

REACTIVO PARA GLUCOSA OXIDASA

USO:

Para la determinación cuantitativa de glucosa en suero

HISTORIA DEL METODO:

Los primeros métodos para la determinación de glucosa usaron glucosa oxidasa para catalizar la oxidación de glucosa a peróxido de hidrogeno y ácido gluconico. El peróxido de hidrogeno que se forma se mide por la oxidación de un cromógeno. Se han investigado muchos cromógenos pero muchos han sido descartados por la posible carcinogenisidad, toxicidad, inestabilidad o por que muchas sustancias interferían con ellos. Trinde modifico a Emerson para desarrollar un sistema de peroxidasa fenolaminofenazona eficiente para la cuantificacion de peróxido de hidrogeno con la formación de un color rojo de quinoneimina, este método es menos influenciado por sustancias y no tiene tantas desventajas como los otros métodos. Este método se basa en una modificación del anterior, pero utiliza una sustancia sustituto del fenol no corrosiva.

PRINCIPIO:

 $\begin{array}{ll} D-Glu\cos a+H_2O+O_2 & H & \underline{Glu\cos a\ Oxidasa} \\ H_2O_2+4-Aminoantipirina+Hidroxybenzoato-\\ \rightarrow Quinoneimina+H_2O \end{array}$

CONTENIDO DEL REACTIVO:

U/ML, Peróxidasa (Abstracto de caballo)
1.2 U/ML, 4-Amino antipirina + 0.38 mM,
Buffer de fosfato, PH 7.5±0.1, P-Hidroxibenzoato
de sodio 10 mM, Estabilizadores no reactivos y

Reactivo de Glucosa: Glucosa Oxidasa > 15

Azida de Sodio 0.1%.

PRECAUCIÓN:

Para diagnostico "In Vitro" unicamente, este reactivo contiene Azida de sodio 0.1%. Puede reaccionar con cobre o con metales para formar explosivos. Lave con agua abundante.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Vacie el contenido del vial en el volumen del agua destilada indicado en la etiqueta, disuelva lentamente y almacene en un bote ambar 2-8° C

ALMACEN DEL REACTIVO:

1) El reactivo seco y el estandar deben estar refrigerados a 2-8° C.

2) El reactivo reconstituido debe ser alamcenado en un bote ambar en un refrigerador (2-8° C) es estable por 30 dias.

DETERIORO DEL REACTIVO: NO USE SI:

- 1) El reactivo se ha humedecido
- 2) El reactivo falla con la linearidad establecida o con los valores control.

COLECCION Y ALMACEN DE LA MUESTRA:

- 1) Se recomienda suero no hemolizado o plasma heparinizado.
- 2) El suero debe separarse del coagulo rápidamente ya que la disminución de la glucosa es 7% por hora en sangre total.
- 3) La glucosa en suero o plasma es estable por 24 horas cuando se refrigera (2-8° C).

INTERFERENCIA:

- 1) Vea Young pone una lista de sustancias.
- 2) Las muestras con Lipemia o ictericia dan falsos resultados por lo que se debe correr un blanco del paciente. Agregue 0.01 ml. de paciente a 1.5 ml. de agua bidestilada y lea contra un blanco de agua. Reste la absorbancia de la prueba del paciente para corregir la lipemia o la ictericia.

MATERIALES PROVISTOS:

Reactivo de Glucosa.

MATERIALES REQUERIDOS:

- 1) Instrumentos de pipeteo.
- 2) Probeta graduada.
- 3) Espectrofotómetro capaz de leer 500 nm.
- 4) Tubos de ensayo.
- 5) Block térmico
- 6) Reloj.

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Vea las aplicaciones del instrumento.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

- 1) Prepare el reactivo de trabajo de acuerdo a las instrucciones.
- 2) Etiquete los tubos blanco, estandar, control, paciente, etc.
- 3) Pipetee 1.0 ml. de reactivo de trabajo en todos los tubos y colóquelos en un baño maría a 37° C por 5 minutos.
- 4) Agregue 0.01ml. (10 ul) de muestra a los tubos respectivos, mezcle e incube a 37° C por 5 minutos.

5) Despues de incubar ponga en ceros el espectro con el blanco de reactivo. Lea la absorbancia de los tubos a 500 m. (500-520 NM) 6) Vea cálculos.

NOTAS DEL PROCESO:

- 1) El color final es estable por 15 minutos.
- 2) Si el espectrofotómetro requiere un volúmen de mas de 1 ml. Utilice 0.02 ml. (2 ul) de muestra y 3.0 ml. de reactivo.

CALIBRACION:

Utilice un estandard acuosos de glucosa (100 mg dl) o un calibrador apropiado.

CONTROL DE CALIDAD:

Se recomienda el uso de suero control normal y anormal para monitorear la reacción.

CALCULOS:

A(Absorción)

 $\underline{A(Paciente)} \times Conoc.delEstandard = Glucosa(mg / dl)$ $\overline{A(S tan dard)} \qquad (mg / dl)$

UNIDADES SI:

Para obtener resultados unidades si (mmol/l) multiplique sus resultados en mg/dl por 10 y divida entre 180 (el peso molecular de la glucosa)= (mmol/l)

LIMITACIONES:

Concentraciones que exceden a 500 mg/dl (diluir con solución salina 1:1 y el resultado final multipliquelo por 2)

VALORES ESPERADOS:

(70-105 mg/dl)

DESEMPEÑO:

- 1.- Linearidad 500 mg/dl
- 2.- Precisión

Entre pruebas

Conoc.	D.E.	C.V.%
97	0.6	0.6
221	1.3	0.6

Prueba a Prueba

Conoc.	D.E.	C.V.%	
96	1.8	1.9	
217	3.1	1.4	

3.- Comparación. Un estudio con otro reactivo de glucosa comercial dio una ecuación de y=0.98 X + 2.0 con un coeficiente de correlación de 0.998.

REFERENCIAS:

1) Keston, A.S., Abstr., 129th. Meeting Amer. Chem. Soc., p.31 (1956).

- 2) Teller, J.D., Abstr., 130th Meeting Amer. Chem. Soc., Atlantic City, N.J., p 69c (1956).
- 3) Trinder, P., Ann. Clin. Biochem., 6:24 (1969).
- 4) Emerson, E.J., et al, J. Org. Chem., 3:153 (1938) and 8:417 (1943).
- 5) Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p 243 (1976).
- 6) Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:D (1975).
- 7) Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p 155 (1970).

REV.2/90

