

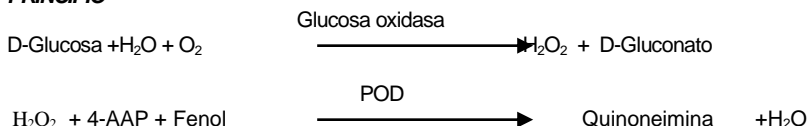
**SIGNIFICADO CLINICO**

La determinación de glucosa en suero es más comúnmente realizada para el diagnóstico y tratamiento de diabetes mellitus.

**RESUMEN**

Los métodos enzimáticos más comunes para la determinación de la glucosa usan Glucosa Oxidasa para catalizar la oxidación de glucosa a peróxido de hidrógeno y ácido gluconico. El peróxido de hidrógeno que se forma se mide por la formación de un cromógeno. Muchos cromógenos fueron investigados pero muchos fueron descartados porque eran fuentes de posible carcinogenicidad, toxicidad, inestabilidad o porque eran afectados por muchas sustancias interferentes. Trinder modificó a Emerson para descubrir un sistema de peroxidasa-fenol-aminofenazona eficiente para la cuantificación de peróxido de hidrógeno mediante la formulación de una quinoneimina de color rojo.

**PRINCIPIO**



La glucosa es oxidada por la glucosa oxidasa a gluconato y peróxido de hidrógeno. Fenol + 4-AAP + peróxido de Hidrógeno, en presencia de peroxidasa, produce una quinoneimina que se mide a 500 nm. La absorbancia a 500 nm es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra

**REACTIVOS**

El reactivo contiene Glucosa Oxidasa (microbial) >15 000 u/l, peroxidasa >1000 u/l, 4-AAP 0.3 mM, Fenol 0.5 mM, Buffer pH 7.3-7.5, estabilizadores no reactivos, preservativo.

El reactivo está listo para su uso, y es estable hasta la fecha de caducidad cuando se guarda a una temperatura de 2-8 °C.

**MATERIAL**

Reactivo de Glucosa

**MATERIAL REQUERIDO, NO SUMINISTRADO**

Pipetas para 1 mL y 10 uL

Tubos de ensayo

Cronómetro (para 10 minutos)

Espectrofotómetro para leer a 500 nm.

Bloque térmico (37°C)

Sueros control

**PROCEDIMIENTO (AUTOMATIZADO GENERAL)**

Longitud de onda	500 nm
Tipo de ensayo	Punto final
Razón muestra / reactivo	1:101
Dirección de la reacción	Incremento
Temperatura	37°C
Tiempo de incubación	600 segundos
Valor normal bajo	70 mg/dL
Valor normal alto	105 mg/dL

**PROCEDIMIENTO (MANUAL)**

- Etiquetar los tubos para blanco, control, estándar, paciente, etc.
- Pipetee 1.0 mL del reactivo de trabajo y precalentar a 37°C durante 5 minutos
- Añadir 10 uL de la muestra a los tubos respectivos. Incubar 10 minutos.
- Ajustar el espectrofotómetro a cero con el blanco. Leer y anotar las absorbancias de todos los tubos a 500 nm.
- Para calcular los resultados ver la sección cálculos.

**LIMITACIONES**

1. El reactivo da resultados lineales entre 0-500 mg / dL. Las muestras que exceden los 500 mg / dL deben ser diluidas en igual volumen con solución salina y se debe repetir el ensayo. El resultado se multiplica por 2.
2. Si el espectrofotómetro que se está usando requiere de un volumen mayor a 1 mL para obtener una lectura adecuada, use 30  $\square$ L de muestra y 3 mL de reactivo.
3. Muestras lipémicas pueden dar falsos resultados elevados. Para corregir se debe correr contra un blanco del suero lipémico. Blanco de suero: 10 uL de muestra y 1 mL de agua. Ajustar a cero con agua. Leer y anotar la absorbancia y restar esta lectura de la absorbancia de la prueba. Calcular como es usual.

---

**CALIBRACIÓN**

Use estándar de glucosa (100 mg / dL) o suero calibrador. Se debe calibrar de acuerdo a las instrucciones de calibración del instrumento. Si el resultado de los controles se encuentra fuera del rango, la prueba debe ser recalibrada.

**CALCULOS**

Abs. = Absorbancia

$$\frac{\text{Abs. (Paciente)}}{\text{Abs. (Estándar)}} * \text{concentración del estándar mg/dL} = \text{concentración de glucosa mg/dL}$$

**UNIDADES SI**

Para obtener unidades en el Sistema Internacional (mmol / L), multiplique el resultado (en mg / dL) por 10 para convertir dL a litros y dividir el valor entre 180 que es el peso molecular de la glucosa.

**VALORES ESPERADOS**

70-105 mg / dL.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**LINEARIDAD**

0-500 mg / dL

**CORRELACION**

Resultados obtenidos con este reactivo (y) en 132 muestras con valores de glucosa establecidos entre 32-197 mg / dL, fueron comparadas contra las obtenidas para las mismas muestras, pero con reactivo de glucosa en polvo(x) basándose en la misma metodología en un equipo automatizado. La correlación fue de 0.999 y la ecuación para la regresión fue  $y = 1.02x - 1.13$ . ( $Sy - x = 15.43$ )

**SENSITIVIDAD**

La sensibilidad para la Glucosa Oxidasa se investigó midiendo el cambio de absorbancia a 500 nm para una muestra salina, y un suero de concentración conocida. Se realizaron 10 réplicas de cada muestra. Bajo estas condiciones de reacción, 1 mg / dL de glucosa da una absorbancia de 0.002.

FABRICADO POR:

**POINTE SCIENTIFIC, INC.**  
**E.E.U.U.**

---