

Servicio y asistencia técnica al cliente : 800-822-2947

Marzo 2007

PN : 400-7152 Rev : D

© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El disco con panel Plus metabólico básico de Piccolo®, usado con el analizador químico de sangre de Piccolo, está diseñado para la determinación cuantitativa *in vitro* de calcio, cloruro, creatinina, glucosa, lactato deshidrogenasa, magnesio, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico en un ámbito de laboratorio clínico. **Este disco sólo debe utilizarse para pruebas de suero y plasma heparinizados.**

2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco con panel Plus metabólico básico de Piccolo y el analizador químico de sangre de Piccolo constituyen un sistema diagnóstico *in-vitro* que ayuda al médico a diagnosticar las siguientes afecciones :

Calcio:	Hiperparatiroidismo, hipotiroidismo, enfermedades de huesos y enfermedades renales crónicas; tétanos.
Cloruro:	Deshidratación, diarrea y vómitos prolongados, tubulopatía renal, hiperparatiroidismo, quemaduras, nefropatías perdedoras de sal, sobrehidratación y tratamiento con tiazidas.
Creatinina:	Enfermedad renal y control de diálisis renal.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, incluida la diabetes mellitus del adulto y juvenil, e hipoglucemia, hipopituitarismo, pancreatitis y nefropatía.
Lactato deshidrogenasa:	Enfermedades hepáticas como hepatitis viral aguda y cirrosis; enfermedades cardíacas como infarto de miocardio; y alteraciones tisulares del corazón, riñones, hígado y músculos.
Magnesio:	Hipomagnesemia e hipermagnesemia.
Potasio:	Glomerulopatía o tubulopatía renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento endovenoso con potasio excesivo, sepsis, panhipopituitarismo, hiperaldosteronismo, malnutrición, hiperinsulinismo, alcalosis metabólica y pérdida gastrointestinal.
Sodio:	Deshidratación, diabetes insípida, pérdida de líquidos gastrointestinales hipotónicos, intoxicación por sal, disminución selectiva de la sensación de sed, pérdidas cutáneas, quemaduras, sudoración, hiperaldosteronismo, alteraciones del SNC, hiponatremia por dilución, por depleción y por delirio, y síndrome de secreción inadecuada de HAD.
Dióxido de carbono total:	Alcalosis y acidosis metabólica primaria, y alcalosis y acidosis respiratoria primaria.
Nitrógeno ureico:	Enfermedades renales y metabólicas.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, antes del diagnóstico final hay que considerar todos los restantes procedimientos de prueba, incluido el estado clínico del paciente.

3. Principio del procedimiento

Calcio (CA)

Los primeros métodos usados para analizar el calcio comprendieron la precipitación del calcio con un exceso de aniones.^{1,2,3} Los métodos de precipitación son trabajosos y a menudo imprecisos. El método de referencia para el calcio es la espectroscopía por absorción atómica; sin embargo, este método no es adecuado para uso rutinario.⁴ Los métodos espectrofotométricos mediante o-cresoltaleína complexona (CPC) o arsenazo III como indicadores metalocrómicos son los que se utilizan con mayor frecuencia.^{5,6,7} El arsenazo III tiene una gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

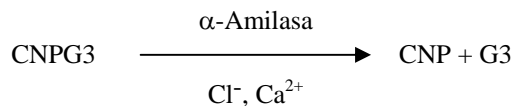
El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tinción de calcio.



El criterio de valoración de la reacción final se controla a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio en la muestra es proporcional a la absorbancia.

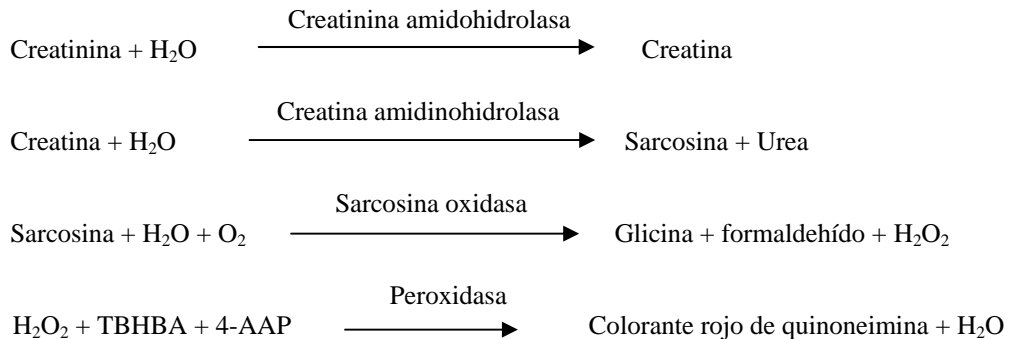
Cloruro (Cl⁻)

