



TEST DE ADA BIALEX

GQ-AT-50, GQ-AT-100

Método Calorimétrico para la determinación de ADA en suero y líquidos biológicos.

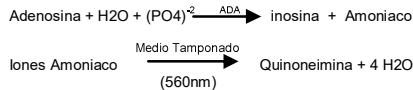
SIGNIFICADO CLÍNICO

La determinación de la adenosina deaminasa sérica (ADA) se utiliza para establecer la actividad de la tuberculosis pulmonar, se la ha determinado como marcador evolutivo de la respuesta al tratamiento convencional de TBC pulmonar. Este producto es RUO. La aplicación más útil de esta técnica es en el diagnóstico de la meningitis tuberculosa y en el diagnóstico diferencial entre pleuresías tuberculosas y neoplásicas, ya que aunque la ADA también está elevada en el líquido pleural de los empiemas, artritis reumatoidea y algunos linfomas, estas últimas condiciones son más fáciles de diferenciar clínicamente.

METODOLOGÍA

La determinación de la actividad del ADA se basa en el método de Giusti y Galanti, existieron otros métodos basados en el de Hillerbrand pero dieron como resultado una menor sensibilidad del ADA en el diagnóstico de la tuberculosis. El presente método usa una modificación del método de Giusti y Galanti, que es una reacción calorimétrica y enzimática.

La adenosina deaminasa, es la enzima que cataliza la reacción en un medio tamponado ácido, al reaccionar con la adenosina produciendo la liberación de inosina y amoniaco. Los iones de amonio formados en presencia del ácido carbónico en medio alcalino, produce una coloración Azul intenso en el caso que la prueba sea positiva. La actividad del enzima ADA fue determinada con los reactivos Adenosina Deaminasa (ADA). Se trata de un método calorimétrico, enzimático basado en la acción hidrolítica del enzima ADA sobre la adenosina para formar inosina produciendo un compuesto coloreado, la quinoneimina, que se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 560 nm



COMPOSICIÓN DEL REACTIVO TEST DE ADA BIALEX CONTIENE EN 100 mL

Frasco 1:
COLOR 1: Ácido carbónico / Cloramina : 1g
Nitroterricianuro de Na y K : 0.005g.

Frasco 2:
COLOR 2: Sodio/ Hipoclorito : 5mL

Frasco 3:
Estándar Test de Ada (50U/L): Solución de Sulfato de amonio: 1.25 mL

Frasco 4:
Buffer pH 6.5: Fosfato de sodio : 0.69454g.

Frasco 5:
Adenosina p.a. (C₁₀H₁₃N₅O₄ / Na₃): Adenosina : 2g

PRECAUCIONES

- Este reactivo es solo para uso de diagnóstico en Vitro.
- El reactivo es tóxico, utilice guantes y mascarilla al manipular el reactivo.
- Si algún derrame ocurre, lave las áreas afectadas con abundante agua.
- Si existiera precipitado llevar el reactivo a baño María a 50°C homogenice hasta disolver el precipitado.
- Se recomienda utilizar punteras nuevas por cada reactivo, la combinación de estas o de las tapas de los reactivos, produce contaminación.
- Se deben mantener en refrigeración de 2 - 8 °C hasta su fecha de vencimiento : COLOR 1, COLOR 2 y ESTÁNDAR de TEST DE ADA

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

Listos para usar

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

- **Reactivos: COLOR 1, COLOR 2 y ESTÁNDAR:** Se debe conservar de 2-8°C
- **Reactivos: BUFFER y ADENOSINA** se debe almacenar a temperatura ambiente.
- Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

No utilice este reactivo si:

- El reactivo de Adenosina es mayor de 0.150 A

- Cuando uno de los reactivos presenta turbidez.
- Es comunicado por Bialex como retiro de lote del mercado.

COLECCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA.

- Las muestras para el estudio de ADA se obtienen a través de procedimientos especiales, en forma aséptica, condición que debe mantenerse hasta su procesamiento.
- Se recomienda no trabajar una muestra cuando ésta tiene indicios de hemólisis, la presencia de hemoglobina altera los resultados de la determinación.
- Se recomienda conservar la muestra a bajas temperaturas (sin congelar) mientras llegan al laboratorio. Deben refrigerarse de 2- 8 °C.
- Luego se aconseja centrifugar a 1.500 rpm por 10 minutos, con el fin de retirar posibles glóbulos rojos, fibrina, mucus, etc.
- Si no se trabajan inmediatamente, congelarlas a -20°C hasta su procesamiento.

INTERFERENCIA

- Los siguientes resultados fueron obtenidos en estudios para determinar el nivel de interferencia de hemoglobina.
 - La presencia de hemoglobina altera los resultados de la determinación.
 - El ADA se encuentra elevada en otros exudados no tuberculosos, como derrames neoplásicos (fundamentalmente linfomas, artritis reumatoide y adenocarcinomas y mesoteliomas)
- Para fines diagnósticos, los resultados obtenidos en la prueba, siempre deberán ser evaluados junto con la Historia Clínica del paciente.

