

Proline^b G6PDH

Informasi Kemasan

No. Katalog	Isi per Kit
1 7900 99 10 026	R1 1 x 20 mL
	R2 4 x 5 mL
	R3 1 x 40 mL

Tujuan Penggunaan

Reagen diagnostik untuk pemeriksaan in vitro secara kuantitatif terhadap G6PDH pada darah lengkap dalam sistem fotometrik.

Ringkasan

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) adalah enzim sitosolik yang mengkatalisis konversi *glucose-6-phosphate* (G-6-P) menjadi *6-phosphogluconate* pada tahap pertama dalam jalur pentosa fosfat. Jalur pentosa fosfat adalah sumber utama NADPH yang dibutuhkan dalam proses anabolik. NADPH dibutuhkan sebagai donor hidrogen untuk berbagai proses reduksi serta untuk stabilitas katalase dan pemeliharaan serta regenerasi bentuk reduksi glutathion. Baik katalase maupun glutathion sangat penting untuk detoksifikasi sel dan perlindungan sel dari tekanan oksidatif. Karena sel darah merah tidak memiliki sumber NADPH lain dan hanya bergantung pada G6PDH, enzim utama dari jalur pentosa fosfat.

Kekurangan *Glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PDH) adalah salah satu enzimopati genetik pada manusia yang paling umum. Orang dengan defisiensi G6PDH beresiko anemia hemolitik dalam keadaan tekanan oksidatif, infeksi, dan setelah mengonsumsi obat-obatan tertentu atau kacang fava. [1]

Metode

Tes fotometri kinetik, metode optimal menurut rekomendasi dari *German Society of Clinical Chemistry* (DGKC).

Prinsip

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) mengkatalisis tahap pertama dalam jalur pentosa fosfat, oksidasi *glucose-6-phosphate* (G-6-P) menjadi *6-phosphogluconate* (6-PG) dan reduksi NADP menjadi NADPH.

Peningkatan absorbansi NADPH sebanding dengan konsentrasi G6PDH dalam sampel.

Reagen mengandung inhibitor 6-PGDH (*6-phosphogluconat-dehydrogenase*) yang mencegah produksi molar kedua yang setara dengan NADPH oleh eritrosit *6-phosphogluconate dehydrogenase*.

Reagen

Komponen dan Konsentrasi

R1:	<i>Good's buffer modified</i>	pH 7,65	> 20 mmol/L
R2:	<i>NADP</i>		> 0,19 mmol/L
R3:	<i>G-6-P</i>	pH 7,65	> 0,1 g/L

Instruksi Penyimpanan dan Stabilitas Reagen

Reagen stabil sampai dengan tanggal kedaluarsa yang tertera pada kemasan, jika disimpan pada suhu 2 - 8 °C, dihindarkan dari kontaminasi. Jangan membekukan reagen!

Peringatan dan Tindakan Pencegahan

1. Pada kasus yang sangat jarang, sampel pasien penderita *gammopathy* dapat memberikan hasil palsu [2].
2. Retikulosit memiliki kadar G6PDH yang lebih tinggi daripada sel darah merah dewasa; tidak dianjurkan untuk menjalankan pengujian setelah krisis hemolitik yang parah, karena G6PDH mungkin tampak naik secara salah.
3. Lihat lembar data keselamatan untuk mengambil tindakan yang diperlukan dalam penggunaan di laboratorium. Untuk tujuan diagnostik, hasil harus selalu dinilai dengan riwayat medis pasien, pemeriksaan klinis dan temuan-temuan lain.
4. Hanya untuk penggunaan profesional!

Pengolahan Limbah

Silahkan merujuk pada persyaratan lokal.

Persiapan Reagen

Larutkan R2 dengan 5 mL reagen R1 (*working reagent*), campur perlahan, dan hindari berbusa.

Stabilitas: 5 hari pada 2 – 8 °C

R3 siap digunakan.

Biarkan reagen mencapai suhu kamar sebelum digunakan.

Tutup segera setelah penanganan.

Bahan yang dibutuhkan tetapi tidak disediakan

Peralatan laboratorium umum

Spesimen

Darah lengkap yang dikumpulkan dengan EDTA, heparin atau ACD (*acid-citrate-dextrose*).

Pengambilan sampel sesuai CLSI (NCCLS) [3]

Persiapan Sampel

Untuk persiapan sampel, dibutuhkan *G6PDH Hemolyzing Solution*

No. Katalog 1 7900 99 10 113.

Persiapan sampel:

<i>Hemolyzing Solution</i>	9 bagian
Sampel/Kalibrator/Kontrol	1 bagian

Campur perlahan, hindari pembentukan busa dan uji segera.

Perhatian

Aktivitas G6PDH dilaporkan dalam satuan per gram hemoglobin [U/g Hb] oleh karena itu konsentrasi hemoglobin harus ditentukan sebelum melakukan uji G6PDH.