El método se basa en la determinación de la activación, dependiente del cloruro, de la actividad de la α -amilasa. La α -amilasa desactivada se reactiva al añadir el ion cloruro, permitiendo que el calcio se vuelva a asociar con la enzima. La reactivación de la α -amilasa es proporcional a la concentración de iones de cloruro en la muestra. La α -amilasa reactivada convierte el sustrato, 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP3) en 2-cloro-p-nitrofenol (CNP) que produce color y una α -maltotriosa (G3). La reacción se mide biocromáticamente y el aumento en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la α -amilasa reactivada y la concentración de ion cloruro en la muestra.⁸



Creatinina (CRE)

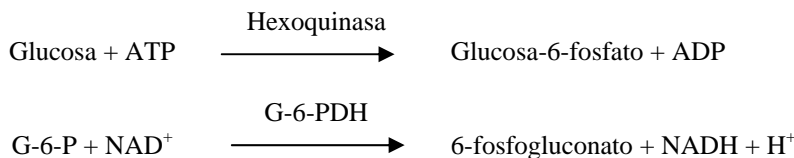
El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método actual de referencia combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción.^{9,10} Se han desarrollado métodos enzimáticos más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica Jaffe.^{11,12,13} Los métodos mediante la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia de ion amonio encontrada en técnicas que utilizan creatinina iminohidrolasa.¹⁴



Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina endógena de los cálculos, la concentración de creatinina es proporcional a la intensidad del color rojo producido. El criterio de valoración del fin de la reacción se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 630 nm.

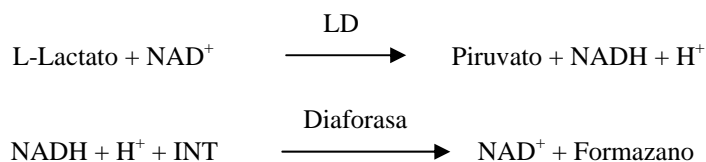
Glucosa (GLU)

Las mediciones de la concentración de glucosa fueron introducidas por primera vez mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu¹⁵ y Somogyi-Nelson^{16,17}). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa incorporada en el disco con panel Plus metabólico básico es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.¹⁸ La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por hexoquinasa (HK), resulta en glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a NADH.



Lactato deshidrogenasa (LD)

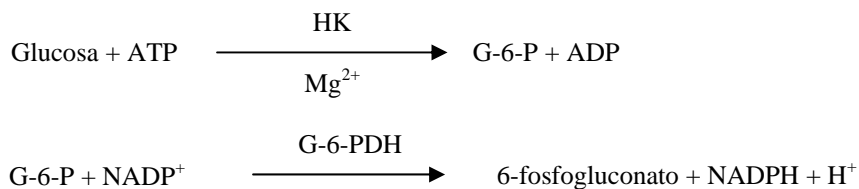
El lactato deshidrogenasa (LD) cataliza la oxidación reversible de lactato L a piruvato con la reducción consecuente de la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH). El método está basado en la reacción de lactato a piruvato de Wacker et al.¹⁹ Posteriormente se oxida la NADH con la reducción simultánea del violeta de p-iodonitrotetrazolio (INT) a un colorante de formazano de color vivo en una reacción catalizada por diaforasa.



La velocidad de formación del formazano se mide biocromáticamente a 500 y 630 nm. La velocidad es directamente proporcional a la actividad de LD en la muestra.

Magnesio (MG)

El método de activación de la hexoquinasa (HK) para el magnesio es el método de mejor ajuste del sistema de Piccolo en términos de sensibilidad, precisión y exactitud.²⁰ El método de magnesio enzimático puede describirse como

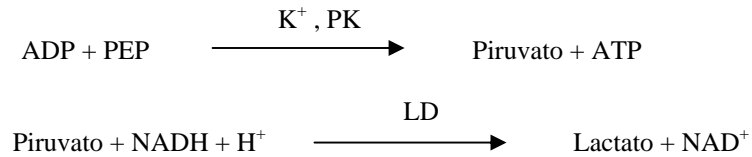


La reacción que limita la velocidad es la reacción de HK. El magnesio de la muestra activa la HK, que a su vez cataliza la descomposición de la glucosa para formar glucosa-6-fosfato (G-6-P) y ADP. En presencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G-6-PDH), G-6-P reacciona con la nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADP⁺) para formar fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADPH) y 6-fosfogluconato. Esta es una reacción de primer orden de velocidad. La producción de NADPH es directamente proporcional a la cantidad de magnesio presente en la muestra. La absorbancia se mide bicromáticamente a 340 nm y 405 nm.

Potasio (K⁺)

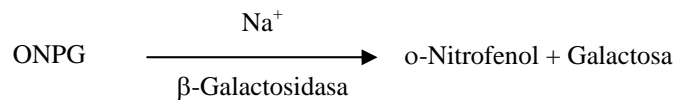
Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. El método enzimático Abaxis se basa en la activación de la piruvato quinasa con potasio, y muestra una linealidad excelente y una susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas.^{21,22,23} La interferencia de los iones sodio y amonio se reduce al mínimo al añadir Kryptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente.²³

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvatoquinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactato deshidrogenasa (LD) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD⁺. La velocidad de cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.



