COD 12754 4 x 10 mL
CONSERVAR A 2-8ºC
Reactivos para medir la concentración de ADA Sólo para uso *in vitro* en el laboratorio clínico

ADENOSINE DEAMINASE (ADA)

Automated Systems

BioSystems REAGENTS & INSTRUMENTS

CE

ADENOSINA DESAMINASA (ADA)

Adenosina-Glutamato deshidrogenasa

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La adenosina desaminasa (ADA) cataliza la desaminación de la adenosina, formando inosina y ión amonio. La concentración catalítica se determina, empleando la reacción acoplada de la glutamato deshidrogenasa (GIDH), a partir de la velocidad de desaparición del NADH, medido a 340 nm[1-3].

$$\text{Adenosina} + H_2O \xrightarrow{\text{ADA}} \text{Inosina} + NH_4^+$$

$$\text{2-Oxoglutarato} + NH_4^+ + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{GIDH}} \text{Glutamato} + NAD^+$$

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

A. Reactivo. 4 x 8 mL. Tris 125 mmol/L, 2-oxoglutarato 1,1 mmol/L, adenosina 6,5 mmol/L, glutamato deshidrogenasa > 100 U/L, sodio azida 0,95 g/L, pH 6,8.

B. Reactivo. 1 x 10 mL. NADH 1,5 mmol/L, sodio azida 9,5 g/L.

Nocivo (Xn): R22: Nocivo por ingestión. R31: En contacto con ácidos libera gases tóxicos. S28.1: En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua. S45: En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8ºC.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

– Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco inferior al límite indicado en "Parámetros del ensayo".

REACTIVOS AUXILIARES

S. Patrón de ADA (BioSystems Cod. 18052). ADA bovina, Tris 50 mmol/L. La concentración de ADA viene indicada en la etiqueta del vial. El valor de ADA es trazable al material de referència BCR-647 (IRMM).

Reconstituir con 1,0 mL de agua destilada. Estable 7 días a 2-8ºC o bien 2 meses a -18ºC congelado en alicuotas.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Añadir 2 mL de Reactivo B en una botella de Reactivo A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 30 días a 2-8ºC.

El reactivo abierto y conservado en el compartimento refrigerado del analizador es estable 12 días.

EQUIPO ADICIONAL

– Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatizable a 37ºC para lecturas a 340 nm.

MUESTRAS

Líquido pleural o suero sanguíneo recogido mediante procedimientos estándar.

La adenosina desaminasa en las muestras es estable 7 días a 2-8ºC.

CALIBRACIÓN

Se recomienda utilizar el Patrón de ADA.

Se recomienda calibrar al menos cada 12 days, después de un cambio de lote de reactivo o cuando lo requieran los procedimientos de control de calidad.

PROCEDIMIENTO

Procedimiento automatizado (Nota 1)

		A25	**A15**
GENERAL	Técnica	ADA	ADA
	Modo de análisis	cinética mono.	cinética mono.
	Tipo de muestra	LIQ/SER	LIQ/SER
	Unidades	U/L	U/L
	Tipo de reacción	decreciente	decreciente
	Decimales	1	1
	Nº Replicados	1	1
	Nombre de la técnica en el informe de paciente	-	-
PROCEDIMIENTO	Lectura	monocromática	monocromática
Volúmenes	Muestra	15	15
	Reactivo 1	300	300
	Reactivo 2	-	-
	Lavado	1,2	1,2
	Factor predilución	-	-
	Factor postdilución	2	2
Filtros	Principal	340	340
	Referencia	-	-
Tiempos	Lectura 1	270 s	264 s
	Lectura 2	420 s	408 s
	Reactivo 2	-	-
CALIBRACIÓN	Tipo de calibración	específico	específico
	Replicados calibrador	-	-
	Replicados blanco	3	3
	Curva de calibración	-	-
OPCIONES	Límite absorbancia blanco	0,800	0,800
	Límite blanco cinético	-	-
	Limite de linealidad	150	150

Procedimiento manual

1. Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción.
2. Pipetear en una cubeta:

Reactivo de Trabajo	1,0 mL
Muestra / Patrón	50 µL

3. Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro. Poner el cronómetro en marcha.
4. Pasados 4 minutos, anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas lecturas cada minuto durante 3 minutos.
5. Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio (ΔA/min).
6. Calcular la concentración de adenosin desaminasa en la muestra utilizando las fórmulas siguientes:

$$\frac{\Delta A/\text{min}_{\text{Muestra}}}{\Delta A/\text{min}_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{Patrón}} = \text{U/L}$$

VALORES DE REFERENCIA

Líquido pleural[3]: 33 U/L = 0,55 µkat/L.

