

# Pannello della funzione renale Piccolo®



Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro* e per uso professionale  
Servizio tecnico e assistenza clienti: 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

N. parte: 400-7134 Rev.: H

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

## 1. Uso previsto

Il disco reagente del pannello renale Piccolo®, da utilizzarsi con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress™, è progettato per essere utilizzato nella determinazione quantitativa *in vitro* di albumina, calcio, cloruro, creatinina, glucosio, fosforo, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico ematico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o 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 Centers for Medicare & Medicaid Services (CMS). Per assistenza ai fini dell'ottenimento del certificato, contattare la Commission on Laboratory Accreditation (COLA) al numero verde (negli Stati Uniti) 1-800-981-9883.

## 2. Sommario e spiegazione dei test

Il disco reagente della funzione renale Piccolo e l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che offrono al medico un valido supporto nella diagnosi delle seguenti patologie:

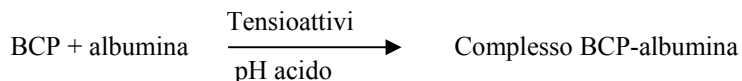
|                             |  |
|-----------------------------|--|
| Albumina:                   | Disidratazione, malattia renale, insufficienza epatica con ridotta sintesi dell'albumina, grave stato di denutrizione, infiammazione acuta, infiammazione cronica, neoplasia maligna, gravidanza, ustioni.   |
| Calcio:                     | Malattie paratiroidiche, 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 monitoraggio della dialisi renale.   |
| Glucosio:                   | Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.  |
| Fosforo:                    | Disidratazione, diabete, paratiroidismo, malattia renale.  |
| Potassio:                   | Malattia renale glomerulare o tubulare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi <i>in vitro</i> , iperaldosteronismo, denutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.                                |
| Sodio:                      | Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sale, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, ustioni, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia per diluizione, per deplezione e delusiva, sindrome da inadeguata secrezione di ADH. |
| Anidride carbonica totale:  | Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.   |
| Azoto ureico ematico (BUN): | Malattie renali e metaboliche.   |

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

### 3. Principio della procedura

#### Albumina (ALB)

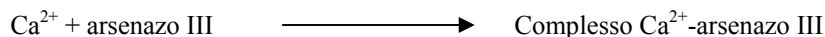
Tra i primi metodi usati per misurare l'albumina vi sono le tecniche di frazionamento e il contenuto di triptofano delle globuline.<sup>1-5</sup> Tali metodi sono poco pratici nell'esecuzione e non presentano un elevato grado di specificità. Due tecniche immunochimiche sono considerate metodi di riferimento, ma sono costose e richiedono molto tempo.<sup>6</sup> 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.<sup>7</sup> Il violetto di bromocresolo (BCP) è il più specifico dei coloranti in uso.<sup>8,9</sup>



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

#### Calcio (CA)

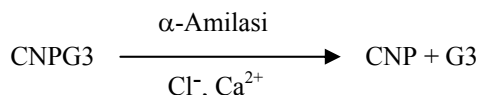
Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico; tale metodo, tuttavia, non è adatto ad analisi di routine.<sup>10</sup> I metodi più diffusi sono quelli spettrometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresoftaleina complexone (CPC) o arsenazo III.<sup>11,12,13</sup> L'arsenazo III presenta una elevata affinità per 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 di endpoint viene monitorata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio totale nel campione è proporzionale all'assorbanza.

#### Cloruro (CL<sup>-</sup>)

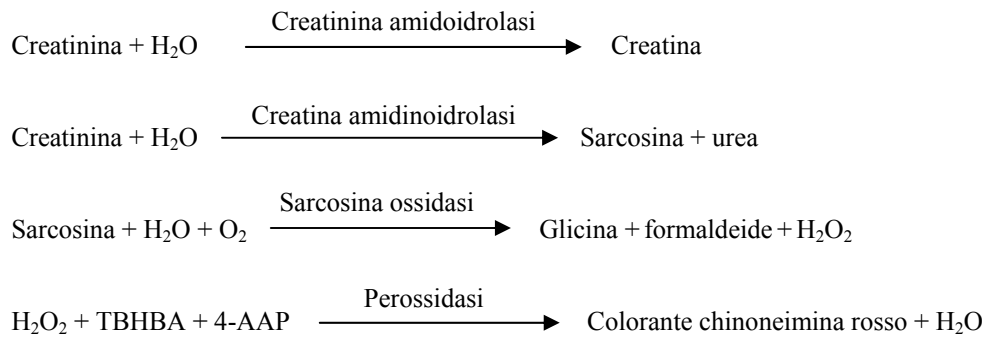
Il metodo per il cloruro Abaxis si basa sulla determinazione dell'attivazione dell'attività dell' $\alpha$ -amilasi in funzione del cloruro. L' $\alpha$ -amilasi disattivata viene riattivata mediante l'aggiunta dello ione cloruro, consentendo al calcio di riassociarsi con l'enzima. La riattivazione dell'attività dell' $\alpha$ -amilasi è proporzionale alla concentrazione di ioni cloruro nel campione. L' $\alpha$ -amilasi riattivata trasforma il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotrioside (CNPG3) in 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP) producendo colore e  $\alpha$ -maltotriosio (G3). La reazione si misura bicromaticamente; l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività di  $\alpha$ -amilasi riattivata e alla concentrazione del cloruro nel campione.<sup>14</sup>



#### Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.<sup>15,16</sup> 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.<sup>17,18,19,20</sup> I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.<sup>21</sup>

Nelle reazioni enzimatiche combinate, la creatinina amidoidrolasi idrolizza la creatinina in creatina. Un secondo enzima, la creatina amidinoidrolasi, catalizza la formazione di sarcosina dalla creatina. La sarcosina ossidasi dà luogo all'ossidazione della sarcosina in glicina, formaldeide e perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Nella reazione Trinder, la perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno, acido 2,4,6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA) e 4-amminoantipirina (4-AAP) in un colorante rosso chinoneimina. Il ferrocianuro di potassio e l'ascorbato ossidasi vengono aggiunti alla miscela di reazione per ridurre al minimo la possibile interferenza rispettivamente della bilirubina e dell'acido ascorbico.