Sodio (Na⁺)

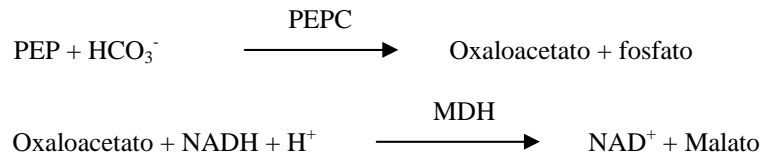
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración de sodio mediante instrumentación química clínica estándar.^{24,25,26} En la reacción enzimática de Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio presente en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.



Dióxido de carbono total (tCO₂)

El dióxido de carbono total en suero o en plasma existe como dióxido de carbono disuelto, derivados carbamino de las proteínas, iones de bicarbonato y carbonato, y ácido carbónico. El dióxido de carbono total puede ser medido por el indicador pH, el electrodo CO₂ y métodos enzimáticos espectrofotométricos, todos los cuales producen resultados exactos y precisos.^{27,28} El método enzimático es apropiado para usar con un analizador químico sanguíneo de rutina sin complejidad adicional para el proceso.

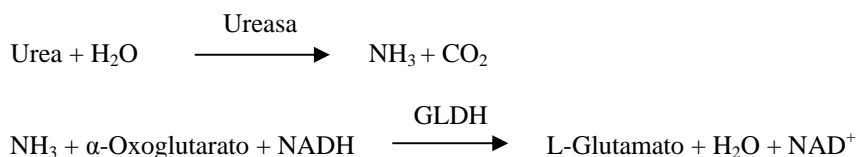
En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO₂) a bicarbonato (HCO₃⁻). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO₃⁻ reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC). La malato deshidrogenasa (MDH) cataliza la reacción de oxaloacetato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH) a NAD⁺ y malato. La velocidad del cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de tCO₂ en la muestra.



Nitrógeno ureico (BUN)

La urea puede ser medida tanto directa como indirectamente. La reacción de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, se utiliza con frecuencia, pero emplea reactivos peligrosos.²⁹ Los métodos indirectos miden amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas.³⁰ El amoníaco es cuantificado por una variedad de métodos, incluida la nesslerización (valoración ácida), la técnica de Berthelot^{31,32}, y reacciones enzimáticas acopladas.^{35,36} Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco.³⁵ Las reacciones de enzimas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad por el amoníaco y son usadas con frecuencia. Una de estas reacciones fue propuesta como un posible método de referencia.³⁶

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Al combinarse el amoníaco con α -cetoglutarato y NADH, la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH a NAD⁺.



4. Principios de la operación

Ver el manual del operador del analizador químico de sangre de Piccolo para recibir información sobre los principios y limitaciones del procedimiento. Schembri et al han aportado una descripción detallada del analizador y del disco reactivo Piccolo.³⁷

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada disco de panel Plus metabólico básico de Piccolo contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas (descritas a continuación). Se incluye un reactivo seco de muestra de referencia (compuesto de amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes) en cada disco para usar en el cálculo de las concentraciones de calcio, cloruro, glucosa, lactato deshidrogenasa, magnesio, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico. En el disco se incluye una muestra de referencia dedicada para la creatinina (CRE). Cada disco contiene un diluyente que consta de surfactantes y estabilizantes.

Tabla 1 : Reactivos

Componente	Cantidad/Disco
2, 4, 6-Tribromo-3-ácido hidroxibenzoico	188 µg
2-Cloro-4-nitrofenil-alfa-maltotriosido (CNPG3)	52,5 µg
4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosano (Kryptofix 222)	0,3 µg
4,7,13,16,21-Pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]trisocosano (Kryptofix 221)	84 µg
4-Aminoantipirina*HCl	13 µg
N-Acetil cisteína	15,3 µg
Adenosina-5'-trifosfato	27 µg
Amilasa	0,0357 U
Arsenazo III, sal sódica	1,7 µg
Ascorbato oxidasa	0,3 U
Reactivo Bovuminar, polvo puro	164 µg
Acetato de calcio	25,2 µg
Ácido cítrico, sal trisódica	567 µg
Creatina amidohidrolasa	3 U
Creatinina amidohidrolasa	1 U
Dextrano, baja fricción	224 µg
Diaforasa	0,084 U
Etilenglicol-bis(β-aminoetil éter)-N,N',N'-ácido tetra-acético (EGTA)	18,8 µg
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	178,42 µg
β-Galactosidasa	0,005 U

