

Réservé aux diagnostics *in vitro*
et à une utilisation professionnelle
Service clientèle et technique: 1-800-822-2947
Clients à l'extérieur des États-Unis: +49 6155 780 210

Dérogation CLIA : Utiliser uniquement du sang
entier à héparine de lithium
Complexité modérée : Utiliser du sang entier à
héparine de lithium, du plasma à héparine de
lithium ou du sérum



Abaxis Inc.
3240 Whipple Rd.
Union City, CA 94587
USA



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Usage prévu

Le disque de réactif au Piccolo[®] BioChemistry Panel Plus utilisé avec l'analyseur chimique Piccolo Xpress[®] est conçu pour être utilisé pour la détermination quantitative *in vitro* de l'alanine aminotransférase (ALT), de l'albumine, de la phosphatase alcaline (ALP), de l'amylase, de l'aspartate aminotransférase (AST), de la protéine C réactive (CRP), du calcium, de la créatinine, de la gamma glutamyl transférase (GGT), du glucose, de la protéine totale, de l'azote uréique (BUN) et de l'acide urique dans le sang entier hépariné au lithium, le plasma hépariné au lithium ou le sérum dans un laboratoire clinique ou sur un site d'intervention. La méthode CRP Abaxis n'est pas destinée à la mesure de la CRP à haute sensibilité.

2. Résumé et explication des tests

Le disque de réactif au bilan de biochimie plus Piccolo et l'analyseur chimique Piccolo Xpress constituent un système de diagnostic *in vitro* qui aide les médecins à diagnostiquer les troubles suivants :

Aminotransférase alanine (ALT) :	Maladies du foie, y compris l'hépatite virale et la cirrhose.
Albumine :	Pathologies hépatiques et néphropathie.
Phosphatase alcaline (ALP) :	Maladies du foie, des os, de la parathyroïde et des intestins.
Amylase :	Pancréatite.
Aspartate aminotransférase (AST) :	Maladie du foie y compris l'hépatite et la jaunisse virale, état de choc.
Protéine C réactive (CRP) :	Infection, lésion tissulaire et troubles inflammatoires.
Calcium :	Maladies de la parathyroïde, maladies des os et néphropathie chronique ; tétanie.
Créatinine :	Néphropathie et monitoring de dialyse rénale.
Gamma glutamyltransférase (GGT) :	Maladies du foie, y compris la cirrhose alcoolique et les tumeurs du foie primitives et secondaires.
Glucose :	Troubles du métabolisme lipidique, y compris du diabète sucré de type 1 et de type 2 et hypoglycémie.
Protéine totale :	Pathologies hépatiques, des reins et de la moelle osseuse ; troubles métaboliques et nutritionnels.
Azote uréique du sang (BUN) :	Néphropathie et troubles métaboliques.
Acide urique :	Néphropathies et troubles métaboliques, y compris l'insuffisance rénale et la goutte.

Comme c'est le cas pour toute procédure de test de diagnostic, toutes les autres procédures de test, y compris l'état clinique du patient, doivent être prises en considération avant d'établir un diagnostic définitif.

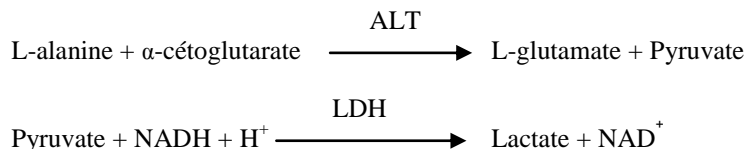
3. Principe de la procédure

Aminotransférase alanine (ALT)

L'alanine aminotransférase (ALT) a été mesurée à l'aide de trois méthodes. Deux de ces méthodes (la technique de couplage dinitrophénylhydrazine colorimétrique^{1,2} et le dosage enzymatique fluorescent) sont rarement utilisées.³ Une méthode enzymatique basée sur l'œuvre de Wróblewski et LaDue⁴ est la technique utilisée le plus souvent pour déterminer les

concentrations d'ALT dans le sérum. Une procédure modifiée de Wróblewski et LaDue a été proposée comme procédure recommandée par la Fédération internationale de la chimie clinique (IFCC).⁵

La méthode développée afin d'être utilisée avec les analyseurs Piccolo est une modification de la procédure recommandée par la IFCC. Dans cette réaction, l'ALT catalyse le transfert d'un groupe amino de L-alanine en α -cétoglutarate afin de former du L-glutamate et du pyruvate. La lactate déshydrogénase catalyse la conversion du pyruvate en lactate. Simultanément, la NADH est oxydée en NAD^+ , comme illustré dans la formule suivante.

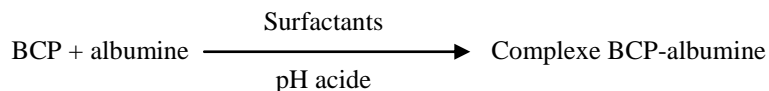


Le taux de variation de la différence d'absorbance entre 340 nm et 405 nm est causé par la conversion de NADH en NAD^+ et est directement proportionnel à la quantité d'ALT présente dans l'échantillon.

Albumine (ALB)

Les premières méthodes utilisées pour mesurer l'albumine comprennent les techniques^{6,7,8} de fractionnement et la teneur en tryptophane des globulines.^{9,10} Ces méthodes sont compliquées à effectuer et n'ont pas une haute spécificité. Deux techniques immunochimiques sont considérées comme des méthodes de référence mais elles sont coûteuses et longues.¹¹ Les techniques de fixation employant des colorants sont les méthodes les plus utilisées pour mesurer l'albumine. Le vert de bromocrésol (BCG) est la méthode de fixation de colorant la plus utilisée, mais elle risque de surestimer la concentration d'albumine, surtout à l'extrémité inférieure de la gamme normale.¹² Le pourpre de bromocrésol (BCP) est le plus spécifique des colorants utilisés.^{13,14}

Le pourpre de bromocrésol (BCP), lié à l'albumine, vire du jaune au bleu. L'absorbance maximale varie en fonction du changement de couleur.

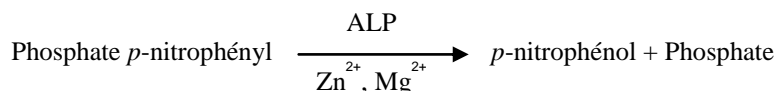


L'albumine liée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon. Il s'agit d'une réaction au point final qui est mesurée en tant qu'absorbance à 600 nm.

Phosphatase alcaline (ALP)

Les premières techniques utilisées pour mesurer la phosphatase alcaline ont été développées il y a plus de 60 ans. Plusieurs de ces méthodes spectrophotométriques à point final ou à deux points^{15,16} sont désormais considérées comme dépassées ou trop encombrantes. L'utilisation de phosphate *p*-nitrophényl (*p*-NPP) a augmenté la vitesse de la réaction.^{17,18} La fiabilité de cette technique a été améliorée de façon considérable par l'utilisation d'un tampon à ions métalliques afin de maintenir la concentration des ions de magnésium et de zinc dans la réaction.¹⁹ La méthode de référence utilisée par l'American Association for Clinical Chemistry (AACC)²⁰ utilise la *p*-NPP en tant que substrat et tampon à ions métalliques.

La procédure Piccolo est une modification des méthodes AACC et IFCC²¹. La phosphatase alcaline hydrolyse la *p*-NPP dans un tampon à ions métalliques et forme le *p*-nitrophénol et le phosphate.

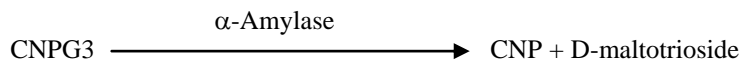


La quantité d'ALP dans l'échantillon est proportionnelle au taux d'augmentation de la différence d'absorbance entre 405 nm et 500 nm.

