

Servizio clienti e assistenza tecnica : 800 822 2947

Marzo 2007

N. parte : 400-7152 Rev : D

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

1. Uso previsto

Il set pannello plus disco per metabolismo basale Piccolo®, in combinazione con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo, è destinato alla determinazione quantitativa *in vitro* di calcio, cloro, creatinina, glucosio, lattato deidrogenasi, magnesio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico in laboratorio clinico. **Utilizzare questo disco esclusivamente per testare siero e plasma eparinizzato.**

2. Sommario e spiegazione dei test

Il set pannello plus disco per metabolismo basale Piccolo e l'analizzatore chimico del sangue Piccolo costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che supporta il medico nella diagnosi e nel trattamento delle seguenti patologie :

Calcio:	Iperparatiroidismo, ipotiroidismo, malattie ossee e affezioni renali croniche, tetania.
Cloro:	Disidratazione, diarrea e vomito prolungati, tubolopatia renale, iperparatiroidismo, ustioni, affezioni renali da perdita di sali, iperidratazione e terapia con tiazidici.
Creatinina:	Malattie renali e monitoraggio della dialisi renale.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito dell'adulto e giovanile, ipoglicemia, ipopituitarismo, pancreatite e malattia renale.
Lattato deidrogenasi:	Malattie epatiche quali epatite virale acuta e cirrosi, malattie cardiache come infarto miocardico e alterazioni tissutali di cuore, rene, fegato e muscolari.
Magnesio:	Ipomagnesemia e ipermagnesemia.
Potassio:	Glomerulopatia o tubolopatia renale, insufficienza surrenale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipituitarismo, iperaldosteronismo, malnutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.
Sodio:	Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sali, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, ustioni, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia da diluizione, deplezione e psichica e sindrome da inappropriata secrezione di ADH.
Anidride carbonica totale:	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.
Azoto ureico:	Malattie renali e metaboliche.

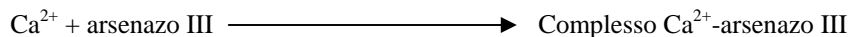
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principio della procedura

Calcio (CA)

I primi metodi utilizzati per analizzare il calcio si basavano sulla precipitazione del calcio con un eccesso di anioni.^{1,2,3} I metodi basati sulla precipitazione sono complessi e spesso imprecisi. Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico, che è però inadatta ad analisi di routine.⁴ I metodi spettrofotometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresolftaleina complexone (CPC) o arsenazo III sono quelli più comunemente usati.^{5,6,7} L'arsenazo III presenta un'elevata affinità per il calcio e non è temperatura-dipendente come il CPC.

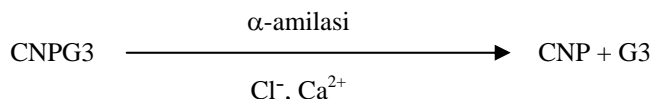
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.



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

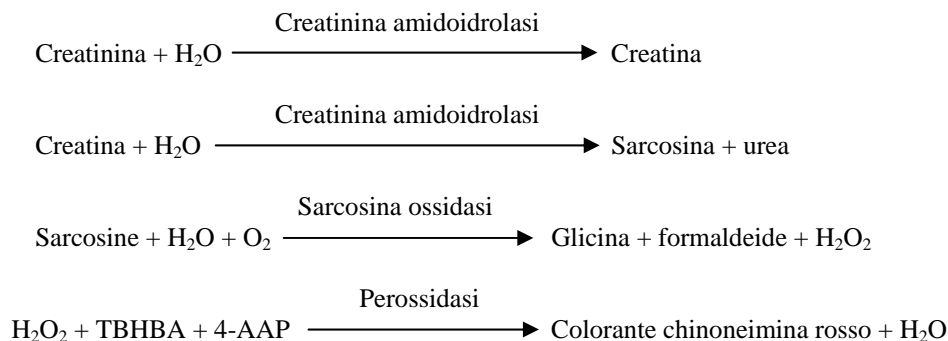
Cloro (Cl)

Il metodo si basa sulla determinazione dell'attivazione cloro-dipendente dell'attività dell' α -amilasi. L' α -amilasi disattivata viene riattivata mediante aggiunta dello ione cloro, consentendo al calcio di riassociarsi con l'enzima. La riattivazione dell'attività dell' α -amilasi è proporzionale alla concentrazione di ioni cloro nel campione. L' α -amilasi riattivata trasforma il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNP3) in 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP) sviluppando colore e α -maltotriosio (G3). La reazione si misura bicromaticamente e l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività di α -amilasi riattivata e alla concentrazione di ione cloro nel campione.⁸