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

### 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.

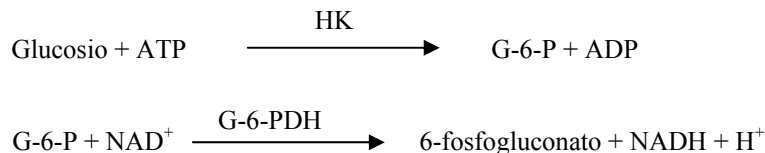
Il calcolo del eGFR stimato viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnicità del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo 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 del rame (ad esempio Folin-Wu<sup>22</sup> e Somogyi-Nelson<sup>23,24</sup>). La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio inserito nel disco reagente del pannello renale Piccolo è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.<sup>25</sup>

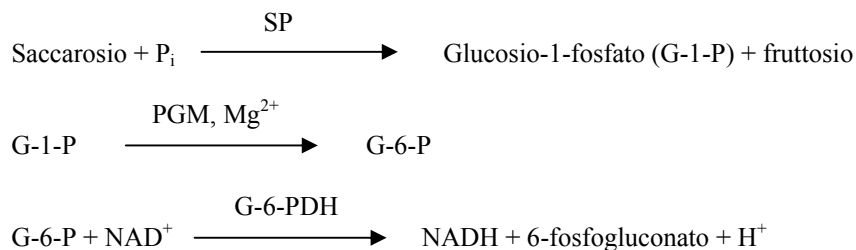
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione di nicotinammide adenin dinucleotide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



L'assorbanza viene misurata bicompativamente a 340 nm e 850 nm. La produzione di NADH è direttamente proporzionale alla quantità di glucosio presente nel campione.

### Fosforo (PHOS)

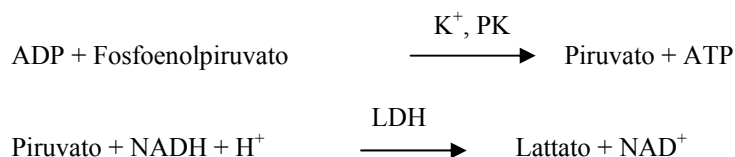
Il metodo enzimatico più adatto per il sistema Abaxis si basa sulla saccarosio fosforilasi (SP) accoppiata con fosfoglucomutasi (PGM) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH).<sup>26,27</sup> Applicando il sistema enzimatico a ogni mole di fosforo presente nel campione, si forma una mole di NADH. La quantità di NADH formata si può misurare come endpoint a 340 nm.



### Potassio ( $\text{K}^+$ )

Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico basato sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio risulta avere eccellente linearità e bassissima suscettibilità alle sostanze endogene.<sup>28,29,30</sup> L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è ridotta al minimo con l'aggiunta, rispettivamente, di Kryptofix e di glutamina sintetasi.<sup>28</sup>

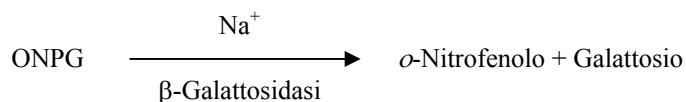
Nella reazione enzimatica combinata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l' $\text{NADH}$  viene ossidato in  $\text{NAD}^+$ .



La velocità di cambiamento dell'assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione dell' $\text{NADH}$  in  $\text{NAD}^+$  ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.

### Sodio ( $\text{Na}^+$ )

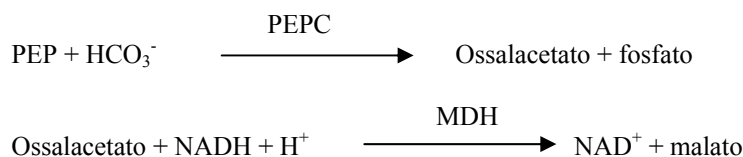
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.<sup>31,32,33</sup> Nella reazione enzimatica Abaxis, la  $\beta$ -galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione della o-nitrofenil- $\beta$ -galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



### Anidride carbonica totale ( $\text{tCO}_2$ )

L'anidride carbonica totale nel siero o nel plasma è presente sotto forma di anidride carbonica disciolta, derivati carbaminici delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata mediante indicatore di pH, elettrodo a  $\text{CO}_2$  e metodi enzimatici spettrofotometrici, tutti con risultati accurati e precisi.<sup>34,35</sup> Il metodo enzimatico è ideale per l'uso con un analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, in quanto non comporta alcuna complessità.

Nel metodo enzimatico il campione viene prima reso alcalino per modificare tutte le forme di anidride carbonica ( $\text{CO}_2$ ) in bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l' $\text{HCO}_3^-$  reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malato deidrogenasi (MDH) catalizza la reazione di ossalacetato e nicotinamide adenin dinucleotide ridotta ( $\text{NADH}$ ) in  $\text{NAD}^+$  e malato. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell' $\text{NADH}$  in  $\text{NAD}^+$  è direttamente proporzionale alla quantità di  $\text{tCO}_2$  nel campione.

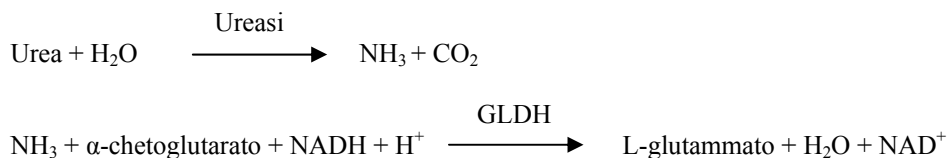


### Azoto ureico ematico (BUN)

L'urea può essere misurata 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.<sup>36</sup> I metodi indiretti misurano l'ammoniaca formatasi dall'urea; l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.<sup>37</sup> È possibile quantificare l'ammoniaca con svariati metodi, tra i quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot<sup>38,39</sup> e le reazioni enzimatiche combinate.<sup>40,41</sup> Le

procedure Berthelot catalizzate però risultano poco affidabili nel misurare l'ammoniaca.<sup>42</sup> Le reazioni enzimatiche combinate sono rapide, altamente specifiche per l'ammoniaca e ampiamente utilizzate. Una di tali reazioni è stata proposta come possibile metodo di riferimento.<sup>43</sup>

Nella reazione enzimatica accoppiata, l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica. Combinando l'ammoniaca con  $\alpha$ -chetoglutarato e nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida NADH in NAD<sup>+</sup>.