Amylase (AMY)

Environ 200 tests différents ont été développés pour mesurer l'amylase. La plupart des procédures utilisent une solution tampon de polysaccharide mais leurs techniques de détection diffèrent. Les méthodes viscosimétriques manquent de précision et d'exactitude²², alors que les méthodes turbidimétriques et iodométriques sont difficiles à standardiser.^{23,24} Les méthodes saccharogéniques et chromolytiques sont les plus utilisées. La technique « traditionnelle » de mesure de l'amylase est une méthode saccharogénique²⁵, mais elle est difficile et longue.²⁶ Des méthodes chromolytiques utilisant les *p*-nitrophényl-glycosides comme substrats ont récemment été développées.²⁷ Ces dosages ont une meilleure spécificité pour l'amylase pancréatique que pour l'amylase salivaire et sont faciles à contrôler.²⁷

Dans la méthode Piccolo, le substrat, 2-chloro-*p*-nitrophényl- α -D-maltotrioside (CNPG3), réagit avec l' α -amylase dans l'échantillon du patient, libérant du 2-chloro-*p*-nitrophénol (CNP). La libération de CNP entraîne une variation de couleur.

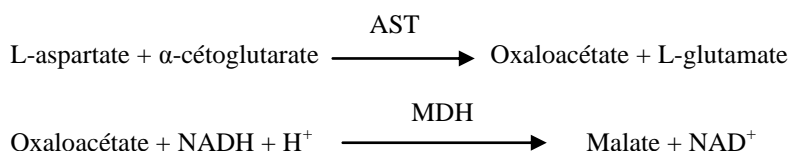


La réaction est mesurée bichromatiquement à 405 nm et 500 nm. La différence d'absorbance résultant de la formation de CNP est directement proportionnelle à l'activité de l' α -amylase dans l'échantillon.

Aspartate aminotransférase (AST)

Le test de l'aspartate aminotransférase (AST) se base sur la méthode de dosage de Karmen²⁸, telle que modifiée par Bergmeyer.²⁹ La méthode de référence de la Fédération internationale de chimie clinique (IFCC) utilise la technique Karmen/Bergmeyer de couplage de malate déshydrogénase (MDH) et de nicotinamide dinucléotide réduite (NADH) dans la détection d'AST dans le sérum.^{29,30} La lactate déshydrogénase (LDH) est ajoutée à la réaction dans le but de réduire l'interférence causée par le pyruvate endogène.

L'AST catalyse la réaction de L-aspartate et α -cétoglutarate en oxaloacétate et L-glutamate. L'oxaloacétate est converti en malate et le NADH est oxydé en NAD⁺ par le catalyse MDH.

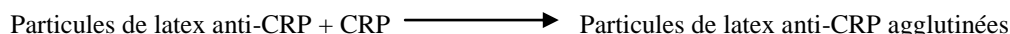


Le taux de variation d'absorbance à 340 nm/405 nm causé par la conversion de NADH en NAD⁺ est directement proportionnel à la quantité d'AST présent dans l'échantillon.

Protéine C réactive (CRP)

À l'origine, les dosages pour la quantification de la CRP étaient principalement destinés à la recherche et basés sur la méthodologie ELISA.³¹ Plus récemment, des méthodes d'immunonéphélométrie amplifiée au latex ont été utilisées.³² Toutefois, elles requièrent l'emploi d'un néphélomètre pour mesurer la diffusion de lumière. Aujourd'hui, plusieurs dosages d'immunoturbidimétrie et d'immunoluminométrie automatisés ont été développés et peuvent être effectués sur des analyseurs chimiques cliniques conventionnels.³³

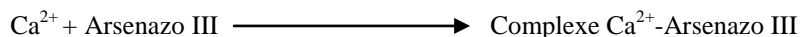
La méthode utilisée par Abaxis est un dosage immunologique turbidimétrique avancé d'agglutination au latex. L'échantillon est mélangé à une suspension d'anticorps monoclonaux de CRP anti-humaine de souris liée au latex. La CRP de l'échantillon se lie aux particules d'anticorps-latex et s'agglutine, créant ainsi une turbidité. La diffusion de la lumière à travers la turbidité est utilisée pour mesurer la CRP. La turbidité est mesurée par la variation d'absorbance à 630 nm. La variation d'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de CRP dans l'échantillon.



Calcium (CA)

Les premières méthodes utilisées pour analyser le calcium consistaient à précipiter le calcium comportant un excès d'anions.^{34,35,36} Les méthodes de précipitation sont laborieuses et souvent imprécises. La méthode de référence pour le calcium est la spectroscopie d'absorption atomique ; toutefois, cette méthode ne convient pas pour les utilisations courantes.³⁷ Les méthodes spectrophotométriques qui utilisent soit l'*o*-crésol-phthaléine complexon (CPC), soit les indicateurs métallochromiques d'arsenazo III sont les plus courantes.^{38,39,40} L'arsenazo III a une grande affinité pour le calcium et ne dépend pas de la température comme c'est le cas pour le CPC.

Le calcium dans l'échantillon du patient se lie à l'arsenazo III afin de former un complexe de calcium et de colorant.



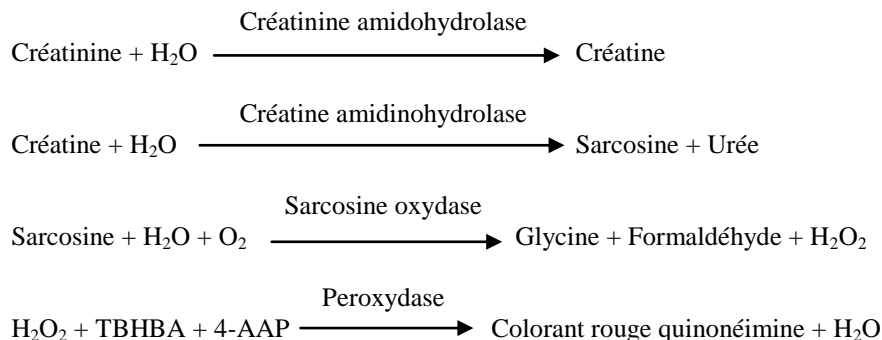
La réaction en point final est contrôlée à 405 nm, 467 nm et 600 nm. La quantité de calcium total présente dans l'échantillon est proportionnelle à l'absorbance.

Créatinine (CRE)

La méthode de Jaffe, introduite pour la première fois en 1886, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les taux de créatinine dans le sang. La méthode de référence actuelle combine l'utilisation de la terre à foulons (floridine) et la technique de Jaffe afin d'accroître la spécificité de la réaction.^{41,42} Il existe des méthodes enzymatiques plus spécifiques pour la

créatinine que les diverses modifications de la technique de Jaffe.^{43,44,45} Les méthodes utilisant l'enzyme créatinine amidohydrolase éliminent le problème d'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatinine iminohydrolase.⁴⁶

Dans les réactions enzymatiques couplées, la créatinine amidohydrolase hydrolyse la créatinine en créatine. Une deuxième enzyme, la créatine amidinohydrolase, catalyse la formation de sarcosine à partir de la créatine. La sarcosine oxydase entraîne l'oxydation de la sarcosine en glycine, formaldéhyde et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Dans une finition selon Trinder, la peroxydase catalyse la réaction parmi le peroxyde d'hydrogène, l'acide 2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoïque (TBHBA) et 4-aminoantipyrine (4-AAAP) en un colorant rouge quinonéimine. Du ferrocyanure de sodium et de l'ascorbate oxydase sont ajoutés au mélange de la réaction afin de minimiser une éventuelle interférence de la bilirubine et de l'acide ascorbique, respectivement.