Tabla 1 : Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad/Disco
Glucosa	64 µg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	0,022 U
Glutamato deshidrogenasa	0,1 U
Hexoquinasa	0,112 U
Violeta de <i>p</i> -iodonitrotetrazolio (INT)	5,082 µg
Imidazol	29 µg
<i>myo</i> -Inositol	160 µg
Acido α -cetoglutárico	19 µg
Lactato deshidrogenasa	0,3 U
Lactato de litio	96,77 µg
Sulfato de magnesio	29 µg
Malato deshidrogenasa	0,1 U
D-manitol	420 µg
β -nicotinamida adenina dinucleótido (NAD ⁺)	89,2 µg
β -nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	28 µg
β -nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), sal sódica	29,6 µg
<i>o</i> -Nitrofenil- β -D-galactopiranosida (ONPG)	22 µg
n-Octilglucosida	21 µg
Peroxidasa	1 U
Fosfoenolpiruvato	23 µg
Fosfoenolpiruvato carboxilasa	0,001 U
Polietilenglicol, 3400	168 µg
Polivinilpirrolidona (K 29-32)	4 µg
Cloruro potásico	47,59 µg
Ferrocianuro de potasio	0,4 µg
Piruvato quinasa	0,01 U
Sarcosina oxidasa	1 U
Cloruro de sodio	12 µg
D(+) Trehalosa, dihidrato	650 µg
Trietanolamina clorhidrato	19,16 µg
Tris(hidroximetilo)aminometano (base libre)	296,44 µg
Tris(hidroximetilo)aminometano*HCl	40,91 µg
Triton X-100	1,72 µg
Ureasa	0,05 U
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y conservantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*
- El envase del diluyente del disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un disco con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el disco antes de cerrar el cajón.
- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Cuando manipule y elimine discos usados siga las prácticas de seguridad del laboratorio.³⁸ Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo para obtener instrucciones de limpieza de derrames biopeligrosos.
- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallar si se caen. Nunca use un disco que se haya caído ya que puede esparcir material biológico peligroso en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los discos de reactivo pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. No permita que los discos sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa de aluminio sellada, saque el disco y úselo según las instrucciones proporcionadas en el manual del operador del analizador químico de sangre de Piccolo. Deseche los discos no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa.

Almacenamiento

Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8°C (36-46°F). No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32°C (90°F). Los discos de reactivo pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en el paquete. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico de sangre de Piccolo.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo.

Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa la eficacia del reactivo. No use discos de bolsas dañadas.

6. Instrumento

Para obtener información completa sobre el uso del analizador, consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

7. Obtención y preparación de las muestras

En la sección "Obtención de muestras" del manual del operador del analizador químico de sangre de Piccolo se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- La cantidad mínima requerida para la muestra es ~100 µl de plasma heparinizado, suero o materia de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.
- No agite el tubo para obtención de muestras; esto puede causar hemólisis. La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de potasio y lactato deshidrogenasa.
- Además, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con rapidez pueden tener niveles de potasio elevados por la pérdida intracelular de potasio.³⁹
- Para las muestras de plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).
- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.
- La concentración de dióxido de carbono total es determinada con mayor precisión cuando la prueba se lleva a cabo inmediatamente después de abrir el tubo y lo más pronto posible después de la obtención y procesado de la sangre en el tubo cerrado. El aire contiene mucho menos dióxido de carbono que el plasma y el dióxido de carbono gaseoso disuelto escapará de la muestra al aire, con una disminución resultante en el valor del dióxido de carbono de hasta 6 mmol/l en el curso de 1 hora.⁴⁰

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Disco con panel Plus metabólico básico Piccolo. PN : 400-1031 (una caja de discos, PN : 400-0031)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico de sangre de Piccolo
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (refiérase al Manual del operador del analizador químico de sangre de Piccolo).

Parámetros de prueba

El analizador químico de sangre de Piccolo funciona a temperaturas ambiente entre 15°C y 32°C (59-90°F). El tiempo de análisis para cada disco con panel Plus metabólico básico de Piccolo es de menos de 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37°C (98,6° F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba

La obtención completa de la muestra y los procedimientos de operación paso a paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

Calibrado

El analizador químico de sangre de Piccolo es calibrado por el fabricante antes de su envío. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del disco. Ver el manual del operador del analizador químico de sangre de Piccolo.

Control de calidad

La eficacia del analizador químico de sangre de Piccolo puede verificarse por medio de controles. Los controles recomendados por Abaxis se enumeran en el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles.

Consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo para obtener una descripción detallada sobre la realización, registro, interpretación y extrapolación de los resultados del control.

9. Resultados

El analizador químico de sangre de Piccolo calcula e imprime automáticamente las concentraciones de sustratos de la muestra. Podrá encontrarse información pormenorizada sobre los cálculos de la velocidad de la reacción y criterios de valoración en el Manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

En el manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en tarjetas de resultados proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se describen en el Manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

- Con este disco sólo puede utilizarse plasma o suero heparinizado por su propensión a mostrar valores de LD erróneamente altos a causa de la rotura de glóbulos rojos.
- El único anticoagulante **recomendado para su uso** con el sistema químico de sangre de Piccolo es **heparina litio**. Abaxis realizó estudios que demuestran que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante con iones de amonio interferirán con por lo menos un producto químico del disco con panel Plus metabólico básico de Piccolo.
- **Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra y vuélvala a evaluar en el analizador químico de sangre de Piccolo.**

Advertencia : Pruebas exhaustivas del sistema químico de sangre de Piccolo han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al disco de reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo disco reactivo.