Creatinina (CRE)

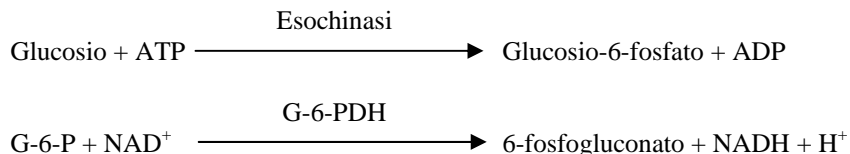
Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) alla tecnica di Jaffe per aumentare la specificità della reazione.^{9,10} Sono stati sviluppati metodi enzimatici più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{11,12,13} I metodi che utilizzano l'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio riscontrato nelle tecniche che impiegano creatinina imminoidrolasi.¹⁴



Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai calcoli la creatina endogena, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso sviluppato. La reazione di endpoint è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 630 nm.

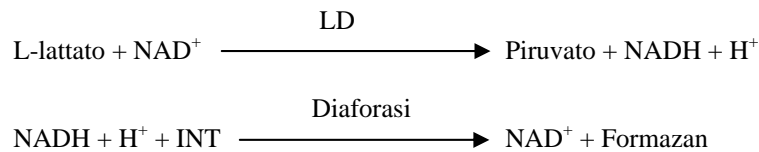
Glucosio (GLU)

Le misurazioni della concentrazione di glucosio si basavano originariamente su metodi di riduzione del rame (quali Folin-Wu¹⁵ e Somogyi-Nelson^{16,17}). 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 set pannello plus disco reagente per metabolismo basale è una variante del metodo dell'esochinasi proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.¹⁸ 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 della nicotinammide adenin dinucleotide (NAD⁺) in NADH.



Lattato deidrogenasi (LD)

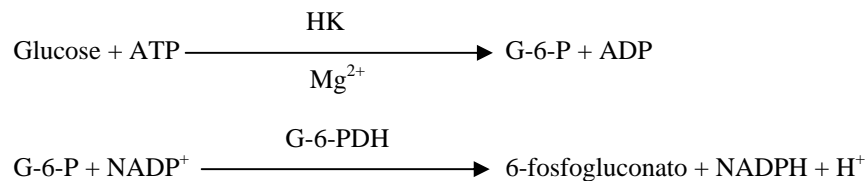
La lattato deidrogenasi (LD) catalizza l'ossidazione reversibile di L-lattato in piruvato con la riduzione concomitante della nicotinammide adenin dinucleotide (NAD^+) in nicotinammide adenin dinucleotide ridotta (NADH). Il metodo si basa sulla reazione lattato-piruvato secondo Wacker et al.¹⁹ L'NADH viene successivamente ossidata con la riduzione simultanea del violetto di p-iodonitrotetrazolio (INT) in un colorante di formazano di elevata intensità nel corso di una reazione catalizzata dalla diaforasi.



La velocità di formazione del formazano viene misurata bicompativamente a 500 nm e 630 nm ed è direttamente proporzionale all'attività LD del campione.

Magnesio (MG)

Il metodo di attivazione dell'esochinasi (HK) per il magnesio è la soluzione ideale per il sistema Piccolo in termini di sensibilità, precisione e accuratezza.²⁰ Il metodo enzimatico del magnesio può essere così riassunto :

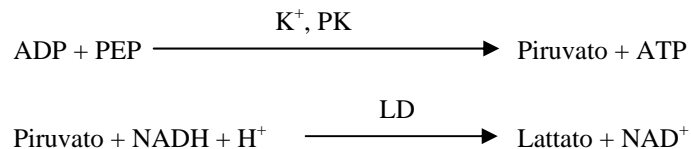


La reazione limitante la velocità è quella dell'HK. Il magnesio del campione attiva l'HK, che a sua volta catalizza la scissione del glucosio formando glucosio-6-fosfato (G-6-P) e ADP. Il G-6-P reagisce con il nicotinammide adenin dinucleotide fosfato (NADP^+) formando nicotinammide adenin dinucleotide fosfato ridotto (NADPH) e 6-fosfogluconato in presenza di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G-6-PDH). Questa è la reazione di velocità di primo ordine. La velocità di produzione di NADPH è direttamente proporzionale alla quantità di magnesio presente nel campione. L'assorbimento viene misurato bicompativamente a 340 nm e 405 nm.

