

ATP Hexokinase FS*

Présentation

Référence 1 6201 99 10 021 Composition du kit R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL

Emploi Prévu

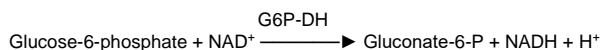
Réactif de diagnostic pour le dosage quantitatif in vitro de l'ATP dans le sang et les concentrés érythrocytaires sur systèmes photométriques.

Intérêt Clinique

La teneur en ATP dans le sang et les concentrés d'érythrocytes fournit des informations sur la viabilité des érythrocytes. Il a été démontré que la teneur en ATP des érythrocytes est bien corrélée avec le taux de survie de 24 h des érythrocytes. [1] Compte tenu de faibles exigences techniques, la mesure de l'ATP comme contrôle analytique de la qualité du concentré érythrocytaire est recommandée. [2]

Méthode

Cette méthode est établie par rapport au coefficient d'extinction molaire.



Réactifs

Composants et Concentrations

| | | | |
|-------------------|--|--------|-------------|
| R1 : | TRIS | pH 7,8 | 0,1 mol/L |
| | Mg ²⁺ | | 4 mmol/L |
| | Glucose | | 20 mmol/L |
| | NAD | | 2,1 mmol/L |
| R2 : | Mg ²⁺ | pH 7,0 | 4 mmol/L |
| | Hexokinase (HK) | | ≥ 7,5 kU/L |
| | Glucose-6-phosphat-déshydrogénase (G6P-DH) | | ≥ 7,5 kU/L |
| Standard : | | | 100 µmol/dL |

Conservation et Stabilité

Les réactifs et le standard sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler les réactifs et le standard et les conserver à l'abri de la lumière.

Avertissements et Précautions d'Emploi

- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (0,95 g/L) comme conservateur. Ne pas avaler ! Eviter le contact avec la peau et les muqueuses.
- Le réactif 2 contient de la matière animale. Manier le produit comme potentiellement infectieux selon les précautions universelles et de bonne pratique de laboratoire.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrant de gammopathie peuvent produire des valeurs fausses. [3]
- Les médicaments à base de sulfasalazine et de sulfapyridine peuvent entraîner des résultats erronés dans les échantillons de patients. Le prélèvement du sang doit être effectué avant l'administration du médicament.
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel.

Gestion des Déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation du Réactif

Le réactif et le standard sont prêts à l'emploi.

Matériels Nécessaires

Acide trichloracétique 10 – 12 % (p/v)
Equipement général de laboratoire

Préparation de l'Échantillon

Pipeter 1,0 mL de sang ou de concentré d'érythrocytes et 1,0 mL d'acide trichloracétique 10 – 12 % (p/v) dans un tube à centrifuger, bien mélanger et laisser environ 5 min. dans un bain de glace. Centrifuger la solution échantillon 5 à 10 min. à environ 3000 g. Après centrifugation, utiliser immédiatement 250 µL de surnageant clair dans l'essai. Utiliser le standard ATP sans préparation directement dans l'essai. Utiliser le standard ATP sans préparation d'échantillon directement dans le dosage. Si le standard ATP est utilisé pour la calibration, multiplier les résultats des patients par 2.

Note : L'ATP des échantillons est instable. La teneur en ATP du sang recueilli sur héparine ou EDTA décroît de 80 % en 24 h en cas de conservation entre +2 °C et +8 °C [4]. La conservation d'échantillons mélangés avec l'acide trichloracétique à –20 °C donne également des résultats fausses. C'est pourquoi les échantillons clarifiés par l'acide trichloracétique doivent être utilisés directement dans l'essai.

Éliminer les échantillons contaminés.