Deux cuvettes sont utilisées pour déterminer la concentration de créatinine dans l'échantillon. La créatine endogène est mesurée dans la cuvette de blanc, qui est soustraite de la combinaison de la créatine endogène et de la créatine formée à partir des réactions enzymatiques dans la cuvette d'essai. Lorsque la créatine endogène est éliminée des calculs, la concentration de créatinine est proportionnelle à l'intensité de la couleur rouge produite. La réaction à point final est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550 nm et 600 nm.

eGFR (calculé)

La créatininémie est mesurée systématiquement en tant qu'indicateur d'activité fonctionnelle rénale. Comme la créatinine est influencée par l'âge, le sexe et la race, une néphropathie chronique (CKD) peut passer inaperçue à l'aide de la seule créatininémie. C'est pourquoi le National Kidney Disease Education Program recommande vivement aux laboratoires de procéder systématiquement à une estimation de la filtration glomérulaire (eGFR=Glomerular Filtration Rate) lors de la mesure de la créatininémie pour des patients de 18 ans et plus. L'estimation systématique de la filtration glomérulaire (eGFR) lors de toutes les déterminations de créatininémie permet aux laboratoires d'identifier les individus présentant une fonction rénale réduite et contribue à simplifier la détection de néphropathie chronique. Des valeurs d'eGFR calculées inférieures à 60 ml/min sont généralement associées à un risque accru d'impact négatif de CKD.^{47,48,49}

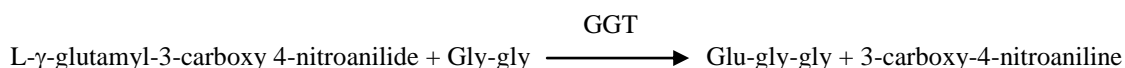
Le calcul de l'eGFR est effectué par le Piccolo en fonction de l'âge, du sexe et de la race du patient. La méthode du Piccolo pour la créatinine trouve son origine dans la méthode de référence IDMS (Isotope Dilution Mass Spectrometry) pour la créatinine, de sorte que la forme suivante de l'équation MDRD (Modification of the Diet in Renal Disease) pour le calcul de l'eGFR peut être utilisée.

$$\text{GFR (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1,154} \times (\text{Âge})^{-0,203} \times (0,742 \text{ pour une femme}) \times (1,212 \text{ si Afro-américain})$$

Gamma glutamyltransférase (GGT)

Les premières méthodes quantitatives mises au point pour la mesure de la gamma-glutamyl-transférase (GGT) utilisaient une deuxième réaction dans le but de former un colorant azoïque qui se combinait avec un chromophore.^{50,51} Le fait d'utiliser le substrat L-γ-glutamyl-p-nitroanilide dans la réaction éliminait l'étape de formation du colorant.⁵² Vu le manque de solubilité et de stabilité du L-γ-glutamyl-p-nitroanilide, cette procédure a été modifiée afin d'utiliser le substrat L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide.⁵³ La Fédération internationale de chimie clinique (IFCC) a recommandé de baser la méthode GGT sur ce dernier substrat, avec la glycyglycine comme autre substrat.⁵⁴

Abaxis a modifié la méthode de la IFCC pour obtenir une réaction à 37 °C. L'ajout d'un échantillon comprenant de la gamma-glutamyl-transférase aux substrats L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide et glycyglycine (gly-gly) entraîne la formation L-γ-glutamyl-glycyglycine (glu-gly-gly) et de 3-carboxy-4-nitroaniline.

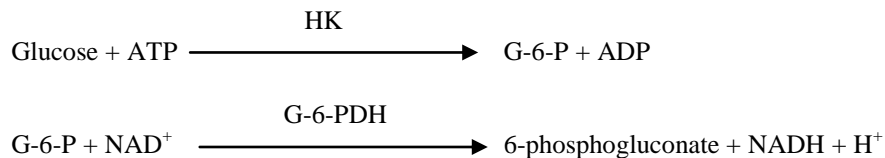


L'absorbance de la réaction de ce taux est mesurée à 405 nm. La production de 3-carboxy-4-nitroaniline est directement proportionnelle à l'activité de la GGT dans l'échantillon.

Glucose (GLU)

Les mesures de la concentration en glucose ont d'abord été effectuées en utilisant les méthodes de réduction du cuivre (telles que Folin-Wu⁵⁵ et Somogyi-Nelson^{56,57}). Le manque de spécificité des techniques de réduction du cuivre a conduit au développement de procédures quantitatives qui utilisent les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le test au glucose incorporé au disque de réactif au bilan de biochimie plus est une version modifiée de la méthode hexokinase qui a été proposée comme base de la méthode de référence pour le glucose.⁵⁸

La réaction du glucose avec l'adénosine-triphosphate (ATP), catalysé par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de conversion du G-6-P en 6-phosphogluconate et la réduction du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) en NADH.

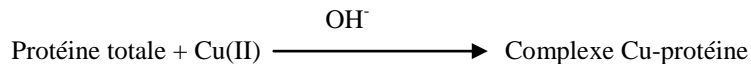


L'absorbance est mesurée à l'aide d'une technique bichromatique à 340 nm et 850 nm. La production de NADH est directement proportionnelle à la quantité de glucose présente dans l'échantillon.

Protéine totale (TP)

La méthode de protéine totale est une modification de la réaction au biuret, préconisée pour sa précision, son exactitude et sa spécificité.⁵⁹ Elle a été initialement développée par Riegler⁶⁰, puis modifiée par Weichselbaum⁶¹, Dumas, et al.⁶² ont proposé une réaction du biuret comme choix de méthode de référence de protéine totale.

Dans la réaction au biuret, la solution de protéine est traitée avec des ions cupriques [Cu(II)] dans un milieu fortement alcalin. Le tartrate de sodium et de potassium et l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto-réduction du cuivre, respectivement.⁶¹ Les ions Cu(II) réagissent avec les chaînes peptidiques entre les atomes d'oxygène de carbonyle et d'azote amide afin de former un complexe Cu-protéine coloré.

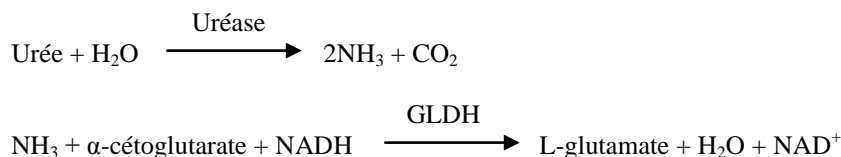


La quantité de protéine totale présente dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du complexe Cu-protéine. Le dosage des protéines totales est une réaction à point final et l'absorbance est mesurée comme la différence d'absorbance entre 550 nm et 850 nm.

Azote uréique du sang (BUN)

L'urée peut être mesurée de façon directe et indirecte. La réaction du diacétyle monoxime, l'unique méthode directe permettant de mesurer l'urée, est couramment employée, mais elle utilise des réactifs dangereux.⁶³ Des méthodes indirectes mesurent l'ammoniac créé à partir de l'urée ; l'utilisation de l'enzyme uréase a augmenté la spécificité de ces tests.⁶⁴ L'ammoniac est quantifié par diverses méthodes, y compris la nesslerisation (titrage par les acides), la technique de Berthelot^{65,66} et des réactions enzymatiques couplées.^{67,68} Toutefois, les procédures catalysées de Berthelot sont imprévisibles lors de la mesure de l'ammoniac.⁶⁹ Les réactions enzymatiques couplées sont rapides, ont une haute spécificité à l'ammoniac et sont couramment utilisées. Une de ces réactions a été proposée comme une méthode de référence admissible.⁷⁰

Dans la réaction enzymatique couplée, l'uréase hydrolyse l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone. Lors de la combinaison d'ammoniac avec de l'alpha-cétoglutarate et du nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit (NADH), l'enzyme glutamate-déshydrogénase (GLDH) oxyde le NADH en NAD⁺.

