Piccolo®-Leberfunktionsprofil-Reagenzdisk

Kundenservice und technischer Support: 800-822-2947

Januar 2016
Best.-Nr.: 400-7137 Rev.: H
© 2003, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Verwendungszweck

Die Piccolo®-Leberfunktionsprofil-Reagenzdisk soll zusammen mit dem Piccolo-Blutchemie-Analysesystem eine quantitative Bestimmung von Alaninaminotransferase, Albumin, Alkalinphosphatase, Aspartat-Aminotransferase, Direktbilirubin, Gesamtbilirubin und Gesamtprotein in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Blutplasma oder *in vitro* in einem klinischen Labor ermöglichen.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

Die Piccolo-Leberfunktionsprofil-Reagenzdisk und das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem stellen ein *in-vitro*-Diagnosesystem dar, das den Arzt bei der Diagnose folgender Störungen unterstützt:

Alaninaminotransferase:	Leberkrankungen einschließlich virale Hepatitis und Zirrhose; Herzkrankheiten.
Albumin:	Leber- und Nierenerkrankungen.
Alkalinphosphatase:	Leber-, Knochen-, Nebenschilddrüsen- und Darmerkrankungen.
Aspartat-Aminotransferase:	Lebererkrankungen einschließlich Hepatitis und Virusgelbsucht sowie Schock.
Direktbilirubin:	Leberstörungen, hämolytische, hämatologische und Stoffwechselstörungen einschließlich Hepatitis und Obstruktion der Gallenblase.
Gesamtbililrubin:	Leberstörungen einschließlich Hepatitis und Obstruktion der Gallenblase; Gelbsucht.
Gesamtprotein:	Leber-, Nieren- und Knochenmarkerkrankungen, Stoffwechsel- und Ernährungsstörunge.

Wie bei allen diagnostischen Prüfverfahren sind vor der abschließenden Diagnose sämtliche andere Prüfverfahren, einschließlich des klinischen Status des Patienten, in Betracht zu ziehen.

3. Verfahrensprinzip

Alaninaminotransferase (ALT)
Die Alaninaminotransferase (ALT) wurde mit drei Methoden gemessen. Zwei dieser Verfahren, die kolorimetrische Dinitrophenylhydrazinkopplungstechnik[1,2] und der Fluoreszenzenzym-Assay, werden nur selten verwendet.[3] Ein auf der Arbeit von Wróblewski und LaDue[4] basierendes enzymatisches Verfahren ist die gebräuchlichste Methode für die Bestimmung von ALT-Konzentrationen im Serum. Ein modifiziertes Verfahren nach Wróblewski und LaDue wurde als empfohlenes Verfahren von der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) vorgeschlagen.[5]

Die für das Piccolo-Analysesystem entwickelte Methode ist eine Abwandlung des von der IFCC empfohlenen Verfahrens. Bei dieser Reaktion katalysiert ALT den Transfer einer Aminogruppe von L-Alanin zu α-Ketoglutarat zur Bildung von L-Glutamat und Pyruvat. Lactatdehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Pyruvat in Lactat. Damit einhergehend wird NADH wie im folgenden Reaktionsschema dargestellt zu NAD^+ oxidiert.

$$\text{L-Alanin} + \alpha\text{-Ketoglutarat} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamat} + \text{Pyruvat}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H+} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactat} + \text{NAD}^+$$

Die Änderungsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD^+ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen ALT.

Albumin (ALB)
In frühen Methoden wurde Albumin unter anderem mit Fraktionierungstechniken[6-8] und dem Tryptophangehalt von Globulinen gemessen.[9,10] Diese Methoden waren umständlich und nicht besonders spezifisch. Zwei immunchemische Techniken werden als Referenzmethoden in Betracht gezogen, sind jedoch teuer und zeitaufwändig.[11] Farbstoffbindungstechniken sind am gebräuchlichsten für das Messen von Albumin. Bromcresolgrün (BCG) ist die am häufigsten verwendete Farbstoffbindungstechnik, kann jedoch zu einer Überschätzung der Albuminkonzentration führen, insbesondere am unteren Ende des Normalbereichs.[12] Bromcresolpurpur (BCP) hat unter den verwendeten Farbstoffen die höchste Spezifität.[13,14]

Bromcresolpurpur (BCP) wechselt bei Bindung mit Albumin seine Farbe von gelb zu blau. Der Extinktionshöchstwert ändert sich mit dem Farbwechsel.

$$\text{BCP} + \text{Albumin} \xrightarrow[\text{Säure pH}]{\text{Surfactants}} \text{BCP-Albumin-Komplex}$$

Gebundenes Albumin verhält sich proportional zur Albuminkonzentration in der Probe. Dies ist eine Umschlagpunktreaktion, die als Extinktionsdifferenz zwischen 600 nm und 550 nm gemessen wird.