La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla conversione di NADH in NAD<sup>+</sup> ed è direttamente proporzionale alla quantità di urea presente nel campione.

#### 4. Principio del test

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

#### 5. Descrizione dei reagenti

##### Reagenti

Ogni disco reagente del pannello renale Piccolo contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (come da descrizione che segue). In ogni disco è compreso un reagente secco per bianco campione (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni albumina (ALB), cloruro (CL<sup>-</sup>), calcio (CA), glucosio (GLU), fosforo (PHOS), potassio (K<sup>+</sup>), sodio (NA<sup>+</sup>), anidride carbonica totale (tCO<sub>2</sub>) e azoto ureico ematico (BUN). Nel disco è incluso un bianco campione dedicato per calcolare le concentrazioni di creatinina (CRE). Ciascun disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

**Tabella 1: Reagenti**

| Componenti  | Quantità/disco |
|---|----------------|
| N-acetilcisteina  | 60 µg          |
| Adenosina 5'-difosfato  | 36 µg          |
| Adenosina 5'-trifosfato   | 22 µg          |
| Acido $\alpha$ -chetoglutarico  | 19 µg          |
| Idrocloruro di 4-aminoantipirina  | 13 µg          |
| Amilasi   | 0,036 U        |
| Arsenazo III, sale sodico   | 1,7 µg         |
| Ascorbato ossidasi ( <i>Cucurbita spp.</i> )                                      | 0,3 U          |
| Brij  | 3 µg           |
| Violetto di bromocresolo, sale di sodio   | 0,2 µg         |
| Acetato di calcio   | 25 µg          |
| Acido citrico, sale trisodico   | 567 µg         |
| 2-Cloro-4-nitrofenil- $\alpha$ -maltotrioside (CNP3)                              | 53 µg          |
| Creatina amidinoidrolasi ( <i>Actinobacillus spp.</i> )                           | 3 U            |
| Creatinina ammido idrolasi ( <i>Pseudomonas spp.</i> )                            | 1 U            |
| Acido etilendiaminetetracetico (EDTA)   | 182 µg         |
| Acido etilendiaminetetracetico (EDTA), sale disodico                              | 15 µg          |
| Acido etilene glicol-bis( $\beta$ -amminoetil etere)-N,N,N',N'-tetracetico (EGTA) | 4 µg           |
| $\beta$ -galattosidasi  | 0,005 U        |
| Glucosio-1,6-difosfato  | 1 µg           |
| Acido L-Glutamico   | 9,2 µg         |
| Glutammato deidrogenasi   | 0,1 U          |

**Tabella 1: Reagenti (segue)**

| <b>Componenti</b>  | <b>Quantità/disco</b> |
|--|-----------------------|
| Glutamina sintetasi  | 0,17 U                |
| Esochinasi   | 0,1 U                 |
| Imidazolo  | 29 µg                 |
| Lattato deidrogenasi (cuore di pollo)                                    | 0,13 U                |
| Idrossido di litio, monoidrato   | 23 µg                 |
| Acetato di magnesio, tetraidrato   | 67 µg                 |
| Solfato di magnesio  | 33 µg                 |
| Malato deidrogenasi  | 0,1 U                 |
| Cloruro di manganese   | 10 µg                 |
| D-mannitolo  | 675 µg                |
| Idrocloruro di 2-metil-4-isotizolin-3-one (MIT)                          | 4,2 µg                |
| β-nicotinamide adenin dinucleotide (NAD)                                 | 83 µg                 |
| β-Nicotinamide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)                       | 36 µg                 |
| o-Nitrofenil-β-D-galattopiranoside (ONPG)                                | 22 µg                 |
| 4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]triscosano (Kryptofix 221) | 86 µg                 |
| Perossidasi (barbaforte)   | 1 U                   |
| Fosfoenol piruvato   | 57 µg                 |
| Fosfoenol piruvato carbossilasi  | 0,001 U               |
| Fosfoglucomutasi   | 0,035 U               |
| Pluronic F68   | 1 µg                  |
| Glicole polietilenico, 8000  | 4 µg                  |
| Ferrocianuro di potassio   | 0,4 µg                |
| Piruvato chinasi   | 0,01 U                |
| Sarcosina ossidasi (microorganismo)                                      | 1 U                   |
| Saccarosio   | 11 µg                 |
| Saccarosio fosforilasi   | 0,07 U                |
| Cloruro di sodio   | 57 µg                 |
| Acido 2,4,6-Tribromo-3-idrossibenzoico                                   | 188 µg                |
| Trietanolamina idrocloruro   | 195 µg                |
| Triton X-100   | 24 µg                 |
| Ureasi (fagiolini)   | 0,05 U                |
| Tamponi, tensioattivi, eccipienti e conservanti                          |                       |

**Avvertenze e precauzioni**

- Per uso diagnostico *in vitro*
- Il contenitore del diluente nel disco reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel disco.
- I dischi reagente usati contengono fluidi organici umani. Manipolare e smaltire i dischi usati in conformità a prassi di laboratorio riconosciute.<sup>44</sup> Consultare il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress per istruzioni sulla pulizia di eventuali tracce di sostanze a rischio biologico.
- I dischi reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. Non utilizzare mai un disco eventualmente caduto in quanto può diffondere materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- Le microsfere di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione delle microsfere (ad esempio, pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un disco reagente), evitarne l'ingestione, il contatto con la pelle e l'inalazione.

