

Servicio técnico y de atención al cliente: 800-822-2947

Exoneración de la CLIA: Usar únicamente sangre entera tratada con heparina-litio

Complejidad moderada: Usar sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina litio, o suero

Diciembre de 2009

PN: 400-7139 Rev. G

© 2003, Abaxis, Inc., Unión City, CA 94587

1. Indicaciones

El disco reactivo metabólico completo Piccolo®, usado con el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress™, está diseñado para su utilización en la determinación cuantitativa *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), calcio, cloruro, creatinina, glucosa, potasio, sodio, bilirrubina total, dióxido de carbono total, proteína total y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) total en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

Los análisis de este panel están exonerados según los requisitos de CLIA '88. Si un laboratorio modificara las instrucciones del sistema de análisis, los análisis se considerarían de alta complejidad y quedarían sujetos a todos los requisitos de la CLIA. En los laboratorios exonerados según la CLIA, sólo puede analizarse sangre entera tratada con heparina-litio. En laboratorios de complejidad moderada, pueden utilizarse sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio o suero.

Se necesita un certificado de exoneración de la CLIA para realizar análisis exonerados por la CLIA. Un certificado de exoneración puede obtenerse de CMS (Centers for Medicare & Medicaid Services). Si necesita ayuda para obtener este certificado, diríjase a la comisión de acreditación de laboratorios (COLA), en el teléfono 1-800-981-9883.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco reactivo metabólico completo Piccolo y el analizador químico de sangre de Piccolo constituyen un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico en el diagnóstico de las siguientes enfermedades:

Alanina aminotransferasa (ALT):	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis.
Albúmina:	Patologías del hígado y del riñón.
Fosfatasa alcalina (ALP):	Patologías del hígado, óseas, de la glándula paratiroides e intestinales.
Aspartato aminotransferasa (AST):	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral, shock.
Calcio:	Enfermedades de la glándula paratiroides, óseas y nefropatías crónicas; tétanos.
Cloruro:	Deshidratación, diarrea y vómitos prolongados, tubulopatía renal, hiperparatiroidismo, quemaduras, nefropatías perdedoras de sal, sobrehidratación y tratamiento con tiazidas.
Creatinina:	Nefropatía y control de diálisis renal.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus del adulto y juvenil e hipoglucemia.
Potasio:	Glomerulopatía o tubulopatía renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento endovenoso con potasio excesivo, sepsis, panhipopituitarismo, hemólisis <i>in vitro</i> , 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.
Bilirrubina total:	Hepatopatías, incluida la hepatitis y obstrucción de la vesícula biliar; ictericia.
Dióxido de carbono total:	Alcalosis y acidosis metabólica primarias, y alcalosis y acidosis respiratoria primarias.
Proteína total:	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición.
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN):	Nefropatías y enfermedades metabólicas.

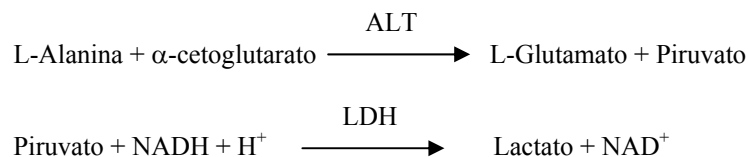
Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, antes del diagnóstico final hay que considerar todos los restantes procedimientos de prueba, incluido el estado clínico del paciente.

3. Principio del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)

La alanina aminotransferasa (ALT) fue medida por tres métodos. Dos de estos métodos: la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina^{1,2} y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente.³ La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue.⁴ La Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) ha propuesto un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado como el recomendado.⁵

El método desarrollado para usar con los analizadores de Piccolo es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD^+ , como se muestra en el esquema siguiente de la reacción.

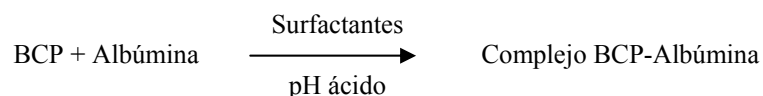


El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH a NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT presente en la muestra.

Albúmina (ALB)

Los primeros métodos usados para medir la albúmina incluyen técnicas de fraccionamiento^{6,7,8} y el contenido en tritofano de las globulinas.^{9,10} Estos métodos son difíciles de utilizar y no tienen una especificidad elevada. Hay dos técnicas inmunoquímicas que se consideran métodos de referencia, pero son costosas y requieren mucho tiempo.¹¹ Las técnicas de tinción son los métodos usados con mayor frecuencia para el análisis de la albúmina. El verde de bromcresol (BCG) es el método de tinción usado con mayor frecuencia, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, en especial dentro del extremo inferior de los valores normales.¹² La púrpura de bromcresol (BCP) es la más específica de las tinturas en uso.^{13,14}

La púrpura de bromcresol (BCP), al unirse a la albúmina, cambia su color de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

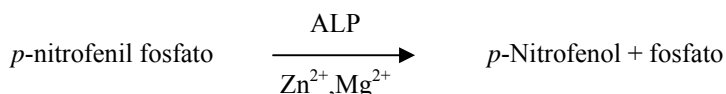


La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la diferencia en la absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

Fosfatasa alcalina (ALP)

Las técnicas para medir la fosfatasa alcalina fueron creadas hace más de 60 años. En estos momentos, a algunos de estos métodos espectrofotométricos de criterio de valoración o de dos puntos.^{15,16} se los considera obsoletos o demasiado complicados. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumentó la velocidad de la reacción.^{17,18} La fiabilidad de esta técnica aumentó de manera considerable con el uso de un amortiguador de ión metálico para mantener la concentración de iones de magnesio y zinc en la reacción.¹⁹ El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC)²⁰ usa el *p*-NPP como sustrato y un amortiguador con ión metálico.

El procedimiento de Piccolo se modificó a partir de los métodos AAC y IFCC.²¹ La fosfatasa alcalina hidroliza el *p*-NPP en un amortiguador con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.

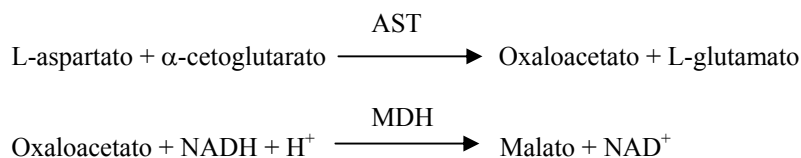


La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

Aspartato aminotransferasa (AST)

La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método de cinético de Karmen²², de acuerdo con la modificación de Bergmeyer.²³ El método de referencia actual de la Federación de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero.^{23,24} Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

El AST cataliza la reacción del L-aspartato y α -cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD^+ por el catalizador MDH.

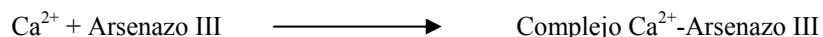


El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST en la muestra.

Calcio (CA)

Los primeros métodos usados para analizar el calcio comprendieron la precipitación del calcio con un exceso de aniones.^{25,26,27} 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.²⁸ Los métodos espectrofotométricos mediante *o*-cresoltaleína complexona o arsenazo III como indicadores metalocrómicos son los que se utilizan con mayor frecuencia.^{29,30,31} El arsenazo III tiene una gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

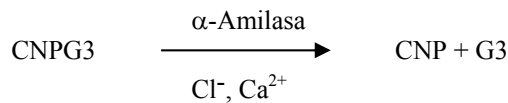
El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio.



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.

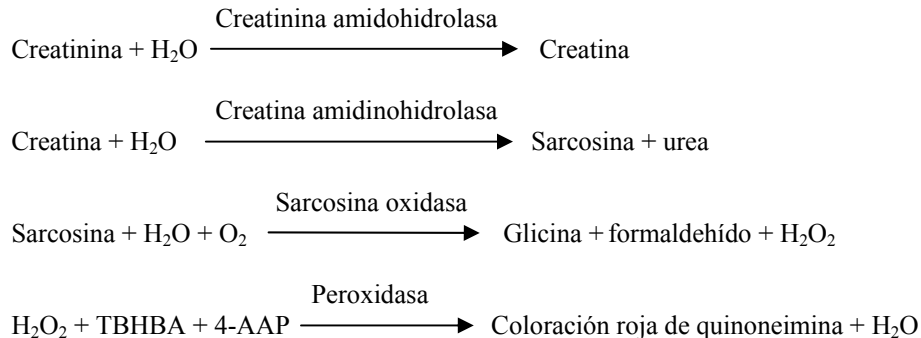
Cloruro (CL)

El método se basa en la determinación de la activación de la α -amilasa dependiente del cloruro. La α -amilasa desactivada se reactiva al añadir el ión 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-maltotriosido (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 ión cloruro en la muestra.³²



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 de referencia actual combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción.^{33,34} Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe.^{35,36,37} Los métodos mediante la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia de ión amoníaco encontrada en técnicas que utilizan creatinina iminohidrolasa.³⁸



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 600 nm.

eGFR (calculada)

La creatinina sérica se mide de forma rutinaria como indicador de la función renal. Debido a que la edad, el sexo y la raza influyen en las concentraciones de creatinina, no es posible detectar la nefropatía crónica (NC) tan solo mediante la creatinina sérica. Así pues, el National Kidney Disease Education Program (Programa Nacional de Educación sobre la Nefropatía) recomienda encarecidamente que los laboratorios informen de forma rutinaria de la tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) cuando se mida la creatinina sérica en los pacientes mayores de 18 años. La comunicación de forma rutinaria de la eGFR junto con todas las determinaciones de creatinina sérica permite a los laboratorios ayudar a identificar a los individuos con función renal reducida y contribuye a facilitar la detección de la NC. Los valores calculados de la eGFR <60 mL/min generalmente están asociados con un mayor riesgo de resultados adversos de la NC.

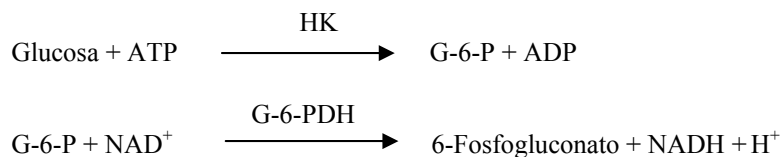
Piccolo calcula la eGFR usando la edad, el sexo y la raza del paciente. El método de Piccolo para la creatinina es comparable con el método de referencia para la creatinina IDMS, de forma que se puede utilizar la siguiente forma de la ecuación MDRD para el cálculo de la eGFR.

$$\text{GFR (mL/min/1,73 m}^2) = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1.154} \times (\text{edad})^{-0.203} \times (0,742 \text{ si es mujer}) \times (1,212 \text{ si es afroamericano})$$

Glucosa (GLU)

Las mediciones de la concentración de glucosa se realizaron en un principio utilizando métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu³⁹ y Somogyi-Nelson^{40,41}). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos mediante las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa incorporada en el disco reactivo metabólico completo es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.⁴²

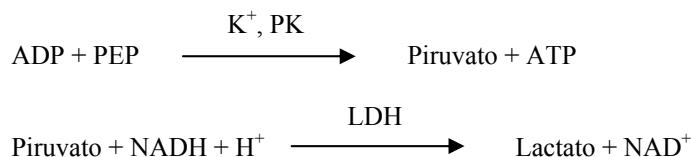
La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a NADH.



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.^{43,44,45} La interferencia del sodio y del ión amoniacado se minimiza al agregar Kriptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente.⁴³

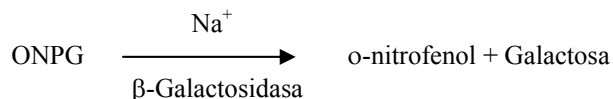
En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvato quinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD⁺.



El rango de cambio en la diferencia de absorbancia entre 340 y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.

Sodio (Na⁺)

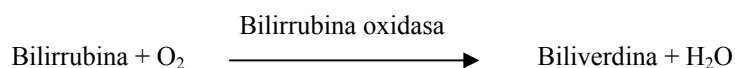
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración del sodio con instrumentación estándar de química clínica.^{46,47,48} En la reacción enzimática Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.



