

# G6P-DH

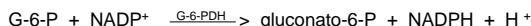
Determinazione Cinetica dell'enzima  
Glucosio 6-Fosfato Deidrogenasi  
nel Siero, Plasma e Eritrociti

4 x 25 ml

REF CY06-100

## PRINCIPIO

L'attività dell'enzima glucosio-6-fosfato deidrogenasi (E.C. 1.1.1.49) viene determinata tramite la misura della velocità dell'incremento di assorbanza a 340 nm dovuto alla riduzione del NADP<sup>+</sup>, secondo la seguente reazione:



## REAGENTI

Composizione del kit:

### REAGENT 1

Tampone trietanolamina pH 7.6  
EDTA, sodio azide 15 mmol/L

### REAGENT 2 (liofilo)

NADP<sup>+</sup>

### REAGENT 3 (liofilo)

Glucosio-6-P

### \*REAGENT 4

Digitonina

STABILITÀ: a 2-8°C i reagenti si conservano inalterati fino alla data riportata sulla confezione

REF CY06-100  
CY06-100R1

Quantità  
4 x 25 ml

CY06-100R2

1 flacone

CY06-100R3

1 flacone

CY06-100R4

1 x 20 ml

## PREPARAZIONE DEI REAGENTI DI LAVORO

### REAGENTE 2

Sciogliere il contenuto del flacone di Reagent 2 con 3.0 ml esatti di acqua distillata. Agitare delicatamente fino a completa solubilizzazione. STABILITÀ: 4 settimane a 2-8°C.

### REAGENTE 3

Sciogliere il contenuto del flacone di Reagent 3 con 1.5 ml esatti di acqua distillata. Agitare delicatamente fino a completa solubilizzazione. STABILITÀ: 4 settimane a 2-8°C.

## CAMPIONE

Siero o plasma: impiegare campioni freschi ed assolutamente senza emolisi. Eritrociti (emolisato): seguire il Procedimento 2 per la preparazione dell'emolisato.

## PROCEDIMENTO MANUALE

Lunghezza d'onda: 340 nm (o Hg 334 e 365 nm)  
Cammino ottico: 1 cm  
Lettura: contro aria  
Temperatura: 25, 30, 37°C (siero o plasma)  
25°C (eritrociti)  
Tempo di reazione: 3 minuti

## 1. MISURA DELLA G6P-DH IN SIERO E PLASMA

Portare i reagenti alla temperatura di lavoro prima di eseguire l'analisi.

Pipettare in cuvetta o in provetta:

	25°C – 30°C	37°C
Reagent 1	1.00 ml	1.00 ml
Reagente 2	50 µl	50 µl
Siero/plasma	500 µl	250 µl

Mescolare, incubare per 10 minuti alla temperatura di lavoro. Aggiungere:

Reagente 3	25 µl	25 µl
------------	-------	-------

Mescolare. Leggere l'assorbanza iniziale e contemporaneamente far partire il cronometro. Ripetere la misura esattamente dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

## CALCOLO

Per calcolare l'attività della G6P-DH (mU/ml) nel siero o nel plasma utilizzare le seguenti formule:

	340 nm	Hg 365 nm	Hg 334 nm
25°C/30°C	500 x $\Delta A/\text{min}$	900 x $\Delta A/\text{min}$	510 x $\Delta A/\text{min}$
37°C	841 x $\Delta A/\text{min}$	1514 x $\Delta A/\text{min}$	858 x $\Delta A/\text{min}$

## 2. MISURA DELLA G6P-DH NEGLI ERITROCITI

Determinare il numero di eritrociti per ml di sangue secondo la normale tecnica.

## PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Lavare per tre volte 0.2 ml di sangue con 2 ml di soluzione fisiologica. Dopo ogni lavaggio centrifugare per 10 minuti a circa 3000 giri/min. Risospingere gli eritrociti lavati e centrifugati in 0.5 ml di Reagent 4, incubare per 15 min a circa 4°C, quindi ricentrifugare. Per la determinazione dell'attività impiegare il supernatante. Eseguire la determinazione entro 2 ore dalla preparazione degli emolisati.

Portare i reagenti alla temperatura di lavoro prima di eseguire l'analisi.

