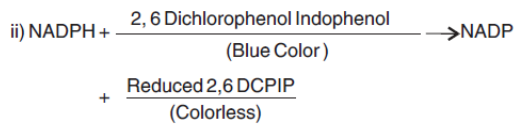


Kit diagnostico per la determinazione *in vitro* dell'attività del Glucosio-6 Fostato Deidrogenasi in globuli rossi emolizzati.

## METODO Qualitativo

### PRINCIPIO

Il Glucosio-6 Fostato Deidrogenasi presente nei globuli rossi emolizzati, agisce sul Glucosio-6 Fostato Deidrogenasi e riduce il NADP a NADPH che, grazie a PMS, riduce il 2,6-Diclorofenolo indofenolo di colore blu in una forma priva di colorazione. La velocità della decolorazione è proporzionale all'attività dell'enzima. La reazione può essere rappresentata come segue:



Rate of Decolorization  $\propto$  Activity of G-6PD

### VANTAGGI

Metodo semplice, specifico e monotest. Non richiede l'utilizzo di strumentazione. Economico.

### CAMPIONI

Sangue intero raccolto in provette E.D.T.A.

### REAGENTI (forniti con il kit)

Reagente 1: Substrato  
Reagente 2: Buffer, pH 8.5  
Reagente 3: Olio minerale

### PREPARAZIONE DELLE SOLUZIONI DI LAVORO

Soluzione 1: prima dell'uso ricostituire ogni fiala di reagente 1 con 0.5 mL di reagente 2.

Reagente 3: pronto all'uso

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

I reagenti 1 e 2 devono essere conservati tra 2°-8° C, il reagente 3 può essere conservato a temperatura ambiente.

La soluzione 1 deve essere preparata prima dell'uso.

### PRECAUZIONI

Tutte le soluzioni devono essere portate a temperatura ambiente (15° - 30° C) prima dell'uso.

Devono essere utilizzati campioni di sangue fresco in quanto la refrigerazione riduce l'attività degli enzimi.

Evitare l'uso di eparina come anticoagulante in quanto interferisce con la reazione.

Non agitare la fiala di reazione dopo l'aggiunta dell'olio minerale in quanto l'introduzione di aria favorisce la ricomparsa della colorazione blu e può portare a risultati erranei.

Evitare l'esposizione del substrato alla luce diretta del sole, in quanto il substrato è fotosensibile.

Non utilizzare il substrato se presenta condensa nel contenitore.

Prima di rimuovere il tappo della fiala del substrato picchiettare gentilmente il fondo della fiala tenendo il flacone verticalmente in caso gocce di substrato siano presenti sul collo della fiala.

### PROCEDURA

**Fase 1.** Preparazione del sangue emolizzato:

Acqua distillata 2.5mL

Sangue fresco 0.05mL

Miscelare bene e far riposare per 5 minuti a temperature ambiente (15 - 30 C).

**Fase 2.**

a. Aggiungere 1 mL di emolizzato (Fase 1) alla cuvetta di Soluzione 1 e miscelare delicatamente.

b. Aggiungere immediatamente 2 mL di Reagente 3.

c. Sigillare la cuvetta con un foglio di alluminio e incubare a bagnomaria o termostato a 37°C per 30-60 minuti.

Osservare per il tempo necessario perché il colore cambi dall'iniziale blu scuro a rosso amaranto. Monitorare fino ad un massimo di sei (6) ore ad intervalli di trenta (30) minuti.



Manufactured by:  
**Span Diagnostics Ltd.**  
Plot No. 336,338,340, Road No.3, G.I.D.C.,  
SACHIN 394 230 (Surat) INDIA.