Suero[4]: Hasta 18 U/L = 0,30 µkat/L.

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Controles de ADA niveles I y II (cod. 18048) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida. Reconstituir con 1,0 mL de agua destilada. Agitar suavemente, evitando la formación de espuma, hasta disolver todo el liofilizado. Utilizar los Controles en el procedimiento analítico de forma idéntica a las muestras de los pacientes.

Estables 7 días a 2-8ºC o bien 2 meses a -18ºC congelado en alicuotas.

Las concentraciones de ADA vienen indicadas en las etiquetas de los viales. El valor de ADA es trazable al material de referència BCR-647 (IRMM). La trazabilidad solo se asegura empleando los reactivos y procedimientos de medida recomendados por BioSystems.

Los intervalos de valores aceptables que se sugieren han sido elaborados en base a la experiencia previa en variabilidad interlaboratorio y se indican únicamente a título orientativo, ya que cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros de precisión.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

– Límite de detección: 5,10 U/L = 0,085 µkat/L.

– Límite de linealidad: 150 U/L = 2,50 µkat/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/10 con agua destilada y repetir la medición.

– Repetibilidad (intraserie):

Concentración media	CV	n
29 U/L = 0,48 µkat/L	3,1 %	20
71 U/L = 1,18 µkat/L	0,8 %	20

– Reproducibilidad (interserie):

Concentración media	CV	n
29 U/L = 0,48 µkat/L	6,4 %	40
71 U/L = 1,18 µkat/L	3,6 %	40

– Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

– Interferencias: La hemólisis o la tardía separación del suero ocasionan resultados elevados debido a la elevada concentración de adenosina desaminasa en los eritrocitos. La lipemia (triglicéridos < 5 g/L) y la bilirrubina (< 20 mg/dL) no interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir[5].

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La adenosina desaminasa es una enzima ubícua. Las concentraciones más elevadas se encuentran en los linfocitos T, especialmente cuando son estimulados. La concentración de adenosina desaminasa en líquido pleural se encuentra elevada en pacientes con tuberculosis y resulta útil para diferenciar derrames pleurales tuberculosos, con una sensibilidad diagnóstica del 90% y una especificidad diagnóstica del 85%[4]. La concentración sérica de adenosina desaminasa se encuentra elevada en pacientes con enfermedades hepáticas[6].

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

NOTAS

1. Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bota A, Gella FJ, Canalias F. Optimization of adenosine deaminase assay by response surface methodology. *Clin Chim Acta* 2000; 290: 145-157.
2. Slaats EH, Asberg EGMT, van Keimpema ARJ, Kruijswijk H. A continuous method for the estimation of adenosine deaminase catalytic concentration in pleural effusions with a Hitachi 705 discrete analyser. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 677-682.
3. Villena V, Navarro-Gonzálvez JA, García-Benayas C, Manzanos JA, Echave J, López-Encuentra A, Arenas-Barbero J. Rapid automated determination of adenosine deaminase and lysozyme for differentiating tuberculous and nontuberculous pleural effusions. *Clin Chem* 1996; 42:218-221.
4. Collazos J, España P, Mayo J, Martínez E, Izquierdo F. Sequential evaluation of serum adenosine deaminase in patients treated for tuberculosis. *CHEST* 1998; 114:432-435.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
6. Kobayashi F, Ikoda T, Marumo F, Sato C. Adenosine deaminase isoenzymes in liver disease. Am J Gastroenterol 1993; 88:226-271.