Bilirrubina total (TBIL)

Típicamente, los niveles de bilirrubina total se han evaluado por pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotizado.^{49,50} Se ha desarrollado un método más moderno y más específico, que utiliza la enzima bilirrubina oxidasa.^{51,52,53} Además de utilizar el método de prueba de la bilirrubina total más específico, la fotodegradación del electrolito se minimiza con los analizadores Piccolo, porque la muestra se puede analizar inmediatamente después de obtenida.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina se oxida por la bilirrubina oxidasa en biliverdina.

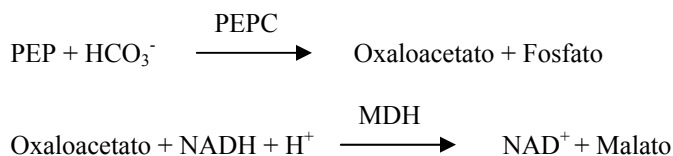


La bilirrubina se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.

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 se puede medir mediante el indicador de pH, método de electrodo CO₂ y métodos enzimáticos espectrofotométricos, que producen todos resultados precisos y exactos.^{54,55} El método enzimático está bien adaptado para usar en un analizador químico sanguíneo de rutina sin agregar complejidad.

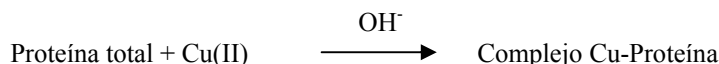
En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO₂) a bicarbonato (HCO₃⁻). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO₃⁻ reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC). La malato deshidrogenasa (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.



Proteína total (TP)

El método de la proteína total es una modificación de la reacción de Biuret, mencionado por su precisión, exactitud y especificidad.⁵⁶ Originariamente fue desarrollado por Riegler y modificado por Weichselbaum, Doumas y otros. La reacción de Biuret es un posible método de referencia para la proteína total.^{57,58,59}

En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio y yoduro de potasio para impedir la precipitación del hidróxido de cobre y la auto-reducción del cobre, respectivamente.⁵⁸ Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre el oxígeno del carbonilo y el nitrógeno de la amida para formar un complejo Cu-Proteína coloreado.

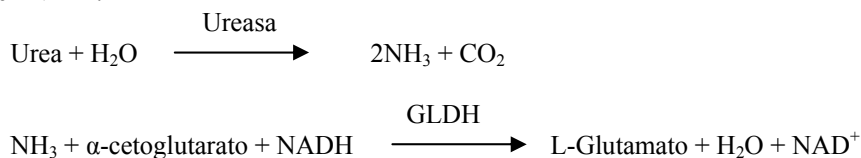


La cantidad de proteínas totales en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de proteína total es una reacción de valoración final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)

La urea puede ser medida directa e indirectamente. La reacción de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, es la usada más comúnmente, pero emplea reactivos peligrosos.⁶⁰ Los métodos indirectos miden el amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas.⁶¹ El amoníaco se cuantifica mediante distintos métodos, entre ellos la nesslerización (valoración ácida), la técnica de Berthelot^{62,63} y las reacciones enzimáticas acopladas.^{64,65} Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco.⁶⁶ Las reacciones enzimáticas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad para el amoníaco y son las usadas con mayor frecuencia. Una de estas reacciones fue propuesta como posible método de referencia.⁶⁷

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 nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD⁺.



El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de urea presente en la muestra.

4. Principios de la operación

Consulte el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress para obtener información sobre los principios y las limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada disco reactivo metabólico básico de Piccolo contiene soportes reactivos específicos para pruebas secas (descritas a continuación). En cada disco se incluye un reactivo seco en blanco de muestra (con amortiguador, surfactantes, excipientes y

estabilizadores) para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), calcio (CA), cloruro (CL⁻), glucosa (GLU), potasio (K⁺), sodio (NA⁺), dióxido de carbono total (tCO₂), proteína total (TP) y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN). En el disco se incluyen muestras de referencias dedicadas para creatinina (CRE) y bilirrubina total (TBIL). Cada disco contiene un diluyente que consta de surfactantes y estabilizantes.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/disco
Ácido 2,4,6-Tribromo-3-hidroxibenzoico (TBHBA)	188µg
2-Cloro-4-nitrofenil- α -maltotriosida (CNPG3)	53µg
2-Metil-4-isotizolina-3-uno clorhidrato (MIT)	4,2µg
4,7,13,16,21-Pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]tricosano (Kryptofix 221)	86µg
4-Aminoantipirina clorhidrato	13µg
Adenosina 5'-difosfato	36µg
Adenosina 5'-trifosfato	22µg
Ácido α -cetoglutárico	101µg
Amilasa	0,036U
Arsenazo III, sal sódica	1,7µg
Ascorbato oxidasa (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3U
Bilirrubina oxidasa	0,1U
Púrpura de bromocresol	2,2µg
Acetato de calcio	25µg
Ácido cítrico, sal trisódica	567µg
Creatina amidinohidrolasa (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3U
Creatinina amidohidrolasa (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1U
Sulfato cúprico	134µg
Etilenglicol-bis(β -aminoetil éter)-N,N,N',N'-ácido tetraacético (EGTA)	4µg
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	178µg
Ácido etilendiaminatetraacético (EDTA), sal disódica	15µg
β -Galactosidasa	0,005U
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (levadura)	0,05U
Glutamato deshidrogenasa (hígado bovino)	0,01U
Glutamina sintetasa	0,17U
Hexoquinasa (levadura)	0,1U
Imidazol	29µg
Lactato deshidrogenasa	0,27U
L-alanina	874µg
L-ácido aspártico	426µg
Ácido L-glutámico	9,2µg
Cloruro de magnesio	3µg
Sulfato de magnesio	33µg
Malato deshidrogenasa (corazón porcino)	0,1U
Cloruro de manganeso	10µg
N-Acetil cisteína	60µg
β -Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	40µg
β -Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	48µg
o-Nitrofenil- β -D-galactopiranosida (ONPG)	22µg
Peroxidasa (rábano)	1U
Fosfoenolpiruvato	57µg
Fosfoenolpiruvato carboxilasa	0,001U
p-NPP	56µg
Ferrocianuro de potasio	0,4µg
Yoduro de potasio	28µg
Piruvato quinasa	0,01U

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad/disco
Sarcosina oxidasa (microorganismos)	1U
Potasio sódico tartrato	343µg
Ureasa (haba blanca)	0,05U
Sulfato de zinc	3µg
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y estabilizantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*
- El envase del diluyente en el disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un disco con un envase de diluyente abierto. Compruebe que la muestra o la prueba fue colocada en el disco antes de cerrar el cajón.
- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga buenas prácticas de seguridad de laboratorio cuando manipule y elimine discos usados.⁶⁸ En el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress puede consultar las instrucciones de limpieza de derrames biopeligrosos.
- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallarse si se caen. **Nunca** use un disco que se haya caído ya que puede diseminar 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 en que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras dejar caer y romper 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 ser usados directamente del refrigerador sin calentar. 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, retire el disco y úselo de acuerdo con las instrucciones del Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress. Debe desechar los discos no usados en los 20 minutos siguientes a 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 sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

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 un disco de una bolsa dañada.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress para obtener información completa acerca del uso del analizador.

7. Recolección y preparación de las muestras

En la sección “Obtención de muestras” del manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o material de referencia. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta el tubo de recolección con suavidad varias veces antes de transferir la muestra. No sacuda el tubo de recolección; esto puede causar hemólisis.
- La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de potasio. Este problema puede pasar desapercibido cuando se analiza sangre entera (la liberación de potasio de apenas 0,5 % de los eritrocitos puede aumentar el nivel sérico de potasio en 0,5 mmol/l). Además, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con rapidez pueden tener niveles de potasio elevados por la pérdida intracelular de potasio.⁶⁹
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción.⁷⁰ Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el tiempo transcurrido desde que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida de él. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente que haya ayunado por lo menos, durante 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente.⁷¹
- La refrigeración de muestras de sangre entera puede provocar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa**, **creatinina** y **glucosa**.⁷² La muestra puede separarse en plasma y suero, y almacenarse en tubos de ensayo con tapa a 2-8 °C (36-46 °F) si la muestra no se analiza dentro de los 60 minutos.
- Los resultados de la **bilirrubina total** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación.⁷³ Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato se deben almacenar en la oscuridad por períodos que no excedan los 60 minutos. Si la muestra no se puede analizar dentro de dicho período, se la puede separar en plasma o suero, y almacenar en un tubo de muestra con tapa en la oscuridad a baja temperatura.⁷⁴
- Para las muestras de sangre o 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 la reducción resultante en el valor del dióxido de carbono de hasta 6 mmol/l en el curso de 1 hora.⁷⁵

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un disco reactivo metabólico completo Piccolo PN: 400-1028 (una caja de discos, PN: 400-0028)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico sanguíneo Piccolo o analizador químico Piccolo xpress
- Con cada analizador químico sanguíneo Piccolo o analizador químico Piccolo xpress se suministran pipetas de transferencia de muestras (con volumen fijo de aproximadamente 100 µl) y puntas, y pueden solicitarse repuestos a Abaxis.
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).
- Cronómetro

Parámetros de prueba

El analizador químico sanguíneo Piccolo y el analizador químico Piccolo xpress funcionan a una temperatura ambiente entre 15 °C y 32 °C (59-90 °F). El tiempo necesario para el análisis de cada disco reactivo metabólico completo de Piccolo es inferior a 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 extracción completa de la muestra y los procedimientos paso a paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.

Calibrado

El analizador químico sanguíneo Piccolo y el analizador químico Piccolo xpress han sido calibrados por el fabricante antes de su envío al cliente. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos para el disco. Ver el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

Control de calidad

Consulte la Sección 2.4 del manual del usuario de Piccolo o la Sección 6 (Calibración y control de calidad) del manual del usuario de Piccolo xpress. El rendimiento del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress puede verificarse por medio de controles. Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para solicitar una lista de los materiales de control de calidad homologados con los límites de aceptación. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles. Los materiales de control de calidad deben almacenarse conforme a las instrucciones del prospecto incluido con los controles.

Si los controles dan resultados fuera de los límites, repita una vez. Si siguen fuera de los límites, llame al servicio de asistencia técnica. Si los controles incumplen los límites de la etiqueta, no utilice sus resultados. Consulte el Manual del usuario de Piccolo o Piccolo xpress para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

Laboratorios exonerados: Abaxis recomienda las pruebas de control de la siguiente manera:

- Al menos cada 30 días.
- Siempre que hayan cambiado las condiciones de laboratorio de manera significativa, por ejemplo, traslado del Piccolo a otro lugar o cambios en el control de temperatura.
- Cuando se indique la formación o nueva formación del personal.
- Con cada lote nuevo (análisis exonerados por CLIA en laboratorios en estado exonerado).

Laboratorios no exonerados: Abaxis recomienda que las pruebas de control se hagan conforme a las recomendaciones federales, estatales y locales.

9. Resultados

El analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress calculan e imprimen automáticamente las concentraciones de analitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario del analizador químico en cuestión.

En el manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados. Éstos se imprimen en tarjetas de resultado 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 detallan en el Manual del operador del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es **heparina-litio**. Abaxis ha realizado estudios demostrando que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirá con al menos un producto químico del disco reactivo metabólico completo Piccolo. No utilizar heparina sódica.
- Las muestras con un hematocrito superior al 62-65 % del volumen de eritrocitos concentrados (una fracción de volumen de 0,62-0,65) puede dar resultados imprecisos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo disco reactivo.

- **Cualquier resultado para una prueba particular que supere los valores de la prueba deberá ser analizado por otro método de prueba aprobado o enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.**

Advertencia: Extensas pruebas realizadas con el sistema químico de sangre de Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress demostraron que, en muy raros casos, una muestra colocada en el disco reactivo puede no fluir de manera adecuada en la cámara de muestras. Debido al flujo asimétrico, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede ser analizada de nuevo con un nuevo disco reactivo.

