



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

Liofilizado 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 97099 R1 20 x 3 mL R2 3 x 1 mL R3 1 x 70 mL R4 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

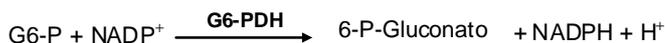
SIGNIFICACION CLINICA (1) (2)

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 nalidíxico, 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	COENZIMA Liofilizado
NADP ⁺	310 mmol/L
Vial R2	SUBSTRATO Liofilizado
Glucosa-6-fosfato	0,6 mmol/L
Vial R3	TAMPON DE RECONSTITUCION
Tampón Tris pH 8,0	100 mmol/L
MgCl ₂	10 mmol/L
EDTA	0,5 mmol/L
Conservador	
Vial R4	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 3 mL de Tampón (Vial R3) al contenido del Vial R1 (Coenzima) y 1 mL de Tampón (Vial R3) al contenido del vial R2 (Substrato).

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

La solución hemolizante (vial R4) 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 reconstitución:
Los reactivos de trabajo (vial R1 y R2) son estables al menos 6 meses en ausencia de contaminación.
No utilizar los reactivos si hay turbidez.

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 4).
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.

Resultados de los test de interferencias realizados en técnica manual o en Cobas Mira:

G6-PDH (UI/L) a 37°C en la muestra	Interferente	Resultados
169 UI/L	Acido ascórbico	No hay interferencias hasta 250mg/L
1756,7 UI/L	Turbidez	No hay interferencias hasta 0,2 %
1846,7 UI/L	Glucosa	No hay interferencias hasta 11 g/L
2003,3 UI/L	Bilirrubina	Interferencia negativa a partir de 75 mg/L

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 ± 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

Estudios realizados con hemolizados (Cobas Mira)

Intra-serie n=20	Tasa baja	Tasa media	Tasa elevada
Media (U/L)	478	925	2280
S.D. (U/L)	13,3	33,2	31,2
C.V. %	2,8	3,6	1,4
Criterios CV%	< 4.5%	< 4.5%	< 3.8%

Inter-serie	Tasa baja (n=15)	Tasa media (n=15)	Tasa elevada (n=30)
Media (U/L)	276	535	918
S.D. (U/L)	16,0	25,5	35,5
C.V. %	5,8	4,8	3,9
Criterios CV%	< 6%	< 6%	< 5%

Límite de detección: aproximadamente 21 UI/L.

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

Comparación con reactivo comercial (método cinético UV):

102 hemolizados situados entre 110 y 1500 UI/L han sido testados con los 2 reactivos en Cobas Mira:

$$y = 0.9992 x - 6.5933 \quad r=0.9874$$

LIMITE DE LINEALIDAD

Más allá de 4000UI/L (0.080abs), 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:	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 (ΔAbs/min). Si la actividad es baja, el tiempo de medida puede ser prolongado.

Nota (1):

- 1-Preparación del hemolizado: ver § **TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA**.
- 2- Prueba en Hemolizado: distribución posible directamente en el vial R1

CALCULO (2)

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

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

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 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 (#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. 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



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