Stabilitas

Sel darah merah G6PDH stabil dalam darah utuh selama 1 minggu pada 2 – 8 °C, tetapi tidak stabil pada hemolisis sel darah merah. Endapan dapat muncul 20/30 menit setelah pengenceran (lihat persiapan sampel dengan *G6PDH Hemolyzing Solution*), mungkin karena variabilitas biologis sampel pasien. Pembekuan darah tidak dianjurkan. [4,5]

Langkah kerja

Aplikasi untuk analyzer otomatis tersedia berdasarkan permintaan.

Prosedur manual mungkin sedikit berbeda dari aplikasi untuk sistem otomatis. Prosedur ini diuji manual spektrofotometer dan pada sistem Hitachi, Cobas and Mindray.

Panjang gelombang	340 nm (334 – 365 nm)
Panjang jalur	1 cm
Suhu	37°C
Pengukuran	Terhadap udara atau akuades

	Kalibrator		Sampel
	Level 1	Level 2	
Working reagent	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Kalibrator	10 µL	10 µL	-
Sampel	-	-	10 µL
Campur perlahan dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, lalu tambahkan:			
R3	2000 µL	2000 µL	2000 µL
Campur perlahan, baca absorbansi (A1) setelah tepat 2 menit, baca kembali absorbansi (A2) setelah 5 menit.			

Perhitungan

Perhitungan manual aktivitas G6PDH (U/L – 37°C)

ΔA Kalibrator level 1 = A2 kalibrator level 1 – A1 kalibrator level 1
 ΔA Kalibrator level 2 = A2 kalibrator level 2 – A1 kalibrator level 2
 ΔA Sampel = A2 sampel – A1 sampel

Hitung ΔA /menit (ΔA /min): ΔA /min = (A2 – A1) / 5 G6PDH (U/L, 37°C) =

ΔA /min x (Volume total/Volume sampel) x (1/ε d) x 1000 Volume total = (1 + 0,01 + 2) = 3,01 mL
Volume sampel = 0,01 mL
ε = 6,3 = millimolar absorptivitas NADPH pada 340 nm
d = 1 cm = panjang jalur optik
1000 = Faktor untuk konversi aktivitas ke Liter

G6PDH (U/L, 37°C)

= ΔA /min x (3,01/0,01) x (1/6,3 x 1) x 1000
= ΔA /min x (301 x 1000) / 6,3
= ΔA /min x (301000) / 6,3
= ΔA /min x 47778

Perhitungan manual aktivitas G6PDH (U/g Hemoglobin pada 37°C)

Mempertimbangkan hemoglobin total (Total Hb) pada setiap sampel [g/dL], gunakan formula berikut:

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

Kalibrator dan Kontrol

Untuk kalibrasi direkomendasikan kalibrator TruCal G6PDH. Nilai kalibrator TruCal G6PDH terdapat pada uji komersial yang tersedia. Gunakan TruLab G6PDH untuk kontrol kualitas internal. Setiap laboratorium harus menetapkan tindakan korektif jika terjadi penyimpangan dalam pemulihan kontrol.

	No. Katalog	Isi per Kit		
TruLab G6PDH (3 level)	1 7900 99 10 045	3	x	0,5 mL

Karakteristik Kinerja

Evaluasi data pada MINDRAY BS300

Data yang tertera mungkin sedikit berbeda jika terdapat penyimpangan pada kondisi pengukuran

Rentang pengukuran hingga 3200 U/L Bila hasil melebihi rentang, gunakan setengah volume sampel dan kalikan hasilnya dengan 2.	
Batas deteksi*	29 U/L

* konsentrasi terendah terukur yang dapat dibedakan dari nol; mean + 3 SD (n = 20) dari spesimen bebas analit.

Substansi interferen	Interferensi hingga < 10%
Tembaga	Inhibitor kuat
Sulfat	Inhibitor kuat
Asam askorbat	50 mg/dL
Bilirubin (total)	40 mg/dL
Lipemia (Intralipid®) (trigliserida)	4000 mg/dL
Untuk informasi selengkapnya dapat dilihat pada pustaka Young DS. [6]	

Presisi		
Within run (n=20)	Sampel 1	Sampel 2
Mean [U/L]	191	1374
CV [%]	1,4	0,7
Between day (n=20)	Sampel 1	Sampel 2
Mean [U/L]	192	1373
CV [%]	1,7	0,9

Perbandingan metode (n=21)	
Test x	G6PDH pembanding
Test y	G6PDH
Slope	0,988
Intercept	-13 U/L
Coefficient of correlation	r = 0,991

Faktor Konversi

G6PDH [U/L] x 0,0167 = G6PDH [µkat/L]

Rentang Rujukan [7]

Dewasa: 7,9 – 16,3 Ug/g Hb

Setiap laboratorium harus memeriksa apakah rentang referensi dapat digunakan kepada populasi pasien dan tentukan rentang referensi sendiri, jika diperlukan.

Pustaka

- 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, Reclus 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)



Diproduksi oleh:

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim
Germany

Dikemas ulang dan didistribusikan:

PT Prodia Diagnostic Line
Kawasan Industri Jababeka III
Jl. Tekno 1 Blok C 2 D-E-F
Cikarang, 17530 - Indonesia