Interferencia

Se probaron sustancias como factores de interferencia con los analitos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada obstáculo potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-A.⁴¹

Efectos de las sustancias endógenas

- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El sistema químico de sangre de Piccolo suprime cualquier resultado que sea afectado por una interferencia superior al 10% por hemólisis, lipemia o ictericia. En lugar del resultado, en la tarjeta de resultados se imprime “HEM”, “LIP” o “ICT”, respectivamente, a excepción de LD. Puede consultar una explicación de los efectos de LD en la próxima viñeta. Póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para obtener información acerca de los límites endógenos.
- Se detectan niveles importantes de LD en los glóbulos rojos. La rotura de estas células puede aumentar el nivel de LD. Por consiguiente, todas las pruebas de LD son sensibles a la hemólisis a causa de la liberación de LD por los glóbulos rojos. No se detectaron interferencias notables en LD (> 10%) cuando se probaron valores de HEM de hasta 50 mg/dL. Solamente para la prueba de LD, si el valor de HEM es superior a 50 y menor o igual que 100 mg/dL, se imprimirá el valor de LD seguido de una “H”, para indicar alguna influencia adicional causada por hemólisis. Si el valor de HEM es mayor que 100 mg/dL y menor o igual que 150 mg/dL, el valor de LD va precedido de un signo “<” y seguido de una “H”. De esta forma se indica que la recuperación real de LD es inferior a lo indicado. El propósito de estas anotaciones es facilitar la interpretación de la actividad de LD en presencia de pequeñas cantidades de hemólisis. Para los valores de HEM superiores a 150, no se indican resultados y sólo se imprime “HEM”.
- Los niveles de amilasa muy elevados (>9.000 U/l) tendrán un efecto significativo, superior al 10% de aumento, sobre el resultado del cloruro. El sistema Piccolo no evalúa la concentración de amilasa de cada muestra.
- La prueba de potasio del sistema Piccolo es un ensayo de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LD o LDH) acoplados. Por tanto, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el Piccolo puede recuperar un valor de potasio (K+) falsamente elevado. En casos como éste, los valores de recuperación de potasio inesperadamente altos deben confirmarse con otra metodología.

Efectos de las sustancias terapéuticas y los metabolitos

Se seleccionaron 38 fármacos y metabolitos como posibles factores de interferencia con los métodos de cloruro, calcio, creatinina, glucosa, magnesio, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico sanguíneo. Los fármacos y metabolitos evaluados se seleccionaron conforme a las recomendaciones de Young.⁴² Once de ellos fueron ensayados en la prueba de LD y se muestran marcados con un *. Se seleccionaron dos sustancias adicionales (ácido láctico y citrato de litio), marcados con (sólo LD), como factores de interferencia potencial con la prueba de LD y se probaron sólo con éste. Una interferencia significativa se define como un desvío superior al 10% en el resultado de una muestra de control. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con una concentración conocida de los fármacos o químicos y posteriormente fueron analizadas.

Tabla 2 : Sustancias terapéuticas evaluadas

	Límite fisiológico o terapéutico^{41 - 45} (mg/dL)	Concentración máxima probada (mg/dL)
Paracetamol*	2 - 10	100
Acetoacetato*	0,05 - 3,6	102
Ácido acetilsalicílico*	1 - 2	50
Ampicilina	0,5	30
Ácido ascórbico	0,8-1,2	20
Ácido ascórbico* (LD)	0,8-1,2	3
Cafeína*	0,3 - 1,5	10
Cefalotina (Keflin)	10	400
Cloranfenicol	1 - 2,5	100
Cimetidina	0,1 - 1	16
Dopamina	0,3 - 1,5	19
Epinefrina		1
Eritromicina	0,2 - 2,0	10
Glutaciona		30
Hidroclorotiazida		7,5
Ibuprofeno*	0,5 - 4,2	50
Isoniacida	0,1 - 0,7	4
Cetoprofen		50
L-dopa		5
Ácido láctico (sólo LD)	4,5 - 19,8	60
Lidocaína*	0,15 - 0,60	1
Citrato de litio (sólo LD)	0,4 - 0,8	3,5
Lactato de litio	6 - 12	84
Meticilina		100
Metotrexato	> 50,05 ^A	0,5
Metotrexato * (LD)	> 50,05	450
Metronidazol	0,1	5
Nafcilina		1
Nitrofurantoína	0,2	20
Oxacilina		1
Oxaloacetato*		132
Penicilina G		100
Fenitoína (5,5-Difenilhidantoína)*	1 - 2	3
Prolina		4
Piruvato*	0,3 - 0,9	44
Rifampina	0,4 - 3	0,5
Ácido salicílico		50
Sulfadiazina		150
Sulfanilamida	10 - 15	50
Teofilina	1 - 2	20

^A Concentración terapéutica de metotrexato actualizada sobre la base de la recomendación NCCLS Vol. 22 No. 27.