Alkaliphosphatase (ALP)
Die ersten Techniken zur Messung von Alkaliphosphatase wurden vor über 60 Jahren entwickelt. Mehrere dieser Umschlagpunkt- oder Zweipunkt-Spektrophotometrieverfahren[15,16] werden heute als veraltet oder zu umständlich angesehen. Durch Verwendung von *p*-Nitrophenylphosphate (*p*-NPP) wurde die Reaktionsgeschwindigkeit erhöht.[17,18] Die Zuverlässigkeit des Verfahrens wurde durch Verwendung eines Metallionenpuffers zur Aufrechterhaltung der Konzentration von Magnesium- und Zinkionen in der Reaktion stark verbessert.[19] Im Referenzverfahren der American Association for Clinical Chemistry (AACC)[20] wird *p*-NPP als Substrat und als Metallionenpuffer verwendet.

Das Piccolo-Verfahren ist eine Abwandlung der von AACC und IFCC[21] verwendeten Methoden. Alkaliphosphatase hydrolysiert *p*-NPP in einem Metallionenpuffer und bildet *p*-Nitrophenol und Phosphat.

$$p\text{-Nitrophenylphosphat} \xrightarrow[Zn^{2+},\ Mg^{2+}]{\text{ALP}} p\text{-Nitrophenol} + \text{Phosphat}$$

Die Menge an ALP in der Probe verhält sich proportional zur Anstiegsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 405 nm und 500 nm.

Aspartat-Aminotransferase (AST)
Der Aspartat-Aminotransferase (AST)-Test beruht auf der Karmen-Geschwindigkeitsmethode[22] in der von Bergmeyer abgewandelten Form.[23] Die aktuelle Referenzmethode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) verwendet die Karmen/Bergmeyer-Technik des Koppelns von Malatdehydrogenase (MDH) und reduziertem Nicotinamiddinucleotid (NADH) zum Nachweis von AST im Serum.[23,24] Lactatdehydrogenase (LDH) wird der Reaktion zugegeben, um die durch endogenes Pyruvat verursachten Interferenzen zu verringern.

AST katalysiert die Umsetzung von L-Aspartat und einem α-Ketoglutarat in Oxaloacetat und L-Glutamat. Oxaloacetat wird in Malat umgewandelt und NADH wird durch den Katalysator MDH zu NAD^+ oxidiert.

$$\text{L-Aspartat} + \alpha\text{-Ketoglutarat} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxaloacetat} + \text{L-Glutamat}$$

$$\text{Oxaloacetat} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malat} + \text{NAD}^+$$

Die durch die Umwandlung von NADH in NAD^+ bewirkte Extinktionsänderungsgeschwindigkeit bei 340 nm/405 nm ist direkt proportional zur in der Probe vorhandenen AST-Menge.

Direktbilirubin (DBIL)
Direktbilirubin wurde erstmals von Van Den Bergh und Müller in menschlichem Serum entdeckt. Sie beobachten, dass das Pigment in der menschlichen Gallenflüssigkeit in Abwesenheit von Alkohol[25] mit diazotierter Sulfanilsäure reagiert. Heute wird für die Messung von Direktbilirubin häufig eine Abwandlung der von Malloy und Evelyn[26] entwickelten Methode verwendet, bei der diazotierte Sulfanilsäure mit Bilirubin verbunden wird, um das farbgebende Azobilirubin zu bilden. Einige Diazomethoden führen zu unzuverlässigen Ergebnissen, da unkonjugiertes Bilirubin als Direktbilirubin[27] quantifiziert werden kann. Ein genauerer Test für Gesamtbilirubin wurde entwickelt, nachdem das Enzym Bilirubinoxidase aus *Myrothecium verrucaria* MT-1 isoliert wurde.[28-30] Diese Methode ist auch für Direktbilirubin spezifisch, wenn die Reaktion mit niedrigerem pH-Wert erfolgt pH.[31,32]

Im enzymatischen Verfahren wird der lösliche Bilirubinkomplex (Direktbilirubin) durch die Bilirubinoxidase in Biliverdin reduziert.