Interferencia

Se probaron sustancias que interfieren con los sustratos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada interferente potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-P.⁷⁶

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 se imprimen 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 sanguíneo Piccolo y el analizador químico Piccolo xpress suprimen cualquier resultado que sea afectado por más del 10 % de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la tarjeta tendrá impreso “HEM”, “LIP” o “ICT” respectivamente.
- 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 (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.
- Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

Efectos de las sustancias exógenas y terapéuticas

- Se seleccionaron treinta y cinco sustancias exógenas y terapéuticas como interferentes potenciales para métodos de prueba Abaxis, siguiendo las recomendaciones de Young.⁷⁷ Se definió a una interferencia significativa como una desviación superior al $\pm 10\%$ en el resultado para una muestra de límite normal. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con una concentración conocida de los fármacos o químicos, y analizadas. En la Tabla 2 puede consultar una lista de las sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas. **En la Tabla 3 puede consultar una lista de los analitos en los que se observaron interferencias.**

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas

Factores de interferencia potenciales	Concentración máxima analizada (mg/dl salvo donde se indiquen otras unidades)
Paracetamol	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico	3
Cafeína	10
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
Dopamina	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas (continuación)

Factores de interferencia potenciales	Concentración máxima analizada (mg/dl salvo donde se indiquen otras unidades)
Glutaciona	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniacida	4
Cetoprofen	50
L-dopa	5
Lidocaína	1
Lactato de litio	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoina	20
Oxacilina	1
Oxaloacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoina (5,5-Difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Rifampina	0,5
Ácido salicílico	50
Sulfadiazina	150
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

En la Tabla 3 puede consultar una lista de los analitos en los que se observaron interferencias.

Tabla 3: Las sustancias siguientes mostraron un desvío superior al ± 10 % en el resultado para una muestra en límites normales.

	Concentración a la que se produce > 10 % de interferencia	% de interferencia^a observada
Alanina aminotransferasa		
Ácido ascórbico	20	11 % aum.
Oxaloacetato		
Albúmina		
Acetoacetato	102	18 % dism.
Ampicilina	30	12 % dism.
Cafeína	10	14 % dism.
Cloruro de calcio	20	17 % dism.
Cefalotina (Keflin)	400	13 % aum.
Ibuprofeno	50	28 % aum.
α -cetogluturato	5	11 % dism.
Nitrofurantoina	20	13 % dism.
Prolina	4	12 % aum.
Sulfadiazina	10	14 % dism.
Sulfanilamida	50	12 % dism.
Teofilina	20	11 % dism.
Fosfatasa alcalina		
Teofilina	20	42 % dism.

Tabla 3: Las sustancias siguientes mostraron un desvío superior al ± 10 % en el resultado para una muestra en límites normales. (continuación)

	Concentración a la que se produce > 10 % de interferencia	% de interferencia^a observada
Creatinina		
Ácido ascórbico	20	11 % dism.
Dopamina	19	80 % dism.
L-dopa	5	71 % dism.
Epinefrina	1	45 % dism.
Glutaciona	30	13 % dism.
Glucosa		
Oxaloacetato	132	11 % dism.
Piruvato	44	13 % dism.
Potasio		
Penicilina G	100	17 % aum.
Sulfadiazina	150	12 % dism.
Sodio		
Cefalotina	400	12 % aum.
Metotrexato	0,5	11 % aum.
Penicilina G	100	10 % aum.
Bilirrubina total		
Dopamina	19	55 % dism.
L-dopa	5	17 % dism.
Dióxido de carbono total		
Paracetamol	100	11 % aum.
Ácido ascórbico	20	12 % dism.
Cefalotina	400	13 % aum.
Cimetidina	16	19 % dism.
Eritromicina	10	21 % dism.
Lidocaína	1	23 % aum.
Metotrexato	0,5	80 % dism.
Nitrofurantoína	20	13 % aum.
Ácido salicílico	50	17 % dism.
Sulfadiazina	150	25 % dism.

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

- 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 muestras de entre 60 y 140 varones y mujeres adultos en el analizador químico de sangre de Piccolo para determinar el intervalo de referencia para los electrolitos. Estos límites se calcularon sobre la base del 95 % del intervalo de referencia de los valores combinados (totales) obtenidos de los sujetos de referencia.⁷⁸ Estos intervalos se proporcionan solamente como guía. Los niveles de ALP en niños en crecimiento son muy variables.⁷⁹ Se recomienda que su consultorio o institución establezca los márgenes normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 4: Intervalos de referencia Piccolo

Sustrato	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Varón	53-128 U/l	53-128 U/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Mujer	42-141 U/l	42-141 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dl	2,0-2,58 mmol/l
Cloruro (CL ⁻)	98-108 mmol/l	98-108 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Glucosa (GLU)	73-118 mg/dl	4,05-6,55 mmol/l
Potasio (K ⁺)	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio (NA ⁺)	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 µmol/l
Dióxido de carbono total (tCO ₂)	18-33 mmol/l	18-33 mmol/l
Proteína total (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l
Nitrógeno ureico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol urea/l

12. Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal en el intervalo dinámico indicado a continuación cuando el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress funcionan de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress).

Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo

Sustrato	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albúmina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)	5-2400 U/l	5-2400 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Calcio (CA)	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Cloruro (CL ⁻)	80-135 mmol/l	80-135 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Glucosa (GLU)	10-700 mg/dl	0,56-38,9 mmol/l
Potasio (K ⁺)	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio (NA ⁺)	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-513 µmol/l
Dióxido de carbono total (tCO ₂)	5-40 mmol/l	5-40 mmol/l
Proteína total (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l
Nitrógeno ureico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/urea/l

Si la concentración del analito es superior al intervalo de medición (intervalo dinámico), pero inferior al del sistema, en la tarjeta impresa se indicarán un signo ">" en el límite superior y un asterisco detrás del número, por ejemplo, ALT >2000* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá "<" con un asterisco, por ejemplo, ALT <5* U/l. Para valores que tengan un valor enormemente más alto que el intervalo de medición (intervalo del sistema), se imprimirá "~~~~" en lugar del resultado. Cada vez que aparezca "~~~~" en la tarjeta impresa, recoja una muestra nueva y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Abaxis.

Sensibilidad (límites de detección)

El límite inferior del rango informado (dinámico) para cada electrolito es: alanina aminotransferasa 5 U/l; albúmina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasa alcalina 5 U/l; aspartato aminotransferasa 5 U/l; 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) potasio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; bilirrubina total 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); dióxido de carbono total 5 mmol/l; proteína total 2 g/dl (20 g/l) y nitrógeno ureico sanguíneo 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l).

Precisión

Los estudios de precisión se realizaron mediante el uso de las recomendaciones NCCLS EP5-A⁸⁰ con modificaciones basadas en NCCLS EP18-P⁸¹ para dispositivos que se vayan a usar en 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 y dos lotes de discos reactivos. 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 se realizó en dos sitios a lo largo de cinco días.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión

Sustrato	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Alanina aminotransferasa (U/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		21	21
DE		2,76	2,79
VR		13,4	13,5
<u>Control 2</u>			
Media		52	52
DE		2,7	3,25
VR		5,2	6,2
Albúmina (g/dl)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		5,6	5,6
DE		0,09	0,11
VR		1,7	2,1
<u>Control 2</u>			
Media		3,7	3,7
DE		0,07	0,11
VR		2,0	2,9
Fosfatasa alcalina (U/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		39	39
DE		1,81	2,29
SD		4,6	5,8
<u>Control 2</u>			
Media		281	281
DE		4,08	8,75
VR		1,5	3,1
Aspartato aminotransferasa (U/l)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		49	49
DE		0,98	0,98
VR		2,07	2,07
<u>Control 2</u>			
Media		147	147
DE		1,83	1,83
VR		1,26	1,26
Calcio (mg/dl)			
<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

Tabla 6: Precisión (continuación)

Sustrato	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Cloruro (mmol/l)			
<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
Creatinina (mg/dl)			
<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
Glucosa (mg/dl)			
<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
Potasio (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 120		
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)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
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
Bilirrubina total (mg/dl)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		0,8	0,8
DE		0,06	0,07
VR		8,0	9,3
<u>Control 2</u>			
Media		5,2	5,2
DE		0,09	0,15
VR		1,7	2,8

Tabla 6: Precisión (continuación)

Sustrato	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Dióxido de carbono total (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 120		
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
Proteína total (mg/dl)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		6,8	6,8
DE		0,05	0,08
VR		0,8	1,2
<u>Control 2</u>			
Media		4,7	4,7
DE		0,09	0,09
VR		2,0	2,0
Nitrógeno ureico (mg/dl)			
<u>Control 1</u>	N = 80		
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 sangre heparinizada y suero entero se obtuvieron y analizaron en el analizador químico de sangre de Piccolo y por métodos de comparación. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico de sangre de Piccolo en los sitios de campo y las muestras de suero se analizaron con el analizador químico de sangre de Piccolo y por métodos de comparación. En algunos casos se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir los rangos dinámicos. Las muestras fueron elegidas para cumplir los valores de distribución en las instrucciones NCCLS EP9-A.⁸² En la tabla 7 se muestran las estadísticas de la correlación representativa.

Tabla 7: Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación

	Correlación Coeficiente	Pendiente	Intercepta	VER	N	Rangos de la muestra (mmol/l)	Método de Comparación
Alanina Aminotransferasa (U/l)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albúmina (g/dl)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Fosfatasa alcalina (U/l)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27-368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26-150	Technicon
Aspartato aminotransferasa (U/l)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13-252	DAX™

Tabla 7: Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación (continuación)

	Correlación Coeficiente	Pendiente	Intercepta	VER	N	Rangos de la muestra (mmol/l)	Método de Comparación
Calcio (mg/dl)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2-11,9	Paramax Beckman
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1-9,9	
Cloruro (mmol/l)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71-118	Vitros 950
Creatinina (mg/dl)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4-14,7	Paramax Beckman
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4-7,5	
Glucosa (mg/dl)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72-422	Paramax Beckman
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56-646	
Potasio (mmol/l)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0-6,8	Radiómetro KNM™ 2
Sodio (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiómetro KNA™ 2
Bilirrubina total (mg/dl)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax Beckman
	0,98	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	
Dióxido de carbono total (mmol/l)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6-39	Cobas Fara
Proteínas totales (g/dl)	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7-9,2	Paramax Beckman
	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5-9,2	
Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6-52	Paramax Beckman
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6-38	

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

Resultados de un estudio con usuarios sin formación

Se llevó a cabo un estudio con “usuarios sin formación”, en el que los participantes, únicamente con las instrucciones del análisis que se les proporcionaban, debían analizar tres discos con muestras aleatorizadas a ciegas. Las muestras se prepararon a base de suero con tres niveles de cada uno de los catorce analitos: ALT, albúmina, ALP, AST, calcio, cloruro, creatinina, glucosa, potasio, sodio, bilirrubina total, dióxido de carbono total, proteína total y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN). Los participantes no tenían ninguna formación en la realización del análisis. Se reclutaron en total aproximadamente 60 participantes de 3 centros, que constituían una población suficientemente diversa (estudios, edad, sexo, etc.) a efectos demográficos.

En las tablas siguientes se muestra un resumen del rendimiento de cada analito.

Alanina aminotransferasa (ALT)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	45,4 U/l	98,9 U/l	184,3 U/l
% VR	3,7 %	1,7 %	1,5 %
Intervalo observado	42 – 53	96 – 103	175 – 191
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 15,0$ %*	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

* Este porcentaje está basado en el supuesto de que es imposible distinguir correctamente entre valores normales y anormales cuando el error es mayor de una cuarta parte de intervalo normal. Se utilizó el intervalo (10 U/l - 47 U/l).

