

Esclusivamente per uso veterinario

Servizio clienti e assistenza tecnica +1-800-822-2947

Marzo 2007

N. parte: 500-7131, Rev. D

© 2003, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo rettilo/volatili VetScan® Plus usato con l'analizzatore di sangue intero VetScan impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* di aspartato aminotransferasi (AST), acidi biliari (BA), creatina chinasi (CK), acido urico (UA), glucosio (GLU), calcio totale (CA⁺⁺), fosforo (PHOS), proteine totali (TP), albumina (ALB), globulina* (GLOB), potassio (K⁺) e sodio (Na⁺) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.¹

* Valore calcolato

2. Sommario e spiegazione dei test

NOTA: Analizzare i campioni selezionando come specie "Other" ("Altro") (tipo animale) quando si utilizza il rotore Profilo rettili/volatili Plus. Il metodo dell'albumina (ALB) ha fattori di calibrazione specifici, memorizzati in questa funzione chiave. Per maggiori informazioni, consultare il manuale d'uso VetScan.

Il rotore reagente Profilo rettilo/volatili VetScan Plus e l'analizzatore di sangue intero VetScan costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il veterinario nella diagnosi delle seguenti patologie:

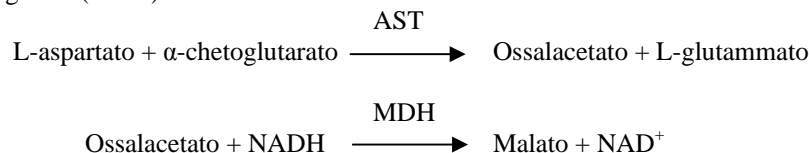
| | |
|---|--|
| Aspartato aminotransferasi (AST) | Malattia epatica, danno muscolare. |
| Acidi biliari (BA) | Malattia epatobiliare; anomalia vascolare portosistemica (PSVA); shunt extraepatico. |
| Creatina chinasi (CK) | Danno muscolare, usato in combinazione con AST per differenziare tra danno muscolare ed epatico. |
| Acido urico (UA) | Miglior indicatore della salute renale in quasi tutti i volatili e i rettili. |
| Glucosio (GLU) | Malattia epatica grave; sepsi; anoressia; malattia pancreatica. |
| Fosforo (PHOS) | Malattia renale e nutrizionale; bilancio idroelettrolitico. |
| Calcio (CA⁺⁺) | Produzione di uova; malattia ossea e renale. |
| Proteine totali (TP) | Malattia epatica, gastrointestinale e renale; disidratazione. |
| Albumina (ALB) | Malattia epatica e renale. |
| Globulina (GLOB) | Il recupero globulinico si calcola da TP e ALB. Disidratazione; stimolazione antigenica. |
| Potassio (K⁺) | Indicatore di lisi cellulare bilancio idroelettrolitico. |
| Sodio (Na⁺) | Indicatore di bilancio idroelettrolitico e disidratazione. |

Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principi della procedura

Aspartato aminotransferasi (AST)

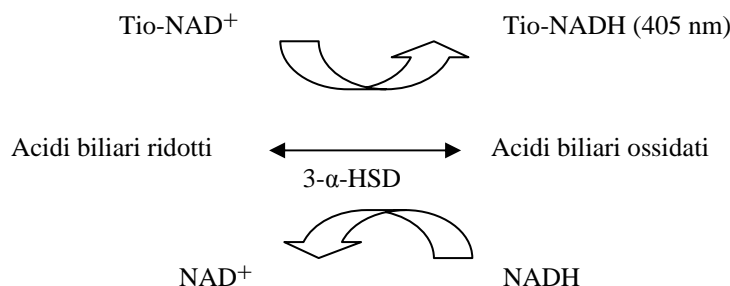
Il metodo Abaxis AST è una modificazione del metodo di riferimento IFCC.^{3,4} Questo metodo catalizza la reazione di L-aspartato e α -chetoglutarato in ossalacetato ed L-glutamato. L'ossalacetato è convertito in malato e l' NADH viene ossidato in NAD^+ dall'enzima malato deidrogenasi (MDH).



