

# Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

## Enzimático-UV

### Determinación cuantitativa de G-6-PDH IVD

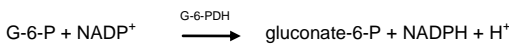
Conservar a 2-8°C

#### USO PREVISTO

Para determinación cuantitativa *in vitro* de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en eritrocitos.

#### PRINCIPIO DEL METODO

La actividad enzimática se determina midiendo el cambio de absorbancia a 340 nm debido a la reducción de NADP<sup>+</sup>.



#### SIGNIFICADO CLINICO

La deficiencia de G-6PDH es una de las deficiencias de enzimas humanas más comunes, y afecta a más de 4 millones de personas en el mundo. Aunque la mayoría de sujetos con deficiencia enzimática son asintomáticos, los individuos con deficiencia pueden mostrar anemia hemolítica episódica inducida por infecciones o ciertos medicamentos, y una anemia hemolítica esferocítica crónica.

#### REACTIVOS

<b>R 1</b> Tampón	Trietanolamina pH 7.6 EDTA	31.7 mmol/L 3.2 mmol/L
<b>R 2</b>	NADP	0.34 mmol/L
<b>R3</b> Sustrato	Glucosa-6-fosfato	0.58 mmol/L
<b>R4</b>	Digitonina	
<b>OPCIONAL</b>	Control G-6-PDH 2 niveles ref. 1002520	

#### PREPARACION

- **R1 - R4** Listos para su uso.
- **R2 - R3** Reconstituir el contenido de cada frasco con 2 mL de agua destilada.

#### CONSERVACION Y ESTABILIDAD

R1 y R4 son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. R2 y R3 son estables durante 4 semanas a 2-8°C. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

#### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio <sup>(Nota 1)</sup>.

#### MUESTRAS

- Eritrocitos: Preparación: Limpiar 0.2 mL de sangre con alícuotas de 2 mL de solución 0.9 % NaCl. Centrifugar después de cada lavado durante 10 min a 3000 rpm. Repetir 3 veces. Suspender los eritrocitos centrifugados limpios en 0.5 mL de R4 y dejar reposar durante 15 min a +4°C, entonces volver a centrifugar. Usar en el ensayo el sobrenadante en el periodo de 2 horas.

#### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: ..... 340 nm  
Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
Temperatura constante ..... 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta :

	Muestra
R1 (µL)	1000
R2 (µL)	30
Hemolizado (µL)	15

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Entonces añadir R3.

	Muestra
R3 (µL)	15

- Mezclar, leer la absorbancia inicial y poner en marcha el cronómetro simultáneamente. Leer de nuevo la absorbancia tras 1, 2 y 3 minutos.

#### CALCULOS

Para calcular la actividad de G-6-PDH usar la fórmula siguiente:  
 mU/eritrocitos por mL sangre\* = 33650 x ΔA 340 nm/min  
 mU/eritrocitos por mL sangre\* = 60571 x Δ A Hg 365 nm/min  
 mU/eritrocitos por mL sangre\* = 34304 x Δ A Hg 334 nm/min

La actividad de G-6-PDH se expresa como mU/10<sup>9</sup> eritrocitos o como mU/g hemoglobina. Para calcular la actividad de G-6-PDH como mU/10<sup>9</sup> eritrocitos,

para comparar con el valor normal, dividir la actividad calculada (mU/eritrocitos por mL sangre) por la cantidad de hematies por mL.

**Para calcular la actividad de G-6-PDH como mU/g hemoglobina**  
 Se usa la siguiente ecuación:

$$\text{G-6-PDH mU/gHb} = \frac{\text{mU.eritrocitos per mL} \times 100}{\text{Hb (g/dL)}}$$

$$\frac{100}{\text{Hb(g/dL)}} = \text{Factor para convertir mL a dL}$$

$$= \text{Concentración de hemoglobina determinada para cada muestra}$$

#### Corrección de temperatura

La siguiente corrección de temperatura se debe usar únicamente para muestras de pacientes. Cuando la temperatura es 37°C, no se requiere ningún factor de corrección de la temperatura (TCF).

Temperatura cubeta (°C)	TCF
25	2.076
30	1.515

#### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: Control G-6-PDH 2 niveles ref. 1002520. Se deben ensayar 2 niveles de control al menos una vez al día. Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

#### VALORES DE REFERENCIA

En eritrocitos: 245 - 299 mU/10<sup>9</sup> eritrocitos (37°C).

6.97 - 20.5 U/g Hb (37°C)

	Hemoglobina en sangre (g/dL)
Hombres adultos	13 - 18
Mujeres adultas	11 - 16
Bebés	14 - 23

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### CARACTERISTICAS DEL METODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección 154 U/L hasta el límite de linealidad 4303 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

**Precisión:**

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (U/L)	784	1533	784	1533
SD	33.2	71.3	50.5	78.3
CV (%)	4.24	4.65	6.45	5.11

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras entre 162 y 1200 U/L fueron los siguientes: Coeficiente de regresión (r): 0.9903.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1.0069x + 47.644.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

#### INTERFERENCIAS

Los reticulocitos tienen mayores niveles de G-6-PDH que los hematies maduros. Por tanto, no se recomienda realizar el ensayo después de una crisis hemolítica severa, puesto que los niveles de G6-PDH pueden aparecer falsamente incrementados.

#### NOTAS

- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.

#### BIBLIOGRAFIA

- Kornberg, A. et al., Methods in Enzymology 1, Academic Press, New York, 1955; p.323.
- Makarem, A., Clinical Chemistry-Principles and Techniques. 2nd Ed. R.F. Henry, D. C. Cannon, J.W. Winkelman, Editors. Harper and Row, Hagerstown [MD], 1974; 1128-1135.
- Lohr GW, Waller HD: Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. Methods of Enzymatic Analysis, 3rd Edition - Verlag Chemie, Wehheim: 1974; p. 636.

#### PRESENTACION

Ref: 1001420

Cont.
-------

R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 2 mL,  
 R3: 1 x 2 mL, R4: 1 x 20 mL