Albúmina (ALB)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	3,0 g/dl	3,5 g/dl	4,2 g/dl
% VR	2,7 %	2,5 %	1,8 %
Intervalo observado	2,9 – 3,2	3,3 – 3,7	4,0 – 4,4
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 12,5$ %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Fosfatasa alcalina (ALP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	94,5 U/l	171,5 U/l	337,5 U/l
% VR	5,2 %	3,2 %	2,4 %
Intervalo observado	85 – 106	160-184	287 – 388
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 15,0$ %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Aspartato aminotransferasa (AST)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	56,0	120,4	276,3
% VR	2,4 %	1,1 %	1,0 %
Intervalo observado	54 – 60	117 – 124	266 – 285
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 15,0$ %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Calcio (CA)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	8,0	10,5	13,1
% VR	1,7 %	1,5 %	1,4 %
Intervalo observado	7,7 – 8,4	10,1 – 11,0	12,6 – 13,4
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 6,3 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Cloruro (CL)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	94,6	106,0	115,5
% VR	1,8	1,4	1,5
Intervalo observado	90 – 100	102 – 108	110 – 119
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 2,4 %	91,9 % 57/62 95 % IC: 82,2 % a 97,3 %	96,8 % 60/62 95 % IC: 88,8 % a 99,6 %	95,2 % 59/62 95 % IC: 86,5 % a 99,0 %

Creatinina (CRE)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,89	2,07	6,89
% VR	11,0	5,0	1,6
Intervalo observado	0,7 – 1,2	1,8 – 2,3	6,5 – 7,2
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	93,6 58/62 95 % IC: 84,3 % a 98,2 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Glucosa (GLU)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	95,2	130,3	365,8
% VR	1,1 %	1,0 %	0,8 %
Intervalo observado	93 – 98	125 – 133	351 – 373
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 10,4 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Potasio (K⁺)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	3,4	5,7	7,2
% VR	3,3	2,5	2,0
Intervalo observado	3,2 – 3,7	5,2 – 5,9	6,7 – 7,5
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 8,6 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Sodio (NA⁺)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	122,1	140,8	157,5
% VR	1,0	0,8	1,0
Intervalo observado	118 – 127	138 – 143	154 – 162
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 3,1 %	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Bilirrubina total (TBIL)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,86 mg/dl	2,5 mg/dl	5,7 mg/dl
% VR	6,1 %	2,6 %	1,8 %
Intervalo observado	0,8 – 1,0	2,3 – 2,6	5,4 – 5,9
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Dióxido de carbono total (tCO₂)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	20,3	27,6	34,4
% VR	5,1	4,6	3,7
Intervalo observado	18 – 23	23 – 30	32 – 38
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 14,7 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Proteína total (TP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	4,8 g/dl	5,7 g/dl	7,1 g/dl
% VR	2,0 %	1,5 %	1,5 %
Intervalo observado	4,6 – 5,3	5,3 – 5,9	6,7 – 7,5
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 5,9 %	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	15,1	41,0	72,2
% VR	2,3	2,5	1,8
Intervalo observado	14 – 16	37 – 43	68 – 75
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

13. Bibliografía

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957 28: 56-63.
3. Murray, RL. Alanine aminotransferase. *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer, HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980;18:521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 1921;49:93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. *J Biol Chem* 1921;49:109-113.
8. Wolfson WQ, y otros. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948;18:723-30.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961;7:626-36.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966;12:414-17.
11. Gendler, SM. Albumin. *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974 53: 101-108.
13. Louderback A, MealeyEH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978;24:80-86.
15. King, EJ and Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 1954 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. Uber die Phosphomonoesterase. *Enzymologia* 1937; 4: 217-231.
18. Fujita, H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 1939 30: 69-87.

13. Bibliografía (continuación)

19. Petittlerc C, Delisle M, Martel M. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, y otros. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-761
21. Bowers GN Jr, y otros. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979 98: 163F-174F.
22. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955 34: 131-133.
23. Bergmeyer HU, y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977 23: 887-899.
24. Bergmeyer HU, y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24:720-721
25. Kramer B y otros. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J Biol Chem* 1921;47:475-481.
26. Clark EP y otros. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. *J Biol Chem* 1925;63:461-464.
27. Katzman E y otros. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J. Biol Chem* 1937;118:539-544.
28. Cali y otros. A reference method for the determination of total calcium in serum. *En: Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 8. Cooper GR, comp. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1977: 3-8.
29. Kessler G y otros. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10:686-703.
30. Michaylova V y otros. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.
31. Scarpa A y otros. Metallochromic indicators of ionized calcium *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
32. Ono T y otros. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988;34:552-553
33. Knoll VE y otros. Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970;8:582-587.
34. Haeckel R y otros. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem.* 1980;18:385-394.
35. Moss GA y otros. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975;21:1422-1426.
36. Jaynes PK y otros. An Enzymatic, Rate-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. 1982; 28:114-117.
37. Fossati P y otros. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. 1983;29:1494-1496.
38. Whelton A y otros. Nitrogen metabolites and renal function. *En: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2^a ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994;1513-1575.
39. Folin O y otros. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919;38:81-110.
40. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937;117:771-776.
41. Nelson N y otros. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944;153:375-380.
42. Kaplan LA. Glucose. *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2^a ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
43. Berry MN y otros. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
44. 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;40:846-847
45. Hubl W y otros. 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;40:1528-1531
46. Helgerson RC y otros. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium selective-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
47. Kumar A y otros. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-1712
48. Berry MN y otros. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-2298
49. Malloy, HT y Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.

13. Bibliografía (continuación)

50. Meites, S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. En: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol. 9. Faulkner WR, Meites S, comps. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.
51. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-2384.
52. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1984; 30: 971. (Abstract)
53. Perry B, y otros.. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-332.
54. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960;33:181-185.
55. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2^a ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
56. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2^a ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
57. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-245.
58. Weichselbaum, TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946; 16: 40-49.
59. Dumas BT y otros. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27: 1642-1650.
60. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. *En: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9.* Faulkner WR, Meites S, comps. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
61. Van Slyke y otros. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
62. Fawcett JK y otros. A rapid and precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960;13:156-159.
63. Chaney y otros. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962;8:130-132.
64. Talke H y otros. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensh*, 1965;43:174-175.
65. Hallett y otros. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971;35:33-37.
66. Patton y otros. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977;49:464-469.
67. Sampson EJ y otros. 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.
68. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2^a ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA NCCLS, 1992.
69. Scott, M.G. *Electrolytes and Blood Gases. Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3^a ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
70. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA NCCLS, 1999.
71. Overfield CV, y otros. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972 39: 35-40.
72. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem*.1988; 34-2111-4.
73. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
74. Henry RJ y otros. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2^a ed. New York: Harper and Row, 1974: 417-421; 1058-1059.
75. Scott, M.G. *Electrolytes and Blood Gases. Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3^a ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
76. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA NCCLS, 2002.
77. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3^a ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
78. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2^a ed NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA NCCLS, 2000.
79. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. En: Burtis CA, Ashwood ER, comps. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3^a ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999 págs. 676-684.
80. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
81. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA NCCLS, 2002.

13. Bibliografía (continuación)

82. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA NCCLS, 2002.

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

Esenzione da norme CLIA: Usare solo sangue intero in litio eparina

Complessità moderata: Usare sangue intero in litio eparina plasma in litio eparina o siero

Dicembre 2009

PN: 400-7139 Rev. G

© 2003, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Destinazione d'uso

Il disco reagente per il metabolismo generale Piccolo®, da utilizzarsi con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o con l'analizzatore chimico Piccolo xpress™, è destinato all'accertamento quantitativo *in vitro* di: alanino transaminasi (ALT), albumina, fosfatasi alcalina (ALP), aspartato transaminasi (AST), calcio, cloruro, creatinina, glucosio, potassio, sodio, bilirubina totale, anidride carbonica totale, proteine totali e azoto ureico ematico (BUN) nel sangue intero eparinizzato, nel plasma eparinizzato o nel siero.

I test di questo pannello sono esenti dalle norme CLIA 88. Se un laboratorio modifica le istruzioni per il sistema di test, i test sono considerati di complessità elevata e soggetti a tutti i requisiti CLIA. In laboratori esenti dalle norme CLIA, è possibile testare solo sangue intero in litio eparina. In caso di impiego in laboratori a complessità moderata, è possibile usare sangue intero litio-eparinato, plasma litio-eparinato o siero.

Per eseguire test in esenzione dalle norme CLIA, è necessario un Certificato di esenzione CLIA. Il Certificato di esenzione può essere ottenuto dai CMS (Centers for Medicare & Medicaid Services). Per assistenza nell'ottenere un certificato, contattare la COLA (Commission on Laboratory Accreditation) al numero verde (negli Stati Uniti) 1-800-981-9883.

2. Sintesi e spiegazione degli esami clinici

Il disco reagente per il metabolismo generale Piccolo e l'analizzatore chimico del sangue Piccolo costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il medico nella diagnosi delle seguenti patologie:

Alanina transaminasi (ALT):	Malattie epatiche, compresa epatite virale e cirrosi.
Albumina:	Malattie epatiche e renali.
Fosfatasi alcalina (ALP):	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali.
Aspartato transaminasi (AST):	Malattie epatiche, compresa epatite e itterizia virale, shock.
Calcio:	Malattie paratiroidi, ossee e renali croniche; tetanie.
Cloruro:	Disidratazione, diarrea e vomito prolungati, tubolopatia renale, iperparatiroidismo, ustioni, affezioni renali da perdita di sali, iperidratazione e terapia con tiazidici.
Creatinina:	Malattia renale e controllo della dialisi renale.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Potassio:	Malattia renale glomerulare o tubolare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi in vitro, 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, bruciori, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia diluitiva, depletiva e delusiva, sindrome da inadeguata secrezione di ADH.

Bilirubina totale:	Affezioni epatiche, compresa epatite e ostruzione della cistifellea; itterizia.
Anidride carbonica totale:	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.
Proteine totali:	Malattie epatiche, renali e del midollo osseo; disturbi metabolici e alimentari.
Azoto ureico ematico (BUN):	Malattie renali e metaboliche.

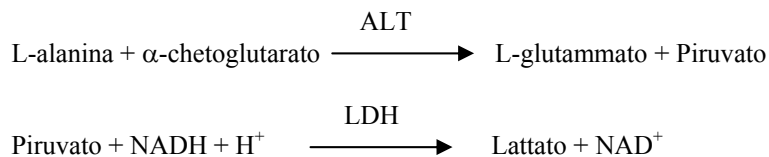
Come per ogni esame clinico diagnostico, prima della diagnosi definitiva si dovranno considerare tutti gli altri esami compreso lo stato clinico del paziente.

3. Principio su cui si basa la procedura

Alanina transaminasi (ALT)

L'alanina transaminasi (ALT) è stata misurata con tre metodologie. Due di questi metodi—la tecnica di accoppiamento colorimetrica alla dinitrofenilidrazina^{1,2} e l'analisi enzimatica fluorescente—sono usati di rado.³ Un metodo enzimatico basato sul lavoro di Wróblewski e LaDue⁴ è la tecnica più diffusa per determinare le concentrazioni di ALT nel siero. È stata proposta una procedura Wróblewski e LaDue modificata come procedura raccomandata dall'International Federation of Clinical Chemistry (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).⁵

Il metodo messo a punto per utilizzo con gli analizzatori Piccolo è una variante della procedura raccomandata dalla IFCC. In questa reazione, la ALT catalizza il trasferimento di un gruppo ammidico da L-alanina a α -chetoglutarato formando L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Allo stesso tempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nel seguente schema di reazione.

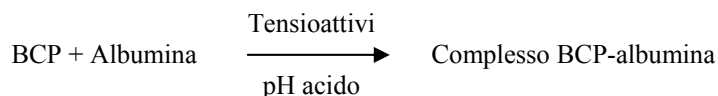


Il tasso di variazione nella differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

Albumina (ALB)

Tra i primi metodi usati per misurare l'albumina ricordiamo le tecniche di frazionamento^{6,7,8} e il contenuto di triptofano delle globuline.^{9,10} Tali metodi sono poco pratici nell'esecuzione e non presentano un elevato grado di specificità. Due tecniche immunochimiche sono considerate metodi di riferimento, ma sono costose e richiedono molto tempo.¹¹ Le tecniche basate sul legame con coloranti sono le più usate per la misurazione dell'albumina. Il verde di bromocresolo (BCG) è il più diffuso fra i metodi basati su legame con colorante, ma può dare una concentrazione di albumina superiore a quella effettiva, soprattutto in prossimità dei valori normali più bassi.¹² Il violetto di bromocresolo (BCP) è il più specifico dei coloranti in uso.^{13,14}

Il violetto di bromocresolo (BCP), legato con l'albumina, cambia colore da giallo a blu. L'assorbanza massima si modifica con il cambiamento di colore.