MATERIALES Y EQUIPOS NO INCLUIDOS

- Analizador de química clínica capaz de medir absorbancia de 560 nm y equipo capaz de mantener temperatura constante a 37 °C
- Material adicional requerido: pipetas y/o micropipetas, puntas descartables, agua desionizada, cronómetro.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

Procedimiento para uso manual

Par un desempeño óptimo de la prueba, observar las instrucciones de este manual.

Nota: Si en el reactivo Adenosina existe precipitado llevar el reactivo a Baño María a 50°C hasta disolver.

- El reactivo está listo para usar. Dejar por unos minutos el reactivo a temperatura ambiente (los que se encuentran refrigerados)
- Identificar los tubos de prueba, tanto para blanco de reactivo, estándar y blanco de muestra y muestras desconocidas.
- Mida los volúmenes indicados.

	Blanco	Estándar	Blanco Muestra	Muestra
Muestra	---	---	---	10 µL
Adenosina	---	---	250 µL	250 µL
Buffer 6.5	250 µL	250 µL	---	---
Estándar	---	10 µL	---	---
Mezclar, tapar los tubos e incubar a 37°C durante 60 minutos. Luego agregue:				
Color 1	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL
Muestra	---	---	10 µL	---
Color 2	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL

- Homogenizar e incubar 30 minutos a 37°C.
- Ajustar a cero el espectrofotómetro con blanco reactivo.
- Retire los tubos y lea a 560nm llevando a cero con agua destilada.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{ADA (U/L)} = \frac{(\text{Absorbancia Muestra} - \text{Absorbancia Blanco muestra})}{(\text{Absorbancia Estándar} - \text{Absorbancia Blanco Reactivo})} \times \text{Conc. Estándar}$$

Ejemplo de Cálculo:

$$\frac{(1.208 - 1.056)}{(0.259 - 0.062)} \times 50 = 38.5 \text{ U/L ADA en Liq. Aséptico}$$

Abs. Muestra : 1.208
Abs. Bl. Muestra : 1.056
Abs. Estándar : 0.259

Conc. Estándar : 50 U/L
Abs. Bl. Reactivo : 0.062

VALORES DE REFERENCIA

Suero: 11 – 22 U/L
Líquido Cefalorraquídeo: 0 – 9 U/L
Líquido Pericardio: 0 – 40 U/L
Relación Líquido Pleural/Suero Hasta 1.3

Líquido Pleural: 0 – 35 U/L
Líquido Ascítico: 0 – 40 U/L
Líquido Sinovial: 0 – 40 U/L

LINEALIDAD

Hasta 250U/L de Ada. En niveles superiores de la linealidad diluya la muestra con suero fisiológico y al final multiplique por la dilución realizada.

SENSIBILIDAD

Los estudios realizados por Bialex demuestran una sensibilidad de 98%.

ESPECIFICIDAD

Los estudios realizados por Bialex demuestran una especificidad de 99%.

CONTROL DE CALIDAD.

El reactivo para Test de ADA ha sido evaluado en 50 sueros de pacientes clínicamente normales, encontrándose los resultados dentro de los límites de referencias y 20 sueros de pacientes con tuberculosis siendo encontrados patológicos el 98%. Del mismo modo para líquidos biológicos (Líquido Cefalorraquídeo y Pleural).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sackett D, Haynes R, Guayatt G, Tugwell P. Clinical epidemiology: a basic science for clinical medicine, 2ª ed. Boston: Little, Brown, 1991.
- Greenhalgh T. How to read a paper: Papers that report diagnostic or screening test. BMJ 1997; 315:540-3.
- Giusti G. Adenosine deaminase. In: Bergmeyer HV, ed. Methods of enzymatic analysis. New York: Academic Press 1974: 1092-9.
- Hanley J, McNeil B. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology 1982; 143: 29-36.
- Rodríguez E, Bugés J, Morera J. Hallazgos recientes en patología pleural. Med Clin (Barc) 1989; 93: 503-507.
- Caminero JA. Tuberculosis pleural. Med Clin (Barc) 1990; 94: 384-388.
- Ena J, Valls V, Pérez C, Enríquez R. Utilidad y limitaciones de la ADA en el diagnóstico de la pleuresía tuberculosa. Estudio metanalítico. Med Clin (Barc) 1990; 95: 333-335.
- Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Segura RM, Fernández T, Capdevila JA. Adenosine deaminase in pleural fluids. Chest 1983; 84: 51-53.
- Fontes M, Pêgo A, Lima MA, Gaspar EV, Pharm B, Robalo A. Serum and pleural adenosine deaminase. Chest 1990; 97: 605-610.
- cv Muñoz F, Rodríguez Panadero F, Martínez D, Cantos A, López J. Pleuritis tuberculosa: sistemática diagnóstica. Arch Bronconeumol 1983; 19: 51-56.
- Orriols R, Coloma R, Ferrer J, Vidal R, Morell F. ADA in tuberculous pleural effusion. Chest 1994; 106: 1.633-1.634.

Manufactured by Bialex®

850 E. Ohio Street Suite 12, Tucson, AZ 85714

Phone: 525-8422001

Website: <http://www.bialexlab.com>

E-mail: info@bialexlab.com

IFU-ADATEST

Review 01-2015

Spanish version 1.0