



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 (G-6-PDH) [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



Made In France

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

support@biolabo.fr

Última versión: www.biolabo.fr

I: corresponde a las modificaciones significativas

I USO PREVISTO

Este reactivo está reservado para uso profesional en laboratorio (método manual o automatizada).

Permite cuantificar la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6-PDH) [EC 1.1.1.49] para evaluar su actividad en suero humano, plasma o eritrocitos.

GENERALIDADES (1) (2)

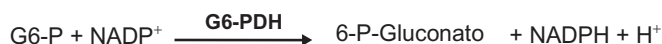
La Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6-PDH) es una enzima contenida en los eritrocitos que interviene en la glucólisis.

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

R1 G6-PDH Tampón-Coenzima
NADP⁺ 310 mmol/L

PELIGRO:

Antes de la reconstitución:

Toxina aguda. 2: H300 - Mortal en caso de ingestión. Toxina aguda. 4: H332 - Nocivo si se inhala. Aquatic Chronic 2: H411 - Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos adversos a largo plazo.

Sustancias que contribuyen a la clasificación azida sódica 2,5- < 10%; EDTA Na2 1,0- < 2,5%

R2 G6-PDH Substrato
Glucosa 6 fosfatasa 0,6 mmol/L

CUIDADO:

Antes de la reconstitución,

Toxina aguda. 4: H302 - Nocivo en caso de ingestión. Aquatic Chronic 3: H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos adversos a largo plazo.

Sustancias que contribuyen a la clasificación azida sódica 1-< 2,5%

Vial R1 y R2:

P280: Usar guantes/ropa de protección/protección respiratoria/protección ocular/calzado de protección. P301+P310: EN CASO DE INGESTIÓN: Llave a un CENTRO DE ENVENENAMIENTO/médico inmediatamente. P330: Enjuague bucal. P501: Eliminar el contenido y/o contenedores de acuerdo con la normativa sobre residuos peligrosos o envases y residuos de envases.

Después de la reconstitución, los reactivos R1 y R2 no están clasificados como peligrosos según el Reglamento CLP n°1272/2008 (CE)

R3 G6-PDH Solución hemolizante
Digitonina 0,2 g/L

Según el Reglamento CLP n° 1272/2008 (CE), el producto no está clasificado como peligroso;

PRECAUCIONES

- Consultar la FDS vigente disponible por petición o en www.biolabo.fr
- Verificar la integridad de los reactivos antes de utilizar.
- Eliminación de los desechos: respetar la legislación vigente.
- Tratar toda muestra o reactivo de origen biológico como potencialmente infeccioso. Respetar la legislación vigente.

I Todo incidente ocurrido en relación con el dispositivo es objeto de una notificación al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el cual el usuario y/o el paciente está establecido.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1: Vierta inmediatamente 30 ml de agua desmineralizada en el vial R1

Reactivo 2: Vierta inmediatamente 3 ml de agua desmineralizada en el vial R2.

Mezclar suavemente hasta que se disuelva.

La solución hemolizante (vial R3) está lista para usar.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenados protegidos de la luz, en el vial original bien tapado a 2-8°C, los reactivos son estables si se usan y almacenan en las condiciones recomendadas:

Antes de abrir:

- Hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

Después de abrir:

- Después de la reconstitución, los reactivos de trabajo (R1 y R2) son estables durante al menos 1 mes en ausencia de contaminación.
- No utilice los reactivos de trabajo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Rechazar toda turbidez del reactivo.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (1)

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

Eritrocitos:

Prepare el hemolizado de sangre total según las indicaciones:

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 4).
4. Poner 15 minutos a 2-8°C y luego centrifugar de nuevo. Utilizar el sobrenadante (hemolizado) en la hora que sigue.

LIMITES (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. Espectrofotómetro (340nm, 37°C)
3. Solución NaCl 9 g/L

CONTROL DE CALIDAD

- **REF** 95089 Control Normal G6-PDH
- **REF** 95289 Control Deficiente G6-PDH
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Por lo menos un control por serie.
- Por lo menos un control por 24 horas.
- Cambio de vial de reactivo.
- Después de operaciones de mantenimiento sobre el analizador.

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

1. Preparar un suero de control fresco y repetir el test.
2. Si el valor obtenido sigue fuera de los límites, utilizar un vial de calibrador fresco.
3. Si el valor obtenido sigue fuera de los límites repetir el test utilizando otro vial de reactivo.

Si el valor obtenido sigue 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 ± 2,09	MUI/mol de Hb: [0,78 ± 0,13]
UI/10 ¹² Eritrocitos: 351 ± 60,6	nUI/ Eritrocitos: [0,35 ± 0,06]
UI/mL Eritrocitos: 4,11 ± 0,71	KUI/L de eritrocitos: [4,11 ± 0,71]

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores usuales.

En suero a 37°C

Valores normales: Actividad G6-PDH no detectable

PRESTACIONES

Sobre Espectrofotómetro, 340nm, 37°C:

Espécimen: Hemolizados

Límite de detección: aproximadamente 25 UI/L de sangre.

Rango de medición: de 35 (LOQ) a 4000 UI/L

Por encima, diluya el hemolizado con una solución de NaCl de 9 g/L y repita el ensayo, teniendo en cuenta la dilución al calcular el resultado.

El límite de linealidad depende de la relación de volumen de muestra/reactivo.

Precisión:

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

Sensibilidad analítica: 0.020 ΔAbs /1000 UI.L-1 de sangre

Comparación con reactivo comercial (método UV cinético):

$$y = 1.0271x + 13.1$$

$$r = 0,9933$$

Interferencias:

Turbidez	No hay interferencia hasta 0.281OD
Ácido ascórbico	No hay interferencia hasta 25 g/L
Bilirrubina total	Interferencia positiva a partir de 90 μmol/L
Glucosa	No hay interferencia hasta 11,1 g/L

Otras sustancias pueden interferir (ver § Límites)

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.

MODO DE EMPLEO

Técnica Manual

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Prepare el hemolizado (ver § Toma y preparación de la muestra)

Distribuir en cubetas de lectura termostataadas a 37°C:	Prueba en Suero	Prueba en Hemolizado
Reactivo 1	2 mL	3 mL
Suero	1 mL	
Hemolizado		50 μL
Mezclar e incubar 5 minutos a 37°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 (ΔAbs/min). Si la actividad es baja, el tiempo de medida puede ser prolongado.		

CALCULO (2)

Suero: UI/L = (ΔAbs/min) x 492

Eritrocitos: UI/L de sangre = (ΔAbs/min) x 50 000

Resultados en unidades por gramo de hemoglobina

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

Ejemplo: Si ΔAbs/min = 0,030 y Hb = 14.5 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 ΔAbs/min = 0,030 y numero de Eritrocitos = 4,2 . 10¹²/L













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

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

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

REFERENCIA

- (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. 457-458.
- (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
- (6)

 Fabricante	 Fecha de caducidad	 Uso in vitro	 Temperatura de conservación	 Agua desmineralizada	 Riesgo biológico
 Referencia del producto	 Consultar instrucciones	 Número de lote	 Protegido de la luz	 Suficiente para	 Diluir con