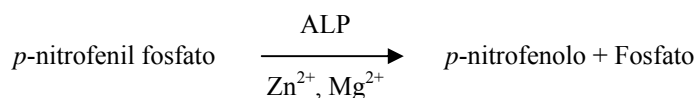


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Si tratta di una reazione di punto finale, misurata come differenza di assorbanza tra 600 nm e 550 nm.

Fosfatasi alcalina (ALP)

Le prime tecniche per la misurazione della fosfatasi alcalina sono state messe a punto oltre 60 anni fa. Diversi di questi metodi spettrofotometrici di punto finale o a due punti^{15,16} sono oggi considerati antiquati o troppo complessi. L'uso di *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumenta la velocità della reazione.^{17,18} L'affidabilità di questa tecnica è stata molto rafforzata mediante l'uso di una sostanza tampone con ioni metallo per mantenere la concentrazione di ioni magnesio e zinco nella reazione.¹⁹ Il metodo di riferimento dell'American Association for Clinical Chemistry (AACC)²⁰ è basato sull'uso di *p*-NPP come substrato e una sostanza tampone con ioni metallo.

La procedura Piccolo è una variante dei metodi AACC e IFCC.²¹ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in una sostanza tampone con ioni metallo formando *p*-nitrofenolo e fosfato.

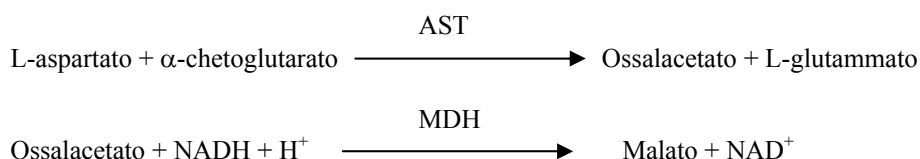


La quantità di ALP nel campione è proporzionale al tasso di aumento nella differenza di assorbanza tra 405 nm e 500 nm.

Aspartato transaminasi (AST)

Il test per l'aspartato transaminasi (AST) si basa sul metodo di Karmen²² con le modifiche introdotte da Bergmeyer.²³ L'attuale metodo di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa sulla tecnica Karmen/Bergmeyer di associazione della malato deidrogenasi (MDH) e della nicotinammide dinucleotide ridotta (NADH) per il rilevamento di AST nel siero.^{23,24} Alla reazione si aggiunge lattato deidrogenasi (LDH) per ridurre l'interferenza causata dal piruvato endogeno.

L'AST catalizza la reazione dell'L-aspartato e dell' α -chetoglutarato in ossalacetato e L-glutammato. L'ossalacetato viene trasformato in malato e l'NADH viene ossidato in NAD⁺ dal catalizzatore MDH.

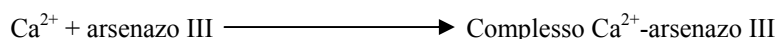


Il tasso di cambiamento nell'assorbanza a 340 nm/405 nm causata dalla trasformazione dell'NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Calcio (CA)

I primi metodi utilizzati per analizzare il calcio si basavano sulla precipitazione del calcio con un eccesso di anioni.^{25,26,27} I metodi basati sulla precipitazione sono complessi e spesso imprecisi. Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico; tale metodo, tuttavia, non è adatto ad analisi di routine.²⁸ I metodi più diffusi sono quelli spettrometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresolfaleina complexone o arsenazo III.^{29,30,31} L'arsenazo III presenta una elevata affinità con il calcio e non è dipendente dalla temperatura come il CPC.

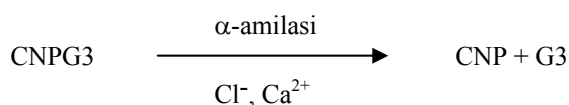
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.



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

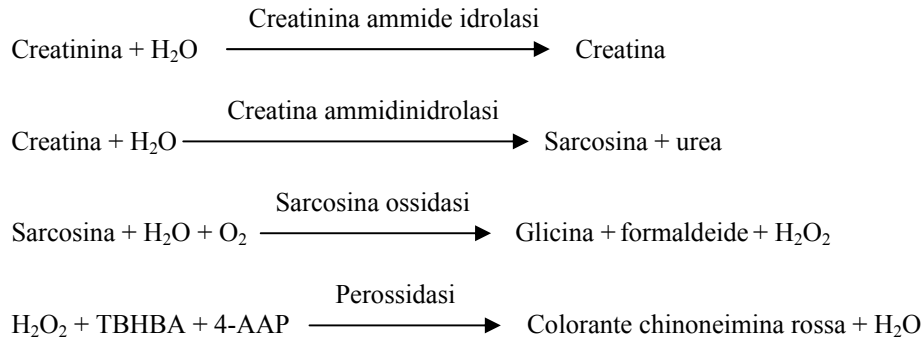
Cloruro (CL)

Il metodo si basa sulla determinazione dell'attivazione dell'attività dell' α -amilasi in funzione del cloruro. L' α -amilasi disattivata viene riattivata mediante l'aggiunta dello ione cloruro, consentendo al calcio di riassociarsi con l'enzima. La riattivazione dell'attività dell' α -amilasi è proporzionale alla concentrazione di ioni cloruro nel campione. L' α -amilasi riattivata trasforma il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNP3) in 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP) producendo colore e α -maltotriosio (G3). La reazione si misura bicromaticamente; l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività dell' α -amilasi riattivata e alla concentrazione dello ione cloruro nel campione.³²



Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, introdotto per la prima volta 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) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{33,34} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{35,36,37} Nei metodi basati sull'enzima creatinina ammididrolasi si elimina il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra invece nelle tecniche che utilizzano creatinina immuno idrolasi.³⁸



Vengono utilizzate due provette per determinare la concentrazione di creatinina presente nel campione. La creatina endogena viene misurata nella provetta bianco, che viene sottratta dall'insieme di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella provetta test. Una volta eliminata la creatina endogena dai calcoli, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso prodotto. Per misurare la reazione al punto finale si prende la differenza di assorbanza tra 550 nm e 600 nm.

eGFR (calcolato)

La creatinina sierica viene misurata di routine come indicatore delle funzioni renali. Poiché la creatinina varia in funzione dell'età, del sesso e dell'etnicità, è possibile che la sola creatinina sierica non permetta di rilevare l'insufficienza renale cronica (IRC). Pertanto, il National Kidney Disease Education Program consiglia caldamente ai laboratori di valutare il tasso di filtrazione glomerulare stimato (eGFR) quando misurano la creatinina sierica in pazienti maggiorenni. La refertazione di routine del eGFR stimato con tutte le determinazioni di creatinina sierica permette ai laboratori di aiutare a identificare i soggetti con ridotte funzioni renali, agevolando la diagnosi di IRC. Generalmente, valori calcolati di eGFR <60 ml/min sono associati a un aumentato rischio di insufficienza renale cronica con esiti avversi.

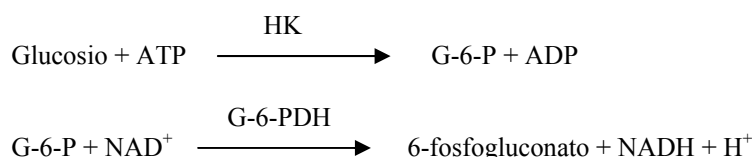
Il calcolo del eGFR stimato viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnicità del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo del eGFR stimato.

$$\text{GFR (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1.154} \times (\text{età})^{-0.203} \times (0,742 \text{ per le donne}) \times (1,212 \text{ per i neri d'America})$$

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione in rame (ad esempio Folin-Wu³⁹ e Somogyi-Nelson^{40,41}). A causa della mancanza di specificità delle tecniche di riduzione in rame, sono state messe a punto procedure quantitative utilizzando gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio inserito nel disco reagente per il metabolismo generale è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.⁴²

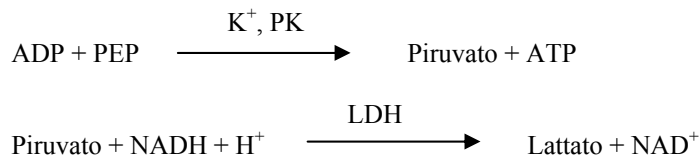
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione della nicotinammide adenin dinucleotide (NAD⁺) in NADH.



Potassio (K⁺)

Sono stati messi a punto metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis è basato sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio e risulta avere eccellente linearità e bassissima suscettibilità alle sostanze endogene.^{43,44,45} L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è ridotta al minimo con l'aggiunta, rispettivamente, di Kryptofix e di glutammina sintetasi.⁴³

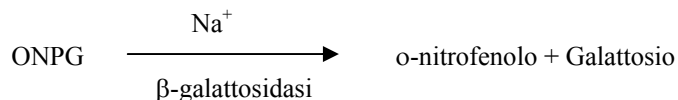
Nella reazione enzimatica accoppiata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Allo stesso tempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ .



Il tasso di cambiamento nell'assorbanza tra 340 e 405 nm è causata dalla trasformazione dell' NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.

Sodio (Na⁺)

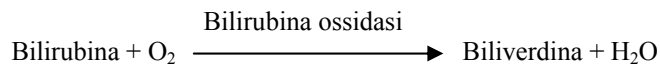
Sono stati messi a punto metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{46,47,48} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β -galattosidasi è attivata dal sodio presente nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione della o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



Bilirubina totale (TBIL)

I livelli di bilirubina totale sono stati finora di norma rilevati mediante test basati sull'uso di acido sulfanilico diazotato.^{49,50} È stato messo a punto un metodo più moderno e specifico con l'enzima bilirubina ossidasi.^{51,52,53} Oltre a utilizzare un metodo più specifico per l'accertamento della bilirubina totale, con gli analizzatori Piccolo il fotodeterioramento dell'analita è ridotto al minimo in quanto il campione può essere analizzato immediatamente dopo il prelievo.

Nella procedura enzimatica, la bilirubina viene ossidata in biliverdina dalla bilirubina ossidasi.

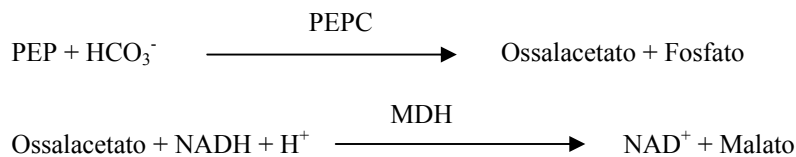


La bilirubina viene misurata come differenza di assorbanza tra 467 nm e 550 nm. L'assorbanza iniziale di questa reazione di punto finale viene ricavata in base alla provetta di campione bianco per la bilirubina e l'assorbanza finale si ottiene dalla provetta di campione test per la bilirubina. La quantità di bilirubina presente nel campione è proporzionale alla differenza tra le misure dell'assorbanza iniziale e finale.

Anidride carbonica totale (tCO₂)

L'anidride carbonica totale è presente nel siero o nel plasma in forma di anidride carbonica disciolta, carbammino-derivati delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata con i metodi enzimatici dell'indicatore pH, dell'elettrodo CO₂ e della spettrofotometria, tutti con risultati accurati e precisi.^{54,55} Il metodo enzimatico è adatto all'utilizzo con analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, senza complessità aggiunta.

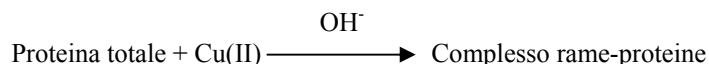
Nel metodo enzimatico il campione viene prima reso alcalino per modificare tutte le forme di anidride carbonica (CO₂) in bicarbonato (HCO₃⁻). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'HCO₃⁻ reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malicodeidrogenasi (MDH) catalizza la reazione dell'ossalacetato e scompone la nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) in NAD^+ e malato. Il tasso di cambiamento nell'assorbanza a causa della trasformazione dell' NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di tCO₂ presente nel campione.



