

Esclusivamente per uso diagnostico in vitro e professionale

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

Clienti al di fuori degli Stati Uniti: +49 6155 780 210



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

Applicabile esclusivamente ai clienti americani

Rinuncia CLIA: Per campioni di sangue intero utilizzare solo eparina di litio, Media complessità:

Utilizzare solo sangue intero con eparina di litio, plasma con litio eparina o siero



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Destinazione d'uso

Il Piccolo[®] Liver Panel Plus, da utilizzarsi con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress[®] consente di rilevare *in vitro* le quantità di alanina transaminasi, albumina, fosfatasi alcalina, amilasi, aspartato transaminasi, gamma glutammil transferasi, bilirubina totale e proteine totali presenti nel sangue intero e nel plasma eparinizzati o nel siero nel contesto di un laboratorio clinico o in un centro di assistenza sanitaria, mediante reagenti secchi o liquidi.

Solo per clienti negli USA

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

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

2. Sintesi e spiegazione degli esami clinici

Il Piccolo Liver Panel Plus e l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress costituiscono un sistema diagnostico in vitro che coadiuva il medico nella diagnosi delle seguenti patologie:

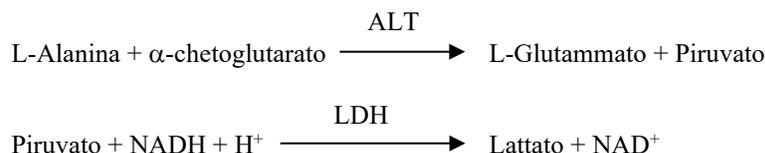
Alanina transaminasi:	Malattie epatiche, compresa epatite virale e cirrosi; malattie cardiache
Albumina:	Malattie epatiche e renali
Fosfatasi alcalina:	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali
Amilasi:	Pancreatite
Aspartato transaminasi:	Malattie epatiche, compresa epatite e itterizia virale, shock
Gamma glutammil transferasi:	Malattie epatiche, compresa cirrosi alcolica e tumori del fegato primari e secondari
Bilirubina totale:	Affezioni epatiche, compresa epatite e ostruzione della cistifellea; itterizia
Proteina totale:	Malattie epatiche, renali e del midollo osseo; disturbi metabolici e alimentari

3. Principi del test

Alanina transaminasi (ALT)

L'alanina transaminasi (ALT) è stata misurata con tre metodologie. Due di queste – la tecnica colorimetrica di accoppiamento alla dinitrofenilidrazina^{1,2} e l'analisi enzimatica fluorescente – sono usate raramente.³ La tecnica più diffusa per rilevare le concentrazioni di ALT nel siero è il metodo enzimatico basato sulle ricerche di Wróblewski e LaDue.⁴ Una variante della procedura Wróblewski e LaDue è stata proposta come procedura raccomandata dall'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).⁵

Il metodo messo a punto per l'analizzatore Piccolo o l'analizzatore Piccolo Xpress è lo stesso di quello raccomandato dall'IFCC, eseguito però a temperatura superiore. In questa reazione, l'ALT catalizza il trasferimento di un gruppo amminico da L-alanina a α -chetoglutarato formando L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Allo stesso tempo, l' NADH viene ossidata in NAD^+ , come illustrato nel seguente schema di reazione.

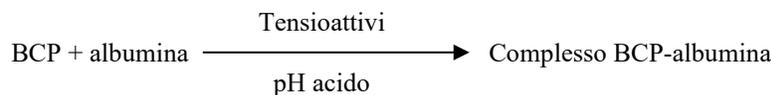


La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

Albumina (ALB)

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

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

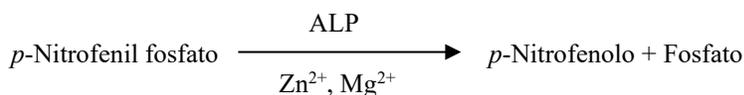


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Si tratta di una reazione di punto finale, misurata come differenza di assorbanza tra 600 nm e 550 nm.