**Istruzioni per la manipolazione del reagente**

Una volta prelevati dal frigorifero, i dischi reagente possono essere utilizzati direttamente senza essere riscaldati. Non lasciare i dischi a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire la confezione in carta alluminio sigillata, estrarre il disco facendo attenzione a non toccare il codice a barre situato sulla parte superiore del disco. Seguire le istruzioni contenute nel

Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress. Gettare i dischi non utilizzati entro 20 minuti dall'apertura della confezione.

### Conservazione

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

### Indicazioni di instabilità/deterioramento del disco reagente

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

## 6. Strumento

Per informazioni dettagliate sull'utilizzo, vedere il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

## 7. Raccolta e preparazione dei campioni

Le tecniche di raccolta dei campioni sono descritte nella sezione "Raccolta dei campioni" del Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di 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. La camera di raccolta del campione sul disco reagente può contenere fino a 120 µl di campione.
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venopuntura devono essere omogenei prima che il campione venga trasferito nel disco reagente. Capovolgere delicatamente la provetta del prelievo varie volte subito prima di trasferire il campione. Non agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- L'emolisi può dare luogo a risultati erroneamente elevati nei dosaggi del **potassio**. Tale problema potrebbe non essere rilevato durante l'analisi di sangue intero (il rilascio di potassio anche solo dallo 0,5% degli eritrociti può determinare un aumento del 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.<sup>45</sup>
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venopuntura devono essere sottoposti a test entro 60 minuti dal prelievo.<sup>46</sup> 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. La concentrazione di glucosio diminuisce di circa 5-12 mg/dl in 1 ora in campioni non centrifugati conservati a temperatura ambiente.<sup>47</sup>
- Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **glucosio** e **creatinina** possono subire variazioni significative.<sup>48</sup> Il campione può essere separato 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.
- Per campioni di sangue intero o plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per la separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- La concentrazione di **anidride carbonica totale** viene determinata con la massima accuratezza se si effettua l'analisi subito dopo l'apertura della provetta e quanto prima possibile dopo il prelievo e il trattamento del sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene 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.<sup>49</sup>
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel disco reagente.

## 8. Procedura

### Materiale fornito

- Un disco reagente del pannello renale Piccolo, numero parte: 400-1027 (una confezione di dischi, n. parte 400-0027)

### **Materiale necessario ma non fornito**

- Analizzatore chimico di sangue Piccolo o analizzatore chimico Piccolo xpress
- Ogni analizzatore chimico di 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 reperibili in commercio raccomandati da Abaxis (per i materiali di controllo approvati e i valori attesi, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis).
- Cronometro

### **Parametri del test**

L'analizzatore chimico di sangue Piccolo o xpress funziona a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59 °F e 90 °F). Il tempo di analisi per ogni disco reagente del pannello renale Piccolo è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37 °C (98,6 °F).

### **Procedura del test**

Le procedure complete per la raccolta dei campioni e le istruzioni operative dettagliate sono riportate nel Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

### **Calibrazione**

L'analizzatore chimico di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress vengono calibrati dal produttore prima della spedizione. Il codice a barre stampato sul relativo anello fornisce i dati di taratura specifici dei dischi. Vedere il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

### **Controllo di qualità**

Vedere la sezione 2.4 del Manuale dell'operatore Piccolo o la sezione 6 (Calibrazione e Controllo qualità) del Manuale dell'operatore Piccolo xpress. Le prestazioni dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress possono essere verificate mediante analisi dei controlli. Per un elenco di materiali di controllo qualità approvati con i range di accettazione, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis. Altri controlli a base di siero o plasma umano potrebbero non essere compatibili. I materiali del controllo qualità vanno conservati come da foglietto illustrativo allegato ai controlli.

Se i risultati dei controlli sono fuori range, ripetere l'analisi una volta. Se dovessero risultare ancora fuori range, rivolgersi all'assistenza tecnica. Non refertare i risultati se i controlli sono al di fuori dei limiti indicati. Consultare il Manuale dell'Operatore Piccolo o Piccolo xpress per una descrizione dettagliata delle 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 le condizioni di laboratorio cambiano in maniera significativa, ad esempio se Piccolo viene spostato in una nuova posizione o se vengono apportate modifiche al controllo della temperatura
- quando è indicato un corso di formazione o aggiornamento del personale
- con ogni nuovo lotto (test esente dai requisiti CLIA nei laboratori esenti)

**Laboratori non esenti:** Abaxis raccomanda di eseguire il test dei controlli conformemente alle linee guida federali, statali e locali.

## **9. Risultati**

L'analizzatore chimico di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress calcolano e stampano automaticamente le concentrazioni di analiti nel campione. I dettagli dei calcoli delle reazioni di endpoint e velocità sono riportati nel Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

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

## **10. Limiti della procedura**

I limiti generici della procedura sono descritti nel Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo xpress.

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con l'analizzatore chimico di 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 interferiscono con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel disco reagente del pannello renale Piccolo.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-65% del volume di 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 refertati come emolizzati. È possibile centrifugare tali campioni per ottenere plasma. Il plasma può quindi essere rianalizzato in un nuovo disco reagente.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range di analisi, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress.**

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

### Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come agenti interferenti con gli analiti. Sono stati preparati pool di siero umano. Ciascun possibile interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di analisi riportati nelle linee guida CLSI (in passato NCCLS) EP7-P.<sup>50</sup>

### Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione.
- L'analizzatore chimico di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo xpress eliminano gli eventuali risultati falsati da un'interferenza >10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/l) hanno un effetto significativo (ossia un aumento superiore al 10%) sul risultato del **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 inatteso 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 esogene e terapeutiche in quanto potenziali interferenti con i metodi di analisi Abaxis, secondo le raccomandazioni di Young.<sup>51</sup> Si definisce interferenza significativa uno spostamento maggiore di  $\pm 10\%$  nel risultato relativo a un campione che rientra 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 degli analiti in cui è stata osservata un'interferenza, vedere la TABELLA 3.**

**Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche**

| <b>Potenziale interferente</b>   | <b>Concentrazione massima testata<br/>(mg/dl se non diversamente specificato)</b> |
|----------------------------------|---|
| Acetaminofene                    | 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   |
| Nafcillina                       | 1   |
| Nitrofurantoina                  | 20  |
| Oxacillina                       | 1   |
| Ossalacetato                     | 132   |
| Penicillina G                    | 100   |
| Fenitoina (5,5-difenilidantione) | 3   |
| Prolina                          | 4   |
| Rifampicina                      | 0,5   |
| Acido salicilico                 | 50  |
| Sulfadiazina                     | 150   |
| Sulfanilamide                    | 50  |
| Teofillina                       | 20  |

Per un elenco degli analiti in cui è stata osservata un'interferenza, vedere la Tabella 3.

