

G6PDH

Información de Pedido

N° de pedido	Tamaño del envase			
1 7900 99 10 026	R1 1 x 20 mL	+	R2	4 x 5 mL
	R3 1 x 40 mL			
1 7900 99 10 040	2 x 0,5 mL		TruCal G6PDH	
	Set calibrador con 2 niveles diferentes			

Uso Previsto

Reactivo diagnóstico para la determinación cuantitativa in vitro de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) en sangre total en equipos fotométricos.

Resumen

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) es una enzima citosólica que cataliza la conversión de la glucosa-6-fosfato (G-6-P) en 6-fosfogluconato en el primer paso de la vía del fosfato pentoso. La vía del fosfato pentoso es la principal fuente de NADPH necesaria para los procesos anabólicos. NADPH es requerido como donante de hidrógeno para numerosos procesos reductores así como para la estabilidad de la catalasa y la preservación y regeneración de la forma reducida de glutatión. Tanto la catalasa como el glutatión son cruciales para la desintoxicación celular y la protección celular contra el estrés oxidativo. Dado que los glóbulos rojos carecen de cualquier otra fuente de NADPH y dependen únicamente de G6PDH, la enzima primaria de la vía del fosfato pentoso.

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) es una de las enzimopatías genéticas humanas más comunes. Las personas con deficiencia de G6PDH están en riesgo de anemia hemolítica en estados de estrés oxidativo, infecciones y después de la ingestión de ciertos fármacos o habas. [1]

Método

Método enzimático UV (fotométrico)

Principio

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) cataliza el primer paso en la derivación del fosfato pentoso, oxidando la glucosa-6-fosfato (G-6-P) a 6-fosfogluconato (6-PG) y reduciendo el NADP a NADPH.

El aumento de la absorbancia de NADPH es proporcional a la concentración de G6PDH en la muestra.

El reactivo contiene inhibidores de 6-PGDH (6-fosfogluconato deshidrogenasa) que evitan la producción de un segundo equivalente molar de NADPH por la 6-fosfogluconato deshidrogenasa de eritrocitos.

Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	Solución amortiguadora de Good modificada	pH 7,65	> 20 mmol/L
R2:	NADP	pH 7,65	> 0,19 mmol/L
R3:	G-6-P		> 0,1 g/L

Almacenamiento y Estabilidad

Los reactivos son estables hasta el fin del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se evita la contaminación. No congelar los reactivos.

Advertencias y Precauciones

- En casos muy raros, especímenes de pacientes sufriendo de gammopatías podrían acabar en valores falsificados. [2]
- Los reticulocitos tienen niveles más altos de G6PDH que los glóbulos rojos maduros; no se recomienda realizar el ensayo después de una crisis hemolítica severa, ya que la G6PDH puede aparecer falsamente elevada.

- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para el diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- Únicamente para el empleo profesional.

Manipulación de Desechos

Remitirse a los requerimientos legales locales.

Preparación

Disuelva un frasco de R2 con 5 mL de reactivo R1 (reactivo de uso), mezclar suavemente y evitar la formación de espuma.

Estabilidad:
5 días de 2 a 8 °C

R3 es listo para usar.

Dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente antes de su uso. Cerrar inmediatamente después de la manipulación.

Materiales Requeridos

Equipo general de laboratorio

Espécimen

Sangre total recogida con EDTA, heparina o ACD (ácido-citrato-dextrosa).

Recogida de muestras de acuerdo con la CLSI (NCCLS) [3]

Preparación del espécimen

Para preparar el espécimen, utilizar G6PDH Solución hemolizante de DiaSys (N° de pedido 1 7900 99 10 113) como sigue:

Solución hemolizante: 9 partes

Espécimen/Calibrador/Control 1 parte

Mezclar suavemente, evitar la formación de espuma y ensayar inmediatamente.

Atención

La actividad de la G6PDH se reporta en unidades por gramo de hemoglobina [U/g Hb], por lo tanto, la concentración de la hemoglobina debe determinarse antes de realizar el ensayo G6PDH. [5]

Estabilidad

El G6PDH de los glóbulos rojos es estable en la sangre total durante 1 semana a 2-8°C, pero es inestable en el hemolisado de glóbulos rojos. Un precipitado puede aparecer 20/30 minutos después de la dilución (ver preparación de la muestra con solución hemolítica de G6PDH), probablemente debido a la variabilidad biológica de la muestra del paciente.