Potassio (K^+)

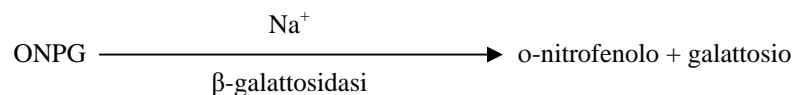
Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis si basa sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio e presenta linearità eccellente e sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.^{21,22,23} L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e di glutammato deidrogenasi.²³

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



Sodio (Na^+)

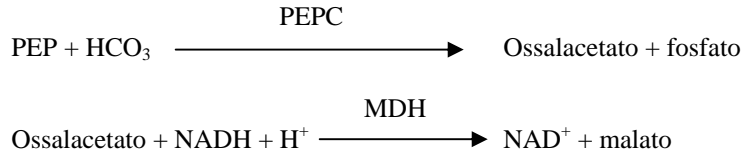
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{24,25,26} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β -galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione del o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



Anidride carbonica totale (tCO₂)

L'anidride carbonica totale nel siero o nel plasma è presente sotto forma di anidride carbonica disciolta, derivati carbaminici delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata mediante indicatore di pH, elettrodo a CO₂ e metodi enzimatici spettrofotometrici, tutti con risultati accurati e precisi.^{27,28} Il metodo enzimatico è ideale per l'uso con un analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, in quanto non comporta alcuna complessità.

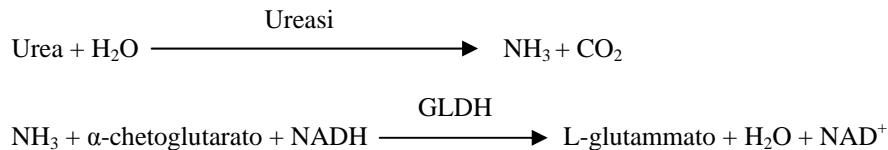
Nel metodo enzimatico, il campione viene innanzitutto alcalinizzato per convertire tutte le forme di anidride carbonica (CO₂) in bicarbonato (HCO₃⁻). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'HCO₃⁻ reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malato deidrogenasi (MDH) catalizza la reazione di ossalacetato e nicotinammide adenin dinucleotide ridotta (NADH) in NAD⁺ e malato. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell'NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla quantità di tCO₂ nel campione.



Azoto ureico (BUN)

L'urea può essere misurata sia direttamente che indirettamente. L'unico metodo diretto di misurazione dell'urea è la reazione della diacetilmonossima, che utilizza però reagenti pericolosi.²⁹ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca creata dall'urea e l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.³⁰ L'ammoniaca può essere quantificata con svariati metodi, quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot^{31,32} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{33,34} Le procedure Berthelot catalizzate risultano tuttavia poco affidabili ai fini della misurazione dell'ammoniaca.³⁵ Le reazioni enzimatiche accoppiate sono rapide, altamente specifiche per l'ammoniaca e ampiamente usate. Una di tali reazioni è stata proposta come possibile metodo di riferimento.³⁶

Nella reazione enzimatica accoppiata, l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica. Combinando l'ammoniaca con α -chetoglutarato ed NADH, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida l'NADH in NAD⁺.



4. Principio del test

Per i principi e i limiti della procedura, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo. Per una descrizione dettagliata dell'analizzatore Piccolo e del disco reagente, vedere Schembri et al.³⁷

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni set pannello plus disco per metabolismo basale Piccolo contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (cfr. descrizione seguente). Ogni disco comprende un reagente secco per campione in bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) da utilizzare per calcolare le concentrazioni di calcio, cloro, glucosio, lattato deidrogenasi, magnesio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico. Il disco per la creatinina (CRE) include un bianco campione dedicato. Ciascun disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Tabella 1 : Reagenti