$$\text{Lösliches Bilirubin} + O_2 \xrightarrow[\text{Komplex}]{\text{Bilirubinoxidase}} \text{Biliverdin} + H_2O$$

Bilirubin wird als Extinktionsdifferenz zwischen 467 nm und 550 nm quantitativ bestimmt. Die Anfangsextinktion dieser Umschlagpunktreaktion wird mit der Bilirubin-Blindwertküvette, die endgültige Extinktion mit der Bilirubin-Testküvette ermittelt. Die Bilirubinmenge in der Probe ist proportional zur Differenz zwischen diesen Messungen von Anfangs- und Endextinktion.

Gesamtbilirubin (TBIL)
Gesamtbilirubinkonzentrationen wurden bisher meistens durch Tests, die diazotierte Sulfanilsäure verwenden, gemessen.[26,33] Eine neuere und spezifischere Methode verwendet das Enzym Bilirubinoxidase.[28-30] Neben dem Vorteil einer spezifischeren Gesamtbilirubin-Testmethode wird beim Piccolo-Blutchemie-Analysesystem auch der fotochemische Abbau des Analyts minimiert, da die Probe sofort nach der Entnahme getestet werden kann.

In dem enzymbasierten Verfahren wird Bilirubin durch Bilirubinoxidase zu Biliverdin reduziert.

$$\text{Bilirubin} + O_2 \xrightarrow{\text{Bilirubinoxidase}} \text{Biliverdin} + H_2O$$

Bilirubin wird als Extinktionsdifferenz zwischen 467 nm und 550 nm quantitativ bestimmt. Die Anfangsextinktion dieser Umschlagpunktreaktion wird mit der Bilirubin-Blindwertküvette, die endgültige Extinktion mit der Bilirubin-Testküvette ermittelt. Die Bilirubinmenge in der Probe ist proportional zur Differenz zwischen diesen Messungen von Anfangs- und Endextinktion.

Gesamtprotein (TP)
Die Testmethode für das Gesamtprotein ist eine Abwandlung der Biuretreaktion, die für ihre hohe Präzision, Genauigkeit und Spezifität bekannt ist.[34] Das ursprünglich von Riegler[35] entwickelte und von Weichselbaum[36], Doumas et al.[37] modifizierte Verfahren sieht eine Biuretreaktion als Referenzmethode für das Gesamtprotein vor.

Bei der Biuretreaktion wird die Proteinlösung mit Kupfer(II)-ionen in einem stark basischen Medium behandelt. Natriumkaliumtartrat und Kaliumiodid werden zugegeben, um die Präzipitation des Kupferhydroxids und die Eigenreduktion von Kupfer zu verhindern.[36] Die Kupfer(II)-Ione reagieren mit Peptidbindungen zwischen Carbonylsauerstoff- und Amidstickstoffatomen und bilden einen gefärbten Kupferproteinkomplex.

$$\text{Gesamtprotein} + \text{Cu(II)} \xrightarrow{OH^-} \text{Cu-Protein-Komplex}$$

Die in der Probe vorhandene Menge an Gesamtprotein ist direkt proportional zur Extinktion des Cu-Protein-Komplexes. Der Gesamtproteintest ist eine Umschlagpunktreaktion, wobei die Extinktion als Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 850 nm gemessen wird.

4. Funktionsprinzip

Grundsätze und Beschränkungen des Verfahrens sind im Bedienhandbuch für das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem aufgeführt.

5. Beschreibung der Reagenzien

Reagenzien
Jede Piccolo-Leberfunktionsprofil-Reagenzdisk umfasst trockene, testspezifische Reagenzienkapseln (Beschreibung folgt). Ein trockenes Blindwert-Reagens (bestehend aus Puffer, Surfactants, Exzipienten und Konservierungsmitteln) liegt jeder Disk bei und wird für die Kalkulation der Konzentrationen von Alaninaminotransferase (ALT), Albumin (ALB), Alkalinphosphatase (ALP) und Aspartat-Aminotransferase (AST) verwendet. Spezielle Probenblindwerte für Gesamtbilirubin (TBIL), Direktbilirubin (DBIL) und Gesamtprotein (TP) befinden sich auf jeder Disk. Jede Disk enthält auch ein aus Surfactants, Exzipienten und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Tabelle 1: Reagenzien