La velocità di variazione nell'assorbanza causata dalla conversione di NADH in NAD^+ è determinata bicromaticamente a 340 nm e 405 nm. Questa velocità è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Acidi biliari (BA)

In presenza del tio-derivato del nicotinammide adenin dinucleotide (tio- NAD^+), l'enzima 3- α -idrossisteroide deidrogenasi (3- α -HSD) ossida in modo reversibile gli acidi biliari in acidi biliari ossidati (forme 3- α -cheto) con concomitante conversione di tio- NAD^+ nella rispettiva forma ridotta (tio- NADH). In una reazione ciclica, gli acidi biliari ossidati sono riportati allo stato ridotto in presenza di NADH in eccesso. L' NADH viene convertito in NAD^+ . Nel sistema Abaxis, tio- NAD^+ , NADH e 3- α -HSD sono forniti come microsferi secche di reagente. La reazione ciclica amplifica i livelli di acidi biliari dal campione. La velocità di aumento nell'assorbanza a 405 nm (tio- NADH) viene misurata ed è proporzionale alla concentrazione di acidi biliari nel campione. La velocità viene misurata bicromaticamente a 405 e 500 nm.

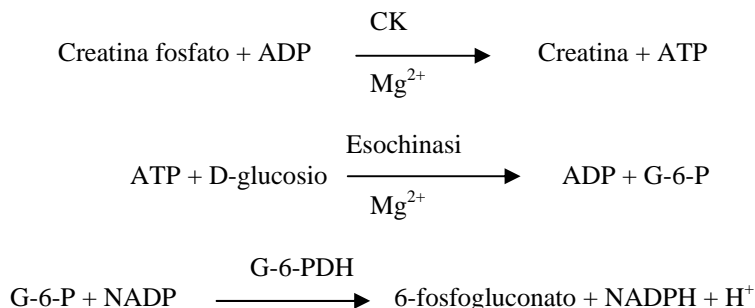


Creatina chinasi (CK)

La creatina chinasi catalizza la fosforilazione reversibile della creatina da parte dell'adenosina trifosfato (ATP).⁷

La procedura di misurazione della CK adottata da Abaxis è una variante dell'IFCC. Le modificazioni chiave sono frazione di volume del campione, tampone e temperatura. È stata aggiunta N-acetil cisteina (NAC) per riattivare CK.⁹ Il magnesio è usato come cofattore sia per CK che per esochinasi. È stato aggiunto EDTA come stabilizzatore per NAC e per la rimozione di vari cationi, quali calcio e ferro, che inibiscono CK. Sono stati inoltre aggiunti P^1 , P^5 -di (adenosina-5')pentaosfato e adenosina monofosfato (AMP) per inibire l'adenilato chinasi, un altro enzima eritrocitario e muscoloscheletrico che reagisce con i substrati usati per misurare CK.

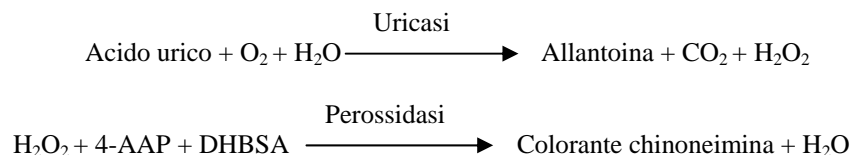
La creatina chinasi catalizza la formazione di creatina e adenosina trifosfato (ATP) da creatina fosfato P^1 , P^5 -di (adenosina 5')pentaosfato (ADP) a pH 6,7. Con esochinasi come catalizzatore, l'ATP reagisce con il D-glucosio formando ADP e D-glucosio-6-fosfato (G-6-P), che a sua volta reagisce con nicotinammide adenin dinucleotide fosfato (NADP) in presenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) per produrre G-6-P e NADPH.