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

|                                  | <b>Concentrazione che produce &gt; 10% interferenza</b> | <b>% interferenza<sup>A</sup> osservata</b> |
|----------------------------------|---|---|
| <b>Albumina</b>                  |   |   |
| Acetoacetato                     | 102   | dim. 18%                                    |
| Ampicillina                      | 30  | dim. 12%                                    |
| Caffeina                         | 10  | dim. 14%                                    |
| Cloruro di calcio                | 20  | dim. 17%                                    |
| Cefalotina (Keflin)              | 400   | aum. 13%                                    |
| Ibuprofene                       | 50  | aum. 28%                                    |
| $\alpha$ -chetoglutarato         | 5   | dim. 11%                                    |
| Nitrofurantoina                  | 20  | dim. 13%                                    |
| Prolina                          | 4   | aum. 12%                                    |
| Sulfadiazina                     | 10  | dim. 14%                                    |
| Sulfanilamide                    | 50  | dim. 12%                                    |
| Teofillina                       | 20  | dim. 11%                                    |
| <b>Creatinina</b>                |   |   |
| Acido ascorbico                  | 20  | dim. 11%                                    |
| Dopamina                         | 19  | dim. 80%                                    |
| L-dopa                           | 5   | dim. 71%                                    |
| Epinefrina                       | 1   | dim. 45%                                    |
| Glutazione                       | 30  | dim. 13%                                    |
| <b>Glucosio</b>                  |   |   |
| Ossalacetato                     | 132   | dim. 11%                                    |
| Piruvato                         | 44  | dim. 13%                                    |
| <b>Fosforo</b>                   |   |   |
| Nitrofurantoina                  | 20  | aum. 19%                                    |
| Ossalacetato                     | 132   | dim. 14%                                    |
| <b>Potassio</b>                  |   |   |
| Penicillina G                    | 100   | aum. 17%                                    |
| Sulfadiazina                     | 150   | dim. 12%                                    |
| <b>Sodio</b>                     |   |   |
| Cefalotina                       | 400   | aum. 12%                                    |
| Metotrexate                      | 0,5   | aum. 11%                                    |
| Penicillina G                    | 100   | aum. 10%                                    |
| <b>Anidride carbonica totale</b> |   |   |
| Acetaminofene                    | 100   | aum. 11%                                    |
| Acido ascorbico                  | 20  | dim. 12%                                    |
| Cefalotina                       | 400   | aum. 13%                                    |
| Cimetidina                       | 16  | dim. 19%                                    |
| Eritromicina                     | 10  | dim. 21%                                    |
| Lidocaina                        | 1   | aum. 23%                                    |
| Metotrexate                      | 0,5   | dim. 80%                                    |
| Nitrofurantoina                  | 20  | aum. 13%                                    |
| Acido salicilico                 | 50  | dim. 17%                                    |
| Sulfadiazina                     | 150   | dim. 25%                                    |

<sup>A</sup> dim. = diminuita concentrazione dell'analita specifico; aum. = aumentata concentrazione dell'analita specifico

- Il bromuro a livelli tossici ( $\geq 15$  mmol/l) può causare un effetto significativo (aumento  $>10\%$ ) sul risultato dell'analisi 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 di test del cloruro Piccolo.

## 11. Valori attesi

Per accertare l'intervallo dei valori di riferimento per le analisi indicate di seguito, sono stati analizzati con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo campioni prelevati da circa 90-140 adulti, maschi e femmine. Tali intervalli sono forniti a titolo puramente indicativo. Si raccomanda allo studio o alla struttura medica di definire i range normali per la propria popolazione di pazienti.<sup>52</sup>

**Tabella 4: Intervalli di riferimento dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o analizzatore chimico Piccolo xpress**

| <b>Analita</b>                    | <b>Unità comuni</b> | <b>Unità SI</b>     |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Albumina</b>                   | 3,3-5,5 g/dl        | 33-55 g/l           |
| <b>Calcio</b>                     | 8,0-10,3 mg/dl      | 2,0-2,58 mmol/l     |
| <b>Cloruro</b>                    | 98-108 mmol/l       | 98-108 mmol/l       |
| <b>Creatinina</b>                 | 0,6-1,2 mg/dl       | 53-106 μmol/l       |
| <b>Glucosio</b>                   | 73-118 mg/dl        | 4,1-6,6 mmol/l      |
| <b>Fosforo (plasma)</b>           | 2,2-4,1 mg/dl       | 0,71-1,32 mmol/l    |
| <b>Fosforo (siero)</b>            | 2,5-4,4 mg/dl*      | 0,81-1,42 mmol/l*   |
| <b>Potassio</b>                   | 3,6-5,1 mmol/l      | 3,6-5,1 mmol/l      |
| <b>Sodio</b>                      | 128-145 mmol/l      | 128-145 mmol/l      |
| <b>Anidride carbonica totale</b>  | 18-33 mmol/l        | 18-33 mmol/l        |
| <b>Azoto ureico ematico (BUN)</b> | 7-22 mg/dl          | 2,5-7,9 mmol urea/l |

\* Non si riscontrano differenze tra la concentrazione di fosforo rilevata nel sangue intero eparinizzato e nel plasma eparinizzato. Nel siero la concentrazione è invece risultata lievemente superiore (0,3 mg/dl) rispetto al sangue intero eparinizzato e al plasma eparinizzato. Tale aumento è in linea con la differenza tra il fosforo presente nel siero e nel plasma descritta in letteratura.<sup>53, 54, 55, 56</sup>

## 12. Caratteristiche prestazionali

### Linearità

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (fare riferimento al Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo xpress).