Tabla 3 : Sustancias con interferencia significativa superior al 10%

	Límite fisiológico/ Terapéutico ⁴¹⁻⁴⁵ (mg/dL)	Concentración con > 10% de interferencia (mg/dL)	% Interferencia^A
Calcio	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Cloruro	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Creatinina			
Ácido ascórbico	0,8 - 1,2	20	11% dism.
Dopamina	0,3 - 1,5	19	80% dism.
L-dopa		5	71% dism.
Epinefrina		1	45% dism.
Glutaciona		30	13% dism.
Glucosa			
Oxaloacetato		132	11% dism.
Piruvato	0,3 - 0,9	44	
Lactato deshidrogenasa			
Oxaloacetato		99 (ningún efecto en 66)	18% dism.
Magnesio	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Potasio			
Penicilina G		100	17% aum.
Sulfadiazina	2 - 4	150	12% dism.
Sodio			
Cefalotina	10	400	12% aum.
Metotrexato	> 50,05	0,5	11% aum.
Penicilina G		100	10% aum.
Dióxido de carbono total			
Paracetamol	2 - 10	100	11% aum.
Ácido ascórbico	0,8 - 1,2	20	12% dism.
Cefalotina	10	400	13% aum.
Cimetidina	0,1 - 1	16	19% dism.
Eritromicina	0,2 - 2,0	10	21% dism.
Lidocaína	0,15 - 0,60	1	23% aum.
Metotrexato	> 50,05	0,5	80% dism.
Nitrofurantoína	0,2	20	13% aum.
Ácido salicílico	15 - 30	50	17% dism.
Sulfadiazina	2 - 4	150	25% dism.
Nitrógeno ureico	Ninguno	Ninguno	Ninguno

^A Dism.= disminución en la concentración del sustrato especificado; Aum. = aumento en la concentración del sustrato especificado

^B Concentración terapéutica de metotrexato actualizada sobre la base de NCCLS Vol. 22 No. 27

Tabla 4 : Concentración de analitos en la mezcla de suero usada para los estudios de interferencia

Parámetro	Concentración
Calcio	9,5 mg/dL
Cloruro	93 mmol/L
Creatinina	4,1 mg/dL
Glucosa	96 mg/dL
Lactato deshidrogenasa	276 U/L y 703 U/L
Magnesio	4,3 mg/dL
Potasio	3,8 mmol/L
Sodio	124 mmol/L
Dióxido de carbono total	6 mmol/L
Nitrógeno ureico	26 mg/dL

- Para la prueba de cloruro, el bromuro a niveles tóxicos (≥ 15 mmol/l) puede causar un efecto significativo ($>10\%$ de aumento) sobre el resultado del cloruro. El yoduro a concentraciones muy altas (30 mmol/l, el nivel más elevado que se ha probado) no tiene efecto. Los niveles fisiológicos normales de bromuro y yoduro no interfieren en el Sistema de prueba del cloruro de Piccolo.

11. Valores esperados

Se analizaron las muestras de 60 a 150 varones y mujeres adultos en el analizador químico de sangre de Piccolo para determinar el intervalo de referencia para los analitos, con la excepción de LD. Para LD, el intervalo de referencia se determinó aplicando técnicas estadísticas de regresión lineal a un estudio de correlación que se comparó con el intervalo de referencia publicado para el Beckman Synchron LX20. Estos intervalos sólo se proporcionan como una recomendación. Se recomienda que su consultorio o institución establezca rangos normales para su población particular de pacientes.⁴⁶

Tabla 5 : Intervalos de referencia de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Calcio	8,0 – 10,3 mg/dL	2,0 – 2,58 mmol/L
Cloruro	98 – 108 mmol/L	98 – 108 mmol/L
Creatinina	0,6 – 1,2 mg/dL	53 – 106 μ mol/L
Glucosa	73 – 118 mg/dL	4,05 – 6,55 mmol/L
Lactato deshidrogenasa*	99 – 192 U/L	99 – 192 U/L
Magnesio	1,6 – 2,3 mg/dL	0,66 – 0,95 mmol/L
Potasio	3,6 – 5,1 mmol/L	3,6 – 5,1 mmol/L
Sodio	128 – 145 mmol/L	128 – 145 mmol/L
Dióxido de carbono total	18 – 33 mmol/L	18 – 33 mmol/L
Nitrógeno ureico (BUN)	7 – 22 mg/dL	2,5 – 7,9 mmol/urea/L

* Se observó un pequeño aumento (de aproximadamente 6 U/L) en el lactato deshidrogenasa en suero, en comparación con el plasma heparinizado. Este aumento es coherente con la diferencia entre suero y plasma para LD, según se describe en otros artículos.^{47,48} Los glóbulos rojos liberan LD durante el proceso de coagulación que ocurre en la preparación del suero.

12. Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo de los límites dinámicos enumerados a continuación, cuando el analizador químico de sangre de Piccolo es operado de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo).

