

Instruções de UsoSomente para uso diagnóstico *in vitro***G6PDH****ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.**PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907 2534 / 0800 015 1414 / sac@kovalent.com.br**Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de G6PDH em sangue total.****Nº de lote data de fabricação e validade:** vide rótulos dos frascos e da embalagem.

Artigo	Apresentação
1 7900 99 10 026	R1 1 x 20 mL + R2 4 x 5 mL + R3 1 x 40 mL

SUMÁRIO

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) é uma enzima citosólica que catalisa a conversão da glicose-6-fosfato (G-6-P) em 6-fosfogliconato na primeira etapa da via das pentoses-fosfato. Essa via é a maior fonte de NADPH necessário no processo anabólico. O NADPH é requerido como doador de hidrogênio para numerosos processos de redução como na estabilidade da catalase e na preservação e regeneração da redução que forma a glutatona. Ambos esses processos são cruciais na desintoxicação e proteção celular no estresse oxidativo. Os glóbulos vermelhos não possuem nenhuma fonte de NADPH e são exclusivamente dependentes da G6PDH, a enzima primária da via das pentoses-fosfato.

A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) é uma das enzimopatias de ordem genética mais comum. Pessoas com deficiência de G6PDH estão em risco de anemia hemolítica em estados de estresse oxidativo, infecções e após a ingestão de certas drogas ou feijão-fava^[1].

MÉTODO

Teste enzimático UV (fotométrico).

PRINCÍPIO

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) catalisa a primeira etapa da via das pentoses-fosfato, oxidando a glicose-6-fosfato (G-6-P) a 6-fosfogliconato (6-PG) e reduzindo NADP a NADPH.

O aumento da absorvância do NADPH é proporcional à concentração da G6PDH na amostra.

O reagente contém inibidores de 6-PGDH (6-fosfogliconato-desidrogenase) prevenindo a formação de um segundo produto equivalente ao NADPH pelo 6-fosfogliconato desidrogenase dos eritrócitos.

REAGENTES

Componentes e Concentrações:

R1→	Tampão Good modificado	pH 7,65	>20 mmol/L
R2→	NADP		>0,19 mmol/L
R3→	G-6-P	pH 7,65	>0,1 g/L

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o final do mês da data de validade indicada no rótulo, se armazenados à 2 - 8 °C e livres de contaminação.

Não congele os reagentes!

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

1. Reagente somente para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Em casos muito raros, amostras de pacientes com gamopatia podem apresentar falsos resultados^[2].
3. Os reticulócitos apresentam níveis de G6PDH maiores do que os das células vermelhas maduras; não é recomendada a medição após crise hemolítica severa, já que os níveis de G6PDH podem aparecer falsamente elevados.
4. Por favor, consulte a Ficha de Segurança do produto e tome as precauções necessárias para o uso de reagentes laboratoriais. Para fins de diagnóstico, os resultados devem ser analisados em conjunto com o histórico médico do paciente, dos exames clínicos e de outros achados.
5. Somente para uso profissional!

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução em vigor sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Dilua o frasco do reagente R2 com 5mL do reagente R1 (reagente de trabalho). Agite gentilmente, evitando a formação de espuma.

Estabilidade: 5 dias a 2-8°C

O reagente R3 está pronto para uso.

Mantenha o reagente a temperatura ambiente antes do uso. Feche-o imediatamente após o manuseio.

MATERIAIS REQUERIDOS MAS NÃO FORNECIDOS

Equipamento geral de laboratório.

G6PDH Hemolyzing Solution.

AMOSTRA

Sangue total coletado com EDTA, heparina ou ACD (citrato ácido-dextrose).

As amostras devem ser coletadas de acordo com a CLSI (NCCLS)^[3].

Preparo da amostra

Para o preparo da amostra, deve-se utilizar a solução hemolisante G6PDH Hemolyzing Solution.

Preparo:	
Solução hemolisante	9 partes
Amostra/Calibrador/Controle	1 parte

Misture gentilmente, evitando a formação de espuma e realize o teste imediatamente.

Atenção!

A atividade do G6PDH é relatada em unidades por grama de hemoglobina [U/g Hb], portanto a concentração de hemoglobina deve ser determinada antes da medição do G6PDH.

Estabilidade

O G6PDH dos glóbulos vermelhos é estável no sangue por 1 semana se armazenado a 2-8°C, mas é instável em glóbulos vermelhos hemolisados.

Um precipitado pode aparecer entre 20 e 30 minutos após a diluição (veja a seção de Preparo da Amostra com G6PDH Hemolyzing Solution), provavelmente devido a variabilidade biológica da amostra do paciente.

O congelamento de amostras de sangue total não é recomendado^[4,5].