**Tabella 5: Range dinamici dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o analizzatore chimico Piccolo xpress**

| <b>Analita</b>                    | <b>Unità comuni</b> | <b>Unità SI</b>      |
|-----------------------------------|---------------------|----------------------|
| <b>Albumina</b>                   | 1-6,5 g/dl          | 10-65 g/l            |
| <b>Calcio</b>                     | 4,0-16,0 mg/dl      | 1,0-4,0 mmol/l       |
| <b>Cloruro</b>                    | 80-135 mmol/l       | 80-135 mmol/l        |
| <b>Creatinina</b>                 | 0,2-20 mg/dl        | 18-1768 μmol/l       |
| <b>Glucosio</b>                   | 10-700 mg/dl        | 0,6-38,9 mmol/l      |
| <b>Fosforo</b>                    | 0,2-20 mg/dl        | 0,06-6,5 mmol/l      |
| <b>Potassio</b>                   | 1,5-8,5 mmol/l      | 1,5-8,5 mmol/l       |
| <b>Sodio</b>                      | 110-170 mmol/l      | 110-170 mmol/l       |
| <b>Anidride carbonica totale</b>  | 5-40 mmol/l         | 5-40 mmol/l          |
| <b>Azoto ureico ematico (BUN)</b> | 2-180 mg/dl         | 0,7-64,3 mmol urea/l |

### Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti: albumina 1 g/dl (10 g/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); fosforo 0,2 mg/dl (0,06 mmol/l); potassio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; anidride carbonica totale 5 mmol/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 CLSI (in passato NCCLS) EP5-A, con modifiche in base alle linee guida CLSI (in passato NCCLS) EP18-P relative ai dispositivi a utilizzo unitario.<sup>57, 58</sup> I risultati relativi alla precisione intra-sessione (within-run) e a quella totale sono stati ricavati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio. Per gli studi sono stati usati più strumenti. I test di precisione per l'albumina, il calcio, la creatinina, il glucosio, il sodio e l'azoto ureico sono stati eseguiti presso un sito; quelli per il potassio e l'anidride carbonica totale sono stati eseguiti presso due siti nell'arco di 20 giorni; i test per il cloruro e il fosforo sono stati eseguiti presso due siti nell'arco di cinque giorni. I risultati degli studi sulla precisione sono presentati nella Tabella 6.

**Tabella 6: Precisione**

| <b>Analita</b>            | <b>Dimensioni del campione</b> | <b>Intra-sessione</b> | <b>Totale</b> |
|---------------------------|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| <b>Albumina (g/dl)</b>    | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>        |                                |                       |               |
| 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           |
| <b>Calcio (mg/dl)</b>     | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>        |                                |                       |               |
| 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           |
| <b>Cloruro (mmol/l)</b>   | N = 160                        |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>        |                                |                       |               |
| Media                     |                                | 97,8                  | 97,8          |
| SD                        |                                | 1,63                  | 1,74          |
| %CV                       |                                | 1,7                   | 1,7           |
| <u>Controllo 2</u>        |                                |                       |               |
| Media                     |                                | 113,6                 | 113,6         |
| SD                        |                                | 1,97                  | 2,22          |
| %CV                       |                                | 1,7                   | 2,0           |
| <b>Creatinina (mg/dl)</b> | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>        |                                |                       |               |
| Media                     |                                | 1,1                   | 1,1           |
| SD                        |                                | 0,14                  | 0,14          |
| %CV                       |                                | 12,5                  | 13,1          |
| <u>Controllo 2</u>        |                                |                       |               |
| Media                     |                                | 5,2                   | 5,2           |
| SD                        |                                | 0,23                  | 0,27          |
| %CV                       |                                | 4,4                   | 5,2           |
| <b>Glucosio (mg/dl)</b>   | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>        |                                |                       |               |
| Media                     |                                | 66                    | 66            |
| SD                        |                                | 0,76                  | 1,03          |
| %CV                       |                                | 1,1                   | 1,6           |

**Tabella 6: Precisione (segue)**

| <b>Analita</b>                                | <b>Dimensioni del campione</b> | <b>Intra-sessione</b> | <b>Totale</b> |
|---|--------------------------------|-----------------------|---------------|
| <u>Controllo 2</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 278                   | 278           |
| SD  |                                | 2,47                  | 3,84          |
| %CV   |                                | 0,9                   | 1,4           |
| <b>Fosforo (mg/dl)</b>                        | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 3,1                   | 3,1           |
| SD  |                                | 0,12                  | 0,14          |
| %CV   |                                | 3,7                   | 4,7           |
| <u>Controllo 2</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 7,3                   | 7,3           |
| SD  |                                | 0,09                  | 0,15          |
| %CV   |                                | 1,3                   | 2,0           |
| <b>Potassio (mmol/l)</b>                      | N = 120                        |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 6,12                  | 6,12          |
| SD  |                                | 0,32                  | 0,32          |
| %CV   |                                | 5,2                   | 5,7           |
| <u>Controllo 2</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 4,10                  | 4,10          |
| SD  |                                | 0,24                  | 0,26          |
| %CV   |                                | 5,9                   | 6,3           |
| <b>Sodio (mmol/l)</b>                         | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 143,5                 | 143,5         |
| SD  |                                | 2,28                  | 2,28          |
| %CV   |                                | 1,6                   | 1,6           |
| <u>Controllo 2</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 120,0                 | 120,0         |
| SD  |                                | 2,13                  | 2,13          |
| %CV   |                                | 1,8                   | 1,8           |
| <b>Anidride carbonica<br/>totale (mmol/l)</b> | N = 120                        |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 21,4                  | 21,4          |
| SD  |                                | 2,29                  | 2,29          |
| %CV   |                                | 10,7                  | 10,7          |
| <u>Controllo 2</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 10,5                  | 10,5          |
| SD  |                                | 0,90                  | 0,90          |
| %CV   |                                | 8,6                   | 8,6           |
| <b>Azoto ureico (mg/dl)</b>                   | N = 80                         |                       |               |
| <u>Controllo 1</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 19                    | 19            |
| SD  |                                | 0,35                  | 0,40          |
| %CV   |                                | 1,9                   | 2,1           |
| <u>Controllo 2</u>                            |                                |                       |               |
| Media   |                                | 65                    | 65            |
| SD  |                                | 1,06                  | 1,18          |
| %CV   |                                | 1,6                   | 1,8           |