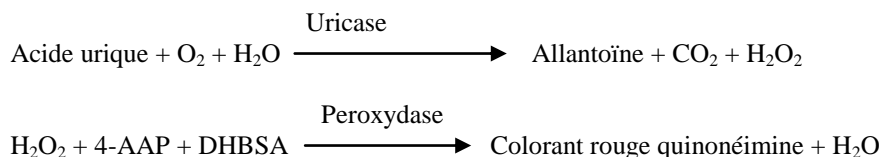


Le taux de variation de l'absorbance entre 340 nm et 405 nm est dû à la conversion du NADH en NAD⁺ et il est directement proportionnel à la quantité d'urée présente dans l'échantillon.

Acide urique (UA)

Les premières méthodes quantitatives permettant de déterminer les concentrations d'acide urique dans le sang étaient basées sur la réduction d'acide phosphotungstique en bleu de tungstène dans les solutions alcalines d'acide urique.^{71,72} Un test à l'acide urique, ayant une spécificité améliorée, a été développé utilisant l'enzyme uricase spécifique à l'acide urique. Depuis lors, cette méthode est devenue la technique de chimie clinique standard pour l'acide urique.⁷³

La méthode à l'uricase est couplée par une finition peroxydase selon Trinder.⁷⁴ Dans cette méthode, l'uricase catalyse l'oxydation d'acide urique en allantoïne et peroxyde d'hydrogène. La peroxydase catalyse la réaction parmi le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et l'acide 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzène-sulfonique (DHBSA) en un colorant rouge quinoneimine. Du ferrocyanure de sodium et de l'ascorbate oxydase sont ajoutés au mélange de réaction pour minimiser l'interférence éventuelle de bilirubine et d'acide ascorbique.



La quantité d'acide urique dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du colorant quinoneimine. L'absorbance finale de cette réaction en point final est mesurée bichromatiquement à 500 nm et à 600 nm.

4. Principe d'exécution

Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress pour en savoir plus sur les principes et les limitations de la procédure.

5. Description des réactifs

Réactifs

Chaque disque de réactif au bilan de biochimie plus Piccolo contient des billes de réactif sèches spécifiques au test (décrites ci-dessous). Un réactif à blanc d'échantillon sec (composé de tampon, surfactants, excipients et agents conservateurs) est inclus dans chaque disque pour le calcul des concentrations d'alanine aminotransférase (ALT), d'albumine (ALB), d'alcaline phosphatase (ALP), d'amylase (AMY), d'aspartate aminotransférase (AST), de protéine C réactive (CRP), de calcium (CA), de gamma glutamyltransférase (GGT), de glucose (GLU), de protéine totale (TP), d'azote uréique (BUN) et d'acide urique (UA). Un échantillon à blanc dédié est inclus dans le disque pour calculer les concentrations en créatinine (CRE). Chaque disque contient également un diluant composé de surfactants et d'agents de conservation.

Tableau 1 : Réactifs

Composant	Quantité/Disque
Adénosine-5'-triphosphate	12 µg
L-alanine	874 µg
4-aminoantipyrine	27 µg
Chlorhydrate de 4-aminoantipyrine	6 µg
CRP anti-humaine (chèvre)	0,3 µg
Latex recouvert de CRP anti-humaine (souris)	67 µg
Arsenazo III, sel de sodium	3 µg
Ascorbate oxydase (Cucurbita spp.)	0,4 U
Acide L-aspartique	426 µg
Pourpre de bromocrésol	2 µg
2-chloro-4-nitrophényl-α-D-maltotriose (CNPG3)	36 µg
Créatine amidinohydrolase (Actinobacillus spp.)	3 U
Créatinine amidohydrolase (Pseudomonas spp.)	1 U
Sulfate de cuivre	210 µg
Acide 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzène-sulfonique (DHBSA)	37 µg
Glucose-6-phosphate déshydrogénase (levure)	0,05 U
Glutamate déshydrogénase (foie de bovin)	0,01 U

Tableau 1 : Réactifs (suite)

Composant	Quantité/Disque
Acide L-glutamique γ -(3-carboxy-4-nitroanilide), sel d'ammonium	32 μg
Glycylglycine	317 μg
Hexokinase (levure)	0,1 U
α -cétooglutarate, sel disodique	37 μg
Acide α -céto glutarique	72 μg
Lactate déshydrogénase (cœur de poulet)	0,002 U
Lactate déshydrogénase (Staphylococcus epidermidis)	0,1 U
Acétate de magnésium	7 μg
Chlorure de magnésium	5 μg
Malate déshydrogénase (MDH) (cœur de porc)	0,01 U
β -nicotinamide adénine dinucléotide (NAD)	20 μg
β -nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH)	19 μg
Phosphate p-nitrophényl (p-NPP)	67 μg
Peroxydase (raifort)	0,9 U
Iodure de potassium	28 μg
Sarcosine oxydase (micro-organisme)	0,7 U
Ferrocyanure de sodium	1 μg
Tartrate de sodium et de potassium	343 μg
Acide 2,4,6-tribromo-3-hydroxybenzoïque (TBHBA)	188 μg
Uréase (grosse fève)	0,05 U
Uricase (microbien)	0,04 U
Sulfate de zinc	3 μg
Tampons, surfactants, excipients et conservateurs	

Avertissements et précautions

- Destiné aux diagnostics *in vitro*
- Le récipient de diluant dans le disque de réactif s'ouvre automatiquement lorsque le tiroir de l'analyseur se ferme. Un disque dont le récipient à diluant est ouvert ne peut pas être réutilisé. Vérifier que l'échantillon ou le témoin a bien été placé sur le disque avant de fermer le tiroir.
- Les disques de réactif ayant déjà été utilisés contiennent des liquides organiques. Suivre de bonnes pratiques de sécurité en laboratoire lors de la manutention et de l'élimination des disques usagés.⁷⁵ Se rapporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress pour les instructions sur le nettoyage des déversements présentant un danger biologique.
- Les disques de réactif sont en plastique et peuvent se casser ou se fendre en cas de chute. Ne **jamais** utiliser un disque qui est tombé, car il risque de projeter une matière présentant un danger biologique à l'intérieur de l'analyseur.
- Les billes de réactif peuvent contenir des acides ou des substances caustiques. L'utilisateur n'entre pas en contact avec les billes de réactif s'il respecte les procédures recommandées. Au cas où les billes seraient manipulées (par exemple, lors du nettoyage, après avoir laissé tomber un disque de réactif qui s'est cassé), éviter l'ingestion, tout contact avec la peau ou l'inhalation des billes de réactif.

Manipulation des réactifs

Les disques de réactif peuvent être utilisés dès leur sortie du réfrigérateur sans devoir être réchauffés. Ne pas laisser les disques scellés dans leur sachet en aluminium à température ambiante pendant plus de 48 heures avant l'emploi. Ouvrir le sachet en aluminium scellé, retirer le disque et l'utiliser conformément aux instructions figurant dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress. Tout disque qui n'a pas été utilisé dans les 20 minutes suivant l'ouverture du sachet doit être jeté.

Conservation

Conserver les disques de réactif dans leur sachet scellé à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas exposer des disques ouverts ou fermés à la lumière directe du soleil ou à des températures supérieures à 32 °C. Les disques de réactif peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. La date de péremption est également encodée dans le code-barres imprimé sur l'anneau du code-barres. Un message d'erreur s'affiche sur l'écran de l'analyseur chimique Piccolo Xpress si les réactifs sont périmés.

Indications d'instabilité/détérioration du disque de réactif

Un sachet déchiré ou détérioré risque de laisser pénétrer l'humidité, qui atteindra le disque non utilisé et aura un effet défavorable sur la performance du réactif. Ne pas utiliser un disque si le sachet est détérioré.

6. Instrument

Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress pour des informations complètes sur l'utilisation de l'analyseur.

7. Prélèvement et préparation des échantillons

Des techniques de prélèvement d'échantillons sont décrites dans la partie « Prélèvement des échantillons » du manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress.