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando solicitadas ou em nosso site www.koalent.com.br

O procedimento manual pode diferir ligeiramente das aplicações para os sistemas automatizados.

Comprimento de onda: 340nm (334 - 365nm)
Caminho óptico: 1cm
Temperatura: 37 °C
Medição: Contra o branco do reagente

	Calibrador		Amostra
	Nível 1	Nível 2	
Reagente de trabalho	1000µL	1000µL	1000µL
Calibrador	10µL	10µL	-
Amostra	-	-	10µL
Misturar gentilmente e incubar por 10 minutos a 37°C, então adicionar:			
R3	2000µL	2000µL	2000µL
Misturar gentilmente, e após 2 minutos ler a absorbância A1, e então ler a absorbância A2 pós 5 minutos.			

CÁLCULOS

Cálculo manual da atividade do G6PDH (U/L - 37°C)

ΔA Calibrador nível 1 = A2 calibrador nível 1 - A1 calibrador nível 1
 ΔA Calibrador nível 2 = A2 calibrador nível 2 - A1 calibrador nível 2
 ΔA Amostra = A2 amostra - A1 amostra

Cálculo ΔA /minuto (ΔA /min):
 ΔA /min = (A2 - A1) / 5

G6PDH (U/L-37°C) = ΔA /min x (Volume total/volume amostra) x (1/é d) x 1000

Volume total = (1 + 0,01 + 2) = 3,01mL
Volume da amostra = 0,01mL
é = 6,3 = absorção milimolar do NADPH a 340nm
d = 1cm = caminho óptico
1000 = fator de conversão da atividade para litro

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 da atividade do G6PDH (U/g Hemoglobina - 37°C)

Considerando o valor total de hemoglobina (Hb total) de cada amostra [g/dL], utilize a seguinte fórmula de cálculo:

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

Fator de conversão

G6PDH [U/L] x 0,0167 = G6PDH [μ kat/L]

CALIBRADORES E CONTROLES

Para a calibração de sistemas fotométricos automáticos, o calibrador TruCal G6PDH DiaSys é recomendado. Os valores do calibrador TruCal G6PDH são rastreáveis por um teste comercialmente disponível. Para controle de qualidade interno, o controle TruLab G6PDH DiaSys deve ser utilizado. Cada laboratório deve estabelecer ações corretivas em caso de variações na recuperação do controle.

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Faixa de Medição

O teste foi desenvolvido para determinar concentrações de G6PDH dentro de uma faixa de medição de 29 - 3200 U/L. Quando os valores excederem essa faixa, utilize a metade do volume da amostra e multiplique o resultado por 2.

Especificidades / Interferentes

Substância interferente	Interferência <10% até
Cobre	Inibidor forte
Sulfato	Inibidor forte
Ácido Ascórbico	50mg/dL
Bilirrubina Total	40mg/dL
Lipemia (Intralipid®) - triglicerídeos	4000mg/dL

Para outras informações sobre as substâncias interferentes, consulte Young DS^[6].

Sensibilidade / Limite de Detecção

O limite mínimo de detecção é de 29 U/L.

Precisão

Precisão intra-ensaio n = 20	Média [U/L]	CV [%]
Amostra 1	191	1,4
Amostra 2	1374	0,7
Precisão entre dias n = 20	Média [U/L]	CV [%]
Amostra 1	192	1,7
Amostra 2	1373	0,9

Comparação de Métodos

Comparação de Métodos	
Teste x	Kit comercial de mesma metodologia
Teste y	G6PDH (Diasys)
Slope	0,988
Intercept	-13 U/L
Coefficiente de correlação	r = 0,991

VALORES DE REFERÊNCIA^[7]

Adultos: 7,9 - 16,3 U/g Hb

Cada laboratório deve verificar se os valores de referência podem ser utilizados na sua própria população de pacientes e determinar seus próprios valores de referência, se necessário.

LITERATURA

- 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).

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Símbolos Usados

	Fabricante
	Limites de temperatura
	Diagnóstico in vitro
	Cuidado, consulte documentos anexos
	Consulte instruções de uso
	Material Reciclável
	Não rejeitar diretamente para o ambiente
	Lote
	Data de Fabricação
	Validade
	Risco Biológico
	Altamente tóxico
	Corrosivo
	Nocivo

Fabricado por: **DiaSysDiagnostic Systems GmbH**

Importado e Distribuído por: **Kovalent do Brasil Ltda.**

Rua Cristóvão Sardinha, 110, Jd. Bom Retiro

São Gonçalo, RJ

Cep: 24722-414

CNPJ: 04.842.199/0001-56

MS – nº 80115310265

SAC: sac@kovalent.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

www.kovalent.com.br