For Technical Support & Queries Contact  
Customer Service Cell (CSC),  
Span Diagnostics Ltd.  
173-B, New Industrial Estate, Udhna, Surat - 394 210, INDIA.  
Phone No.: +91 261 227 7211 Fax: +91 261 227 9319

0305/ver.1.1



my trusted partner

IN DIAGNOSIS

Email: span@spanddiag.com

Web : www.span.co.in

## RISULTATI (Tempo di Decolorazione o Viraggio)

**Soggetti normali:** il colore vira dal blu al rosso entro 30-60 minuti.

**Soggetti G6PD deficienti** (maschi eterozigoti e femmine omozigote):

- se il colore non vira entro 60 minuti il soggetto va considerato carente (deficiente).
- Se il colore vira dal blu al rosso dopo 140 minuti e fino a 24 ore il soggetto va considerato carente (deficiente).

## PRECAUZIONI

- Se il livello di emoglobina (Hb) è di molto inferiore a 15g/dL, la seguente tabella può essere utilizzata per determinare il volume appropriato di acqua distillata e sangue per preparare l'emolizzato.

Hb (g/dL)	3	6	9	12	15
Volume di acqua distillata mL	2.0	2.0	1.5	2.0	2.5
Volume di sangue	0.2	0.1	0.05	0.05	0.05

- Sangue con un alto numero di reticolociti può generare falsi risultati normali anche se è enzima carente.
- I Reticolociti hanno livelli più alti di G6PDH rispetto ai globuli rossi maturi; non è consigliabile effettuare il saggio dopo una grave crisi emolitica, dal momento che la G6PDH può apparire falsamente elevata.
- Alcuni campioni possono raggiungere il punto di decolorazione o viraggio end point e poi ricolorarsi lentamente tornando al blu a causa di una riossidazione del colorante, in questo caso il paziente va considerato normale. E' quindi fondamentale monitorare la reazione ad intervalli di 30 minuti e fino ad un'ora per identificare un soggetto come normale.
- La variazione di colore va osservata nel liquido al di sotto dello strato di olio.

## SIGNIFICATO CLINICO

Le persone con deficit di G6PDH sono quindi a rischio di anemia emolitica in stati di stress ossidativo. Lo stress ossidativo può derivare da infezioni e da esposizione chimica per farmaci e alcuni alimenti. Le fave, ad esempio, contengono alti livelli di vicina e divicina, convicina e isouramile, ognuno dei quali sono ossidanti.

## PRESENTAZIONE DEL KIT

Il kit contiene reagenti a sufficienza per 10 test

Reagents	Composition	Code No. MB936 Packsize
Reagent 1	Substrate	10x0.5 mL
Reagent 2	Buffer, pH 8.5	6 mL
Reagent 3	Mineral Oil	20 mL

## BIBLIOGRAFIA

- Ells H.A. and Kirkman H. N., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 106 1607 (1961).
- Lubin B.H. and Oski F.A., J. Pediatr. 70, 788 (1967).
- S.K. Sood et.al., The Indian J. of Path. and Micro., 24, 89 (1981).

## ITALY CONTACT:

**Meridian Healthcare srl**

Via G. Guglielmino, 68 - 95030 Tremestieri Etneo - CT

Tel. 095 725 68 69 - Fax: 095 725 44 54

e-mail: [info@meridianhealthcare.it](mailto:info@meridianhealthcare.it)



ISO 9001:2000 WHO cGMP



Manufactured by:  
**Span Diagnostics Ltd.**  
Plot No. 336,338,340,Road No.3, G.I.D.C.,  
SACHIN 394 230 (Surat) INDIA.

For Technical Support & Queries Contact  
Customer Service Cell (CSC),  
Span Diagnostics Ltd.  
173-B, New Industrial Estate, Udhna, Surat - 394 210, INDIA.  
Phone No.: +91 261 227 7211 Fax: +91 261 227 9319

0305/ver.1.1



*my trusted partner*

**IN DIAGNOSIS**

Email: [span@spanddiag.com](mailto:span@spanddiag.com)

Web : [www.span.co.in](http://www.span.co.in)