Tabla 6 : Límites dinámicos de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Calcio	4,0 – 16,0 mg/dL	1,0 – 4,0 mmol/L
Cloruro	80 – 135 mmol/L	80 – 135 mmol/L
Creatinina	0,2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
Glucosa	10 – 700 mg/dL	0,56 – 38,9 mmol/L
Lactato deshidrogenasa	50 – 1000 U/L	50 – 1000 U/L
Magnesio	0,1 – 8,0 mg/dL	0,04 – 3,3 mmol/L
Potasio	1,5 – 8,5 mmol/L	1,5 – 8,5 mmol/L
Sodio	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
Dióxido de carbono total	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L
Nitrógeno ureico (BUN)	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol/urea/L

Sensibilidad (límites de detección)

El límite inferior del intervalo informable (dinámico) para cada analito es : calcio 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); cloruro 80 mmol/L; creatinina 0,2 mg/dL (18 µmol/L); glucosa 10 mg/dL (0,56 mmol/L); lactato deshidrogenasa 50,0 U/L; magnesio 0,1 mg/dL (0,04 mmol/L); potasio 1,5 mmol/L; sodio 110 mmol/L; dióxido de carbono total 5 mmol/L y nitrógeno ureico 2,0 mg/dL (0,7 mmol urea/L).

Precisión

Los estudios de precisión se realizaron mediante el uso de las recomendaciones⁴⁹ NCCLS EP5-A2 con modificaciones basadas en NCCLS EP18-A⁵⁰ para dispositivos a usar con la unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total se determinaron mediante dos niveles de materiales de referencia disponibles comercialmente. Los estudios utilizaron múltiples instrumentos. Las pruebas de calcio, creatinina, glucosa, sodio y nitrógeno ureico fueron realizadas en un sitio; las de potasio y dióxido de carbono total se realizaron en dos sitios a lo largo de 20 días; la prueba de cloruro, lactato deshidrogenasa y magnesio se realizó en dos sitios a lo largo de cinco días.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la tabla 7.

Tabla 7 : Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
<u>Calcio (mg/dL)</u>			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		8,6	8,6
DE		0,21	0,25
% VR		2,4	2,9
<u>Control 2</u>			
Media		11,8	11,8
DE		0,39	0,40
% VR		3,3	3,4
<u>Cloruro (mmol/L)</u>			
<u>Control 1</u>	N = 160		
Media		97,8	97,8
DE		1,63	1,74
% VR		1,7	1,7
<u>Control 2</u>			
Media		113,6	113,6
DE		1,97	2,22
% VR		1,7	2,0
<u>Creatinina (mg/dL)</u>			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		1,1	1,1
DE		0,14	0,14
% VR		12,5	13,1
<u>Control 2</u>			
Media		5,2	5,2
DE		0,23	0,27
% VR		4,4	5,2
<u>Glucosa (mg/dL)</u>			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		66	66
DE		0,76	1,03
% VR		1,1	1,6
<u>Control 2</u>			
Media		278	278
DE		2,47	3,84
% VR		0,9	1,4
<u>Lactato deshidrogenasa (U/L)</u>			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		87	87
DE		3,0	4,4
% VR		3,4	5,0
<u>Control 2</u>			
Media		350	350
DE		3,8	7,0
% VR		1,1	2,0

Tabla 7 : Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Magnesio (mg/dL)	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		1,9	1,9
DE		0,03	0,06
% VR		1,7	3,4
<u>Control 2</u>			
Media		3,9	3,9
DE		0,04	0,10
% VR		1,0	2,6
Potasio (mmol/L)	N = 120		
<u>Control 1</u>			
Media		6,12	6,12
DE		0,32	0,32
% VR		5,2	5,7
<u>Control 2</u>			
Media		4,10	4,10
DE		0,24	0,26
% VR		5,9	6,3
Sodio (mmol/L)	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		143,5	143,5
DE		2,28	2,28
% VR		1,6	1,6
<u>Control 2</u>			
Media		120,0	120,0
DE		2,13	2,13
% VR		1,8	1,8
Dióxido de carbono total (mmol/L)	N = 120		
<u>Control 1</u>			
Media		21,4	21,4
DE		2,29	2,29
% VR		10,7	10,7
<u>Control 2</u>			
Media		10,5	10,5
DE		0,90	0,90
% VR		8,6	8,6
Nitrógeno ureico (mg/dL)	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		19	19
DE		0,35	0,40
% VR		1,9	2,1
<u>Control 2</u>			
Media		65	65
DE		1,06	1,18
% VR		1,6	1,8

Correlación

Las muestras de suero heparinizado y de plasma para la prueba de LD se obtuvieron y analizaron en el analizador químico de sangre de Piccolo y por métodos de comparación. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Se eligieron muestras que cumplieran los valores de distribución de las recomendaciones NCCLS EP9-A.2⁵¹ Las estadísticas de correlación representativas se muestran en la tabla 8.