- La quantité minimale requise pour un échantillon est d'environ 100 µl de sang total hépariné au lithium, de plasma hépariné au lithium, de sérum ou de matière témoin. La chambre à échantillon du disque de réactif peut contenir jusqu'à 120 µl d'échantillon.
- Les échantillons de sang entier obtenus par ponction veineuse doivent être homogènes avant de transférer un échantillon au disque de réactif. Retourner doucement le tube de prélèvement à plusieurs reprises juste avant de transférer les échantillons. Ne pas secouer le tube de prélèvement pour éviter tout risque d'hémolyse.
- Les échantillons de sang entier doivent être prélevés par ponction veineuse, mais pas par ponction capillaire.
- Les échantillons de sang total prélevés par ponction veineuse doivent être traités dans les 60 minutes suivant le prélèvement.⁷⁶ Les concentrations de **glucose** sont affectées par le temps écoulé depuis le dernier repas du patient et par le type d'échantillon prélevé sur ce patient. Afin de déterminer avec précision les résultats de glucose, les échantillons doivent provenir d'un patient qui n'a rien mangé au cours des 12 heures précédentes. Les concentrations de glucose diminuent d'environ 5 à 12 mg/dl en 1 heure dans des échantillons non centrifugés conservés à température ambiante.⁷⁷
- N'utiliser que des tubes de prélèvement sous vide à héparine de lithium (bouchon vert) pour les échantillons de sang entier ou de plasma. Utiliser des tubes de prélèvement sous vide (bouchon rouge) sans adjuvant ou des tubes de séparation de sérum (bouchon rouge/noir) pour les échantillons de sérum.
- La réfrigération d'échantillons de sang entier peut entraîner des modifications importantes des concentrations d'**aspartate aminotransférase**, de **créatinine** et de **glucose**.⁷⁸ Si l'échantillon ne peut être traité dans les 60 minutes, il peut être séparé en plasma ou sérum et conservé dans des tubes de prélèvement munis d'un bouchon à une température entre 2 et 8 °C.
- Commencer le test dans les 10 minutes suivant le transfert de l'échantillon dans le disque de réactif.

8. Procédure

Matériel fourni

- Une référence de disque de réactif Piccolo BioChemistry Panel Plus : 400-1035 (réf. d'une boîte de disques 400-0035)

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur chimique Piccolo Xpress
- Des pipettes de transfert d'échantillons (volume fixe d'environ 100 µl) et des embouts sont fournis avec chaque analyseur chimique Piccolo Xpress et peuvent être commandés auprès d'Abaxis.
- Des réactifs témoins disponibles dans le commerce sont recommandés par Abaxis (prendre contact avec le service technique d'Abaxis pour obtenir les valeurs attendues et les matériaux de contrôle approuvés).
- Une minuterie

Paramètres de test

L'analyseur chimique Piccolo Xpress fonctionne à des températures ambiantes comprises entre 15 et 32 °C. Le temps d'analyse pour chaque disque de réactif au bilan de biochimie plus Piccolo est de moins de 14 minutes. L'analyseur maintient le disque de réactif à une température de 37 °C pendant la durée de la mesure.

Procédure de test

Les procédures complètes de prélèvement d'échantillons et d'utilisation sont expliquées en détail dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress.

Étalonnage

L'analyseur chimique Piccolo Xpress est étalonné en usine par le fabricant avant son expédition. Le code-barres imprimé sur l'anneau du code-barres fournit les données d'étalonnage spécifiques du disque. Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress.

Contrôle qualité

Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress pour une explication détaillée de l'exécution, l'enregistrement, l'interprétation et le tracé des résultats des témoins.

9. Résultats

L'analyseur chimique Piccolo Xpress calcule et imprime automatiquement la concentration des analytes dans l'échantillon. Les calculs des réactions à point final et de la cinétique sont expliqués en détail dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress.

L'interprétation des résultats est également expliquée en détail dans le manuel de l'utilisateur. Les résultats sont imprimés sur une bande de résultats fournie par Abaxis. Le dos de la bande de résultats est adhésif pour permettre de la placer facilement sur les dossiers des patients.

10. Limitations de la procédure

Les limitations générales de la procédure sont indiquées dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur Piccolo Xpress.

- **L'héparine de lithium** est l'unique anticoagulant dont **l'utilisation est recommandée** avec l'analyseur chimique Piccolo Xpress. Ne pas utiliser l'héparine de sodium. Abaxis a mené des études démontrant que l'EDTA, le fluorure, l'oxalate et tout anticoagulant contenant des ions ammonium interféreront avec au moins une solution chimique contenue dans le disque de réactif Piccolo BioChemistry Panel Plus.
- Les échantillons dont les hémocrites ont un volume globulaire total de plus de 62 à 65 % (une fraction de volume de 0,62 à 0,65) risquent de donner des résultats erronés. Les échantillons dont les hémocrites sont élevés peuvent être décrits comme étant hémolysés. La rotation de ces échantillons peut être décélérée afin d'obtenir du plasma et ensuite relancée dans un nouveau disque de réactif.
- La CRP est une protéine de « phase aiguë » qui augmente de manière non spécifique en réponse à une inflammation. Le taux de protéine C réactive varie fortement selon les individus (de 30 à 60 %). Cette variation doit être prise en compte lors de l'interprétation des valeurs.³¹ Des mesures en série peuvent être nécessaires pour estimer la moyenne réelle de la protéine C réactive chez certains sujets.
- Une concentration d'anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris) jusqu'à 115 ng/ml n'interfère pas. Les échantillons prélevés sur des patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris en vue d'un diagnostic ou d'une thérapie peuvent contenir des anticorps HAMA.
- Des facteurs rhumatoïdes jusqu'à une concentration de 644 U/ml n'interfèrent pas.
- Aucun effet prozone (ou effet crochet) n'a été observé au cours de ce dosage à des concentrations de CRP allant jusqu'à 1 000 mg/l.
- **Tout résultat d'un test spécifique qui dépasse la plage de dosage doit être analysé en utilisant une autre méthode de test approuvée, ou envoyé à un laboratoire de référence. Ne pas diluer l'échantillon et le réanalyser dans l'analyseur chimique Piccolo Xpress.**

Attention : Des tests poussés de l'analyseur chimique Piccolo Xpress ont montré qu'en certains cas très rares, l'échantillon distribué dans le disque de réactif ne s'écoule pas facilement dans la chambre à échantillon. Suite à cet écoulement irrégulier, il se peut qu'une quantité inadéquate d'échantillon soit analysée, et plusieurs résultats risquent de se trouver hors des plages de référence. L'échantillon peut être réexaminé en utilisant un nouveau disque de réactif.

Interférence

Diverses substances ont été testées pour déceler les interférences avec les analytes. Des pools de sérum humain ont été préparés. La concentration à laquelle chaque interférent potentiel a été testé était basée sur les niveaux d'essai utilisés dans les directives CLSI (ex-NCCLS) EP7-P⁷⁹ (sauf CRP) et CLSI EP7-A⁸⁰ (CRP).

Effets des substances endogènes

- Les substances physiologiques interférentes (hémolyse, ictère et lipémie) entraînent des modifications des concentrations rapportées pour certains analytes. Les indices des échantillons sont imprimés au bas de chaque bande de résultats afin d'informer l'utilisateur des taux des substances interférentes présentes dans chaque échantillon.
- L'analyseur chimique Piccolo Xpress supprime tout résultat affecté par une interférence >10 % due à une hémolyse, une lipémie ou un ictère. Le symbole « HEM », « LIP » ou « ICT » respectivement est imprimé sur la bande de résultats à la place du résultat.
- Pour la méthode CRP, les niveaux de substances endogènes qui activent les suppressions HEM, LIP ou ICT sont de 750 mg/dl pour l'hémoglobine, 750 mg/dl pour la lipémie et 35 mg/dl pour la bilirubine.
- Pour obtenir les niveaux maximum de substances endogènes, prendre contact avec le service technique d'Abaxis.