## Correlazione

Alcuni campioni di siero sono stati prelevati ed analizzati con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo e con un metodo comparativo. Sono stati scelti campioni rispondenti ai valori di distribuzione contenuti nelle linee guida CLSI (in passato NCCLS) EP9-A.<sup>59</sup>

**Tabella 7: Correlazione fra l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo xpress e i metodi comparativi**

|   | Coefficiente di correlazione | Pendenza | Intercetta | SEE   | N   | Range campione | Metodo comparativo            |
|---|------------------------------|----------|------------|-------|-----|----------------|-------------------------------|
| <b>Albumina (g/dl)</b>                    | 0,854                        | 1,001    | -0,3       | 0,22  | 261 | 1,1-5,3        | Paramax <sup>®</sup>          |
|   | 0,896                        | 0,877    | -0,1       | 0,21  | 100 | 1,5-5,0        | Beckman                       |
| <b>Calcio (mg/dl)</b>                     | 0,980                        | 0,98     | -0,17      | 0,31  | 111 | 4,6-13,2       | Beckman                       |
| <b>Cloruro (mmol/l)</b>                   | 0,978                        | 0,982    | -1,1       | 1,84  | 120 | 71-118         | Vitros <sup>®</sup> 950       |
| <b>Creatinina (mg/dl)</b>                 | 0,993                        | 0,926    | 0,0        | 0,15  | 260 | 0,4-14,7       | Paramax <sup>®</sup>          |
| <b>Glucosio (mg/dl)</b>                   | 0,987                        | 1,009    | -2,8       | 3,89  | 251 | 72-422         | Paramax <sup>®</sup>          |
|   | 0,997                        | 0,943    | 1,2        | 4,69  | 91  | 56-646         | Beckman                       |
| <b>Fosforo (mg/dl)</b>                    | 0,993                        | 1,017    | -0,2       | 0,236 | 90  | 0,8 – 11,7     | Vitros <sup>®</sup> 950       |
| <b>Potassio (mmol/l)</b>                  | 0,969                        | 0,863    | 0,6        | 0,14  | 58  | 2,0 – 6,8      | Radiometro KNA <sup>®</sup> 2 |
| <b>Sodio (mmol/l)</b>                     | 0,937                        | 0,782    | 27,7       | 3,79  | 113 | 116 - 154      | Radiometro KNA <sup>®</sup> 2 |
| <b>Anidride carbonica totale (mmol/l)</b> | 0,947                        | 0,903    | 2,0        | 0,84  | 60  | 6 – 39         | Cobas <sup>®</sup> Fara       |
| <b>Azoto ureico ematico (mg/dl)</b>       | 0,983                        | 0,946    | 0,0        | 0,66  | 92  | 6 – 38         | Beckman                       |

## 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 composti da pool di siero preparati a tre livelli per ognuno dei dieci analiti, albumina, calcio, cloruro, creatinina, glucosio, fosforo, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico ematico (BUN). I partecipanti non erano stati in alcun modo addestrati all'esecuzione del test o all'uso dello strumento. Sono stati arruolati complessivamente 62 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.

### Albumina

|                                   | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                            | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target             | 3,1       | 3,5       | 4,2       |
| Valore medio<br>Con Piccolo(g/dl) | 3,0       | 3,5       | 4,2       |
| SD                                | 0,08      | 0,09      | 0,07      |
| %CV                               | 2,7%      | 2,5%      | 1,8%      |
| Range osservato                   | 2,9 – 3,2 | 3,3 – 3,7 | 4,0 – 4,4 |

### Calcio (CA)

|                                     | Livello 1 | Livello 2   | Livello 3   |
|-------------------------------------|-----------|-------------|-------------|
| Numero                              | 62        | 62          | 62          |
| Concentrazione target               | 8,1       | 10,5        | 13,2        |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mg/dl) | 8,03      | 10,52       | 13,1        |
| SD                                  | 0,14      | 0,15        | 0,18        |
| %CV                                 | 1,7%      | 1,4%        | 1,4%        |
| Range osservato                     | 7,7 – 8,4 | 10,1 – 11,0 | 12,6 – 13,4 |

**Cloruro (CL<sup>-</sup>)**

|                                      | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                               | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target                | 93        | 105       | 115       |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mmol/l) | 94,6      | 106       | 115,5     |
| SD                                   | 1,66      | 1,5       | 1,74      |
| %CV                                  | 1,8       | 1,4       | 1,5       |
| Range osservato                      | 90 – 100  | 102 – 108 | 110 – 119 |

**Creatinina (CRE)**

|                                     | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                              | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target               | 0,9       | 2,1       | 6,9       |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mg/dl) | 0,89      | 2,07      | 6,89      |
| SD                                  | 0,10      | 0,10      | 0,11      |
| %CV                                 | 11,2%     | 4,8%      | 1,6%      |
| Range osservato                     | 0,7 – 1,2 | 1,8 – 2,3 | 6,5 – 7,2 |

**Glucosio**

|                                     | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                              | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target               | 96        | 131       | 363       |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mg/dl) | 95,2      | 130,3     | 365,8     |
| SD                                  | 1,08      | 1,33      | 2,85      |
| %CV                                 | 1,1%      | 1,0%      | 0,8%      |
| Range osservato                     | 93 – 98   | 125 – 133 | 351 – 373 |