La formazione di NADPH è misurata come variazione nell'assorbanza a 340 nm rispetto a 405 nm. Questa variazione di assorbanza è direttamente proporzionale all'attività della creatina chinasi nel campione.

Acido urico (UA)

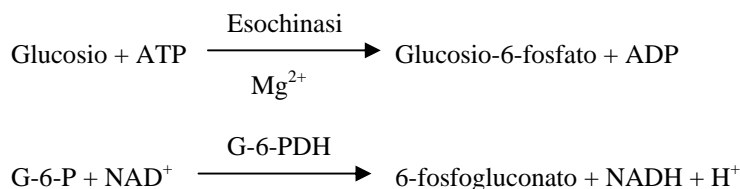
La tecnica di chimica clinica standard per questo dosaggio utilizza l'enzima uricasi specifico per l'acido urico.²⁴ Il metodo dell'uricasi si abbina a un reagente Trinder.²⁵ In questo metodo, l'uricasi catalizza l'ossidazione dell'acido urico in allantoina e perossido di idrogeno. La perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno (H₂O₂), 4-aminotantipirina (4-AAP) e acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzenzolfonico (DHBSA) in chinoneimina colorante rosso. Il ferrocianuro di sodio e l'ascorbato ossidasi vengono aggiunti alla miscela di reazione per ridurre al minimo la possibile interferenza della bilirubina e dell'acido ascorbico.



La quantità di acido urico nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del colorante chinoneimina. L'assorbanza finale di questa reazione di endpoint viene misurata bicompativamente a 515 nm e 600 nm.

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu¹⁰ e Somogyi-Nelson^{11,12}). La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio incorporato nel rotore reagente rettili/volatili è una variante del metodo dell'esochinasi proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.¹³ La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dall'esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione del nicotinammide adenin dinucleotide (NAD⁺) in NADH.



Calcio totale (CA⁺⁺)

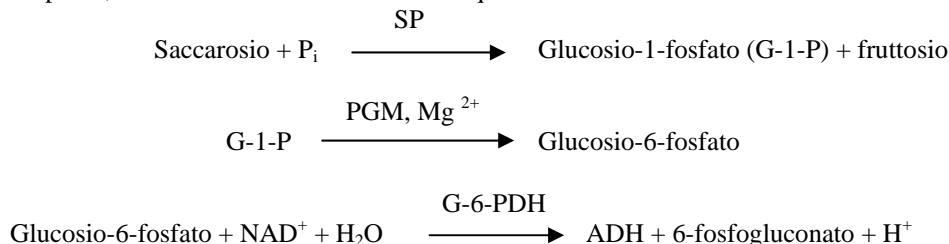
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.^{5,6}



La reazione di endpoint viene monitorata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio nel campione è proporzionale all'assorbanza.

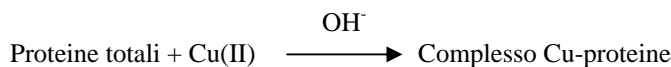
Fosforo (PHOS)

Il metodo enzimatico più adatto per il sistema Abaxis utilizza saccarosio fosforilasi (SP) in combinazione con fosfoglucomutasi (PGM) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH).^{14,15} Applicando il sistema enzimatico a ciascuna mole di fosforo inorganico presente nel campione, si forma una mole di NADH. La quantità di NADH formata si misura come endpoint a 340 nm.



Proteine totali (TP)

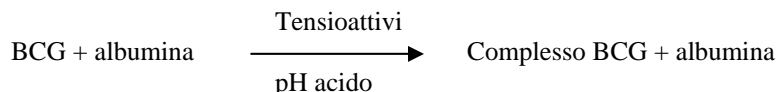
Nella reazione del biuret, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.²² Gli ioni Cu(II) reagiscono con i legami peptidici tra gli atomi di ossigeno del gruppo carbonilico e di azoto del gruppo ammidico formando un complesso colorato Cu-proteine.



La quantità di proteine totali presenti nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del complesso Cu-proteine. Il test delle proteine totali è una reazione di endpoint.

