 823 (1966)



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
 Alte Straße 9 65558 Holzheim
 Deutschland
www.diasys-diagnostics.com