Komponente	Menge/Disk
L-Alanin	874 µg
L-Asparaginsäure	426 µg
Bilirubinoxidase	0,2 U
Bromcresolpurpur	2 µg
Kupfer(II)-Sulfat	134 µg
α-Ketoglutarsäure	82 µg
Lactatdehydrogenase	0,13 U
Magnesiumchlorid	3 µg
Malatdehydrogenase (MDH) (Schweineherz)	0,01 U
β-Nicotinamidadenindinucleotid, reduziert (NADH)	12 µg
p-NPP	56 µg
Kaliumiodid	28 µg
Natriumkaliumtartrat	343 µg
Zinksulfat	3 µg
Puffer, Surfactants, Exzipienten und Konservierungsmittel	

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Für den Diagnostikeinsatz *in vitro*

- Der Verdünnungsbehälter in der Reagenzdisk wird beim Schließen des Schubfachs des Analysegeräts automatisch geöffnet. Eine Disk mit einem geöffneten Verdünnungsmittelbehälter kann nicht wieder verwendet werden. Prüfen Sie vor dem Schließen des Schubfachs, ob die Probe bzw. Kontrolle in die Disk eingesetzt wurde.

- Gebrauchte Reagenzdisks enthalten menschliche Körperflüssigkeiten. Befolgen Sie beim Umgang mit und beim Entsorgen von gebrauchten Disks die Arbeitsschutzbestimmungen für die Laborpraxis.[38] Weitere Informationen zum Reinigen von verschütteten biologischen Gefahrenstoffen finden Sie im Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems.

- Die Reagenzdisks bestehen aus Kunststoff und können bei Aufschlag auf dem Boden Risse bekommen oder splittern. **Niemals** heruntergefallene Disks verwenden, da diese biologische Gefahrenstoffe überall im Innern des Analysegeräts versprühen können.

- Reagenzienkapseln können Säuren oder Basen enthalten. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommt der Bediener nicht mit den Reagenzienkapseln in Berührung. Wenn Sie mit Kapseln umgehen müssen (z.B. beim Reinigen nach dem Fallenlassen und Zerbrechen einer Reagenzdisk), verhindern Sie ein Verschlucken oder Einatmen der Reagenzienkapseln sowie Hautkontakt mit ihnen.

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien
Reagenzdisks sind sofort aus dem Kühlschrank heraus ohne Erwärmen einsatzbereit. Die in den Folienbeuteln versiegelten Disks dürfen vor der Verwendung nicht länger als 48 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden. Öffnen Sie den versiegelten

Folienbeutel, entnehmen Sie die Disk und verwenden Sie sie nach der Anleitung im Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems. Eine nicht innerhalb von 20 Minuten nach Öffnen des Beutels verwendete Disk ist zu entsorgen.

Lagerung
Lagern Sie Reagenzdisks eingeschweißt in ihre Folienbeutel bei 2-8 °C (36-46 °F). Setzen Sie geöffnete oder ungeöffnete Disks keiner direkten Sonneneinstrahlung oder Temperaturen von über 32 °C (90 °F) aus. Reagenzdisks können bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Das Verfallsdatum ist auch in dem auf den Strichcodering gedruckten Strichcode verschlüsselt. Bei Überschreitung des Verfallsdatums der Reagenzien gibt die Anzeige des Piccolo-Blutchemie-Analysesystem eine Fehlermeldung aus.

Anzeichen für instabile oder verdorbene Reagenzdisks
Bei einem aufgerissenen oder anderweitig beschädigten Folienbeutel kann Feuchtigkeit zur unbenutzten Disk vordringen und die Leistung der Reagenzien negativ beeinflussen. Verwenden Sie keine Disks aus einem beschädigten Beutel.

6. Messgerät

Vollständige Informationen zum Gebrauch des Analysegeräts sind im Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems enthalten.

7. Probenahme und Probenvorbereitung

Methoden für die Probenentnahme sind im Bedienhandbuch zum Piccolo-Blutchemie-Analysesystem beschrieben.

- Die erforderliche Mindestprobengröße beträgt ~100 µL heparinisiertes Vollblut, heparinisiertes Blutplasma, Serum oder Kontrollmaterial. Die Probenkammer der Reagenzdisk kann eine Probenmenge von bis zu 120 µL aufnehmen.

- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor eine Probe auf die Reagenzdisk übertragen werden kann. Stülpen Sie das Sammelrohr vor dem Probentransfer einige Male sanft um. Schütteln Sie das Sammelrohr **nicht**, da es sonst zu Hämolyse kommen kann.

- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sollten innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme verarbeitet werden.[39] Bei der Aufbewahrung von Vollblutproben im Kühlschrank kann sich die Konzentration der **Aspartat-Aminotransferase** wesentlich verändern.[40] Die Probe kann in Plasma oder Serum getrennt und in verschlossenen Proberöhrchen bei 2-8 °C (36-46 °F) gelagert werden, wenn die Probe nicht innerhalb von 60 Minuten verarbeitet werden kann.

- **Gesamt- und Direktbilirubin-**Ergebnisse können durch fotochemischen Abbau negativ beeinflusst werden.[41] Nicht sofort bearbeitete Vollblutproben sind höchstens 60 Minuten lang im Dunkeln zu lagern. Wenn die Probe in diesem Zeitraum nicht analysiert werden kann, ist sie in Plasma oder Serum aufzutrennen und in einem Probenröhrchen mit Kappe bei niedrigen Temperaturen im Dunkeln aufzubewahren.[42]

- Für Vollblut- oder Plasmaproben nur mit Lithiumheparin evakuierte Probesammelröhrchen verwenden. Nur evakuierte Probesammelröhrchen ohne Additiv oder Serumtrennröhrchen für die Serumproben verwenden.

8. Verfahren

Benötigte Materialien
- Eine Piccolo-Leberfunktionsprofil-Reagenzdisk

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören
- Piccolo-Blutchemie-Analysesystem

- Von Abaxis empfohlene, handelsübliche Kontrollreagenzien (siehe Bedienhandbuch zum Piccolo-Blutchemie-Analysesystem)

Testparameter
- Das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem arbeitet bei Umgebungstemperaturen zwischen 15 °C und 32 °C (59-90 °F). Die Analysedauer für eine Piccolo-Leberfunktionsprofil-Reagenzdisk beträgt weniger als 14 Minuten. Das Analysegerät hält die Reagenzdisk über das Messintervall hinweg bei einer Temperatur von 37 °C (98,6 °F).

Testverfahren
Die komplette Probensammlung und schrittweise Bedienanleitungen sind detailliert im Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems beschrieben.

Kalibrierung
Das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem wird vor der Auslieferung vom Hersteller kalibriert. Der auf dem Strichcodering aufgedruckte Strichcode liefert dem Analysegerät diskspezifische Kalibrierdaten. Siehe Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems.

Qualitätskontrolle
Die Leistung des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems kann durch Kontrollmittel überprüft werden. Von Abaxis empfohlene Kontrollmittel sind im Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems aufgeführt. Andere auf menschlichem Serum oder Plasma basierende Kontrollmittel sind eventuell nicht kompatibel.

Im Bedienhandbuch des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems finden Sie eingehende Erläuterungen zur Durchführung, Aufzeichnung, Interpretation und Darstellung von Kontrollergebnissen.

9. Ergebnisse

Das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem berechnet und druckt die Analytkonzentrationen in der Probe automatisch. Einzelheiten der Reaktionsberechnungen von Umschlagpunkt und Geschwindigkeit im Bedienhandbuch zum Piccolo-Blutchemie-Analysesystem enthalten.

Die Interpretation der Ergebnisse ist im Bedienhandbuch zum Piccolo-Blutchemie-Analysesystem beschrieben. Die Ergebnisse werden auf von Abaxis gelieferte Ergebniskarten gedruckt. Die Ergebniskarten haben rückseitig eine Klebeschicht zur bequemen Anbringung in der Patientenakte.

10. Verfahrensbeschränkungen

Allgemeine Verfahrensbeschränkungen werden im Bedienhandbuch zum Piccolo-Blutchemie-Analysesystem behandelt.

- Das einzige **zur Verwendung** mit dem Piccolo-Blutchemie-Analysesystem **empfohlene** Antikoagulans ist **Lithiumheparin**. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoaguliermittel zu Interferenzen mit mindestens einer in der Piccolo-Komplettmetabolik-Reagenzdisk enthaltenen Chemikalie führen.

- Proben mit Hämatokriten von über 62 % können zu ungenauen Ergebnissen führen. Solche Proben mit hohen Hämatokriten können als hämolysiert verzeichnet werden. Diese Proben können dann zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenzdisk erneut getestet werden.

