

ATP Hexokinase FS* (ATP Hexoquinasa FS*)

Información de Pedido

Nº de pedido 1 6201 99 10 021 Tamaño del envase R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL

Uso Previsto

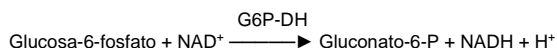
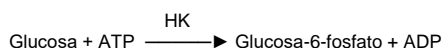
Reactivo diagnóstico para la determinación cuantitativa in vitro de ATP en sangre y concentrados de eritrocitos en equipos fotométricos.

Resumen

El contenido de ATP en sangre y concentrados de eritrocitos proporciona información acerca de la viabilidad de los eritrocitos. Se ha demostrado que el contenido de ATP en los eritrocitos se correlaciona con la tasa de supervivencia de 24 horas de los eritrocitos. [1] Dado que el gasto de medición es relativamente bajo, se recomienda utilizar el contenido de ATP como criterio para la prueba analítica de la efectividad de los concentrados de eritrocitos. [2]

Método

Este método es trazable al coeficiente de absorbancia molar.



Reactivos

Componentes y Concentraciones

R1:	TRIS	pH 7,8	0,1 mol/L
	Mg ²⁺		4 mmol/L
	Glucosa		20 mmol/L
	NAD		2,1 mmol/L
R2:	Mg ²⁺	pH 7,0	4 mmol/L
	Hexoquinasa (HK)		≥ 7,5 kU/L
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH)		≥ 7,5 kU/L
Estándar:			100 µmol/dL

Almacenamiento y Estabilidad

Los reactivos y el estándar son estables hasta el final del mes indicado como fecha de expiración, si son almacenados entre 2 y 8 °C, y si se evita la contaminación. No congelar los reactivos y el estándar y protegerlos de la luz.

Advertencias y Precauciones

- Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como conservante. ¡No ingerir! Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.
- El reactivo 2 contiene material de origen animal. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
- En casos muy raros, especímenes de pacientes sufriendo de gammopatías podrían acabar en valores falsificados. [3]
- La medicación con sulfasalazina y sulfapiridina puede acabar en resultados falsos en muestras de pacientes. La toma de sangre debe realizarse antes de que se administre el medicamento.
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para el diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- Únicamente para el empleo profesional.

Manipulación de Desechos

Remitirse a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

El reactivo y el estándar son listos para usar.

Materiales Requeridos

Solución de ácido tricloracético al 10 – 12 % (p/v)
Equipo general de laboratorio

Preparación de las Muestras

Pipetear 1,0 mL de sangre o de concentrado de eritrocitos con 1,0 mL de ácido tricloracético al 10 – 12 % (p/v) en un tubo de centrifuga, mezclar bien y colocar durante aprox. 5 min. en un baño de hielo. Centrifugar la solución de muestra durante 5 a 10 min. a aprox. 3000 g. Utilizar 250 µL del sobrenadante claro inmediatamente después de la centrifugación para el análisis. El estándar ATP puede añadirse para su análisis sin realizar ninguna preparación. Al utilizar el estándar ATP para una calibración, hay que multiplicar los resultados de pacientes con 2.

Nota: La ATP presente en las muestras es inestable. El contenido de ATP en la heparina o la sangre con EDTA disminuye hasta un 80 % en 24 h si se conserva a una temperatura de 2 a 8 °C [4]. La conservación de las muestras a las que se ha añadido ácido tricloracético a –20 °C causa resultados falsificados. Utilizar lo más pronto posible el concentrado de eritrocitos precipitado con el ácido tricloracético.

Desechar las muestras contaminadas.

Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automatizados.

Longitud de onda	340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	20 a 25 °C
Medición	Respecto al aire o al agua

	Blanco	Muestra/Estándar
Muestra/Estándar	-	250 µL
Agua destilada	250 µL	-
Reactivo 1	2400 µL	2400 µL
Mezclar, incubar durante 3 a 5 min. a 25 °C, leer la absorbancia (A1), añadir:		
Reactivo 2	600 µL	600 µL
Mezclar, incubar durante aprox. 15 min. a 25 °C. Leer la absorbancia (A2) en un periodo de 30 minutos.		

Cálculo

$$\Delta A = [A2 - A1]_{\text{Muestra/Estándar}} - [A2 - A1]_{\text{Blanco}}$$

Para calcular la concentración de ATP se multiplica ΔA con el correspondiente factor F de la siguiente tabla:

	Con preparación de las muestras	Sin preparación de las muestras
	[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	= volumen total en la cubeta [µL]	= 3250
f	= factor de dilución en la preparación de las muestras	= 2,0
d	= paso óptico de la cubeta [cm]	= 1,00
v	= volumen de la muestra [µL]	= 250
ε	= coeficiente ext. NADH [l x cm ⁻¹ x mmol ⁻¹]	= 6,3 a 340 nm = 3,4 a 365 nm = 6,18 a 334 nm

Control de Calidad

Se recomienda el empleo de ATP Standard FS de DiaSys (Estándar ATP FS) para controlar la precisión y exactitud del test. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo.

	Nº de pedido	Presentación
ATP Standard FS	1 6200 99 10 065	3 x 3 mL

Características

Los datos mencionados a continuación como ejemplos podrían diferir ligeramente en el caso de diferentes condiciones de la medición.

Rango de medición de 37 a 370 $\mu\text{mol/dL}$ a 365 nm bien concentraciones de 20 a 400 $\mu\text{mol/dL}$ a 334/340 nm. Cuando los valores exceden este rango, reducir el volumen de la muestra a 125 μL y ajustarlo al nuevo volumen para calcular el factor F.	
Límite de prueba**	1,5 $\mu\text{mol/dL}$

Sustancia interferente	Interferencias $\leq 10\%$ hasta
Ácido ascórbico	30 mg/dL
Bilirrubina	60 mg/dL
Hemoglobina	30 mg/dL
Lipemia	30 mg/dL

Para más información sobre interferencias, véase Young DS. [5]

Precisión
Como muestras se utilizó estándares, concentrado de eritrocitos y muestras de suero reconstituidas.

En la serie (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [$\mu\text{mol/dL}$]	9,8	34,6	58,5
CV [%]	1,24	0,85	1,87
De un día a otro (n=20)	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Valor medio [$\mu\text{mol/dL}$]	43,7	88,5	183
CV [%]	3,66	3,69	3,64

** Concentración mensurable la más baja que se distingue de cero; Medio + 3 SD (n = 20) de un espécimen sin analito.

Tasa de recuperación

La tasa de recuperación de los concentrados de eritrocitos reconstituidos con ATP es de aprox. 92 %.

Valores de Referencia

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

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- 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 Alemania
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Líquido Estable