

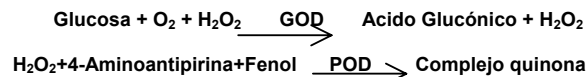
Glucosa Liquicolor®

Para la determinación cuantitativa de Glucosa enzimática colorimétrica en suero, plasma ó líquido cerebro espinal.

Resumen y principio.

La determinación de los niveles de glucosa fue el primer procedimiento empleado en el laboratorio clínico médico¹. La metodología de glucosa-oxidada fue introducida por Keilin y Hartree² en 1948. Más tarde Keston³ reportó el uso de un reactivo combinando glucosa oxidada-peroxidasa, seguido por el de Teller⁴ adicionando un reactivo cromogénico al procedimiento de Keston. En particular, el método del reactivo de glucosa Stanbio está basado en la técnica descrita por Trinder et al.⁵

La glucosa es oxidada en presencia de glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrogeno formado, reacciona bajo la influencia de peroxidasa (POD) con fenol y 4-aminoantipirina para formar un complejo rojo-violeta de quinona. La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa.



Reactivos.

Glucosa Liquicolor®

| | |
|-------------------------|-------------|
| 4-Aminoantipirina | 0.2 mmol/L |
| Glucosa Oxidasa..... | 15.0 mmol/L |
| Peroxidasa | 1.2 U/L |
| Fenol..... | 4.0 mmol/L |

No contiene ingredientes reactivos ni preservativos.

Estándar de Glucosa (100 mg/dL)

100 mg/dL (5.56 mmol/L) de Glucosa en solución acuosa de ácido benzoico.

Precauciones: Para uso de diagnóstico *In-Vitro*. El reactivo contienen azida de sodio como conservador la cual puede reaccionar con el cobre o plomo de las tuberías formando azidas metálicas explosivas. Para desecharlo enjuague con mucho agua para prevenir su formación.

Preparación del reactivo: El reactivo y el estándar están listos para usarse.

Estabilidad y almacenamiento del reactivo: El reactivo y el estándar son estables hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta cuando se almacena de 275 a 281 K (2 a 8°C). Una vez abierto, evite su contaminación. Ambos reactivos deben llevarse a temperatura ambiente antes de utilizarse.

NOTA: Para prevenir la contaminación del reactivo de glucosa, coloque un volumen ligeramente mayor al que va a utilizar en un contenedor separado y no regrese el remanente al frasco original.

Materiales requeridos pero no incluidos.

Espectrofotómetro capaz de leer absorbancia a 500 nm, pipetas automáticas, bloque de calor o baño de temperatura controlada a 310 K (37°C) (Opcional), cubetas, agitador, cronómetro.

Recolección y Preparación de la Muestra:

-Suero: Remover el coágulo antes de 30 minutos de su recolección para prevenir la glicólisis.

-Plasma: Se recomienda utilizar un anticoagulante que no contenga flúor, sin embargo se puede utilizar otro anticoagulante común. Centrifugue y separe el plasma rápidamente de las células.

-Líquido cerebro espinal: No requiere preparación especial.

Estabilidad de la muestra: La glucosa en suero/plasma es estable durante 48 horas de 275 a 281 K (2-8°C). Las muestras de Líquido cerebro espinal deben de analizarse inmediatamente para prevenir la contaminación bacteriana.

Sustancias Interferentes: Pueden encontrarse valores bajos falsos de glucosa por excesiva cantidad de ácido ascórbico.

Analizador Automatizado.

Parámetros:

| | |
|-------------------------------------|--------------|
| Longitud de onda | 500 nm |
| Tipo de reacción | Punto Final |
| Dirección de la reacción | Incremento |
| Temperatura de reacción | 310 K (37°C) |
| Relación muestra / reactivo | 1:100 |
| Tiempo de equilibrio | 3 segundos |
| Tiempo de lectura | 4 segundos |
| Tiempo lag | 300 segundos |
| Absorbancia límite del blanco | 0.300 |
| Máxima absorbancia | 2.000 A |
| Valor normal bajo | 70 mg/dL |
| Valor normal alto | 105 mg/dL |
| Linealidad | 500 mg/dL |
| pH..... | 7.0 ± 1.0 |
| Absorbancia inicial | <0.300 |
| Estándar | 100 mg/dL |

Estos parámetros deben de considerarse al programar el analizador automático de glucosa, consulte el manual del instrumento para instrucciones de programación.