Albumina (ALB)

Le tecniche colorimetriche sono i metodi più frequentemente usati per misurare l'albumina. Il verde bromocresolo (BCG) è l'agente più comunemente usato per i metodi colorimetrici, ma può sovrastimare la concentrazione di albumina, soprattutto nella fascia bassa del range normale.²

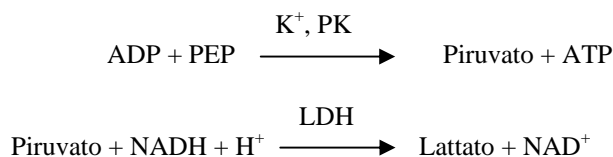


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint che viene misurata bicromaticamente a 630 nm e 405 nm.

Potassio (K⁺)

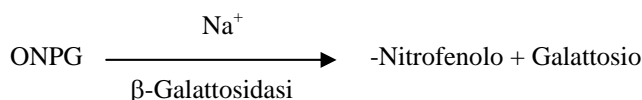
Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis si basa sull'attivazione della piruvato chinasi (PK) con il potassio e presenta linearità eccellente e sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.^{16, 17, 18} L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e di glutammato deidrogenasi.¹⁸

Nella reazione enzimatica accoppiata, PK defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ . La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell' NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di potassio nel campione.



Sodio (Na⁺)

Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{19, 20, 21} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β -galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione di o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



e l'assorbanza è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

4. Principio del test

Per i principi e i limiti della procedura, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan.

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni rotore reagente Profilo rettili/volatili VetScan Plus contiene microsfere secche di reagente specifico per il test. Ogni rotore reagente comprende un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di albumina, alanina aminotransferasi, calcio, creatina chinasi, glucosio, potassio, sodio e azoto ureico. Il rotore comprende un campione bianco dedicato per calcolare la concentrazione dei livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Il contenitore del diluente nel rotore reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un rotore con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel rotore.
- Le microsfere di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione delle microsfere (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un rotore reagente), evitare ingestione, contatto cutaneo e inalazione.
- Le microsfere di reagente e il diluente contengono sodio azide che può reagire con le tubature di piombo e rame formando azoturi altamente esplosivi. Se si rispettano le procedure raccomandate, i reagenti non vengono a contatto con le tubature in piombo e rame. Tuttavia, qualora i reagenti venissero a contatto con tali tubature, sciacquare con abbondanti quantità d'acqua per evitare l'accumulo di azide.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i rotori reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Aprire il sacchetto sigillato di foglio d'alluminio ed estrarre il rotore, prestando attenzione a non toccare l'anello con il codice a barre situato sulla parte superiore del rotore stesso. Per l'uso, seguire le istruzioni fornite nel manuale d'uso del sistema VetScan. Gettare il rotore se non lo si utilizza entro 20 minuti dall'apertura del sacchetto. I rotori in sacchetti aperti non possono essere riposti in frigorifero per essere utilizzati successivamente.

Conservazione

Conservare i rotori reagente nei sacchetti sigillati a 2-8 °C (36-46 °F). Non esporre i rotori, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90°F). Non lasciare i rotori sigillati nei sacchetti di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire il sacchetto ed estrarre il rotore soltanto prima dell'uso.

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente

- Tutti i reagenti contenuti nell'apposito rotore, se conservati nel modo sopra descritto, sono stabili sino alla data di scadenza stampata sul sacchetto del rotore. **Non** utilizzare un rotore dopo la data di scadenza. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore di sangue intero VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente – (cont.)

- In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare rotori prelevati da sacchetti danneggiati.

6. Strumento

Per informazioni complete sull'uso dell'analizzatore, vedere il manuale d'uso del sistema VetScan.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

La quantità minima di campione è di ~100 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o controllo di siero. La camera del campione su rotore reagente può contenere fino a 120 µL di campione.