Tabla 8 : Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación

	Coefficiente de correlación	Pendiente	Intercepción	VER	N	Límites de la muestra	Método de comparación
Calcio (mg/dL)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2 – 11,9	Paramax®
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1 – 9,9	Beckman
Cloruro (mmol/L)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71 – 118	Vitros 950® Ortho
Creatinina (mg/dL)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4 – 14,7	Paramax®
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4 – 7,5	Beckman
Glucosa (mg/dL)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72 – 422	Paramax®
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56 – 646	Beckman
Lactato deshidrogenasa (U/L)	0,994	0,983	3,8	26,3	60	44 – 1172	Synchron® LX20 Beckman
Magnesio (mg/dL)	0,996	1,002	0,0	0,105	134	0,9 – 7,7	Vitros® 950 Ortho
Potasio (mmol/L)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0 – 6,8	KNA™ 2 Radiómetro
Sodio (mmol/L)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116 – 154	KNA™ 2 Radiómetro
Dióxido de carbono total (mmol/L)	0,947	0,903	2,0	0,84	60	6 – 39	Cobas Fara® Roche
Nitrógeno ureico (mg/dL)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6 – 52	Paramax®
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6 – 38	Beckman

*Las muestras séricas de pacientes hospitalizados proporcionaron un rango de muestra más amplio, y posiblemente más útil, que las muestras de sangre entera venosa de pacientes ambulatorios. Las estadísticas de correlación para las pruebas del calcio de Piccolo corresponden a estas muestras de suero.

13. Bibliografía

1. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921; 47 : 475-481.
2. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925; 63 : 461-464.
3. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J. Biol Chem 1937; 118 : 539-544.
4. Cali, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In : Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. Cooper GR, ed. Washington, DC : American Association for Clinical Chemistry. 1977 : 3-8.
5. Kessler G, et al. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964; 10 : 686-703.
6. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53 : 194-198.
7. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978; 307 : 86-112.
8. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. Clin Chem 1988; 34 : 552-3.
9. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970; 8 : 582-587.
10. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Clin Chem Clin Biochem. 1980; 18 : 385-394.
11. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. 1975; 21 : 1422-1426.
12. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. 1982; 28 : 114-117.

13. Bibliografía (continuación)

13. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay : A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. 1983; 29 : 1494-1496.
14. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : W.B. Saunders Company. 1994 : 1513-1575.
15. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919; 38 : 81-110.
16. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937; 117 : 771-776.
17. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944; 153 : 375-380.
18. Kaplan LA. Glucose. In : Clinical Chemistry : Theory, Analysis, and Correlation, 2nd Ed. LA Kaplan and AJ Pesce, eds. St. Louis : The C.V. Mosby Company. 1989 : 850-856.
19. Wacker WEC, Ulmer DD, Vallee BL. Metalloenzymes and myocardial infarction. New England journal of medicine, 1956; 225 : 449-3.
20. Tabata M, et al. Direct Spectrophotometry of magnesium in serum after reaction with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Clin Chem 1985; 31 : 703-5.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989; 35 : 817-20.
22. 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.
23. 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.
24. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989; 111 : 6339-50.
25. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988; 34 : 1709-12.
26. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988; 34 : 2295-8.
27. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. Am J. Clin Pathol 1960; 33 : 181-5.
28. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In : Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd Ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis : The CV Mosby Company. 1989 : 869-72.
29. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In : Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds., Washington, DC. : American Association for Clinical Chemistry. 1982 : 365-373.
30. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem, 1914; 19 : 211-228.
31. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol, 1960; 13 : 156-159.
32. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem, 1962; 8 : 130-132.
33. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch, 1965; 43 : 174-175.
34. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta. 1971; 35 : 33-37.
35. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem. 1977; 49 : 464-469.
36. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum : optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem. 1980; 26 : 816-826.
37. Schembri CT, et al. Centrifugation and capillarity integrated into a multiple analyte whole blood analyser. J Automatic Chem 1995; 17 : 99-104. (journal's name changed in 2000 to J Automated Methods & Management in Chemistry).
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA : NCCLS, 1992.
39. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 1058-9.
40. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 1065-6.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA : NCCLS, 1986.
42. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd Ed. Washington, DC : AACC Press, 1990.
43. Benet LZ, Williams RI. Design and optimization of dosage regimens : pharmacokinetic data. In : Goodman And Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 8th Ed. Gilman AG, et al., eds. New York : Mcgraw-Hill, Inc., 1990 : 1650-735.

13. Bibliografía (continuación)

44. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 617-721.
45. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 1788-1846.
46. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA : NCCLS, 2000.
47. Bowers GN. Lactic dehydrogenase. In : Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol 4. Seligson D, ed. New York : Academic Press. 1963 : 163-172.
48. Siest G, et al. Plasma enzymes—physiological and environmental variations. In : Reference Values in Human Chemistry. Siest G, ed. New York : Karger. 1973 : 28-38.
49. 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-A2. Wayne, PA : NCCLS, 1999.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA : NCCLS, 1999.
51. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA : NCCLS, 1995.