Effets des substances thérapeutiques et exogènes

Selon les recommandations de Young,⁸¹ des substances exogènes et thérapeutiques ont été sélectionnées comme potentiellement interférant avec les méthodes de test d'Abaxis. Une interférence importante est définie comme une variation de résultat supérieure à $\pm 10\%$ pour un spécimen appartenant à la gamme normale. Des pools de sérum humain ont été complétés par une concentration connue de produits pharmaceutiques ou chimiques et ont ensuite été analysés. Voir le tableau 2 pour la liste des substances exogènes et thérapeutiques évaluées. **Voir le TABLEAU 3 pour la liste des analytes avec lesquels des interférences ont été observées.**

Tableau 2 : Substances exogènes et thérapeutiques évaluées

Interférent potentiel	Concentration maximale testée ^A (mg/dl sauf mention contraire)
Paracétamol	100
Acétoacétate	102
Acide acétylsalicylique	50
Ampicilline	30
Acide ascorbique (sauf CRP)	20
Acide ascorbique (CRP uniquement)	3
Caféine	10
Chlorure de calcium (sauf CRP)	20
Chlorure de calcium (CRP uniquement)	NE
Céfalotine (Keflin)	400
Chloramphénicol	100
Cimétidine	16

Tableau 2 : Substances exogènes et thérapeutiques évaluées (suite)

Interfèrent potentiel	Concentration maximale testée^A (mg/dl sauf mention contraire)
L-dopa	5
Dopamine (sauf CRP)	19
Dopamine (CRP uniquement)	13
Épinéphrine	1
Érythromycine	10
Glutathion	30
Hydrochlorothiazide	7,5
Ibuprofène	50
Isoniazide	4
α-cétoglutarate (sauf CRP)	5
α-cétoglutarate (CRP uniquement)	NE
Kétoprofène	50
Lidocaïne	1
Lactate (sauf CRP)	230
Lactate de lithium (CRP uniquement)	84
Méthicilline	100
Méthotrexate	0,5
Méthylidopa (AST, GLU, TP et UA uniquement)	0,5
Méthylidopa (tous les autres)	NE
Métronidazole	5
Nafcilline	1
Nitrofurantoïne	20
Oxacilline	1
Oxaloacétate	132
Pénicilline G	100
Phénytoïne (5,5-diphénylhydantoïne)	3
Proline	4
Pyruvate (sauf CRP)	44
Pyruvate (CRP uniquement)	NE
Rifampine (AST, GLU, TP et UA uniquement)	1,5
Rifampine (tous les autres)	0,5
Acide salicylique (sauf CRP)	25
Acide salicylique (CRP uniquement)	50
Sulfasalazine (sauf CRP)	10
Sulfasalazine (CRP uniquement)	NE
Sulfadiazine (sauf CRP)	NE
Sulfadiazine (CRP uniquement)	150
Sulfanilamide	50
Théophylline	20

^A NE = non effectué

Tableau 3 : Les substances suivantes ont révélé une variation de résultat supérieure à $\pm >10$ % pour un spécimen appartenant à la gamme normale.

	Concentration produit une interférence > 10 %	% d'interférence^B observé
Aminotransférase alanine (ALT)		
Acide ascorbique	20	Aug. de 11 %
Oxaloacétate	132	Aug. de 843 %
Albumine (ALB)		
Acétoacétate	102	Réd. de 18 %
Ampicilline	30	Réd. de 12 %
Caféine	10	Réd. de 14 %
Chlorure de calcium	20	Réd. de 17 %
Céfalotine (Keflin)	400	Aug. de 13 %
Ibuprofène	50	Aug. de 28 %
α -cétoglutarate	5	Réd. de 11 %
Nitrofurantoïne	20	Réd. de 13 %
Proline	4	Aug. de 12 %
Sulfasalazine	10	Réd. de 14 %
Sulfanilamide	50	Réd. de 12 %
Théophylline	20	Réd. de 11 %
Phosphatase alcaline (ALP)		
Théophylline	20	Réd. de 42 %
Protéine C réactive		
Glutathion	30	Réd. de 13 %
Isoniazide	4	Réd. de 16 %
L-dopa	5	Réd. de 28 %
Oxaloacétate	132	Réd. de 57 %
Créatinine (CRE)		
Acide ascorbique	20	Réd. de 11 %
Dopamine	19	Réd. de 80 %
L-dopa	5	Réd. de 71 %
Épinéphrine	1	Réd. de 45 %
Glutathion	30	Réd. de 13 %
Glucose (GLU)		
Oxaloacétate	132	Réd. de 11 %
Pyruvate	44	Réd. de 13 %
Acide urique		
Acide ascorbique	20	Réd. de 13 %
Épinéphrine	1	Réd. de 14 %
L-dopa	5	Réd. de 78 %
Méthyl-dopa	0,5	Réd. de 12 %
Rifampine	1,5	Réd. de 14 %
Acide salicylique	25	Réd. de 20 %

^B Réd. = réduction de la concentration de l'analyte ; Aug. = augmentation de la concentration de l'analyte

11. Valeurs attendues

Des échantillons prélevés chez 193 hommes et femmes adultes et analysés sur l'analyseur de la chimie du sang Piccolo ont été utilisés afin de déterminer les plages de référence pour l'ALT, l'albumine, l'ALP, l'amylase, le calcium, la créatinine, le glucose, la protéine totale et le BUN. Des échantillons prélevés chez 186 hommes et femmes adultes ont été utilisés afin de déterminer les gammes de référence pour l'AST et l'acide urique. Des échantillons prélevés chez 131 hommes et femmes adultes ont été utilisés afin de déterminer les gammes de référence pour la GGT. Les gammes inférieures pour ces analytes ont été calculées sur base de l'intervalle de référence de 95 % estimé à partir des valeurs combinées (d'ensemble) obtenues chez les sujets de référence. Des échantillons prélevés chez 69 hommes et femmes adultes ont été analysés sur l'analyseur chimique Piccolo Xpress pour la CRP. Les gammes de CRP ont été basées sur la transférabilité démontrée des intervalles de référence de Beckman.⁸² Ces plages sont données uniquement à titre indicatif. Il est recommandé que chaque établissement ou laboratoire établisse des gammes normales pour ses propres patients.

Tableau 4 : Intervalles de référence Piccolo

Analyte	Unités communes	Unités SI
Aminotransférase alanine (ALT)	10 à 47 U/l	10 à 47 U/l
Albumine (ALB)	3,3 à 5,5 g/dl	33 à 55 g/dl
Phosphatase alcaline (ALP)		
Féminin	42 à 141 U/l	42 à 141 U/l
Masculin	53 à 128 U/l	53 à 128 U/l
Amylase (AMY)	14 à 97 U/l	14 à 97 U/l
Aspartate aminotransférase (AST)	11 à 38 U/l	11 à 38 U/l
Protéine C réactive	< 7,5 mg/l	< 7,5 mg/l
Calcium (CA)	8,0 à 10,3 mg/dl	2,00 à 2,58 mmol/dl
Créatinine	0,6 à 1,2 mg/dl	53 à 106 µmol/dl
Gamma glutamyltransférase (GGT)	5 à 65 U/l	5 à 65 U/l
Glucose	73 à 118 mg/dl	4,1 à 6,6 mmol/dl
Protéine totale (TP)	6,4 à 8,1 g/dl	64 à 81 g/l
Azote uréique du sang (BUN)	7 à 22 mg/dl	2,5 à 7,9 mmol/l
Acide urique (UA)		
Féminin	2,2 à 6,6 mg/dl	131 à 393 µmol/l
Masculin	3,6 à 8,0 mg/dl	214 à 476 µmol/l

12. Caractéristiques de performance

Linéarité

Les réactions chimiques pour chaque analyte sont linéaires dans la plage dynamique indiquée ci-dessous quand l'analyseur chimique Piccolo Xpress est utilisé conformément à la procédure recommandée (se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique Piccolo Xpress).