Proteine totali (TP)

Il metodo per le proteine totali è una variante della reazione con biuretto, nota per la sua precisione, accuratezza e specificità.⁵⁶ Il metodo è stato messo a punto da Riegler e poi modificato da Weichselbaum, Dumas, et al. La reazione con biuretto viene proposta come metodo di riferimento per le proteine totali.^{57,58,59}

Nella reazione con biuretto la soluzione proteica viene trattata con ioni rame [Cu(II)] in un mezzo fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione dell'idrossido di rame e l'autoriduzione del rame.⁵⁸ Gli ioni Cu(II) reagiscono con legami peptidici tra gli atomi di ossigeno carbonile e azoto ammidici formando un complesso rame-proteine colorato.

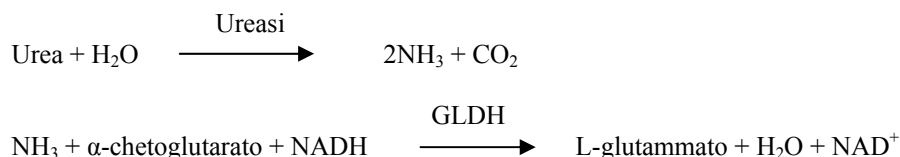


La quantità di proteina totale presente nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del complesso Cu-proteine. Il test per le proteine totali è una reazione di punto finale e l'assorbanza si misura come differenza dell'assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

Azoto ureico ematico (BUN)

È possibile misurare l'urea sia direttamente che indirettamente. La reazione al diacetil monoxime, unico metodo diretto per misurare l'urea, è ampiamente usata ma si basa su reagenti pericolosi.⁶⁰ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca formata dall'urea; l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.⁶¹ L'ammoniaca si può quantificare con svariati metodi, tra i quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot^{62,63} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{64,65} Le procedure Berthelot catalizzate però risultano poco affidabili nel misurare l'ammoniaca.⁶⁶ 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.⁶⁷

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



Il tasso di variazione nella differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione di NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di urea presente nel campione.

4. Funzionamento

Per i principi e i limiti della procedura, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni disco reagente per il metabolismo generale Piccolo contiene granuli secchi di reagente specifico per il test (come da descrizione che segue). In ogni disco è compreso un reagente secco per campione bianco (costituito da sostanza tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di alanina transaminasi (ALT), albumina (ALB), fosfatasi alcalina (ALP), aspartato transaminasi (AST), calcio (CA), cloruro (CL⁻), glucosio (GLU), potassio (K⁺), sodio (NA⁺), anidride carbonica totale (tCO₂), proteine totali (TP) e azoto ureico ematico (BUN). Sono inoltre compresi nel disco campioni bianco dedicati per creatinina (CRE) e bilirubina totale (TBIL). Ogni disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componente	Quantità/Disco
Acido 2,4,6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA)	188µg
2-Cloro-4-nitrofenil- α -maltotrioside (CNPG3)	53µg
Idrocloruro di 2-metil-4-isotizolin-3-one (MIT)	4,2µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5] triscosano (Kryptofix 221)	86µg
Idrocloruro di 4-amminoantipirina	13µg
Adenosina 5'-difosfato	36µg
Adenosina 5'-trifosfato	22µg
Acido α -chetoglutarico	101µg
Amilasi	0,036U
Arsenazo III, sale sodico	1,7µg
Ascorbato ossidasi (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3U
Bilirubina ossidasi	0,1U
Violetto di bromocresolo	2,2µg
Acetato di calcio	25µg
Acido citrico, sale trisodico	567µg
Creatina amidinoidrolasi (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3U
Creatinine amidohydrolase (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1U
Solfato di rame	134µg
Acido etilene glicol-bis (etere β -amminoetile)-N,N,N',N'-tetracetico EGTA)	4µg
Acido etilen-diamminotetracetico (EDTA)	178µg
Acido etilene diammin tetracetico (EDTA), sale disodico	15µg
β -galattosidasi	0,005U
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi (lievito)	0,05U
Glutammato deidrogenasi (fegato di bue)	0,01U
Glutammina sintetasi	0,17U
Esochinasi (lievito)	0,1U
Imidazolo	29µg
Lattato deidrogenasi	0,27U
L-alanina	874µg
Acido L-aspartico	426µg
Acido L-glutammico	9,2µg
Cloruro di magnesio	3µg
Solfato di magnesio	33µg
Malico deidrogenasi (cuore porcino)	0,1U
Cloruro di manganese	10µg
N-acetilcisteina	60µg
β -nicotinammide adenin dinucleotide (NAD)	40µg
β -nicotinammide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	48µg
o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside (ONPG)	22µg
Perossidasi (barbaforte)	1U
Fosfoenol piruvato	57µg
Fosfoenol piruvato carbossilasi	0,001U
p-NPP	56µg
Ferrocianuro di potassio	0,4µg
Ioduro di potassio	28µg
Piruvato chinasi	0,01U
Sarcosina ossidasi (microorganismo)	1U
Tartrato di sodio potassio	343µg
Ureasi (fagiolini)	0,05U
Solfato di zinco	3µg
Sostanze tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*
- Il contenitore del diluente nel disco reagente viene aperto automaticamente al momento della chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non si può riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Accertarsi che il campione o controllo sia stato inserito nel disco prima di chiudere il cassetto.
- I dischi reagente usati contengono fluidi corporei umani. Si dovranno adottare le corrette prassi di laboratorio nel maneggiare e smaltire i dischi usati.⁶⁸ Per le istruzioni sulle modalità di eliminazione di eventuali fuoriuscite di materiale a rischio biologico, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.
- I dischi reagente sono in plastica e possono spaccarsi o scheggiarsi in caso di caduta. Non utilizzare **in alcun caso** un disco che abbia subito cadute in quanto può rilasciare materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- I granuli di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. L'operatore non viene a contatto con i granuli di reagente se vengono seguite le procedure raccomandate. Qualora si debbano maneggiare i granuli (p.es., per pulire dopo aver fatto cadere e infranto un disco reagente), evitare l'ingestione, il contatto cutaneo e l'inalazione.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

I dischi reagente possono essere utilizzati direttamente dal frigorifero senza riscaldarli. Non lasciare i dischi sigillati negli astucci di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire l'astuccio di foglio d'alluminio sigillato, estrarre il disco e utilizzarlo seguendo le istruzioni contenute nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress. Se un disco non viene utilizzato entro 20 minuti dopo l'apertura dell'astuccio, dovrà essere gettato via.

Conservazione

Conservare i dischi reagente negli astucci sigillati a 2-8°C (36-46°F). Non esporre i dischi, aperti o meno, alla luce solare diretta o a temperature superiori a 32°C (90°F). I dischi reagente si possono utilizzare fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. La data di scadenza è inoltre indicata in forma codificata nel codice a barre stampato sul relativo anello. In caso di reagenti scaduti, sul display dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress viene visualizzato un messaggio di errore.

Segni di instabilità o deterioramento del disco reagente

Se l'astuccio è strappato o comunque danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare dischi prelevati da astucci danneggiati.

6. Strumento

Per informazioni dettagliate sull'uso dell'analizzatore, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

7. Prelievo e preparazione dei campioni

Le tecniche di prelievo dei campioni sono descritte nella sezione "Prelievo dei campioni" del manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

- La quantità minima del campione è di ~100 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o materiale di controllo. Il ricettacolo del campione sul disco reagente può contenere fino a 120 µL.
- I campioni di sangue intero prelevati da una vena devono essere omogenei prima che il campione venga trasferito nel disco reagente. Invertire delicatamente la provetta di prelievo varie volte subito prima di trasferire il campione. Non scuotere la provetta di prelievo; tale manovra potrebbe causare emolisi.
- L'emolisi può dar luogo a risultati erroneamente elevati nelle analisi relative al potassio. Tale problema potrebbe non essere rilevato se si analizza sangue intero (il rilascio di potassio anche solo dallo 0,5% degli eritrociti può far aumentare il livello di potassio nel siero di 0,5 mmol/L). Inoltre, anche i campioni non emolizzati che non vengono elaborati immediatamente potrebbero presentare livelli di potassio maggiori a causa del passaggio di potassio tra cellule.⁶⁹

- I campioni di sangue intero prelevati per puntura di una vena si devono sottoporre a test entro 60 minuti dal prelievo.⁷⁰ Le concentrazioni di **glucosio** sono soggette a variazioni in funzione del tempo trascorso da quando il paziente ha ingerito cibo e del tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, i campioni si devono prelevare da pazienti a digiuno da almeno 12 ore. Le concentrazioni di glucosio diminuiscono di circa 5-12 mg/dL in 1 ora se lasciate in campioni non centrifugati a temperatura ambiente.⁷¹
- Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **aspartato transaminasi, creatinina e glucosio** possono subire variazioni significative.⁷² Il campione può essere diviso in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8°C (36-46°F) qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.
- I risultati relativi alla **bilirubina totale** possono subire deterioramento da luce.⁷³ I campioni di sangue intero non analizzati immediatamente si devono conservare al buio per non oltre 60 minuti. Qualora il campione non possa essere analizzato entro tale arco di tempo, si dovrà suddividere in plasma o siero e conservare al buio a bassa temperatura in una provetta con tappo.⁷⁴
- Utilizzare solo provette da prelievo evacuate all'eparina di litio (tappo verde) per i campioni di sangue intero o di plasma. Utilizzare provette da prelievo evacuate senza additivo (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero) per i campioni di siero.
- Iniziare il test non oltre 10 minuti dopo aver trasferito il campione nel disco reagente.
- La massima precisione nel determinare la concentrazione di anidride carbonica totale si ha quando l'analisi viene effettuata immediatamente dopo aver aperto la provetta e quanto prima possibile dopo aver prelevato ed elaborato il sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene molta meno anidride carbonica del plasma: pertanto, parte dell'anidride carbonica in forma gassosa verrà liberata dal campione nell'aria, con conseguente diminuzione del valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/L nel giro di un'ora.⁷⁵

8. Procedura

Materiale in dotazione

- Un disco reagente per metabolismo generale Piccolo, numero parte: 400-1028 (una confezione di dischi, numero parte: 400-0028)

Materiale necessario ma non in dotazione

- Analizzatore chimico del sangue Piccolo o analizzatore chimico Piccolo xpress
- Ogni analizzatore chimico del sangue Piccolo o analizzatore chimico Piccolo xpress è corredato di pipette di trasferimento del campione (volume fisso di circa 100 µL) e puntali, riordinabili direttamente ad Abaxis.
- Reagenti di controllo disponibili in commercio raccomandati da Abaxis (per i valori attesi e i materiali di controllo approvati, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis).
- Cronometro

Parametri del test

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress funzionano a temperature ambiente comprese tra 15°C e 32°C (59-90°F). Il tempo di analisi per ogni disco reagente per metabolismo generale Piccolo è meno di 14 minuti. L'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37°C (98,6°F) durante l'intervallo di misurazione.

Procedura del test

Le procedure dettagliate per il prelievo dei campioni e il modo di operare sono descritte nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

Taratura

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress sono tarati dal produttore prima della spedizione. Il codice a barre stampato sul relativo anello fornisce i dati di taratura specifici dei dischi. Consultare il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

Controllo qualitativo

Consultare la sezione 2.4 del manuale dell'operatore dell'analizzatore Piccolo o la sezione 6 (Taratura e controllo qualitativo) del manuale dell'operatore dell'analizzatore Piccolo xpress. Le prestazioni dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress si possono verificare effettuando test su controlli. Per un elenco di materiali di controllo qualitativo approvati con i relativi range di accettazione, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis. Altri controlli a base di siero o plasma umano potrebbero non essere compatibili. I materiali di controllo qualitativo devono essere conservati secondo le istruzioni del foglio illustrativo incluso nella confezione dei controlli.

Se i risultati sono fuori range, ripetere una volta. Se i risultati sono nuovamente fuori range, rivolgersi all'assistenza tecnica. Non refertare i risultati se i controlli sono al di fuori dei limiti riportati sulla relativa etichetta. Consultare il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo o Piccolo xpress per una trattazione dettagliata sulle modalità di esecuzione, registrazione, interpretazione e rappresentazione grafica dei risultati dei controlli.