Mode Opérateur

Des applications adaptées aux systèmes automatisés sont disponibles sur demande.

| | |
|-----------------|------------------------------|
| Longueur d'onde | 340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm |
| Trajet optique | 1 cm |
| Température | +20 °C et +25 °C |
| Mesure | Contre l'air ou l'eau |

| | Blanc | Échantillon/Standard |
|--|---------|----------------------|
| Échantillon/Standard | - | 250 µL |
| Eau distillée | 250 µL | - |
| Réactif 1 | 2400 µL | 2400 µL |
| Mélanger, incubé 3 à 5 min. à +25 °C, lire l'absorbance (A1), puis ajouter : | | |
| Réactif 2 | 600 µL | 600 µL |
| Mélanger, incubé environ 15 min. à +25 °C. Lire l'absorbance (A2) dans les 30 min. | | |

Calcul

$$\Delta A = [A2 - A1]_{\text{Échantillon/Standard}} - [A2 - A1]_{\text{Blanc}}$$

Multiplier ΔA par le facteur de correspondance F du tableau ci-dessous pour calculer la concentration d'ATP :

| | Avec préparation des échantillons [µmol/dL] | Sans préparation des échantillons [µmol/dL] |
|-----------|---|---|
| 340 nm | 412,70 | 206,35 |
| Hg 334 nm | 420,71 | 210,36 |
| Hg 365 nm | 764,71 | 382,35 |

$$F = (V \times f \times 100) / (\epsilon \times v \times d) \quad [\mu\text{mol/dL}]$$

| | | |
|---|--|---|
| V | = Volume total dans la cuvette [µL] | = 3250 |
| f | = Facteur de dilution de la préparation | = 2,0 |
| d | = Trajet optique [cm] | = 1,00 |
| v | = Volume d'échantillon [µL] | = 250 |
| ε | = Coefficient ext. NADH [l x cm ⁻¹ x mmol ⁻¹] | = 6,3 à 340 nm = 3,4 à 365 nm = 6,18 à 334 nm |

Contrôle de Qualité

ATP Standard FS de DiaSys est recommandée pour le contrôle interne de précision et d'exactitude. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

| | Référence | Présentation |
|-----------------|------------------|--------------|
| ATP Standard FS | 1 6201 99 10 065 | 3 x 3 mL |

Performances

Les données exemplaires citées en bas peuvent varier légèrement en cas de conditions de mesure déviantes.

| | |
|---|-------------|
| Domaine de mesure jusqu'à 37 – 370 µmol/dL pour des mesures à 365 nm et de 20 – 400 µmol/dL pour des mesures à 334/340 nm. Au-delà de ces valeurs, réduire le volume d'échantillon à 125 µL et recalculer le facteur F avec le nouveau volume d'échantillon. | |
| Limite de détection** | 1,5 µmol/dL |

| Substance interférente | Interférences ≤ 10 % jusqu'à |
|------------------------|------------------------------|
| Acide ascorbique | 30 mg/dL |
| Bilirubine | 60 mg/dL |
| Hémoglobine | 30 mg/dL |
| Lipémie | 30 mg/dL |

Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS. [5]

| Précision | | | |
|---|---------------|---------------|---------------|
| Pour cette mesure on utilise des standards, des concentrés d'érythrocytes et des échantillons sanguins à protubérances. | | | |
| Intra série (n=20) | Échantillon 1 | Échantillon 2 | Échantillon 3 |
| Moyenne [µmol/dL] | 9,8 | 34,6 | 58,5 |
| CV [%] | 1,24 | 0,85 | 1,87 |
| Inter série (n=20) | Échantillon 1 | Échantillon 2 | Échantillon 3 |
| Moyenne [µmol/dL] | 43,7 | 88,5 | 183 |
| CV [%] | 3,66 | 3,69 | 3,64 |

** Concentration mesurable la plus basse qui peut être distinguée de zéro ; Moyenne + 3 SD (n = 20) d'un spécimen exempt d'analyte.

Taux de recouvrement

Le taux de recouvrement des concentrés d'érythrocytes à protubérances est d'environ 92 %.

Valeurs Usuelles

ATP dans le sang [6] 38 - 62 µmol/dL

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références Bibliographiques

- Högmann CF, de Verdier CH, Ericson A: Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at 4°C in vitro. 1. Cell shape and total adenylate concentration as determinant factors for posttransfusion survival. Vox Sang 48: 257-268, 1985.
- Heiden M., Seitz R: Zulassung von Blutkomponenten zur Transfusion. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz. 42: 150-155 Springer Verlag, 1999.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.
- Data on file at DiaSys Diagnostic Systems GmbH.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Dennemann H: Enzymatische Bestimmung von Adenosin-triphosphat in Vollblut. Z Gesamte Experimentelle Medizin 134:335, 1961.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Allemagne
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Liquide & Stable