Componente	Quantità/disco
Acido 2, 4, 6-tribromo-3-idrossibenzoico	188 µg
2-cloro-4-nitrofenil-alpha-maltotrioside (CNPG3)	52,5 µg
4,7,13,16,21,24-esaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]esacosano (Kryptofix 222)	0,3 µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5] trisicosano (Kryptofix 221)	84 µg
4-aminoantipirina*HCl	13 µg
N-acetilcisteina	15,3 µg
Adenosina-5'-trifosfato	27 µg
Amilasi	0,0357 U
Arsenazo III, sale sodico	1,7 µg
Ascorbato ossidasi	0,3 U
Reagente bovuminar, polvere pura	164 µg
Acetato di calcio	25,2 µg
Acido citrico, sale trisodico	567 µg
Creatina amidinoidrolasi	3 U
Creatinina amidoidrolasi	1 U
Destrano, frazione bassa	224 µg
Diaforasi	0,084 U
Acido etilenglicol-bis(β-amminoetiletere)-N,N,N',N'-tetracetico (EGTA)	18,8 µg
Acido etilendiamminotetracetico (EDTA)	178,42 µg
β-galattosidasi	0,005 U
Glucosio	64 µg
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi	0,022 U
Glutammato deidrogenasi	0,1 U
Esochinasi	0,112 U
Violetto di <i>p</i> -iodonitrotetrazolio (INT)	5,082 µg
Imidazolo	29 µg
<i>myo</i> -inositolo	160 µg
Acido α-chetoglutarico	19 µg
Lattato deidrogenasi	0,3 U
Lattato di litio	96.77 µg
Solfato di magnesio	29 µg
Malato deidrogenasi	0,1 U
D-mannitolo	420 µg
β-nicotinammide adenin dinucleotide (NAD ⁺)	89,2 µg
β-nicotinammide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	28 µg
β-Nicotinammide adenin dinucleotide fosfato (NADP), sale sodico	29,6 µg
<i>o</i> -nitrofenil-β-D-galattopiranoside (ONPG)	22 µg
n-ottilglucoside	21 µg
Perossidasi	1 U
Fosfoenolpiruvato	23 µg
Fosfoenolpiruvato-carbossilasi	0,001 U
Glicole polietilenico, 3400	168 µg
Polivinilpirrolidone (K 29-32)	4 µg
Cloruro di potassio	47,59 µg
Ferrocianuro di potassio	0,4 µg
Piruvato chinasi	0,01 U
Sarcosina ossidasi	1 U

Tabella 1 : Reagenti (segue)

Componente	Quantità/disco
Cloruro di sodio	12 µg
D(+) trealosio, diidrato	650 µg
Trietanolamina idrocloruro	19,16 µg
Tris(idrossimetil)aminometano (base libera)	296,44 µg
Tris(idrossimetil)amminometano*HCl	4,91 µg
Triton X-100	1,72 µg
Ureasi	0,05 U
Tamponi, tensioattivi, eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*
- Il contenitore del diluente nel disco reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel disco.
- I dischi reagente usati contengono fluidi organici umani. Manipolare e smaltire i dischi usati in conformità a prassi di laboratorio riconosciute.³⁸ Per istruzioni sulla pulizia e rimozione di sostanze a rischio biologico inavvertitamente versate, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.
- I dischi reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. Non utilizzare mai un disco eventualmente caduto in quanto può diffondere materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- 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 disco reagente), evitare ingestione, contatto cutaneo e inalazione.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i dischi reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Non lasciare i dischi sigillati nei sacchetti di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire il sacchetto sigillato di foglio d'alluminio, estrarre il disco e utilizzarlo seguendo le istruzioni riportate nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo. Gettare un disco nel caso in cui non venga utilizzato entro 20 minuti dall'apertura del sacchetto.

Conservazione

Conservare i dischi reagente nei sacchetti sigillati a 2–8°C (36–46°F). Non esporre i dischi, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32°C (90°F). I dischi reagente possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. In caso di reagenti scaduti, sul display dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo appare un messaggio di errore.

Indicazioni di instabilità/deterioramento del disco reagente

In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non ancora utilizzato e alterare le prestazioni del reagente. Non utilizzare dischi prelevati da sacchetti danneggiati.

6. Strumento

Per informazioni complete sull'uso dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo, vedere il relativo manuale dell'operatore.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

Le tecniche di raccolta dei campioni sono descritte nella sezione "Raccolta dei campioni" del manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

- La quantità minima di campione necessaria è di ~100 µL di plasma eparinizzato, siero o materiale di controllo. La camera del campione su disco reagente può contenere fino a 120 µL di campione.
- Non agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi, che a sua volta dà luogo a risultati erroneamente elevati nelle analisi di potassio e lattato deidrogenasi.
- Inoltre, anche campioni non emolizzati non tempestivamente trattati potrebbero presentare livelli di potassio aumentati a causa di perdita intracellulare di potassio.³⁹
- Per i campioni di plasma, utilizzare esclusivamente 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).
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel disco reagente.
- La concentrazione di anidride carbonica totale viene determinata con la massima accuratezza se si effettua l'analisi subito dopo l'apertura della provetta e quanto prima possibile dopo il prelievo e il trattamento del sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene una quantità di anidride carbonica decisamente inferiore rispetto al plasma e il conseguente rilascio di anidride carbonica disciolta in forma gassosa dal campione nell'aria farà diminuire il valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/L nell'arco di un'ora.⁴⁰

