



BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

G6-PDH Método cinético U. V.

Reactivo para la determinación cuantitativa de la actividad
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa EC 1.1.1.49] en suero, plasma humano, o eritrocitos.

REF 97089 R1 2 x 30 mL R2 1 x 3 mL R3 1 x 20 mL



CODIGO CNQ: XX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50
Fax: (33) 03 23 256 256

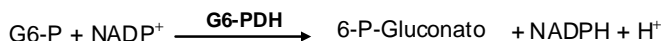
IVD USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1) (2)

La Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6-PDH) es una enzima contenida en los eritrocitos que interviene en la glucólisis. Diferentes variantes de G6-PDH, definidas según su perfil electroforético y cinético, se encuentran con frecuencia y tienen consecuencias clínicas en diferentes grupos étnicos. Una deficiencia en G6-PDH puede conducir a una anemia hemolítica después de una ingestión de 8-aminoquinolína antimalariana, de ácido nalidixico, de nitrofurantoina, fenacetina, de una gran dosis de vitamina C o de ciertas sulfonamidas o sulfonas. La deficiencia puede provocar la enfermedad hemolítica del recién nacido en poblaciones asiáticas y mediterráneas.

PRINCIPIO (4) (5).

El esquema de la reacción (método de Beutler y al.) es el siguiente:



El aumento de la concentración en NADPH medida a 340 nm es proporcional a la actividad G-6-PDH en la muestra.

REACTIVOS

Vial R1 TAMPON COENZIMA

Tampón Tris pH 8,0	100 mmol/L
MgCl ₂	10 mmol/L
EDTA	0,5 mmol/L
NADP ⁺	310 mmol/L

Conservante

Vial R2 SUBSTRATO

Glucosa-6-fosfato	0,6 mmol/L
-------------------	------------

Vial R1: Antes de reconstitución: Xi, R36/37/38

Irritante para los ojos, las vías respiratorias y la piel.

Viales R1 y R2: Antes de reconstitución: T, R28-32-50/53

Muy tóxico en caso de ingestión. Al contacto con un ácido, libera un gas muy tóxico. Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar efectos nefastos a largo plazo para el medio ambiente acuático.

S22-26-281-38: No respirar los polvos, en caso de contacto con los ojos o la piel, enjuagar inmediatamente con agua abundante y consultar con un especialista. En caso de ventilación insuficiente, llevar un aparato respiratorio.

Viales R1 y R2: Después de reconstitución: No hay

Vial R3 SOLUCION HEMOLIZANTE

Digitonina	0,2 g/L
------------	---------

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas). No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- Los reactivos contienen azida sódica (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre o el plomo de las tuberías. Enjuagar con abundante agua.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor. Por medida de seguridad, tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Añadir sin demora 30 mL de agua desmineralizada o destilada al contenido del vial R1 (Tampón Coenzima).

Añadir sin demora 3 mL de agua desmineralizada o destilada al contenido del vial R2 (Substrato).

Agitar suavemente hasta completa disolución antes de utilizar los reactivos (aproximadamente 2 minutos).

La solución hemolizante (vial R3) está lista para el uso.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8°C, protegido de la luz.

- Antes de abrir:
Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Después de abrir:
Los reactivos de trabajo (vial R1 y R2) son estables al menos 1 mes en ausencia de contaminación.
El contenido del vial R3 es estable por lo menos 6 meses en ausencia de contaminación.

No utilizar los reactivos si hay turbidez.

Esta caja puede transportarse por lo menos 1 semana a temperatura ambiente.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (1)

Suero no hemolizado, plasma (heparinizado o EDTA). El oxalato y el fluoruro no deben ser utilizados.

Eritrocitos: Utilizar un hemolizado de sangre total preparado como sigue: (Modo operatorio detallado disponible sobre demanda)

1. Determinar la tasa de hemoglobina (Hb en g/dL).
2. Lavar 3 veces 0,2 mL de sangre homogeneizada con 2 mL de NaCl a 9 g/L. Centrifugar cada lavado y eliminar el sobrenadante (cuidado de no eliminar eritrocitos).
3. Después del último lavado, poner de nuevo los eritrocitos en suspensión en 0,9 mL de solución hemolizante (vial R 3).
4. Poner 15 minutos a 2-8°C y luego centrifugar de nuevo. Utilizar el sobrenadante (hemolizado) en la hora que sigue.

INTERFERENCIAS (2) (3)

Esta determinación refleja igualmente la actividad de la 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (6-PGD) la cual genera una molécula de NADPH por molécula de 6-Fosfogluconato formado.

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sueros o hemolizados de control normales y patológicos

CALIBRACION

La validez de los resultados depende de la exactitud de la calibración del instrumento, de la justa medida del tiempo, del respeto de la relación volumen reactivo / volumen muestra y del control de la temperatura.

