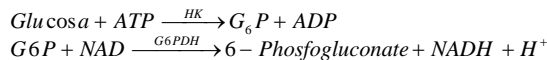


**GLUCOSA HEXOQUINASA****USO:**

Existe una gran cantidad de métodos para la medición de glucosa en fluidos biológicos. Los primeros métodos dependían de la reducción de metales pesados por el grupo de la Glucosa. Estos métodos eran sujetos a Interferencias con carbohidratos diferentes al de la glucosa. El método de Orto-Toluideno en 1959 y modificado después para reaccionar directamente con suero, es específico para aldosas, pero requiere de ácido corrosivo e incubación. Los métodos enzimáticos se describieron en 1949 con modificaciones variadas.

Este método de hexoquinasa se basa en una modificación de Slein, utilizando Hexoquinasa y Glucosa, 6-Fosfato Deshidrogenasa para catalizar la reacción. El método de referencia propuesto por la FDA para la medición de Glucosa.

PRINCIPIO:

La glucosa es fosforilada con adenosintrifosfato (ATP) en la reacción que es catalizada por hexoquinasa. El producto Glucosa-6-Fosfato se oxida con la reducción de la NAD a NADH, en la reacción cataliza la Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa la formación del nadh ocasiona un aumento en la absorción a 340nm. el aumento es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra.

CONTENIDO DEL REACTIVO:

- 1 Reactivo de glucosa.
Hexoquinasa 1000 U/L
G6PDH 1000 U/L
ATP 1.0mM.
NAD 1.0mM.
Buffer PH 7.05±0.1
Estabilizadores no reactivos.

PRECAUCIONES:

Este reactivo es para diagnóstico in vitro solamente.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Reconstituya con el volumen de agua destilada indicado en la etiqueta, agite suavemente, no fuerte.

ALMACEN DEL REACTIVO:

1. El reactivo se debe almacenar 2-8°C

2. El reactivo reconstituido es estable por 5 días a temperatura ambiente y 60 días refrigerado.

DETERIORO DEL REACTIVO:NO USE SI:

1. El reactivo tiene absorción mayor de 0.20 contra agua a 340nm.
2. El reactivo reconstituido no iguala los valores de control o la linealidad establecida.
3. El reactivo reconstituido desarrolla turbidez, esto indica contaminación.

COLECCION Y ALMACEN DE LA MUESTRA:

1. Suero: Utilice suero fresco no hemolizado.
2. Plasma: Se pueden utilizar muestras de tubos que contengan oxalato citrato. EDTA, Fluoruro y Heparina.
3. El suero y el plasma se deben separar de las células rojas para evitar Glicosilación. La glucosa disminuye un 7% por hora aproximadamente cuando se deja en contacto con glóbulos rojos. La adición de fluoruro de sodio al espécimen puede prevenir Glicosilación.
4. La glucosa en suero o plasma es estable por 8 hrs. a temperatura ambiente y 24 hrs. si está 2-8°C.

INTERFERENCIAS:

Vea Young para obtener una lista de drogas y sustancias que afectan la concentración de glucosa.

MATERIALES PROVISTOS:

Reactivo Glucosa Hexoquinasa.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS:

Instrumentos de pipeteo precisos.
Reloj
Tubos de ensayo o gradilla
Espectrofotómetro capaz de leer a 340nm.

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Ver aplicaciones apropiadas para cada instrumento.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

1. El reactivo se reconstituye de acuerdo a la etiqueta (ver preparación del reactivo).
2. Etiquete los tubos blanco, estándar, control, muestra, etc.
3. Agregue 1.0ml. de reactivo a todos los tubos.

4. Agregue 0.005 ml. (5 UL) de muestra a los tubos respectivos mezcle y deje reposar a temperatura ambiente por 3 min.
5. Ponga en cero el espectofotómetro con agua a 340 nM.
6. Lea y anote la absorbancia de todos los tubos.

NOTAS DEL PROCESO:

1. Las muestras extremadamente lipémicas pueden dar valores de glucosa falsos, prepare un blanco de muestra agregando 5UL de muestra a 1.0ml. de solución salina isotónica, lea contra agua y reste la lectura contra la absorción de la muestra a prueba.
2. La lectura final es estable 15 min. después del periodo de incubación.
3. Si el espectofotómetro requiere más que 1.0 ml. de reactivo para leer 3.0ml. de reactivo y 0.02ml. de muestra.

CALIBRACION:

Utilice un standard acuoso (100mg/dl) ó un calibrador sérico apropiado.

CONTROL DE CALIDAD:

La reacción debe ser monitoreada con el uso de suero de control normal y anormal.

CALCULOS:

(Abs.= Absorbancia)

$$\frac{ABS \text{ muestra} - ABS \text{ blanco}}{ABS \text{ Standard} - ABS \text{ blanco}} \times Conc.= Glucosa(mg / dl) \text{ std.}$$

LIMITANTES:

1. Las muestras con valores que exceden 600 mg/dl deben diluirse 1:1 con solución salina, corra de nuevo y el resultado multiplíquelo por 2.
2. Las muestras extremadamente hemolizadas no deben usarse para la medición de glucosa.
3. Las muestras extremadamente Lipémicas requieren de un blanco de muestra, ver muestras del procedimiento.

VALORES ESPERADOS

El rango normal es de 65-110 mg/dl. se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

DESEMPEÑO:

1. Linearidad 600 mg/dl.
2. Un estudio realizado entre este procedimiento y otro procedimiento de hexoquinasa resulto un coeficiente de correlación de 0.999 con una ecuación de regresión de $y=0.99 X + 0.681$. El estudio incluyó muestras con valores de 51 a 506 mg/dl.
3. Precision:

Entre pruebas		
Conc.	D.E.	C.V.%
104	1.3	1.3
299	3.8	1.3

Prueba a Prueba		
Conc.	D.E.	C.V.%
104	1.9	1.8
312	6.3	2.0

REFERENCIAS:

1. Folin, O., Wu, H., J. Biol Chem. 38:81 (1919)
2. Nelson, N.J., Biol Chem 153:375 (1944)
3. Hultman, E., Nature 183:108 (1959)
4. Hyvarinen, A., Nikkila, E.A. Clin Chem. Act 7:140 (1962)
5. Sudduth, N.C., et al, Am. J. Clin. Path. 53:181 (1970)

REV 5/91



DISTRIBUIDOR:
MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
 San Diego CA. 92154
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
 www.mymSupply.com
 email: mail@mymSupply.com