8. Procedura

Materiali forniti

- Un set pannello plus disco per metabolismo basale Piccolo, PN. 400-1031 (una confezione di dischi, PN : 400-0031)

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico del sangue Piccolo
- Controlli raccomandati da Abaxis disponibili in commercio (vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo)

Parametri del test

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo funziona a temperature ambiente comprese tra 15°C e 32°C (59–90°F). Il tempo di analisi per ogni set disco +pannello eper metabolismo basale Piccolo è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il disco 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 dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

Calibrazione

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo è calibrato dal fabbricante prima della spedizione. Il codice a barre stampato sull'apposito anello fornisce i dati di calibrazione specifici per i dischi. Vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

Controllo di qualità

L'esecuzione di test su controlli consente di verificare le prestazioni dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo. I controlli raccomandati da Abaxis sono elencati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Point-of-Care. Altri controlli a base di siero o plasma umano potrebbero non essere compatibili.

Per le procedure dettagliate di esecuzione, registrazione, interpretazione e rappresentazione grafica dei risultati, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

9. Risultati

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo calcola e stampa automaticamente le concentrazioni di analiti nel campione. I dettagli dei calcoli delle reazioni di endpoint e velocità sono riportati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo .

L'interpretazione dei risultati è descritta nel manuale dell'operatore. I risultati vengono stampati su apposite schede fornite da Abaxis. Le schede dei risultati sono provviste di un adesivo che ne consente l'agevole apposizione sulle cartelle dei pazienti.

10. Limiti della procedura

I limiti generici della procedura sono descritti nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

- Data la sensibilità di valori LD falsamente elevati da cellule ematiche frammentate, con questo disco è possibile utilizzare soltanto siero o plasma eparinizzato.
- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con il sistema chimico del sangue Piccolo è la **litio eparina**. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come EDTA, fluoruro, ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscano con almeno una delle sostanze chimiche contenute nel set pannello plus disco per metabolismo basale Piccolo.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range dell'analisi 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 chimico del sangue Piccolo.**

Avvertenza : Test su larga scala del sistema chimico del sangue Piccolohanno dimostrato che in rarissimi casi il campione dispensato nel disco 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. Il campione può essere rianalizzato usando un nuovo disco reagente.

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come interferenti con gli analiti. Sono stati preparati pool di siero umano e ciascun potenziale agente interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di test riportati in NCCLS EP7-A.⁴¹

Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle concentrazioni 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. Il sistema per analisi chimiche del sangue Piccolo elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda al posto dei risultati verranno rispettivamente stampate le diciture "HEM", "LIP" o "ICT", a eccezione di LD. Per una spiegazione degli effetti sull'LD, vedere il punto seguente. Per i limiti endogeni, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.
- Nelle cellule ematiche si trovano livelli significativi di LD. La frammentazione di queste cellule può provocare livelli aumentati di LD. Di conseguenza, tutte le analisi LD sono sensibili a emolisi a causa dell'LD rilasciata dai globuli rossi. Non è stata riscontrata alcuna interferenza significativa nell'LD (> 10%) quando sono stati testati valori HEM sino a 50 mg/dL. Per la sola analisi LD, se HEM è superiore a 50 mg/dL e inferiore o uguale a 100 mg/dL, il valore LD stampato viene seguito da una "H" indicante qualche influenza aggiuntiva dovuta all'emolisi. Se HEM è superiore a 100 mg/dL e inferiore o uguale a 150 mg/dL, il valore LD viene preceduto da "<" e seguito da una "H", a indicare che il recupero di LD reale è inferiore al valore refertato. Lo scopo di queste note è facilitare l'interpretazione dell'attività LD in presenza di lieve emolisi. Per valori HEM superiori a 150, non viene indicato alcun risultato e viene stampato solo "HEM".
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/L) hanno un effetto significativo (ossia un aumento superiore al 10%) sul risultato del cloro. La concentrazione di amilasi non viene valutata dal sistema Piccolo per ogni campione.
- Il dosaggio del potassio nel sistema Piccolo è un test combinato di piruvato chinasi (PK) / lattato deidrogenasi (LD o LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema Piccolo 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.