Tableau 5 : Gammes dynamiques Piccolo

Analyte	Unités communes	Unités SI
Aminotransférase alanine (ALT)	5 à 2 000 U/l	5 à 2 000 U/l
Albumine (ALB)	1 à 6,5 g/dl	10 à 65 g/l
Phosphatase alcaline (ALP)	5 à 2 400 U/l	5 à 2 400 U/l
Amylase (AMY)	5 à 4 000 U/l	5 à 4 000 U/l
Aspartate aminotransférase (AST)	5 à 2 000 U/l	5 à 2 000 U/l
Protéine C réactive	5,0 à 200,0 mg/l	5,0 à 200,0 mg/l
Calcium	4,0 à 16,0 mg/dl	1,0 à 4,0 mmol/l
Créatinine	0,2 à 20 mg/dl	18 à 1 768 µmol/l
Gamma glutamyltransférase (GGT)	5 à 3 000 U/l	5 à 3 000 U/l
Glucose	10 à 700 mg/dl	0,6 à 38,9 mmol/l
Protéine totale (TP)	2 à 14 g/dl	20 à 140 g/l
Azote uréique du sang (BUN)	2 à 180 mg/dl	0,7 à 64,3 mmol/l
Acide urique	1 à 15 mg/dl	100 à 900 µmol/l

Si la concentration de l'analyte est supérieure à la plage de mesures (plage dynamique), mais inférieure à la plage du système, la bande imprimée indique un « > » au niveau de la limite supérieure et un astérisque après le nombre, par ex. ALT >2 000* U/l. Si elle est inférieure à la plage dynamique, un « < » s'affiche avec un astérisque, par ex. ALT <5* U/l. Pour des valeurs qui sont largement au-delà de la plage de mesures (plage système), « ~~~ » s'affichera à la place d'un résultat. À chaque fois qu'un « ~~~ » apparaît sur une bande imprimée, il est nécessaire de recueillir un nouvel échantillon et de refaire le test. Si les résultats du deuxième échantillon sont à nouveau supprimés, appeler le service à la clientèle d'Abaxis.

Sensibilité (limites de détection)

La limite inférieure de la plage (dynamique) rapportable pour chaque analyte est la suivante : alanine aminotransférase 5 U/l ; albumine 1 g/dl (10 g/l) ; phosphatase alcaline 5 U/l ; amylase 5 U/l ; aspartate aminotransférase 5 U/l ; protéine C réactive 5,0 mg/l ; calcium 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l) ; créatinine 0,2 mg/dl (18 µmol/l) ; gamma glutamyltransférase 5 U/l ; glucose 10 mg/dl (0,6 mmol/l) ; protéine totale 2 g/dl (20 g/l) ; azote uréique du sang 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l) et acide urique 1 mg/dl (100 µmol/l).

Précision

Des études de précision ont été effectuées selon les directives CLSI EP5-T2⁸³ (sauf CRP) et EP5-A⁸⁴ avec des modifications basées sur la directive CLSI EP18-A⁸⁵ pour les appareils à utilisation par unité. Les résultats intra-test et de précision totale ont été déterminés en utilisant deux niveaux de témoins disponibles dans le commerce. Les études ont utilisé plusieurs instruments. Les tests de l'ALT, l'AST, l'albumine, l'ALP, l'amylase, le calcium, la créatinine, la GGT, le glucose, la protéine totale, le BUN et l'acide urique ont été réalisés sur deux sites avec deux lots de disques de réactifs pendant 20 jours. Les tests de protéine C ont été effectués avec un lot de disques de réactif pendant cinq jours ; le sérum 1, le contrôle 1 et le contrôle 2 ont été effectués sur deux sites ; le sérum 2, le sérum 3, le plasma 1 et le plasma 2 ont été effectués sur un site.

Les résultats des études de précision figurent dans le tableau 6.

Tableau 6 : Précision

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
Alanine aminotransférase (U/l)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		21	21
ET		2,76	2,79
% CV		13,4	13,5
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		52	52
ET		2,70	3,25
% CV		5,2	6,2
Albumine (g/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		5,6	5,6
ET		0,09	0,11
% CV		1,7	2,1
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		3,7	3,7
ET		0,07	0,11
% CV		2,0	2,9
Phosphatase alcaline (U/l)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		39	39
ET		1,81	2,29
% CV		4,6	5,8
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		281	281
ET		4,08	8,75
% CV		1,5	3,1
Amylase (U/l)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		46	46
ET		2,40	2,63
% CV		5,2	5,7
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		300	300
ET		11,15	11,50
% CV		3,7	3,8
Aspartate aminotransférase (U/l)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		47	47
ET		0,98	1,84
% CV		2,1	3,9
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		145	145
ET		1,83	4,62
% CV		1,3	3,2

Tableau 6 : Précision (suite)

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
Protéine C réactive (mg/l)			
<u>Sérum 1</u>	N = 80		
Moyenne		8,3	8,3
ET		0,70	0,81
% CV		8,4	9,8
<u>Sérum 2</u>	N = 40		
Moyenne		8,1	8,1
ET		0,49	0,51
% CV		6,1	6,3
<u>Sérum 3</u>	N = 40		
Moyenne		8,8	8,8
ET		0,54	0,54
% CV		6,2	6,2
<u>Plasma 1</u>	N = 40		
Moyenne		34,5	34,5
ET		1,04	1,09
% CV		3,0	3,2
<u>Plasma 2</u>	N = 40		
Moyenne		105,5	105,5
ET		2,06	2,30
% CV		1,9	2,2
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		33,0	33,0
ET		1,21	2,12
% CV		3,7	6,4
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		108,0	108,0
ET		1,88	3,14
% CV		1,7	2,9
Calcium (mg/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		8,6	8,6
ET		0,21	0,25
% CV		2,4	2,9
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		11,8	11,8
ET		0,39	0,40
% CV		3,3	3,4
Créatinine (mg/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		1,1	1,1
ET		0,14	0,14
% CV		12,5	13,1
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		5,2	5,2
ET		0,23	0,27
% CV		4,4	5,2
Gamma glutamyltransférase (U/l)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		25	25
ET		0,59	0,74
% CV		2,3	2,9
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		106	106
ET		1,52	2,29
% CV		1,4	2,2

Tableau 6 : Précision (suite)

Analyte	Taille de l'échantillon	Intra-test	Total
Glucose (mg/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		66	66
ET		0,76	1,03
% CV		1,1	1,6
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		278	278
ET		2,47	3,84
% CV		0,9	1,4
Protéine totale (g/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		6,8	6,8
ET		0,05	0,08
% CV		0,8	1,2
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		4,7	4,7
ET		0,09	0,09
% CV		2,0	2,0
Azote uréique du sang (mg/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		19	19
ET		0,35	0,40
% CV		1,9	2,1
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		65	65
ET		1,06	1,18
% CV		1,6	1,8
Acide urique (mg/dl)			
<u>Contrôle 1</u>	N = 80		
Moyenne		3,8	3,8
ET		0,15	0,18
% CV		4,0	4,8
<u>Contrôle 2</u>	N = 80		
Moyenne		7,5	7,5
ET		0,24	0,29
% CV		3,2	3,9

Corrélation

Des échantillons de sérum et de sang complet hépariné au lithium ont été prélevés chez des patients sur deux sites. Les échantillons de sang total ont été analysés sur place par l'analyseur de la chimie du sang Piccolo et les échantillons de sérum ont été analysés à l'aide de méthodes comparatives. Dans les deux cas, les résultats des analyses d'échantillons sanguins par le Piccolo furent utilisés, et ceux-ci sont indiqués dans le tableau de manière appropriée. Dans certains cas, des échantillons complétés (à faible ou forte concentration) ont été utilisés afin de couvrir toute la plage dynamique. Pour la CRP, les échantillons ont été prélevés chez des patients sur un site. Les échantillons de plasma hépariné au lithium ont été testés sur l'analyseur chimique Piccolo Xpress et par une méthode comparative. Les échantillons ont été choisis dans le but de répondre aux valeurs de distribution stipulées par la directive CLSI EP9-A2.⁸⁶ Les échantillons ont été analysés par Abaxis et des méthodes comparatives le même jour. Des statistiques de corrélation représentatives sont indiquées au tableau 7.