- Se recomienda utilizar el factor teórico (§ **CALCULO**) o utilizar un calibrador trazable sobre un método de referencia o un hemolizado de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

CODIGO CNQ: XX

- [REF] 95089 Control Normal G6-PDH
 - [REF] 95289 Control Deficiente G6-PDH
 - Todo suero de control humano o muestra de sangre total titulado para este método.
 - Programa externo de control de calidad.
- Se recomienda controlar en los siguientes casos:
- Al menos un control por rutina.
 - Al menos un control cada 24 horas.
 - Cambio de vial del reactivo.
 - Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un plasma de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, verificar los parámetros del análisis: longitud de onda, temperatura, volumen muestra / volumen reactivo, tiempo de medida y factor de calibración.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

En eritrocitos a 37°C

Unidades convencionales	Unidades internacionales
UI/g de Hb: $12,1 \pm 2,09$	MUI/mol de Hb: $[0,78 \pm 0,13]$
UI/10 ¹² Eritrocitos: $351 \pm 60,6$	nUI/ Eritrocitos: $[0,35 \pm 0,06]$
UI/mL Eritrocitos: $4,11 \pm 0,71$	KUI/L de eritrocitos: $[4,11 \pm 0,71]$

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores usuales.

En suero a 37°C

Valores normales: Actividad G-6-PDH no detectable

PRESTACIONES

Estudios realizados con hemolizados.

Intra-serie N = 18	Tasa baja	Tasa elevada	Inter-serie N = 15	Tasa baja	Tasa elevada
Media	264	537	Media	276	535
U/10 ¹² Eritrocitos			U/10 ¹² Eritrocitos		
S.D.	13,6	23,7	S.D.	16,0	25,5
U/10 ¹² Eritrocitos			U /10 ¹² Eritrocitos		
C.V. %	5,2	4,4	C.V. %	5,8	4,8

Límite de detección: aproximadamente 31 UI/10¹² Eritrocitos.

Comparación con reactivo comercial:

$$y = 1.0271 x + 13.1 \quad r=0.9933$$

LIMITE DE LINEALIDAD

Si $\Delta \text{Abs/min} > 0,060$, diluir la muestra (suero, plasma, hemolizado) con una solución NaCl a 9 g/L y hacer de nuevo la determinación teniendo en cuenta la dilución en el cálculo del resultado. El límite de linealidad depende de la relación del volumen muestra/reactivo.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Distribuir en cubetas de lectura termostataadas a 37°C (30°C, 25°C) :	Prueba en Suero	Prueba en Hemolizado (1)
Reactivo 1	2 mL	3 mL
Suero	1 mL	
Hemolizado		50 µL
Mezclar y incubar 5 minutos a 37°C (30°C, 25°C)		
Reactivo 2	100 µL	100 µL

Mezclar y leer la absorbencia inicial después de 30 segundos a 340 nm y luego cada minuto durante 3 minutos.
Calcular la media de las variaciones de absorbencia por minuto ($\Delta \text{Abs/min}$). Si la actividad es baja, el tiempo de medida puede ser prolongado.

Nota:

1-Preparación del hemolizado: ver § TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA).

CALCULO (2)

Calcular la actividad de la G-6-PDH utilizando las siguientes fórmulas:

Suero: $\text{UI/L} = (\Delta \text{Abs/min}) \times 492$

Eritrocitos:

$\text{UI/L de sangre} = (\Delta \text{Abs/min}) \times 50\,000$

Resultados en unidades por gramo de Hemoglobina

$\text{UI/g de Hb} = \frac{(\Delta \text{Abs/min} \times 5\,000)}{\text{Hb expresada en g/dL}}$

Ejemplo: Si $\Delta \text{Abs/min} = 0,030$ y $\text{Hb} = 14,5 \text{ g/dL}$

$$\text{UI/g de Hb} = \frac{0,030 \times 5000}{14,5} = 10,3$$

Resultados en unidades para 10¹² Eritrocitos (# Resultado en UI/g de Hb x 29)

$\text{UI/10}^{12} \text{ Eritrocitos} = \frac{(\Delta \text{ Abs/min} \times 50\,000)}{\text{Numero de eritrocitos en } 10^{12} / \text{Litro}}$

Ejemplo: si $\Delta \text{Abs/min} = 0,030$ y numero de eritrocitos = $4,2 \cdot 10^{12}/\text{L}$

$$\text{UI/10}^{12} \text{ Eritrocitos} = \frac{0,030 \times 50\,000}{4,2} = 357$$

Resultados en unidades por mL de eritrocitos (#Resultado UI/g Hb x 0,34)

$\text{UI/mL de Eritrocitos} = \frac{(\Delta \text{Abs/min} \times 5\,000)}{\text{Hematocrito (\%)}}$

BIBLIOGRAFIA

- (1) TIETZ N.W. Textbook of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1645-1650.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 458-457.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-294
- (4) BEUTLER et Al., International committee for standardisation in Haematology : « Recommended Methods for Red Cell Enzyme Analysis » British Journal of Haematology, (1977), 35, p.331-340.
- (5) BEUTLER E., Red cell metabolism, : A manual of biochemical methods (3rd Ed.) Orlando, Grune et Stratton (1984), p.68-70



Fabricante



Fecha de caducidad



Uso in vitro



Temperatura de conservación



Referencia del producto



Consultar instrucciones



Numero de lote



Protegido de la luz



Suficiente para



Diluir con