Effetti di sostanze terapeutiche e metaboliti

Sono stati selezionati trentotto farmaci e metaboliti come potenziali agenti interferenti con i metodi di determinazione di cloro, calcio, creatinina, glucosio, magnesio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico nel sangue. I farmaci e i metaboliti valutati sono stati scelti in base alle raccomandazioni di Young.⁴² Undici di essi sono stati testati con l'analisi LD e sono contrassegnati con il simbolo “*”. Altre due sostanze (acido lattico e citrato di litio), contrassegnate con “(solo LD)”, sono state selezionate come potenziali agenti interferenti per l'analisi LD e testate solo con essa. Per interferenza significativa si intende una variazione >10% nel risultato di un campione di controllo. I pool di siero umano sono stati supplementati con una concentrazione conosciuta di farmaci o sostanze chimiche e quindi analizzati.

Tabella 2 : Sostanze terapeutiche valutate

	Range fisiologico o terapeutico⁴¹⁻⁴⁵ (mg/dL)	Concentrazione massima testata (mg/dL)
Acetaminofene*	2 – 10	100
Acetoacetato*	0,05 – 3,6	102
Acido acetilsalicilico*	1 – 2	50
Ampicillina	0,5	30
Acido ascorbico	0,8 – 1,2	20
Acido ascorbico* (LD)	0,8 – 1,2	3
Caffeina*	0,3 – 1,5	10
Cefalotina (Keflin)	10	400
Cloramfenicolo	1 – 2,5	100
Cimetidina	0,1 – 1	16
Dopamina	0,3 – 1,5	19
Epinefrina		1
Eritromicina	0,2 – 2,0	10
Glutazione		30
Idroclorotiazide		7,5
Ibuprofene*	0,5 – 4,2	50
Isoniazide	0,1 – 0,7	4
Chetoprofene		50
L-dopa		5
Acido lattico (solo LD)	4,5 – 19,8	60
Lidocaina*	0,15 – 0,60	1
Citrato di litio (solo LD)	0,4 – 0,8	3,5
Lattato di litio	6 – 12	84
Meticillina		100
Metotrexate	> 50,05 ^A	0,5
Metotrexate* (LD)	> 50,05	450
Metronidazolo	0,1	5
Nafcillina		1
Nitrofurantoina	0,2	20
Oxacillina		1
Ossalacetato*		132
Penicillina G		100
Fenitoina (5,5-difenilidantione)*	1 – 2	3
Prolina		4
Piruvato*	0,3 – 0,9	44
Rifampicina	0,4 – 3	0,5
Acido salicilico		50
Sulfadiazina		150
Sulfanilamide	10 – 15	50
Teofillina	1 – 2	20

^A Concentrazione terapeutica di metotrexate aggiornata in base alla Linea guida NCCLS Vol. 22 N. 27.

Tabella 3 : Sostanze con interferenza significativa >10%

	Range fisiologico/terapeutico⁴¹⁻⁴⁵ (mg/dL)	Concentrazione con interferenza >10% (mg/dL)	% interferenza^A
Calcio	Assente	Assente	Assente
Cloro	Assente	Assente	Assente
Creatinina			
Acido ascorbico	0,8 – 1,2	20	dim. 11%
Dopamina	0,3 – 1,5	19	dim. 80%
L-dopa		5	dim. 71%
Epinefrina		1	dim. 45%
Glutazione		30	dim. 13%
Glucosio			
Ossalacetato		132	dim. 11%
Piruvato	0,3 – 0,9	44	
Lattato deidrogenasi			
Ossalacetato		99 (nessun effetto a 66)	dim. 18%
Magnesio	Assente	Assente	Assente
Potassio			
Penicillina G		100	aum. 17%
Sulfadiazina	2 – 4	150	dim. 12%
Sodio			
Cefalotina	10	400	aum. 12%
Metotrexate	> 50,05	0,5	aum. 11%
Penicillina G		100	aum. 10%
Anidride carbonica totale			
Acetaminofene	2 – 10	100	aum. 11%
Acido ascorbico	0,8 – 1,2	20	dim. 12%
Cefalotina	10	400	aum. 13%
Cimetidina	0,1 – 1	16	dim. 19%
Eritromicina	0,2 – 2,0	10	dim. 21%
Lidocaina	0,15 – 0,60	1	aum. 23%
Metotrexate	> 50,05	0,5	dim. 80%
Nitrofurantoina	0,2	20	aum. 13%
Acido salicilico	15 – 30	50	dim. 17%
Sulfadiazina	2 – 4	150	dim. 25%
Azoto ureico	Assente	Assente	Assente

^A Dim. = diminuita concentrazione dello specifico analita; aum. = aumentata concentrazione dello specifico analita

^B Concentrazione terapeutica di metotrexate aggiornata in base alla Linea guida NCCLS Vol. 22 N. 27.

