

# ATP Hexokinase FS\*

## Bestellinformation

Bestell-Nr. 1 6201 99 10 021      Packungsgröße R1 5 x 20 mL      +      R2      1 x 25 mL

## Verwendungszweck

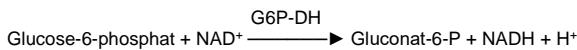
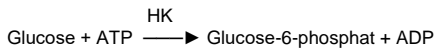
Reagenz für die quantitative in vitro Bestimmung von ATP in Blut und Erythrozytenkonzentraten an photometrischen Systemen.

## Zusammenfassung

Der ATP Gehalt in Blut und Erythrozytenkonzentraten gibt Auskunft über die Lebensfähigkeit der Erythrozyten. Es wurde gezeigt, dass der ATP Gehalt in Erythrozyten gut mit der 24 h Überlebensrate der Erythrozyten korreliert. [1] Da der messtechnische Aufwand relativ gering ist, wird der ATP Gehalt als Kriterium für die analytische Prüfung der Wirksamkeit von Erythrozytenkonzentraten empfohlen. [2]

## Methode

Diese Methode ist rückführbar auf den molaren Extinktionskoeffizienten.



## Reagenzien

### Bestandteile und Konzentrationen

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

## Lagerung und Haltbarkeit

Reagenzien und Standard sind bei 2 – 8 °C bis zum Ende des auf der Packung angegebenen Verfallsmonats verwendbar, wenn Kontamination vermieden wird. Reagenzien und Standard nicht einfrieren und lichtgeschützt aufbewahren.

## Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Reagenzien enthalten Natriumazid (0,95 g/L) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- Reagenz 2 enthält tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen. [3]
- Sulfasalazin- und Sulfapyridin Medikation kann in Patientenproben zu falschen Ergebnissen führen. Die Blutentnahme muss vor der Arzneimittelverabreichung erfolgen.
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung.

## Entsorgung

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

## Reagenzvorbereitung

Reagenz und Standard sind gebrauchsfertig.

## Benötigte Materialien

Trichloressigsäure-Lösung 10 – 12 % (w/v)  
Übliche Laborausrüstung

## Probenvorbereitung

1,0 mL Blut oder Erythrozytenkonzentrat mit 1,0 mL Trichloressigsäure 10 – 12 % (w/v) in ein Zentrifugenröhrchen pipettieren, gut durchmischen und für ca. 5 Min. in ein Eisbad stellen. Probefällung für 5 – 10 Min. bei ca. 3000 g zentrifugieren. 250 µL des klaren Überstands unmittelbar nach Zentrifugation zum Test einsetzen. Der ATP Standard kann ohne Probenvorbereitung zum Test eingesetzt werden. Wird zur Kalibration der ATP Standard verwendet, müssen die Patientenergebnisse mit 2 multipliziert werden.

**Hinweis:** ATP in Proben ist instabil. Der ATP-Gehalt in Heparin- oder EDTA-Blut verringert sich innerhalb von 24 h bei 2 – 8 °C um bis zu 80 % [4]. Die Lagerung der mit Trichloressigsäure versetzten Probe bei –20 °C führt ebenfalls zu falschen Ergebnissen. Mit Trichloressigsäure gefällte Erythrozytenkonzentrate möglichst rasch zum Test einsetzen.

Kontaminierte Proben verwerfen.

## Testschema

**Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.**

Wellenlänge 340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm  
Schichtdicke 1 cm  
Temperatur 20 – 25 °C  
Messung Gegen Luft oder Wasser

	Reagenzienleerwert	Probe oder Standard
<b>Probe oder Standard</b>	-	250 µL
<b>Aqua dest.</b>	250 µL	-
<b>Reagenz 1</b>	2400 µL	2400 µL
Mischen, 3 – 5 Min. bei 25 °C inkubieren, Extinktion (E1) ablesen, dann zufügen:		
<b>Reagenz 2</b>	600 µL	600 µL
Mischen, ca. 15 Min. bei 25 °C inkubieren. Extinktion (E2) innerhalb von 30 Min. ablesen.		

## Berechnung

$$\Delta E = [E2 - E1]_{\text{Probe/Standard}} - [E2 - E1]_{\text{Leerwert}}$$

Zur Berechnung der ATP-Konzentration wird  $\Delta E$  mit dem entsprechenden Faktor F aus der folgenden Tabelle multipliziert:

	Mit Probenvorbereitung	Ohne Probenvorbereitung
	[µmol/dL]	[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 = Gesamtvolumen in der Küvette [µL]	= 3250
f = Verdünnungsfaktor durch Probevorbereitung	= 2,0
d = Schichtdicke der Küvette [cm]	= 1,00
v = Probevolumen [µL]	= 250
ε = Ext.koeffizient NADH [l x cm <sup>-1</sup> x mmol <sup>-1</sup> ]	= 6,3 bei 340 nm = 3,4 bei 365 nm = 6,18 bei 334 nm

## Qualitätskontrolle

Zur Kontrolle von Präzision und Richtigkeit wird die Verwendung des DiaSys ATP Standard FS empfohlen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
ATP Standard FS	1 6201 99 10 065	3 x 3 mL

## Leistungsmerkmale

Die unten genannten exemplarischen Daten können bei unterschiedlichen Messbedingungen leicht abweichen.

Messbereich bis 37 – 370  $\mu\text{mol/dL}$  bei 365 nm bzw. von 20 – 400  $\mu\text{mol/dL}$  bei 334/340 nm.  
Werden diese Bereiche überschritten, sollte das Probevolumen auf 125  $\mu\text{L}$  reduziert und zur Berechnung der Faktor F auf das neue Probevolumen angepasst werden.

Nachweisgrenze\*\* 1,5  $\mu\text{mol/dL}$

Störende Substanz	Interferenzen $\leq 10\%$ bis
Ascorbinsäure	30 mg/dL
Bilirubin	60 mg/dL
Hämoglobin	30 mg/dL
Lipämie	30 mg/dL

Weitere Informationen zu den Interferenzen finden Sie bei Young DS. [5]

**Präzision**  
Als Proben wurden Standards, Erythrozytenkonzentrate und aufgestockte Serumproben eingesetzt.

In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [ $\mu\text{mol/dL}$ ]	9,8	34,6	58,5
VK [%]	1,24	0,85	1,87
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [ $\mu\text{mol/dL}$ ]	43,7	88,5	183
VK [%]	3,66	3,69	3,64

\*\* niedrigste messbare Konzentration, die von Null unterschieden werden kann; Mittelwert + 3 SD (n = 20) einer analytischen Probe.

## Wiederfindungsrate

Die Wiederfindungsrate von mit ATP aufgestockten Erythrozytenkonzentraten liegt bei ca. 92 %.

## Referenzbereiche

Blut ATP [6] 38 - 62  $\mu\text{mol/dL}$

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln.

## Literatur

- 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 Deutschland  
www.diasys-diagnostics.com

\* Flüssig Stabil