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.²⁶ Analizzare il campione di siero o plasma separato entro 5 ore dalla centrifugazione. Qualora ciò non fosse possibile, refrigerare il campione in una provetta tappata a 2-8 °C (36-46 °F) per non più di 48 ore. Un campione di plasma o siero può essere conservato a -10 °C (14 °F) per un massimo di 5 settimane in un congelatore privo di ciclo di autoscongelo.

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore di sangue intero VetScan è la litio eparina.
- Gli interferenti fisici (emolisi, ittero e lipemia) possono causare variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. L'analizzatore di sangue intero VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a emolisi, lipemia o ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- La creatina chinasi viene inattivata sia da luce solare intensa che dall'aumento del pH del campione a causa di perdita di anidride carbonica. Conservare pertanto i campioni al buio in provette accuratamente tappate.²⁷
- Le concentrazioni di glucosio sono influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente e dal tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, prelevare i campioni da pazienti a digiuno da almeno 12 ore.²⁸
- Le concentrazioni di acidi biliari possono essere influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente; le misurazioni pre e postprandiali nei volatili possono essere complesse a causa della variabilità in termini di conservazione e ingestione di mangime.
- Il dosaggio del potassio nel sistema VetScan è un test combinato di piruvato chinasi (PK) / lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema VetScan può pertanto recuperare un valore di potassio (K+) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello inteso di potassio elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo rettili/volatili VetScan Plus, numero parte: 500-1041 (una confezione di 12 rotori, numero parte: 500-0041-12)

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico di sangue intero VetScan

Parametri del test

Il sistema VetScan funziona a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59-92 °F). Il tempo di analisi per ogni rotore reagente Profilo rettili/volatili VetScan Plus è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il rotore reagente a una temperatura di 37 °C (98,6 °F).

Procedura del test

Le procedure complete per la raccolta dei campioni e le istruzioni operative dettagliate sono riportate nel manuale d'uso del sistema VetScan.

Calibrazione

L'analizzatore di sangue intero VetScan è calibrato dal fabbricante prima della spedizione. Il codice a barre stampato sull'apposito anello fornisce i dati di calibrazione specifici per i rotori. Vedere il manuale d'uso del sistema VetScan.

Controllo di qualità

Per verificare l'accuratezza dell'analizzatore di sangue intero VetScan, è possibile analizzare periodicamente i controlli appositi. Abaxis raccomanda di analizzare un controllo a base di siero normalmente in commercio. Analizzare i controlli sul rotore reagente seguendo la stessa procedura adottata per i campioni dei pazienti. Per l'analisi dei controlli, vedere il manuale d'uso del sistema VetScan.

9. Risultati

L'analizzatore di sangue intero VetScan calcola e stampa automaticamente le concentrazioni di analiti nel campione. I dettagli dei calcoli delle reazioni di endpoint e velocità sono riportati nel manuale d'uso del sistema VetScan.

10. Limiti della procedura

I limiti generici della procedura sono descritti nel manuale d'uso dei sistemi VetScan.

- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range del dosaggio, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore di sangue intero VetScan.**

- I campioni con ematocriti superiori al 60% del volume dei globuli rossi concentrati possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Questi campioni possono essere centrifugati e il plasma quindi rianalizzato in un nuovo rotore reagente.
- Non sono state studiate tutte le specie di volatili/rettili e pertanto sono possibili effetti matrice sconosciuti.
- Il rotore reagente Profilo rettili/volatili Plus è stato concepito unicamente per campioni di volatili e rettili.

Avvertenza: Test su larga scala di VetScan hanno dimostrato che in rarissimi casi il campione dispensato nel rotore reagente non riesce a fluire omogeneamente nell'apposita camera. A causa del flusso irregolare, è possibile che venga analizzata una quantità di campione inadeguata e che vari risultati non rientrino nei range di riferimento definiti. Il campione può essere rianalizzato usando un rotore reagente nuovo.