Tabella 4 : Concentrazione di analiti nei pool di siero usati per gli studi di interferenza

Analita	Concentrazione
Calcio	9,5 mg/dL
Cloro	93 mmol/L
Creatinina	4,1 mg/dL
Glucosio	96 mg/dL
Lattato deidrogenasi	276 U/L e 703 U/L
Magnesio	4,3 mg/dL
Potassio	3,8 mmol/L
Sodio	124 mmol/L
Anidride carbonica totale	6 mmol/L
Azoto ureico	26 mg/dL

- Il bromuro a livelli tossici (≥ 15 mmol/L) può causare un effetto significativo (aumento $>10\%$) sul risultato dell'analisi del cloro. Lo ioduro a concentrazioni molto elevate (30 mmol/L, livello massimo testato) non ha alcun effetto. Normali livelli fisiologici di bromuro e ioduro non interferiscono con il sistema Piccolo di test del cloro.

11. Valori previsti

Campioni di 60 – 150 soggetti adulti di sesso maschile e femminile sono stati testati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo per determinare l'intervallo di riferimento per gli analiti, a eccezione di LD. Per LD, l'intervallo di riferimento è stato stabilito applicando all'intervallo di riferimento pubblicato per il Beckman Synchron LX20 i dati di regressione lineare ricavati da uno studio di correlazione sull'LX20'. Tali intervalli sono forniti a titolo puramente indicativo. Si raccomanda all'ambulatorio o istituto di definire range normali per la propria popolazione di pazienti.⁴⁶

Tabella 5 : Intervalli di riferimento Piccolo

Analita	Unità comuni	Unità SI
Calcio	8,0 – 10,3 mg/dL	2,0 – 2,58 mmol/L
Cloro	98 – 108 mmol/L	98 – 108 mmol/L
Creatinina	0,6 – 1,2 mg/dL	53 – 106 μ mol/L
Glucosio	73 – 118 mg/dL	4,05 – 6,55 mmol/L
Lattato deidrogenasi*	99 – 192 U/L	99 – 192 U/L
Magnesio	1,6 – 2,3 mg/dL	0,66 – 0,95 mmol/L
Potassio	3,6 – 5,1 mmol/L	3,6 – 5,1 mmol/L
Sodio	128 – 145 mmol/L	128 – 145 mmol/L
Anidride carbonica totale	18 – 33 mmol/L	18 – 33 mmol/L
Azoto ureico (BUN)	7 – 22 mg/dL	2,5 – 7,9 mmol/urea/L

* È stato osservato un leggero aumento (circa 6 U/L) nella lattato deidrogenasi nel siero rispetto al plasma eparinizzato. Tale aumento è compatibile con la differenza tra siero e plasma per quanto riguarda l'LD descritta in letteratura.^{47,48} La LD è rilasciata dalle cellule ematiche durante il processo di coagulazione nella preparazione del siero.

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se l'analizzatore chimico del sangue Piccolo è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo).

Tabella 6 : Range dinamici Piccolo

Analita	Unità comuni	Unità SI
Calcio	4,0 – 16,0 mg/dL	1,0 – 4,0 mmol/L
Cloro	80 – 135 mmol/L	80 – 135 mmol/L
Creatinina	0,2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
Glucosio	10 – 700 mg/dL	0,56 – 38,9 mmol/L
Lattato deidrogenasi	50 – 1000 U/L	50 – 1000 U/L
Magnesio	0,1 – 8,0 mg/dL	0,04 – 3,3 mmol/L
Potassio	1,5 – 8,5 mmol/L	1,5 – 8,5 mmol/L
Sodio	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
Anidride carbonica totale	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L
Azoto ureico (BUN)	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol/urea/L

Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti : calcio 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); cloro 80 mmol/L; creatinina 0,2 mg/dL (18 µmol/L); glucosio 10 mg/dL (0,56 mmol/L); lattato deidrogenasi 50,0 U/L; magnesio 0,1 mg/dL (0,04 mmol/L); potassio 1,5 mmol/L; sodio 110 mmol/L; anidride carbonica totale 5 mmol/L e azoto ureico 2,0 mg/dL (0,7 mmol urea/L).

