

**PRÁCTICA Nº 7:
DETERMINACIÓN DE GLUCOSA. MÉTODO GOD-POD**

1. SIGNIFICADO CLÍNICO

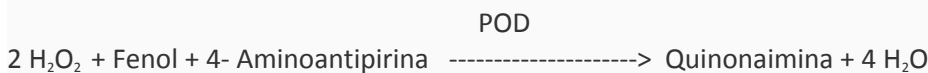
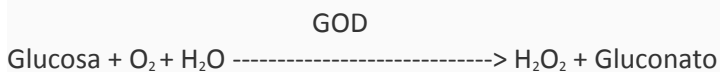
La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

2. FUNDAMENTO

La glucosa-oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de la glucosa en ácido glucónico o gluconato formando peróxido de hidrógeno (H₂O₂) el cual va a reaccionar a continuación con un receptor de O₂, en una reacción catalizada por la peroxidasa (POD). El cromógeno formado es proporcional a la concentración de glucosa existente en la muestra problema.

La determinación de glucosa se efectúa mediante el MÉTODO DE TRINDER según las siguientes reacciones:



El método de la GOD presenta gran especificidad para valorar glucosa en suero ya que la enzima es altamente específica para la β-D glucosa.

3. MATERIAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 500 nm
- Equipamiento habitual de laboratorio

4. REACTIVOS.

Los reactivos contenidos en el kit comercial son:

- Reactivo A: Fosfatos 100 mmol/L, fenol 5 mmol/L, glucosa oxidasa > 10 U/mL, peroxidasa > 1 U/mL, 4-aminoantipirina 0,4 mmol/L, pH 7,5 S.
- Patrón De Glucosa: 100 mg/dL

5. CONSERVACIÓN.

Conservar a 2-8°C.

El Reactivo y el Patrón son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivo: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 0,150 a 500 nm (cubeta de 1 cm).

- Patrón: Presencia de partículas o turbidez.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Tanto el Reactivo como el Patrón están listos para su uso.

7. EQUIPO ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 500 ± 20 nm

8. MUESTRAS

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. El suero o plasma deben separarse de los elementos celulares lo antes posible para evitar la glucolisis. La adición de fluoruro sódico a la muestra de sangre previene la glucolisis. La glucosa en suero o plasma es estable 5 días a 2-8°C. Los anticoagulantes como la heparina, EDTA, oxalato o fluoruro no interfieren.

9. PROCEDIMIENTO

1. Atemperar el Reactivo a temperatura ambiente.

2. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra	Control
Reactivo (A)	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Patrón (S)	-	10 µl	-	-
Muestra	-	-	10 µl	-
Control	-	-	-	10 µl

3. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25°C) o durante 5 minutos a 37°C.

4. Leer la absorbancia (A) del Patrón, de la Muestra y del Control a 500 nm frente al Blanco de reactivo. El color es estable durante al menos 2 horas.

5. A continuación se procederá a realizar los siguientes cálculos: (tanto para la muestra como para el control)

$$\frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Patrón}}} \times C_{\text{Patrón}} = C_{\text{Muestra}}$$

10. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los valores de referencia que se van a estimar son:

- Suero o plasma: 60-110 mg/dl

El método es lineal hasta valores de 500 mg/dl. Si la concentración de glucosa es superior a 500 mg/dl, diluir la muestra a 1:2 con solución salina y multiplicar el resultado por 2.