

TRABAJO PRÁCTICO 1

Determinación de la glucemia

La determinación de la glicemia (concentración de glucosa plasmática) se realiza en una muestra de suero o de plasma, obtenida a partir de una muestra de sangre venosa en condiciones de ayuno (10 horas). La medición de la glicemia posee un gran valor clínico, permite o contribuye a diagnosticar enfermedades como la diabetes Mellitus, la diabetes gestacional y el síndrome metabólico. La determinación debe realizarse antes de una hora de adquirida la muestra, debido a que las células sanguíneas como los leucocitos comienzan a consumir la glucosa lo que trae como consecuencia la obtención de valores falsamente disminuidos.

El método de elección para realizar la determinación de la glicemia es el método de la glucosa oxidasa. Paralelamente a la determinación de la muestra de interés, se deben determinar algunas muestras que nos permitan validar nuestro resultado, este paso es una parte crucial del proceso de aseguramiento de la calidad en un laboratorio.

Los valores de referencia de glucosa plasmática normal en ayuno fluctúan entre los 70 y 99 mg/dL.

Fundamento del método:

La secuencia de reacciones que ocurrirá en el tubo de ensayo es la siguiente:



Protocolo de trabajo

Determinación de la glicemia

1. Realice el siguiente protocolo

TUBO	1	2	3	4
agua	10 µl	---	---	---
estándar	---	10 µl	---	---
muestra	---	---	10 µl	10 µl
Reactivo	1000 µl	1000 µl	1000 µl	1000 µl

TUBO 1: Es el tubo que nos sirve de para determinar cuál es la absorbancia del REACTIVO, la cual debemos restar a los otros tubos, pues solo nos interesa la absorbancia de la GLUCOSA.

TUBO 2: El estándar es una muestra de concentración CONOCIDA, que nos servirá como referencia para el cálculo de la concentración del soluto buscado (en este caso glucosa en el plasma).

TUBO 3: Es la muestra como tal, de la que debemos determinar la concentración de glucosa en ella.

TUBO 4: Es un duplicado del Tubo 3, que nos sirve para tener un menor margen de error de la medición.

Incube los tubos en un baño termostático a 37°C por 5 min y posteriormente registre la absorbancia a 505 nm. (Esta incubación, permite que el reactivo trabaje en condiciones óptimas, que en este caso son 37°C)

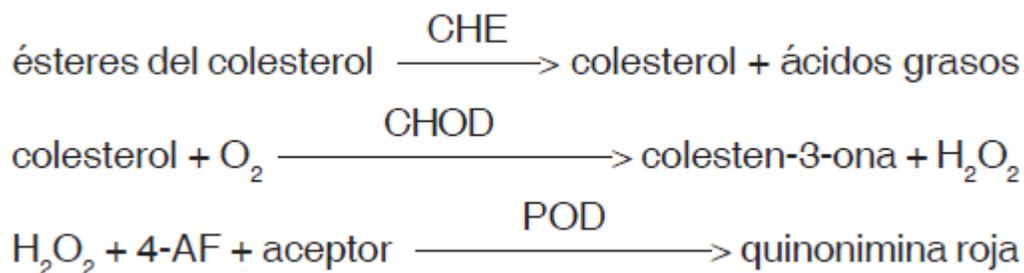
tubo	1	2	3	4
Absorbancia				

TRABAJO PRÁCTICO 2

Determinación del colesterol y triacilglicéridos

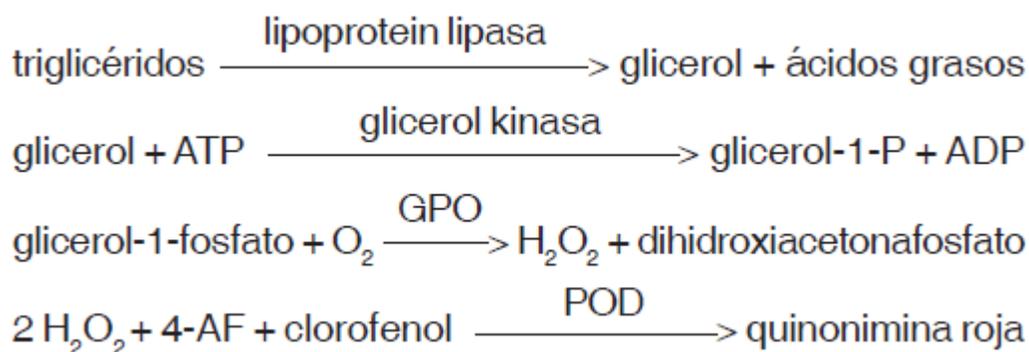
DETERMINACIÓN DEL COLESTEROL TOTAL

Fundamento del método para determinar colesterol:



CHE: Colesterol esterasa, **CHO:** Colesterol oxidasa, **POD:** (peroxidasa)

Fundamento del método para determinar triglicéridos:



GPO: Glicerol fosfato oxidasa, **POD:** (peroxidasa)

DETERMINACIÓN DE COLESTEROL

1. Realice el siguiente protocolo en duplicado

TUBO	1	2	3	4
agua	10 µl	---	---	---
estándar	---	10 µl	---	---
muestra	---	---	10 µl	10 µl
Reactivo colestat	1000 µl	1000 µl	1000 µl	1000 µl

TUBO 1: Es el tubo que nos sirve de para determinar cuál es la absorbancia del REACTIVO, la cual debemos restar a los otros tubos, pues solo nos interesa la absorbancia del colesterol/triglicéridos.

TUBO 2: El estándar es una muestra de concentración CONOCIDA, que nos servirá como referencia para el cálculo de la concentración del soluto buscado (en este caso colesterol/triglicéridos en el plasma).

TUBO 3: Es la muestra como tal, de la que debemos determinar la concentración de colesterol/triglicéridos en ella.

TUBO 4: Es un duplicado del Tubo 3, que nos sirve para tener un menor margen de error de la medición.

Incube los tubos en un baño regulado a 37°C por 5 min y posteriormente registre las absorbancia a 505 nm.

tubo	1	2	3	4
Absorbancia				

DETERMINACIÓN DE TRIACILGLICÉRIDOS

1. Realice el siguiente protocolo en duplicado

TUBO	1	2	3	4
agua	10 µl	---	---	---
estándar	---	10 µl	---	---
muestra	---	---	10 µl	10 µl
Reactivo triglicéridos	1000 µl	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Incube los tubos en un baño con temperatura regulada a 37°C por 5 min y posteriormente registre las absorbancia a 505 nm.

tubo	1	2	3	4
Absorbancia				