Laboratori esenti: Abaxis raccomanda di testare i controlli nel modo seguente:

- almeno ogni 30 giorni
- ogni volta che intervengono mutamenti significativi nelle condizioni del laboratorio (ad esempio, se l'analizzatore Piccolo viene spostato in una nuova collocazione oppure in presenza di variazioni nel controllo della temperatura)
- quando è indicato un corso di formazione o aggiornamento del personale
- ogni volta che viene utilizzato un nuovo lotto (test esenti dalle norme CLIA in laboratori esenti)

Laboratori non esenti: Abaxis raccomanda di testare i controlli seguendo le linee guida federali, statali e locali.

9. Risultati

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress calcolano e stampano automaticamente le concentrazioni degli analiti nel campione. I dettagli relativi al calcolo della reazione al punto finale e nel tempo sono indicati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

L'interpretazione dei risultati è descritta in dettaglio nel manuale dell'operatore. I risultati vengono stampati su apposite schede fornite da Abaxis. Le schede risultati sono adesive sul retro per poterle facilmente applicare sulle cartelle dei pazienti.

10. Limiti d'uso della procedura

I limiti procedurali generali sono trattati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con il sistema chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress è la **litio eparina**. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferisce con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel disco reagente per metabolismo generale Piccolo. Non utilizzare eparina di sodio.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-65% del volume dei globuli rossi concentrati (una frazione di volume di 0,62-0,65) possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere dati come emolizzati. Tali campioni si possono centrifugare per ottenere plasma e poi rianalizzare in un nuovo disco reagente.
- **Eventuali risultati di un dato test che superino i valori minimi e massimi di riferimento per l'analisi in questione si dovranno analizzare con un altro metodo di esame approvato o inviati a un laboratorio di fiducia. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress.**

Avvertenza: Le numerose prove condotte sul sistema chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress hanno evidenziato che, in casi molto rari, il flusso di campione erogato all'interno del disco reagente può non essere regolare all'interno del ricettacolo del campione. A causa del flusso irregolare, è possibile che venga analizzata una quantità inadeguata di campione, e diversi risultati potrebbero superare i valori di riferimento minimi e massimi. Il campione può essere rianalizzato usando un nuovo disco reagente.

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come interferenti con gli analiti. Sono stati preparati gruppi di siero umano. Ogni potenziale interferente è stato analizzato alla concentrazione indicata in NCCLS EP7-P.⁷⁶

Effetti delle sostanze endogene

- Gli interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle risultanze delle concentrazioni di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati sulla parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore sui livelli di interferenti presenti in ogni campione.
- Il sistema chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress eliminano ogni eventuale risultato falsato da un'interferenza superiore al 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati verrà stampata la dicitura "HEM", "LIP" o "ICT" rispettivamente, al posto dei risultati.
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/L) avranno un effetto rilevante, con aumento >10%, sul risultato relativo al cloruro. 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 (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.
- Per i livelli massimi di sostanze endogene, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Effetti delle sostanze esogene e terapeutiche

- Sono state selezionate trentacinque sostanze come potenziali interferenti con i metodi di test di Abaxis secondo le raccomandazioni di Young.⁷⁷ Si definisce interferenza significativa uno spostamento superiore al $\pm 10\%$ nel risultato relativo a un campione rientrante nei valori normali. Ai gruppi di siero umano sono state aggiunte concentrazioni note di farmaci o sostanze chimiche; si è poi proceduto alla relativa analisi. Per un elenco delle sostanze esogene e terapeutiche valutate vedere la Tabella 2. **Per un elenco di analiti nei quali è stata osservata un'interferenza vedere la Tabella 3.**

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche

Potenziale interferente	Massima concentrazione testata (mg/dL se non diversamente specificato)
Acetamminofene	100
Acetoacetato	102
Acido acetilsalicilico	50
Ampicillina	30
Acido ascorbico	3
Caffeina	10
Cefalotina (Keflin)	400
Cloramfenicolo	100
Cimetidina	16
Dopamina	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutazione	30
Idroclorotiazide	7,5
Ibuprofene	50
Isoniazide	4
Chetoprofene	50
L-dopa	5
Lidocaina	1
Lattato di litio	84
Meticillina	100
Metotrexate	0,5
Metronidazolo	5

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche (segue)

Potenziale interferente	Massima concentrazione testata (mg/dL se non diversamente specificato)
Nafcillina	1
Nitrofurantoina	20
Oxacillina	1
Ossaloacetato	132
Penicillina G	100
Fenitoina (5,5-Difenilidantione)	3
Prolina	4
Rifampina	0,5
Acido salicilico	50
Sulfadiazine	150
Sulfanilamide	50
Teofillina	20

Per un elenco di analiti nei quali è stata osservata un'interferenza vedere la Tabella 3.

Tabella 3: Le seguenti sostanze hanno evidenziato uno spostamento maggiore del $\pm 10\%$ nel risultato relativo a un campione che rientra nei valori normali.

	Concentrazione che produce >10% interferenza	% interferenza ^A osservata
Alanino transaminasi		
Acido ascorbico	20	11% aum.
Ossaloacetato		
Albumina		
Acetoacetato	102	18% dim.
Ampicillina	30	12% dim.
Caffeina	10	14% dim.
Cloruro di calcio	20	17% dim.
Cefalotina (Keflin)	400	13% aum.
Ibuprofene	50	28% aum.
α -chetoglutarato	5	11% dim.
Nitrofurantoina	20	13% dim.
Prolina	4	12% aum.
Sulfadiazine	10	14% dim.
Sulfanilamide	50	12% dim.
Teofillina	20	11% dim.
Fosfatasi alcalina		
Teofillina	20	42% dim.
Creatinina		
Acido ascorbico	20	11% dim.
Dopamina	19	80% dim.
L-dopa	5	71% dim.
Epinefrina	1	45% dim.
Glutazione	30	13% dim.
Glucosio		
Ossaloacetato	132	11% dim.
Piruvato	44	13% dim.
Potassio		
Penicillina G	100	17% aum.
Sulfadiazine	150	12% dim.

Tabella 3: Le seguenti sostanze hanno evidenziato uno spostamento maggiore del $\pm 10\%$ nel risultato relativo a un campione che rientra nei valori normali. (segue)

	Concentrazione che produce >10% interferenza	% interferenza^A osservata
Sodio		
Cefalotina	400	12% aum.
Metotrexate	0,5	11% aum.
Penicillina G	100	10% aum.
Bilirubina totale		
Dopamina	19	55% dim.
L-dopa	5	17% dim.
Anidride carbonica totale		
Acetaminofene	100	11% aum.
Acido ascorbico	20	12% dim.
Cefalotina	400	13% aum.
Cimetidina	16	19% dim.
Eritromicina	10	21% dim.
Lidocaina	1	23% aum.
Metotrexate	0,5	80% dim.
Nitrofurantoina	20	13% aum.
Acido salicilico	50	17% dim.
Sulfadiazine	150	25% dim.

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

- Per l'analisi relativa al cloruro, il bromuro a livelli tossici (≥ 15 mmol/L) può avere un effetto rilevante (aumento >10%) sul risultato del cloruro. 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 sul cloruro.

11. Valori previsti

Per accertare l'intervallo di riferimento sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo campioni prelevati da 60-140 adulti, maschi e femmine. Questi valori sono stati calcolati in base all'intervallo di riferimento del 95% ricavato dai valori complessivi ottenuti dai soggetti di riferimento.⁷⁸ Tali intervalli vengono riportati a solo titolo indicativo. I valori ALP nei bambini in crescita sono estremamente variabili.⁷⁹ Si consiglia allo studio o alla struttura di definire valori minimi e massimi normali per la propria popolazione di pazienti.

Tabella 4: Intervalli di riferimento

Analita	Unità comuni	Unità SI
Alanina transaminasi (ALT)	10-47 U/L	10-47 U/L
Albumina (ALB)	3,3-5,5 g/dL	33-55 g/L
Fosfatasi alcalina (ALP), sesso maschile	53-128 U/L	53-128 U/L
Fosfatasi alcalina (ALP), sesso femminile	42-141 U/L	42-141 U/L
Aspartato transaminasi (AST)	11-38 U/L	11-38 U/L
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dL	2,0-2,58 mmol/L
Cloruro (CL ⁻)	98-108 mmol/L	98-108 mmol/L
Creatinina (CRE)	0,6-1,2 mg/dL	53-106 µmol/L
Glucosio (GLU)	73-118 mg/dL	4,05-6,55 mmol/L
Potassio (K ⁺)	3,6-5,1 mmol/L	3,6-5,1 mmol/L
Sodio (NA ⁺)	128-145 mmol/L	128-145 mmol/L
Bilirubina totale (TBIL)	0,2-1,6 mg/dL	3,4-27,4 µmol/L
Anidride carbonica totale (tCO ₂)	18-33 mmol/L	18-33 mmol/L
Proteina totale (TP)	6,4-8,1 g/dL	64-81 g/L
Azoto ureico ematico (BUN)	7-22 mg/dL	2,5-7,9 mmol urea/L

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La chimica per ciascun analita è lineare sull'arco dei valori dinamici elencati di seguito se l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress vengono utilizzati seguendo la procedura raccomandata (si veda il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress).

Tabella 5: Valori dinamici Piccolo

Analita	Unità comuni	Unità SI
Alanina transaminasi (ALT)	5-2000 U/L	5-2000 U/L
Albumina (ALB)	1-6,5 g/dL	10-65 g/L
Fosfatasi alcalina (ALP), sesso maschile	5-2400 U/L	5-2400 U/L
Aspartato transaminasi (AST)	5-2000 U/L	5-2000 U/L
Calcio (CA)	4,0-16,0 mg/dL	1,0-4,0 mmol/L
Cloruro (CL ⁻)	80-135 mmol/L	80-135 mmol/L
Creatinina (CRE)	0,2-20 mg/dL	18-1768 µmol/L
Glucosio (GLU)	10-700 mg/dL	0,56-38,9 mmol/L
Potassio (K ⁺)	1,5-8,5 mmol/L	1,5-8,5 mmol/L
Sodio (NA ⁺)	110-170 mmol/L	110-170 mmol/L
Bilirubina totale (TBIL)	0,1-30 mg/dL	1,7-513 µmol/L
Anidride carbonica totale (tCO ₂)	5-40 mmol/L	5-40 mmol/L
Proteina totale (TP)	2-14 g/dL	20-140 g/L
Azoto ureico ematico (BUN)	2-180 mg/dL	0,7-64,3 mmol urea/L

Se la concentrazione dell'analita è superiore ai valori di rilevamento (range dinamico) ma inferiore ai valori previsti dal sistema, sulla scheda dei risultati sarà indicato un segno ">" vicino al limite immediatamente superiore e un asterisco dopo il numero, ad esempio: ALT >2000* U/L. Se invece la concentrazione risulta inferiore al range dinamico, verrà stampato un segno "<" con un asterisco, ad esempio ALT <5* U/L. Per valori macroscopicamente superiori al range di misurazione (range del sistema), al posto del risultato viene stampato il segno "~~~~". Raccogliere un nuovo campione e rieseguire il test ogni volta che su una scheda viene stampato il segno "~~~~". Se i risultati relativi al secondo campione vengono nuovamente soppressi, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori dell'intervallo (dinamico) rilevabile per ogni analita sono i seguenti: alanina transaminasi 5 U/L; albumina 1 g/dL (10 g/L); fosfatasi alcalina 5 U/L; aspartato transaminasi 5 U/L; calcio 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); cloruro 80 mmol/L; creatinina 0,2 mg/dL (18 µmol/L); glucosio 10 mg/dL (0,56 mmol/L) potassio 1,5 mmol/L; sodio 110 mmol/L; bilirubina totale 0,1 mg/dL (1,7 µmol/L); anidride carbonica totale 5 mmol/L; proteine totali 2 g/dL (20 g/L); azoto ureico ematico 2,0 mg/dL (0,7 mmol urea/L).