11. Valori attesi

I range normali più attendibili sono quelli stabiliti per la propria popolazione di pazienti. I risultati dei test devono essere interpretati in associazione al quadro clinico del paziente. Per personalizzare range normali specifici sul proprio VetScan per la serie "Other" (Altro), consultare il manuale d'uso del sistema VetScan alla voce "Menu Key functions" (funzioni dei tasti di menu).

Per i riferimenti in letteratura sui range normali per volatili e rettili, consultare i seguenti riferimenti bibliografici:

- 1) Fudge A. Laboratory Medicine / Avian and Exotic Pets; Philadelphia, PA, W.B. Saunders Company: 2000.
- 2) Johnson-Delaney C. Exotic Companion Medicine Handbook, Volume I & II; Lake Worth, FL: 2000.
- 3) Altman B, et al. Avian Medicine and Surgery; Philadelphia, PA, W.B. Saunders Company: 1997.

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se il sistema VetScan è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale d'uso del sistema VetScan). La tabella dei range dinamici di seguito fornita, rappresenta lo spettro rilevabile dal sistema VetScan. **Gli intervalli seguenti non rappresentano i range normali.**

Tabella 1: Range dinamici VetScan

| Analita | Range dinamici Unità comuni | Unità SI |
|------------------|--------------------------------|--------------------|
| AST | 5 – 2000 U/L | 5 – 2000 U/L |
| BA | 35 – 200 µmol/L | 35 – 200 µmol/L |
| CK | 5 – 14000 U/L | 5 – 14000 U/L |
| UA | 0,3 – 25,0 mg/dL | 18 – 1488 µmol/L |
| GLU | 10 – 700 mg/dL | 0,6 – 38,9 mmol/L |
| CA ⁺⁺ | 4 – 16 mg/dL | 1,0 – 4,0 mmol/L |
| PHOS | 0,2 – 20,0 mg/dL | 0,06 – 6,46 mmol/L |
| TP | 2 – 14 g/dL | 20 – 140 g/L |
| ALB_BCG | 1 – 6,5 g/dL | 10 – 65 g/L |
| GLOB* | 0 – 13,0 g/dL | 0 – 130 g/L |
| K+ | 1,5 – 8,5 mmol/L | 1,5 – 8,5 mmol/L |
| NA+ | 110 – 170 mmol/L | 110 – 170 mmol/L |

* Valore calcolato

Precisione

Studi di precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida NCCLS EP5-A²⁹ con modifiche basate su NCCLS EP18-P³⁰ per i dispositivi a utilizzo unitario. I risultati di precisione intra-sessione e totale sono stati determinati testando controlli bi-livello. Le determinazioni di albumina, aspartato aminotransferasi, calcio, creatina chinasi, globulina, glucosio, fosforo, sodio, proteine totali e acido urico sono state eseguite in un sito. I controlli sono stati analizzati in duplicato due volte al giorno per un periodo di quattro settimane; il potassio è stato determinato in due siti per 20 giorni. Gli acidi biliari sono stati determinati in un sito per 5 giorni.

Tabella 2: Precisione

| Analita | Dimensioni del campione | Intra-sessione | Totale |
|---|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| Albumina-BCG (g/dL) | | | |
| | n = 80 | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 3,9 | 3,9 |
| SD | | 0,13 | 0,14 |
| %CV | | 3,3 | 3,6 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 2,3 | 2,3 |
| SD | | 0,09 | 0,10 |
| %CV | | 3,9 | 4,3 |
| Aspartato aminotransferasi (U/L) | | | |
| | n = 80 | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 47 | 47 |
| SD | | 0,98 | 0,92 |
| %CV | | 2,1 | 2,0 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 145 | 145 |
| SD | | 1,83 | 1,70 |
| %CV | | 1,3 | 1,2 |
| Acidi biliari (µmol/L) | | | |
| | n = 40 | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 101,0 | 101,0 |
| SD | | 4,40 | 4,60 |
| %CV | | 4,4 | 4,5 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 172,4 | 172,4 |
| SD | | 8,47 | 8,47 |
| %CV | | 4,9 | 4,9 |
| Calcio (mg/dL) | | | |
| | n = 80 | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 8,6 | 8,6 |
| SD | | 0,21 | 0,25 |
| %CV | | 2,4 | 2,9 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 11,8 | 11,8 |
| SD | | 0,39 | 0,40 |
| %CV | | 3,3 | 3,4 |
| Creatina chinasi (U/L) | | | |
| | n = 120 | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 105 | 105 |
| SD | | 2,89 | 3,74 |
| %CV | | 2,8 | 3,6 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 469 | 469 |
| SD | | 12,23 | 28,32 |
| %CV | | 2,6 | 6,0 |