Tableau 7 : Corrélation de l'analyseur de la chimie du sang Piccolo ou de l'analyseur chimique Piccolo Xpress (pour la CRP) avec la ou les méthodes comparatives

	Coefficient de corrélation	Pente	Intercepte	Erreur standard d'estimation	N	Plage d'échantillon	Méthode comparative
Alanine Aminotransférase (U/l)	0,981 0,985	0,905 0,946	1,3 -2,5	3,21 2,84	86 67	10 à 174 10 à 174	Paramax® Technicon
Albumine (g/dl)	0,854 0,896	1,001 0,877	-0,3 -0,1	0,22 0,21	261 100	1,1 à 5,3 1,5 à 5,0	Paramax Beckman
Phosphatase alcaline (U/l)	0,988 0,929	0,970 1,136	-5,9 -17,6	3,97 4,79	99 80	27 à 368 26 à 150	Paramax Technicon
Amylase (U/l)	0,979 0,963	0,692 1,065	-4,7 -4,1	3,11 3,47	99 80	11 à 92 19 à 118	Paramax Technicon
Aspartate aminotransférase (U/l)	0,93 1,0	0,87 0,97	5,3 3,0	2,76 1,90	159 46	13 à 111 13 à 252	Paramax DAX™
Protéine C réactive (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,60	113	5,4 à 198,6	Beckman
Calcium (mg/dl)	0,991* 0,673	0,990 0,742	-0,4 1,8	0,17 0,22	25 81	5,2 à 11,9 8,1 à 9,9	Paramax Beckman
Créatinine (mg/dl)	0,993 0,987	0,926 0,866	0,0 0,1	0,15 0,16	260 107	0,4 à 14,7 0,4 à 7,5	Paramax Beckman
Gamma glutamyl-transférase (U/l)	1,0 1,0**	0,98 1,60	-0,4 3,1	3,29 18,57	135 49	5 à 312 27 à 1 848	Paramax Beckman
Glucose (mg/dl)	0,987 0,997	1,009 0,943	-2,8 1,2	3,89 4,69	251 91	72 à 422 56 à 646	Paramax Beckman
Protéine totale (g/dl)	0,849 0,873	0,932 0,935	0,6 0,3	0,19 0,16	251 92	5,7 à 9,2 6,5 à 9,2	Paramax Beckman
Azote uréique du sang (mg/dl)	0,964 0,983	0,923 0,946	0,5 0,0	1,08 0,66	251 92	6 à 52 6 à 38	Paramax Beckman
Acide urique (mg/dl)	0,979 0,975	0,958 0,908	-0,3 -0,6	0,20 0,31	159 44	1,4 à 7,6 2,1 à 12,1	Paramax DAX

* Des échantillons de sérum prélevés chez des patients hospitalisés donnaient une plage plus étendue et potentiellement plus utile que les échantillons de sang veineux complet prélevés chez des patients ambulatoires. Les statistiques de corrélation pour le dosage du calcium Piccolo ont été obtenues sur ces échantillons de sérum.

** L'un des sites n'a effectué d'analyses que sur le sérum sur l'analyseur Piccolo pour la corrélation portant sur la gamma glutamyltransférase.

Tableau 8 : Corrélation échantillon-type pour la CRP

Pour la méthode de dosage de la CRP, l'analyse de régression Deming du type d'échantillon a produit les résultats suivants pour n = 21.

Axe des Y	Axe des X	R²	Pente	Intercepte
Plasma hépariné au lithium	Sang total hépariné au lithium	1,000	0,995	0,2
Sérum	Sang total hépariné au lithium	0,999	1,005	0,5
Sérum	Plasma hépariné au lithium	0,999	1,010	0,3

Aucune différence significative dans les résultats du sang total hépariné au lithium, du plasma hépariné au lithium et du sérum n'a été observée pour la CRP.

13. Symboles



Utiliser au plus tard le



Numéro de catalogue



Code de lot



Dispositif diagnostique
in vitro



Consulter la notice
d'emploi



Fabricant



Ne pas réutiliser



[Nombre X] dispositifs d'essai
dans la trousse



Séquence de
fabrication



Numéro de série



Représentant
agréé dans la
Communauté
européenne



Limitation de
température



PN:
Numéro de pièce

Mise en garde

14. Bibliographie

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 transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, and 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*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978; 24: 80-86.
15. King EJ, 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 Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} 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. McNeely MDD. Amylase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
23. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. *Clin Chim Acta*. 1973; 43: 5-12.
24. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
25. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. *Clin Chem* 1960; 6: 23-35.
26. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of α -amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl α -maltoside as substrate. *Clin Chem* 1977; 23: 2279-2282.
27. Wallenfels K, et al. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. *Carbohydrate Res* 1978; 61: 359-368.
28. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
29. Bergmeyer HU, 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.
30. Bergmeyer HU, 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.
31. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997; 43: 52-58.

14. Bibliographie (suite)

32. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-2141.
33. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem* 2001; 47: 418-425.
34. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J Biol Chem* 1921; 47: 475-481.
35. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. *J Biol Chem* 1925; 63: 461-464.
36. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J Biol Chem*. 1937; 118: 539-544.
37. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8*. Cooper GR, ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
38. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
39. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.
40. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112.
41. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8: 582-587.
42. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
43. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
44. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
45. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
46. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal Function. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed*. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
47. National Kidney Disease Education Program (NKDEP). Creatinine Standardization. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/creatinine_standardization.htm (Accessed September 2010).
48. National Kidney Disease Education Program (NKDEP) Creatinine Standardization Recommendations. IVD Manufacturers. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/IVD_Manufacturers.htm (Accessed September 2010).
49. National Kidney Foundation. GFR Calculator. http://www.kidney.org/professionals/kls/gfr_calculator.cfm (Accessed September 2010).
50. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
51. Goldberg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
52. Orłowski M, Meister A. γ -Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochim Biophys Acta* 1963; 73: 679-681
53. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
54. Shaw LM, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ -glutamyltransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
55. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
56. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
57. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
58. Kaplan LA. Glucose In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed*. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
59. 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.
60. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-245.
61. 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.
62. 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.

14. Bibliographie (suite)

63. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982; 365-373.
64. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem* 1914; 19: 211-228.
65. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol* 1960; 13: 156-159.
66. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem* 1962; 8: 130-132.
67. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen test nach Warburg. *Klin Wochensh* 1965; 43: 174-175.
68. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta* 1971; 35: 33-37.
69. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem* 1977; 49: 464-469.
70. 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.
71. Folin O, Denis W. A new (colorimetric) method for the determination of uric acid in blood. *J Biol Chem* 1912-1913; 13: 469-475.
72. Brown H. The determination of uric acid in human blood. *J Biol Chem* 1945; 158: 601-608.
73. Feichtmeir TV, Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955; 25: 833-839.
74. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980; 26: 227-231.
75. Clinical and Laboratory Standards Institute. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
76. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
77. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39: 35-40.
78. 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.
79. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
80. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Publication EP7-P. Wayne, PA: CLSI, 1986.
81. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
82. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
83. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – second edition. CLSI Document EP5-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
84. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
85. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
86. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.