Precisione

Gli studi sulla precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida NCCLS EP5-A⁸⁰ con modifiche in base a NCCLS EP18-P⁸¹ relative ai dispositivi a utilizzo unitario. I risultati relativi alla precisione nel corso dello svolgimento e totali sono stati ricavati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio. Per gli studi sono stati usati diversi strumenti e due lotti di dischi reagente. I test sul calcio, il glucosio, il sodio e l'azoto ureico sono stati svolti in un sito; quelli sul potassio e l'anidride carbonica totale sono stati svolti presso due siti nell'arco di 20 giorni; i test sul cloruro sono stati svolti presso due siti nell'arco di cinque giorni.

I risultati degli studi sulla precisione sono evidenziati nella tabella 6.

Tabella 6: Precisione

Analita	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Alanina transaminasi (U/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		21	21
SD		2,76	2,79
CV		13,4	13,5
<u>Controllo 2</u>			
Media		52	52
SD		2,7	3,25
CV		5,2	6,2
Albumina (g/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		5,6	5,6
SD		0,09	0,11
CV		1,7	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		3,7	3,7
SD		0,07	0,11
CV		2,0	2,9
Fosfatasi alcalina (U/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		39	39
SD		1,81	2,29
CV		4,6	5,8
<u>Controllo 2</u>			
Media		281	281
SD		4,08	8,75
CV		1,5	3,1
Aspartato transaminasi (U/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		49	49
SD		0,98	0,98
CV		2,07	2,07
<u>Controllo 2</u>			
Media		147	147
SD		1,83	1,83
CV		1,26	1,26
Calcio (mg/dL)			
<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

Tabella 6: Precisione (segue)

Analita	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Cloruro (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 160		
Media		97,8	97,8
DV		1,63	1,74
CV		1,7	1,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		113,6	113,6
DV		1,97	2,22
CV		1,7	2,0
Creatinina (mg/dL)			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		1,1	1,1
DV		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
Glucosio (mg/dL)			
<u>Control 1</u>	N=80		
Media		66	66
DV		0,76	1,03
CV		1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		278	278
DV		2,47	3,84
CV		0,9	1,4
Potassio (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 120		
Media		6,12	6,12
DV		0,32	0,32
CV		5,2	5,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		4,10	4,10
DV		0,24	0,26
CV		5,9	6,3
Sodio (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		143,5	143,5
DV		2,28	2,28
CV		1,6	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		120,0	120,0
DV		2,13	2,13
CV		1,8	1,8
Bilirubina totale (mg/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		0,8	0,8
SD		0,06	0,07
CV		8,0	9,3
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,09	0,15
CV		1,7	2,8

Tabella 6: Precisione (segue)

Analita	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Anidride carbonica totale (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 120		
Media		21,4	21,4
DV		2,29	2,29
CV		10,7	10,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		10,5	10,5
DV		0,90	0,90
CV		8,6	8,6
Proteine totali (mg/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		6,8	6,8
SD		0,05	0,08
CV		0,8	1,2
<u>Controllo 2</u>			
Media		4,7	4,7
SD		0,09	0,09
CV		2,0	2,0
Azoto ureico (mg/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
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

Alcuni campioni di sangue intero eparinizzato e di siero sono stati prelevati ed analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo e con uno o più metodi comparativi. I campioni di sangue intero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo sul posto presso i vari siti, mentre i campioni di siero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo e con metodi comparativi. In alcuni casi sono stati utilizzati campioni integrativi con valori elevati e bassi in modo da coprire l'intera gamma dinamica. Sono stati scelti campioni rispondenti ai valori di distribuzione contenuti nelle linee guida NCCLS EP9-A guideline.⁸² La Tabella 7 riporta le statistiche di correlazione rappresentative.

Tabella 7: Correlazione dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo con i(l) metodi(o) di comparazione

	Correlazione coefficiente	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Valori di riferimento del campione (mmol/L)	Metodo comparativo
Alanina transaminasi (U/L)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albumina (g/dL)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Fosfatasi alcalina (U/L)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27-368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26-150	Technicon
Aspartato transaminasi (U/L)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13-252	DAX™

Tabella 7: Correlazione dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo con i(l) metodi(o) di comparazione (segue)

	Correlazione coefficiente	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Valori di riferimento del campione (mmol/L)	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
Cloruro (mmol/L)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71 - 118	Vitros 950
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
Potassio (mmol/L)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0-6,8	Radiometro KNATM 2
Sodio (mmol/L)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiometro KNATM 2
Bilirubina totale (mg/dL)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax
	0,98	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Anidride carbonica totale (mmol/L)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6-39	Cobas Fara
Proteine totali (g/dL)	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7-9,2	Paramax
	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5-9,2	Beckman
Azoto ureico ematico (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 da pazienti ricoverati hanno fornito una gamma di valori più ampia, e forse più utile, rispetto ai campioni di sangue intero venoso da pazienti ambulatoriali. Le statistiche di correlazione per il test del calcio effettuato con Piccolo sono basate su questi campioni di siero.

Risultati di uno studio condotto con operatori inesperti

È stato condotto uno studio con “operatori inesperti” ai cui partecipanti sono state fornite unicamente le istruzioni per i test, chiedendo loro di eseguire test di 3 dischi con campioni randomizzati in cieco. I campioni erano costituiti da pool di siero preparati a tre livelli per ciascuno dei quattordici analiti: ALT, albumina, ALP, AST, calcio, cloruro, creatinina, glucosio, potassio, sodio, bilirubina totale, anidride carbonica totale, proteine totali e azoto ureico ematico (BUN). I partecipanti non erano stati in alcun modo addestrati all'esecuzione del test. Sono stati complessivamente arruolati circa 60 partecipanti da 3 centri, in rappresentanza di una popolazione demografica diversificata (livello di istruzione, età, sesso, ecc.).

Le tabelle seguenti presentano la sintesi delle prestazioni per ciascun analita.

Alanina aminotransferasi (ALT)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	45,4 U/L	98,9 U/L	184,3 U/L
%CV	3,7%	1,7%	1,5%
Range osservato	42 – 53	96 – 103	175 – 191
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%*	98,4% 61/62 IC 95%: da 91,3% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

* Questa percentuale si basa sull'ipotesi dell'impossibilità di effettuare una distinzione appropriata tra valori normali e anormali nel caso in cui gli errori siano maggiori di un quarto del range normale. È stato considerato il range di (10 U/L – 47 U/L).

Albumina (ALB)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	3,0 g/dL	3,5 g/dL	4,2 g/dL
%CV	2,7%	2,5%	1,8%
Range osservato	2,9 – 3,2	3,3 – 3,7	4,0 – 4,4
Percentuale di risultati nel range ± 12,5%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Fosfatasi alcalina (ALP)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	94,5 U/L	171,5 U/L	337,5 U/L
%CV	5,2%	3,2%	2,4%
Range osservato	85 – 106	160-184	287 – 388
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Aspartato aminotransferasi (AST)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	56,0	120,4	276,3
%CV	2,4%	1,1%	1,0%
Range osservato	54 – 60	117 – 124	266 – 285
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Calcio (CA)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	8,0	10,5	13,1
%CV	1,7%	1,5%	1,4%
Range osservato	7,7 – 8,4	10,1 – 11,0	12,6 – 13,4
Percentuale di risultati nel range ± 6,3%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Cloruro (CL)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	94,6	106,0	115,5
%CV	1,8	1,4	1,5
Range osservato	90 – 100	102 – 108	110 – 119
Percentuale di risultati nel range ± 2,4%	91,9% 57/62 IC 95%: da 82,2% a 97,3%	96,8% 60/62 IC 95%: da 88,8% a 99,6%	95,2% 59/62 IC 95%: da 86,5% a 99,0%

Creatinina (CRE)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	0,89	2,07	6,89
%CV	11,0	5,0	1,6
Range osservato	0,7 – 1,2	1,8 – 2,3	6,5 – 7,2
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	93,6 58/62 IC 95%: da 84,3% a 98,2%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Glucosio (GLU)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	95,2	130,3	365,8
%CV	1,1%	1,0%	0,8%
Range osservato	93 – 98	125 – 133	351 – 373
Percentuale di risultati nel range ± 10,4%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Potassio (K⁺)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	3,4	5,7	7,2
%CV	3,3	2,5	2,0
Range osservato	3,2 – 3,7	5,2 – 5,9	6,7 – 7,5
Percentuale di risultati nel range ± 8,6%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Sodio (NA⁺)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	122,1	140,8	157,5
%CV	1,0	0,8	1,0
Range osservato	118 – 127	138 – 143	154 – 162
Percentuale di risultati nel range ± 3,1%	98,4% 61/62 IC 95%: da 91,3% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Bilirubina totale (TBIL)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	0,86 mg/dL	2,5 mg/dL	5,7 mg/dL
%CV	6,1%	2,6%	1,8%
Range osservato	0,8 – 1,0	2,3 – 2,6	5,4 – 5,9
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Anidride carbonica totale (tCO₂)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	20,3	27,6	34,4
%CV	5,1	4,6	3,7
Range osservato	18 – 23	23 – 30	32 – 38
Percentuale di risultati nel range ± 14,7%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	98,4% 61/62 IC 95%: da 91,3% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Proteine totali (TP)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	4,8 g/dL	5,7 g/dL	7,1 g/dL
%CV	2,0%	1,5%	1,5%
Range osservato	4,6 – 5,3	5,3 – 5,9	6,7 – 7,5
Percentuale di risultati nel range ± 5,9%	98,4% 61/62 IC 95%: da 91,3% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Azoto ureico ematico (BUN)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	15,1	41,0	72,2
%CV	2,3	2,5	1,8
Range osservato	14 – 16	37 – 43	68 – 75
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

13. Bibliografia

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray, RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3, IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18:521-534.

13. Bibliografia (segue)

6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 1921;49:93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. *J Biol Chem* 1921;49:109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumina, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948;18:723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S and Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by Medias of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961;7:626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966;12:414-417.
11. Gendler, SM. Albumin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, MealeyEH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978;24:80-86.
15. King, EJ and AR Armstrong. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. Uber die Phosphomonoesterase. *Enzymologia* 1937; 4: 217-231.
18. Fujita, H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C, Delisle M, Martel M. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-761.
21. Bowers GN Jr, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979; 98: 163F-174F.
22. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
23. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartato transaminasi. *Clin Chem* 1977; 23: 887-899.
24. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartato transaminasi. *Clin Chem* 1978;24:720-721
25. 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.
26. 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.
27. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J. Biol Chem* 1937;118:539-544.
28. 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.
29. Kessler G, et al. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10:686-703.
30. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.
31. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
32. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988;34:552-553.
33. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970;8:582-587.
34. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem.* 1980;18:385-394.
35. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum creatinine. 1975;21:1422-1426.
36. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. 1982;28:114-117.
37. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. 1983;29:1494-1496.

13. Bibliografia (segue)

38. 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.
39. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919;38:81-110.
40. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937;117:771-776.
41. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucosio. J Biol. 1944;153:375-380.
42. Kaplan LA. Glucosio In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
43. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989;35:817-820.
44. 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;40:846-847.
45. 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; 40:1528-1531.
46. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989;111:6339-6350.
47. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988;34:1709-1712.
48. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988;34:2295-2298.
49. Malloy, HT and Evelyn KA . The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-490.
50. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982: 119-124.
51. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-2384.
52. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem 1984; 30: 971. (Abstract)
53. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-332.
54. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. Am J. Clin Pathol 1960;33:181-185.
55. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd ed. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
56. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
57. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 1914; 53: 242-245.
58. Weichselbaum, TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946; 16: 40-49.
59. Dumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981; 27: 1642-1650.
60. 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.
61. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem, 1914; 19: 11-228.
62. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol, 1960;13:156-159.
63. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem, 1962;8:130-132.
64. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch, 1965;43:174-175.
65. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta, 1971;35:33-37.
66. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem, 1977;49:464-469.
67. 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.
68. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
69. 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: 1058-1059.

13. Bibliografia (segue)

70. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
71. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39: 35-40.
72. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem.*1988;34-2111-4.
73. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
74. Henry RJ, et al. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2° ed. New York: Harper and Row, 1974: 417-421; 1058-1059.
75. 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: 1065-1066.
76. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002,
77. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3° ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
78. National Committee For Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
79. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999 pp. 676-684.
80. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
81. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002,
82. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.