Procedimiento Manual:

1. Coloque en cubetas los siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien.

| | Reactivo Blanco (RB) | Estándar (E) | Muestra (M) |
|----------|----------------------|--------------|-------------|
| Reactivo | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Estándar | - | 0.01 | - |
| Muestra | - | - | 0.01 |

NOTA: El volumen se puede incrementar si el instrumento requiere volúmenes mayores que 1.0 mL.

- Incuba las cubetas a 310 K (37°C) por 5 minutos o a temperatura ambiente 288-303 K (15-30°C) por 10 minutos.
- Lea E y M contra RB a 500 nm antes de 60 minutos.

Control de Calidad: Se deben incluir dos sueros control con niveles de glucosa conocidos determinados por este método o por el procedimiento de hexocinasa en cada serie pruebas. Se recomienda el uso de Suero Control Normal Ser-T-Fy I y Suero Control Anormal Ser-T-Fy II para cada ensayo.

Resultados:

Los valores se derivan de la siguiente ecuación:

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \frac{A_M}{A_E} \times 100$$

donde A_M y A_S son los valores de las absorbancias de la muestra y el estándar respectivamente, y 100 es la concentración del estándar (mg/dL).

Ejemplo: Las siguientes lecturas se obtuvieron usando cubetas de 1 cm.

$A_M = 0.130$, $A_E = 0.178$

$$\text{Glucosa (mg/dL)} = \frac{0.130}{0.178} \times 100 = 73$$

Glucosa (mmol / L) = Glucosa (mg/dL) x 0.0556

Nota: Muestras que tengan valores arriba de 500 mg/dL. Deben ser diluidas 1:2 (1+1) con solución salina. Repetir la prueba y el resultado multiplicarlo por el factor de dilución 2.

Valores Esperados⁸:

Rango normal: Suero/Plasma 70-105 mg/dL (3.9-5.8 mmol/L)

Líquido cerebro espinal: 40-75 mg / dL, (2.2-4.2 mmol/L)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia tomando en cuenta las diferencias existentes entre instrumentos, laboratorio y población local.

Características⁹:

Precisión: Utilizando un suero que contenga glucosa en un rango normal y uno con valores elevados, se realizaron una serie de 5 pruebas durante 5 días. Los coeficientes de variación (CV) del intraensayo fueron de 1.6 y 1.2%, y en el interensayo fueron de 3.0 y 2.0% respectivamente.

Correlación: Determinación de glucosa por el procedimiento descrito (Y) y por el método de hexocinasa/método (x) en 40 sueros (rango: 56-582 mg/dL) mostraron un coeficiente de correlación (r) de 0.995 y una ecuación de regresión de $y = 0.98x - 1.99$.

Linealidad: Cuando se realiza directo, este método es lineal de 0 a 500 mg/dL.

Referencias:

- Folin, O., Wu, H.: J. Biol. Chem. 41: 367, 1920.
- Keilin, D., Hartree, E. F.: Biochem. J. 42: 230, 1948.
- Keston, A.S.: Abstr. 129th Meeting, Am. Chem. Soc., 1956, p 31c.
- Teller, J. D.: Abstr, 130th Meeting, Am. Chem. Soc., 1956, p 69c.
- Young, D. S. et al.: Clin. Chem. 21: 304D, 1975 (Special Issue).
- Howanitz, P.J. Howanitz, J.H.: IN Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 17th ed., J.B. Henry, Ed. W.B. Saunders, Philadelphia. 1984, p 168.
- Cooper, G.R. McDaniel, Manual of methods for the Determination of Glucose, CDC, USPHS, Atlanta.
- Caraway, W.T.: IN Fundamentals off Clinical Chemistry, 2nd ed., N.W. Tietz, Ed. Saunders, Philadelphia, 1976, p 242.
- Datos Stanbio Laboratory.

Fabricado en EUA por:
Stanbio Laboratory,
1261 North Main Street
Boerne TX, 78006.

Distribuido en México por:

Laboratorios Licon, S.A.

Viveros del rocío No. 33

Col. Viveros de la Loma

Tlalnepantla, Edo. de Méx.

C.P. 54080

Tel.: 5-362-02-99

Fax: 5-362-17-92

Rev: 21/11/02

IN-371