- **Jedes den Assaybereich überschreitende Ergebnis eines bestimmten Tests sollte dann mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden. Verdünnen Sie die Probe nicht und testen Sie sie erneut im Piccolo-Blutchemie-Analysesystem.**

  Achtung: Umfassende Prüfungen des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems haben ergeben, dass in sehr seltenen Fällen eine in die Reagenzdisk gegebene Probe nicht problemlos in die Probenkammer rinnt. Infolge irregulären Flusses kann eine unzureichende Probenmenge analysiert werden, und mehrere Ergebnisse können aus dem Referenzbereich herausfallen. Die Probe kann mit einer neuen Reagenzdisk erneut getestet werden.

Interferenzen
Es wurden Substanzen als Interferenten mit den Analyten getestet. Dann wurden Humanserum-Pools hergestellt.
Die Konzentration, bei der die potenziellen Interferenten getestet wurden, basiert auf den Testkonzentrationen nach NCCLS EP7-A.[45]

Auswirkungen endogener Substanzen

- Physiologische Interferenten (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) verursachen Veränderungen in den gemeldeten Konzentrationen mancher Analyten. Die Probenindizes sind unten auf der Ergebniskarte aufgedruckt, damit der Bearbeiter weiß, welche Stufe von Interferenten die einzelnen Proben aufweisen. Das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem unterdrückt Ergebnisse, die von mehr als 10 % Interferenz durch Hämolyse, Lipämie oder Ikterus betroffen sind. „HEM“, „LIP“ bzw. „ICT“ ist anstelle des Ergebnisses auf die Ergebniskarte aufgedruckt.

Auswirkungen therapeutischer Substanzen

- Die Definition für eine signifikante Interferenz ist mehr als 10% Verschiebung der Ergebnisse bei einer Probe des normalen Bereichs. Humanserum-Pools wurden mit einer bekannten Konzentration von Arzneimitteln oder Chemikalien ergänzt und dann analysiert.

Tabelle 2: Bewertete therapeutische Substanzen

	Physiologischer oder therapeutischer Bereich[43-48] (mg/dL)	Höchste getestete Konzentration (mg/dL)
Endogene Substanzen		
Acetaminophen	1-2	100
Acetylsalicylsäure	2-10	50
Chloramphenicol	1-2,5	100
Cimetidin	0,1-1	16
Erythromycin	0,2-2	10
Isoniazid	0,1-0,7	4
Ketoprofen	—	50
Methicillin	—	100
Methotrexat	0,1	0,5
Metronidazol	0,1	5
Nafcillin	—	1
Oxacillin	—	1
Phenytoin	1-2	3

Tabelle 3: Substanzen mit signifikanter Interferenz >10 %

	Physiologisch oder therapeutisch Bereich[43-48] (mg/dL)	Konzentration mit kein signifikanter Störung (mg/dL)	Interferenz[A]
Alaninaminotransferase (ALT)			
Ascorbinsäure	0,8-1,2	20	11% erh
Oxaloacetat	—	132	843% erh
Albumin (ALB)			
Acetoacetat	0,05-3,60	102	18% ges
Ampicillin	0,5	30	12% ges
Kaffein	0,3-1,5	10	14% ges
Kalziumchlorid	—	20	17% ges
Cephalothin (Keflin)	10	400	13% erh
Ibuprofen	0,5-4,2	50	28% erh
α-Ketoglutarat	—	5	11% ges
Nitrofurantoin	0,2	20	13% ges
Prolin	—	4	12% erh
Sulfalazin	2-4	10	14% ges
Sulfanilamid	10-15	50	12% ges
Theophyllin	1-2	20	11% ges
Alkaliphosphatase (ALP)			
Theophyllin	1-2	20	42% ges
Aspartat-Aminotransferase (AST)	Keine	Keine	Keine
Direktes Gesamtbilirubin (DBIL)			
Ascorbinsäure	0,8-1,2	2,5	30% ges
Dopamin	0,3-1,5	15	50% ges
Gesamtbilirubin (TBIL)			
Dopamin	—	19	55% ges
L-dopa	—	5	17% L-dopa
Gesamtprotein (TP)	Keine	Keine	Keine

[A]Ges. = gesenkte Konzentration des angegebenen Analyten; Erh. = erhöhte Konzentration des angegebenen Analyten
Weitere Informationen über potenzielle chemische Interferenten finden Sie in der angegebenen Literatur.