No se recomienda congelar la sangre. [4,5]

Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles, a petición, aplicaciones para sistemas automatizados.

Longitud de onda	340 nm (334 – 365 nm)
Trayectoria óptica	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto al aire o agua destilada

	Calibrador		Muestra
	Nivel 1	Nivel 2	
Reactivo de uso	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Calibrador	10 µL	10 µL	-
Muestra	-	-	10 µL
Mezclar suavemente y incubar por 10 min. a 37 °C, pues añadir:			
R3	2000 µL	2000 µL	2000 µL
Mezclar suavemente. Leer la absorbancia (A1) exactamente al cabo de 2 minutos. Repetir la segunda lectura (A2) al cabo de 5 minutos.			

Cálculo

Cálculo manual de la actividad de la G6PDH (U/L – 37 °C)

ΔA Calibrador nivel1 = A2 Calibrador Nivel 1 – A1 calibrador niv. 1

ΔA Calibrador nivel 2 = A2 calibrador nivel 2 – A1 calibrador niv. 2

ΔA Muestra = A2 muestra – A1 muestra

Calcular ΔA /minute (ΔA /minute): ΔA /min = (A2 – A1) / 5

G6PDH (U/L, 37 °C) =

ΔA /min x (Volumen total/Volumen muestra) x (1/ε d) x 1000

Volumen total = (1 + 0,01 + 2) = 3,01 mL

Volumen de la muestra = 0,01 mL

ε = 6,3 = absorción milimolar de NADPH a 340 nm

d = 1 cm = longitud del trayecto

1000 = Factor para convertir la actividad en litros

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

Cálculo manual de la actividad de la G6PDH (U/g hemoglobina – 37 °C)

Considerando el valor de la hemoglobina total (Hb total) de cada muestra [g/dL], aplicar la siguiente fórmula:

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

Calibradores y Controles

Se recomienda TruCal G6PDH de DiaSys para la calibración. Los valores del calibrador TruCal G6PDH se han obtenidos a partir de un test comercialmente disponible. Utilizar TruLab G6PDH de DiaSys para el control de calidad interno. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruLab G6PDH (3 niveles)	1 7900 99 10 045	3 x 0,5 mL

Características

Datos evaluados en MINDRAY BS300

Los datos mencionados a continuación como ejemplos podrían diferir ligeramente en el caso de diferentes condiciones de la medición.

Rango de medición hasta 3200 U/L Cuando los valores exceden este rango, utilice la mitad del volumen de la muestra y multiplique el resultado por 2.	
Limite de detección***	29 U/L

* Concentración mensurable la más baja que se distingue de cero Medio + 3 SD (N = 20) de un espécimen sin analito.

Sustancias interferentes	Interferencias < 10 % hasta
Cobre	Fuerte inhibidor
Sulfato	Fuerte inhibidor
Ácido ascórbico	50 mg/dL
Bilirrubina (total)	40 mg/dL
Lipemia (Intralipid®) (triglicéridos)	4000 mg/dL
Para más información sobre interferencias, véase Young DS. [6]	

Precisión		
En la serie (n=20)	Muestra 1	Muestra 2
Valor media [U/L]	191	1374
CV [%]	1,4	0,7
De un día a otro	Muestra 1	Muestra 2
Valor medio [U/L]	19	1373
CV [%]	1,7	0,9

Comparación de métodos (Sangre; n=21)	
Test x	G6PDH competidor
Test y	G6PDH de DiaSys
Pendiente	0,988
Intersección	-13 U/L
Coeficiente de correlación	r = 0,991

Factor de conversión

G6PDH [U/L] x 0,0167 = G6PDH [µkat/L]

Valores de Referencia [7]

Adultos: 7,9 – 16,3 U/g Hb

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- 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, Reclos GJ, Pass KA, GiuglianiR. 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)



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim
Alemania
www.diasys-diagnostics.com