Precisione

Gli studi sulla precisione sono stati condotti secondo le linee guida NCCLS EP5-A2⁴⁹ con modifiche basate su NCCLS EP18-A⁵⁰ per i dispositivi a utilizzo per unità. I risultati di precisione intra-sessione e totale sono stati determinati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio. Per gli studi sono stati usati più strumenti. I test di calcio, creatinina, glucosio, sodio e azoto ureico sono stati eseguiti in un sito; quelli di potassio e anidride carbonica totale sono stati condotti in due siti nell'arco di 20 giorni; i test di cloro, lattato deidrogenasi e magnesio sono stati effettuati in due siti in un periodo di cinque giorni.

I risultati degli studi sulla precisione sono riportati nella tabella 7.

Tabella 7 : Precisione

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
<u>Calcio (mg/dL)</u>			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		8,6	8,6
SD		0,21	0,25
%CV		2,4	2,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		11,8	11,8
SD		0,39	0,40
%CV		3,3	3,4
<u>Cloro (mmol/L)</u>			
<u>Controllo 1</u>	N = 160		
Media		97,8	97,8
SD		1,63	1,74
%CV		1,7	1,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		113,6	113,6
SD		1,97	2,22
%CV		1,7	2,0
<u>Creatinina (mg/dL)</u>			
<u>Controllo 1</u>	N=80		
Media		1,1	1,1
SD		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
<u>Glucosio (mg/dL)</u>			
<u>Controllo 1</u>	N=80		
Media		66	66
SD		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		278	278
SD		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4
<u>Lattato deidrogenasi (U/L)</u>			
<u>Controllo 1</u>	N=80		
Media		87	87
SD		3,0	4,4
%CV		3,4	5,0
<u>Controllo 2</u>			
Media		350	350
SD		3,8	7,0
%CV		1,1	2,0

Tabella 7 : Precisione (segue)

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Magnesio (mg/dL)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		1,9	1,9
SD		0,03	0,06
%CV		1,7	3,4
<u>Controllo 2</u>			
Media		3,9	3,9
SD		0,04	0,10
%CV		1,0	2,6
Potassio (mmol/L)	N = 120		
<u>Controllo 1</u>			
Media		6,12	6,12
SD		0,32	0,32
%CV		5,2	5,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		4,10	4,10
SD		0,24	0,26
%CV		5,9	6,3
Sodio (mmol/L)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		143,5	143,5
SD		2,28	2,28
%CV		1,6	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		120,0	120,0
DS		2,13	2,13
%CV		1,8	1,8
Anidride carbonica totale (mmol/L)	N = 120		
<u>Controllo 1</u>			
Media		21,4	21,4
SD		2,29	2,29
%CV		10,7	10,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		10,5	10,5
SD		0,90	0,90
%CV		8,6	8,6
Azoto ureico (mg/dL)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		19	19
SD		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		65	65
SD		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8

Correlazione

Campioni di siero eparinizzato e campioni di plasma per analisi LD sono stati raccolti ed analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo e con metodi comparativi. In alcuni casi, sono stati usati campioni supplementati alti e bassi per coprire il range dinamico. I campioni sono stati scelti per rispettare i valori di distribuzione indicati nelle linee guida NCCLS EP9-A2.⁵¹ La tabella 8 riporta i dati di correlazione rappresentativi.

Tabella 8 : Correlazione tra l'analizzatore chimico del sangue Piccolo e metodi comparativi

	Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Range campione	Metodo comparativo
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
Cloro (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
Glucosio (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
Lattato deidrogenasi (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
Potassio (mmol/L)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0 – 6,8	KNA™ 2 Radiometer
Sodio (mmol/L)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116 – 154	KNA™ 2 Radiometer
Anidride carbonica totale (mmol/L)	0,947	0,903	2,0	0,84	60	6 – 39	Cobas Fara® Roche
Azoto 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

* I campioni di siero di pazienti ospedalizzati hanno fornito un range più ampio, e probabilmente più utile, rispetto ai campioni di sangue intero venoso di pazienti ambulatoriali. I dati di correlazione per il test del calcio effettuato con Piccolo si riferiscono a questi campioni di siero.

13. Bibliografia

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 Kreatininbestimmung 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.

13. Bibliografia (segue)

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. 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 ionophere-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.

13. Bibliografia (segue)

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.
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 JJ. 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.