11. Erwartungswerte

Proben von insgesamt 125 erwachsenen Männern und Frauen, die am Piccolo-Blutchemie-Analysesystem analysiert wurden, wurden zur Bestimmung der Referenzintervalle verwendet. Diese Bereiche werden lediglich als Richtlinie bereit gestellt. Die ALP-Spiegel von heranwachsenden Kindern schwanken stark.[47] Wir empfehlen jeder Praxis oder Einrichtung die Aufstellung von Normalbereichen für ihre Patientenpopulation.

Tabelle 4: Piccolo-Referenzintervalle

Analyt	Referenzintervall	
	Allgemeine Einheiten	**SI-Einheiten**
Alaninaminotransferase (ALT)	10-47 U/L	10-47 U/L
Albumin (ALB)	3,3-5,5 g/dL	33-55 g/L
Alkalinphosphatase (ALP), Mann	53-128 U/L	53-128 U/L
Alkalinphosphatase (ALP), Frau	42-141 U/L	42-141 U/L
Aspartat-Aminotransferase (AST)	11-38 U/L	11-38 U/L
Direktbilirubin (DBIL)	0-0,3 mg/dL	0-5,1 µmol/L
Gesamtbilirubin (TBIL)	0,2-1,6 mg/dL	3,4-27,4 µmol/L
Gesamtprotein (TP)	6,4-8,1 g/dL	64-81 g/L

12. Leistungsmerkmale

Linearität
Die chemischen Eigenschaften der einzelnen Analyten verhält sich über den unten angegebenen dynamischen Bereich linear, wenn das Piccolo-Blutchemie-Analysesystem nach dem empfohlenen Vorgehen eingesetzt wird (siehe Bedienhandbuch zum Piccolo-Blutchemie-Analysesystem).

Tabelle 5: Dynamische Bereiche für Piccolo

Analyt	Dynamischer Bereich	
	Allgemeine Einheiten	**SI-Einheiten**
Alaninaminotransferase (ALT)	5-2000 U/L	5-2000 U/L
Albumin (ALB)	1-6,5 g/dL	10-65 g/L
Alkaliphosphatase (ALP)	5-2400 U/L	5-2400 U/L
Aspartate Amino-transferase (AST)	5-2000 U/L	5-2000 U/L
Direktbilirubin (DBIL)	0,1-15 mg/dL	1,7-257 µmol/L
Gesamtbilirubin (TBIL)	0,1-30 mg/dL	1,7-513 µmol/L
Gesamtprotein (TP)	2-14 g/dL	20-140 g/L

Empfindlichkeit (Nachweisgrenzen)
Die untere Detektionsgrenze für jedes Analyt ist: Alaninaminotransferase 5 U/L; Albumin 1 g/dL (10 g/L); Alkalinphosphatase 5 U/L; Aspartat-Aminotransferase 5 U/L; Direktbilirubin 0,1mg/dL (1,7 µmol/L); Gesamtbilirubin 0,1 mg/dL (1,7 µmol/L) und Gesamtprotein 2 g/dL (20 g/L).

Präzision
Für alle Tests wurden Präzisionsstudien nach den NCCLS EP5-A Richtlinien durchgeführt.[49] Ergebnisse für während der Tests und für die Gesamtpräzision wurden durch Testen von zwei Levels eines Kontrollmaterials erfasst. Die Kontrollen wurden zweimal täglich im Duplikat für 20 Tage über einen Zeitraum von 4 Wochen ausgeführt. Die Ergebnisse der Präzisionsstudien sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Präzision (N=80)

Analyt	Während des Tests	Gesamt
Alaninaminotransferase (U/L)		
Kontroll-Level 1	21	21
Mittelwert	2,76	2,79
SD	13,4	13,5
%CV		
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	52	52
SD	2,70	3,25
%CV	5,2	6,2
Albumin (g/dL)		
Kontroll-Level 1		
Mittelwert	5,6	5,6
SD	0,09	0,11
%CV	1,7	2,1
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	3,7	3,7
SD	0,07	0,11
%CV	2,0	2,9
Alkaliphosphatase (U/L)		
Kontroll-Level 1		
Mittelwert	39	39
SD	1,81	2,29
%CV	4,6	5,8
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	281	281
SD	4,08	8,75
%CV	1,5	3,1
Aspartat-Aminotransferase (U/L)		
Kontroll-Level 1		
Mittelwert	47	49
SD	0,98	0,92
%CV	2,1	1,9
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	145	147
SD	1,83	1,70
%CV	1,3	1,2
Direktbilirubin (mg/dL)		
Kontroll-Level 1		
Mittelwert	0,4	0,4
SD	0,03	0,03
%CV	6,5	6,6
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	2,2	2,2
SD	0,10	0,12
%CV	4,8	5,6
Gesamtbilirubin (mg/dL)		
Kontroll-Level 1		
Mittelwert	0,8	0,8
SD	0,06	0,07
%CV	8,0	9,3