Pipettare in cuvetta o in provetta:

Reagent 1	1.00 ml
Reagente 2	30 µl
Emolisato	15 µl

Mescolare, incubare per 5 minuti a 25°C. Aggiungere:

Reagente 3	15 µl
------------	-------

Mescolare. Leggere l'assorbanza iniziale e contemporaneamente far partire il cronometro. Ripetere la misura esattamente dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

## CALCOLO

Per calcolare l'attività della G6P-DH negli eritrociti utilizzare le seguenti formule:

	340 nm	Hg 365 nm	Hg 334 nm
mU (eritrociti in 1 ml di sangue*)	33650 x $\Delta A/\text{min}$	60571 x $\Delta A/\text{min}$	34304 x $\Delta A/\text{min}$

\* L'attività della G6P-DH viene espressa come mU/10<sup>9</sup> eritrociti o come mU/g di emoglobina.

Per calcolare l'attività della G6P-DH in termini di mU/10<sup>9</sup> eritrociti, come è necessario per il confronto con il valore normale, dividere l'attività calcolata (mU negli eritrociti presenti in 1 ml di sangue) per il numero di eritrociti misurati per ml di sangue con la conta eritrocitaria.

Ad esempio, se ottengo 695 mU per gli eritrociti presenti in 1 ml di sangue, e il risultato della conta eritrocitaria è di 5.3 x 10<sup>9</sup> eritrociti/ml di sangue, l'attività della G6P-DH risulterà di 695 / 5.3 = 131 mU/10<sup>9</sup> eritrociti.

Per calcolare l'attività della G6P-DH in termini di mU/g emoglobina, utilizzare la seguente formula:

$$G6P-DH \text{ (mU/g Hb)} = \frac{\text{mU eritrociti per ml} \times 100}{\text{Hb (g/dl)}}$$

dove:

100 = fattore di conversione da ml a dl

Hb (g/dl) = concentrazione di emoglobina determinata per ciascun campione

Ad esempio, se ottengo 695 mU per gli eritrociti presenti in 1 ml di sangue, e la concentrazione di emoglobina misurata è di 15.0 g/dl, l'attività della G6P-DH risulterà di (695 x 100) / 15.0 = 4633 mU/g Hb.

## VALORI DI RIFERIMENTO

Nel siero non è praticamente dimostrabile un'attività in condizioni normali (0 – 0.18 mU/ml).

Negli eritrociti: 118 – 144 mU/10<sup>9</sup> eritrociti.

E' consigliabile che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento.

## PRESTAZIONI DEL METODO

Linearità: fino a 50 mU/ml nel siero (a 37°C) e 1830 mU negli eritrociti per 1 ml di sangue (25°C).

Per valori superiori diluire 1 volume di campione con 9 volumi di soluzione fisiologica, ripetere la determinazione e moltiplicare il risultato per 10.

Precisione nella serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (mU/10 <sup>9</sup> eritrociti)	130	560
DS	1.10	8.82
CV %	0.85	1.57

Precisione tra le serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (mU/10 <sup>9</sup> eritrociti)	108	502
DS	1.98	15.5
CV %	1.83	3.09

Correlazione:

il kit G6P-DH FAR presenta un coefficiente di correlazione pari a 0.98 rispetto ad un altro kit attualmente in commercio.

## OSSERVAZIONI

- (\*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le informazioni contenute nelle Schede di Sicurezza.
- Non pipettare con la bocca. Applicare le normali precauzioni richieste per la manipolazione di reagenti da laboratorio
- Sono disponibili le applicazioni per i più comuni analizzatori automatici.

## SMALTIMENTO

Il prodotto deve essere utilizzato all'interno di analisi professionali. Il prodotto va smaltito in conformità alla regolamentazione nazionale/internazionale.

## PRECAUZIONI



REAGENTE 4 ATTENZIONE: **H302** Nocivo se ingerito.

## BIBLIOGRAFIA

- A. Kornberg *et al.*, Methods in Enzymology I, Academic Press, New York, p. 323 (1955)

## PRODUTTORE

FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com> e-mail: [order@farddiag.com](mailto:order@farddiag.com)

## LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso

Edizione 01 - Mar 2022 RR

# G6P-DH