Tabella 2: Precisione (segue)

| Analita | Dimensioni del campione | Intra-sessione | Totale |
|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| Globulina (g/dL) | | | |
| n = 80 | | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 3,2 | 3,2 |
| SD | | 0,13 | 0,14 |
| %CV | | 4,1 | 4,4 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 2,0 | 2,0 |
| SD | | 0,07 | 0,07 |
| %CV | | 3,5 | 3,5 |
| Glucosio (mg/dL) | | | |
| n = 80 | | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 66 | 66 |
| SD | | 0,76 | 1,03 |
| %CV | | 1,1 | 1,6 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 278 | 278 |
| SD | | 2,47 | 3,84 |
| %CV | | 0,9 | 1,4 |
| Fosforo (mg/dL) | | | |
| n = 80 | | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 6,9 | 6,9 |
| SD | | 0,15 | 0,18 |
| %CV | | 2,2 | 2,6 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 3,4 | 3,4 |
| SD | | 0,14 | 0,17 |
| %CV | | 4,1 | 4,9 |
| Potassio (mmol/L) | | | |
| n = 120 | | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 6,12 | 6,12 |
| SD | | 0,32 | 0,35 |
| %CV | | 5,2 | 5,7 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 4,1 | 4,1 |
| SD | | 0,24 | 0,26 |
| %CV | | 5,9 | 6,3 |
| Sodio (mmol/L) | | | |
| n = 80 | | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 143,5 | 143,5 |
| SD | | 2,28 | 2,28 |
| %CV | | 1,6 | 1,6 |
| Controllo 2 | | | |
| Media | | 120,0 | 120,0 |
| SD | | 2,13 | 2,13 |
| %CV | | 1,8 | 1,8 |
| Proteine totali (g/dL) | | | |
| n = 80 | | | |
| Controllo 1 | | | |
| Media | | 6,8 | 6,8 |
| SD | | 0,05 | 0,08 |
| %CV | | 0,8 | 1,2 |

Tabella 2: Precisione (segue)

| Analita | Dimensioni del campione | Intra-sessione | Totale |
|----------------------------|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| Controllo 2 | | | |
| | Media | 4,7 | 4,7 |
| | SD | 0,09 | 0,09 |
| | %CV | 1,9 | 1,9 |
| Acido urico (mg/dL) | n = 80 | | |
| Controllo 1 | | | |
| | Media | 3,8 | 3,8 |
| | SD | 0,15 | 0,18 |
| | %CV | 4,0 | 4,8 |
| Controllo 2 | | | |
| | Media | 7,5 | 7,5 |
| | SD | 0,24 | 0,29 |
| | %CV | 3,2 | 3,9 |

13. Bibliografia

1. Howe PE. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. *J Biol Chem* 1921;49: 93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-108.
3. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977;23: 887-99.
4. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24: 720-1.
5. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
6. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
7. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. *J Biol Chem* 1959;234: 3201-4.
8. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
9. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
10. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;38: 81-110.
11. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
12. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
13. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
14. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
15. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
16. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
17. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-7.
18. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:1528-31.

19. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
20. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-12.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-8.
22. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
23. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980;26: 816-826.
24. Feichtmeir TV and Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25: 833-839.
25. Fossati P, et al. Use of 3,5-dichlor-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
27. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:804.
28. Overfield CV, et al. Glycolysis: A Re-Evaluation Of The Effect On Blood Glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.