Tabelle 6: Präzision (N = 80) (Fortsetzung)

Analyt	Während des Tests	Gesamt
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	5,2	5,2
SD	0,09	0,15
%CV	1,7	2,8
Gesamtprotein (g/dL)		
Kontroll-Level 1		
Mittelwert	6,8	6,8
SD	0,05	0,08
%CV	0,8	1,2
Kontroll-Level 2		
Mittelwert	4,7	4,7
SD	0,09	0,09
%CV	2,0	2,0

Korrelation

Heparinisierte Vollblut- und Serumproben wurden von Patienten an zwei Standorten entnommen. Die Vollblutproben wurden vor Ort im Piccolo-Blutchemie-Analysesystem analysiert und die Serumproben wurden im Piccolo-Analysesystem und durch Vergleichsmethoden analysiert. In einigen Fällen wurden hohe und niedrige Ergänzungsproben zur Abdeckung des dynamischen Bereichs verwendet. Alle Proben wurden am gleichen Tag bearbeitet. Eine repräsentative Korrelationsstatistik ist in Tabelle 7 gezeigt.

Tabelle 7: Korrelation des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems mit Vergleichsmethode(n)

Analyt	Korrelations-koeffizient	Steigung	Y-Schnittpunkt	SEE	N	Probenbereich	Vergleichsmethode
Alaninamino-transferase (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
Albumin (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
Alkalinphosphatase (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
Aspartat-Aminotransferase (U/L)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax®
	1,0	0,97	3,0	1,90	46	13-252	DAX™
Direktbilirubin (mg/dL)	0,990	0,88	-0,1	0,08	263	0-12,8	Paramax®
Gesamtbilirubin (mg/dL)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax®
	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Gesamtprotein (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

* Serumproben von stationären Patienten lieferten einen breiteren und möglicherweise nützlicheren Probenbereich als die Vollblutproben von ambulanten Patienten.

13. Literaturverzeichnis

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 AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, Horder M. 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, 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: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means 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. LA Kaplan and 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 bromcresol 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 bromcresol 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. Über die Phosphomonoesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-231.
18. Fujita H. Über die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C et al. 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 et al. 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 et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978; 24: 720-721.
25. Van Den Bergh AAH, Müller P. Uber eine Direkte und eine indirekte Diazoreaktion auf Bilirubin. Biochem Z, 1916; 77: 90-103.
26. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-490.
27. Doumas BT, Wu T-W. The measurement of bilirubin fractions in serum. Crit Rev Clin Lab Sci, 1991; 28: 415-445.
28. Murao S, Tanaka N. A new enzyme “bilirubin oxidase” produced by Myrothecium verrucaria MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-2384.
29. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem 1984; 30: 971. (Abstract)
30. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-332.
31. Doumas BT, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-332.
32. Otsuji S et al. A new enzymatic approach for estimating total and direct bilirubin. Clin Biochem, 1988; 21: 81-110.

13. Literaturverzeichnis (Fortsetzung)

33. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. *In*: Faulkner WR and Meites S, eds. Selected methods of clinical chemistry. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry, 1982; 9: 119-124.
34. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989: 1057-1060.
35. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 1914; 53: 242-245.
36. 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.
37. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981; 27: 1642-1650.
38. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
39. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline, 2nd ed. NCCLS document H18-T. Wayne, PA: NCCLS, 1988.
40. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988; 34: 2295-2298.
41. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989:1009-1015.
42. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical chemistry: Principles and techniques, 2nd ed. New York: Harper and Row, 1974: 417-421; 1058-1059.
43. Benet LZ, Williams RL. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. Gilman AG, et al., eds. Eds. In: Goodman And Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 8th ed. New York: Mcgraw-Hill, Inc. 1990: 1650-1735.
44. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1994; 735-896.
45. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
46. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. *In*: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia. WB Saunders Company, 1999: 1788-1846.
47. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Appendix. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1994: 2161-2217.
48. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS document EP5-A.Wayne, PA: NCCLS, 1999.