**Fosforo (PHOS)**

|                                     | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                              | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target               | 2,2       | 4,2       | 7,3       |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mg/dl) | 2,2       | 4,2       | 7,3       |
| SD                                  | 0,10      | 0,11      | 0,09      |
| %CV                                 | 4,5       | 2,6       | 1,2       |
| Range osservato                     | 2,0 – 2,5 | 4,0 – 4,5 | 7,1 – 7,5 |

**Potassio (K<sup>+</sup>)**

|                                      | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                               | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target                | 3,4       | 5,6       | 7,2       |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mmol/l) | 3,42      | 5,66      | 7,19      |
| SD                                   | 0,11      | 0,14      | 0,14      |
| %CV                                  | 3,3       | 2,5       | 1,9       |
| Range osservato                      | 3,2 – 3,7 | 5,2 – 5,9 | 6,7 – 7,5 |

**Sodio (Na<sup>+</sup>)**

|                                      | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                               | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target                | 122       | 141       | 158       |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mmol/l) | 122,1     | 140,8     | 157,5     |
| SD                                   | 1,25      | 1,15      | 1,63      |
| %CV                                  | 1,0       | 0,8       | 1,0       |
| Range osservato                      | 118 – 127 | 138 – 143 | 154 – 162 |

**Anidride carbonica totale (tCO<sub>2</sub>)**

|                                      | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                               | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target                | 21        | 28        | 33        |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mmol/l) | 20,3      | 27,6      | 34,4      |
| SD                                   | 1,03      | 1,26      | 1,27      |
| %CV                                  | 5,1       | 4,6       | 3,7       |
| Range osservato                      | 18 – 23   | 23 – 30   | 32 – 38   |

**Azoto ureico ematico (BUN)**

|                                     | Livello 1 | Livello 2 | Livello 3 |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Numero                              | 62        | 62        | 62        |
| Concentrazione target               | 15        | 42        | 72        |
| Valore medio<br>Con Piccolo (mg/dl) | 15,1      | 41,0      | 72,2      |
| SD                                  | 0,35      | 1,0       | 1,3       |
| %CV                                 | 2,3%      | 2,5%      | 1,8%      |
| Range osservato                     | 14 – 16   | 37 – 43   | 68 – 75   |

**13. Bibliografia**

1. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 1921; 49:93-07.
2. Howe PE. The determination of proteins in blood - a micro method. *J Biol Chem* 1921; 49:109-13.
3. Wolfson WQ, et al. 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.
4. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961; 7:626-36.
5. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966; 12:414-17.
6. Gendler S. Albumin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> Ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-33.
7. Webster D, et al. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim* 1974; 53:101-8.
8. Louderback A, et al. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chim* 1978; 14:793-4. Abstract.
9. Pinnell AE, BE Northam. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978; 24:80-86.
10. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*, GR Cooper, ed. Washington, DC: AACC Press. 1977; Vol 8:3-8.
11. Kessler G, Wolfman M. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10:686-703.
12. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53:194-8.
13. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307:86-112.

### 13. Bibliografia (segue)

14. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34:552-3.
15. Knoll VE, Stamm D. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8:582-7.
16. Haecckel R. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18:385-394.
17. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-6.
18. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28:114-117.
19. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29:1494-6.
20. Tabata M, et al. Direct Spectrophotometry of magnesium in serum after reaction with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Clin Chem* 1985; 31: 703-5.
21. Newman DJ, Price DP. Renal function and nitrogen metabolites. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1204-70.
22. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38:81-110.
23. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117:771-6.
24. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 1944; 153:375-380.
25. Kaplan LA. Glucose. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-6.
26. Schultz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An enzymic method for the measurement of inorganic phosphate determination. *Anal BioChem* 1967; 19:300-14.
27. Tedokon M, et al. Enzymatic assay of inorganic phosphate with use of sucrose phosphorylase and phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992; 38:512-5.
28. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem*. 1989; 35:817-820.
29. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem*. 1994; 40:846-7.
30. 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.
31. Helgerson RC, et al. Host-guest complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111:6339-50.
32. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34:1709-12.
33. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2295-8.
34. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J Clin Pathol* 1960; 33:181-185.
35. Korzun WJ, Miller WG. Carbon dioxide. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 869-872.
36. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR and Meites S, eds. Washington, DC: AACC Press. 1982: 365-373.
37. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem* 1914; 19:211-228.
38. Fawcett JK, et al. A rapid and precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol* 1960; 13:156-9.
39. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem* 1962; 8:130-2.
40. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen test nach Warburg. *Klin Wochensh* 1965; 43:174-5.
41. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta* 1971; 35:33-7.
42. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem* 1977; 49:464-469.
43. 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.
44. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (formerly NCCLS)). Physician's office laboratory guidelines; tentative guideline – 2<sup>nd</sup> ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
45. Scott, M.G. Electrolytes and blood gases. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-9.

### 13. Bibliografia (segue)

46. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (formerly NCCLS)). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-T. Wayne, PA: NCCLS, 1983.
  47. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
  48. 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.
  49. Scott, M.G. Electrolytes and blood gases. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-6.
  50. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (formerly NCCLS)). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-P. Wayne, PA: NCCLS, 1986.
  51. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3<sup>rd</sup> ed. Washington, DC:AACC Press. 1990.
  52. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (formerly NCCLS)). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline – 2<sup>nd</sup> ed. NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
  53. Lum G, Gambino S. Serum vs plasma determinations in routine chemistry. *Clin Chem* 1972; 18(7);Abstr 134;710.
  54. Lum G, Gambino S. A comparison of serum vs heparinized plasma for routine chemistry tests. *Am J Clin Pathol* 1974: 61(1);108-13.
  55. Carothers J, Kurtz N, Lehmann J, Jr. Error introduced by specimen handling before determination of inorganic phosphate concentrations in plasma and serum. *Clin Chem* 1976: 22(11);1909-12.
  56. Ladenson J, et al. Serum vs heparinized plasma for routine chemistry tests. *Am J Clin Path* 1974: 62(4);545-52.
  57. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (formerly NCCLS)). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
  58. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
  59. Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI (formerly NCCLS)). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A. Wayne, PA: NCCLS, 1995
-