Fosfatasi alcalina (ALP)

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

La procedura Piccolo è una variante dei metodi AACC²⁰ e IFCC.²¹ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in una sostanza tampone con ioni metallo formando *p*-nitrofenolo e fosfato.

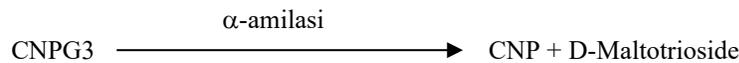


La quantità di ALP nel campione è proporzionale alla velocità di aumento di differenza dell'assorbanza tra 405 nm e 500 nm.

Amilasi (AMY)

Sono stati messi a punto circa 200 diversi test per misurare l'amilasi. La maggior parte delle procedure si basa su una soluzione tamponata di polisaccaridi, ma le tecniche di rilevazione utilizzate sono diverse. I metodi viscosimetrici difettano in precisione ed esattezza,²² mentre i metodi turbidimetrici e iodometrici sono difficili da standardizzare.^{23,24} Piuttosto diffusi sono i metodi saccarogenici e cromolitici. La tecnica "classica" di rilevamento dell'amilasi consiste in un metodo saccarogenico,²⁵ che però è complesso e lungo da eseguire.²⁶ Sono stati recentemente messi a punto metodi basati sulle *p*-nitrofenilglicosidi utilizzate come substrati.²⁷ Tali analisi hanno una maggiore specificità per l'amilasi pancreatica che per l'amilasi salivare, e possono essere monitorate facilmente.²⁷

Nel metodo Piccolo il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNPG3), reagisce con α -amilasi nel campione prelevato dal paziente, rilasciando 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP). Il rilascio di CNP dà luogo a un cambiamento di colore.

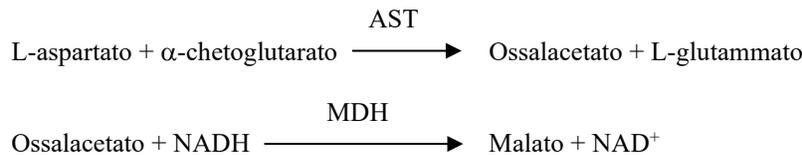


La reazione viene misurata bicromaticamente a 405 nm e 500 nm. La variazione di assorbanza causata dalla formazione di CNP è direttamente proporzionale all'attività dell' α -amilasi nel campione.

Aspartato transaminasi (AST)

Il test per l'aspartato transaminasi (AST) si basa sul metodo di Karmen²⁸ con le modifiche introdotte da Bergmeyer.²⁹ L'attuale metodo di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa sulla tecnica Karmen/Bergmeyer di associazione della malato deidrogenasi (MDH) e della nicotinammide dinucleotide ridotta (NADH) per il rilevamento di AST nel siero.^{29,30} Alla reazione si aggiunge lattato deidrogenasi (LDH) per ridurre l'interferenza causata dal piruvato endogeno.

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

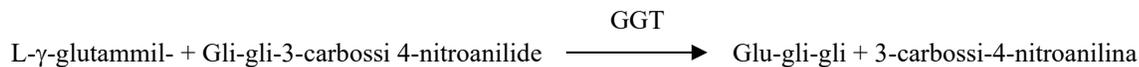


La velocità del cambiamento di assorbanza a 340 nm/405 nm causata dalla trasformazione dell' NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Gamma glutammil transferasi (GGT)

I primi metodi quantitativi messi a punto per misurare la gamma glutammil transferasi (GGT) prevedevano una seconda reazione per formare un colorante azo che si associava a un cromoforo.^{39,40} Passando alla L- γ -glutammil-*p*-nitroanilide come substrato della reazione, si è eliminata la fase della formazione di colorante.⁴¹ Data la scarsa solubilità e stabilità della L- γ -glutammil-*p*-nitroanilide, la procedura è stata modificata con l'uso del substrato L- γ -glutammil-3-carbossi-4-nitroanilide.⁴² Il metodo per la GGT raccomandato dall'IFCC si basa su quest'ultimo substrato, mentre l'altro substrato indicato è la glicilglicina.⁴³

Abaxis ha modificato il metodo IFCC in modo che la reazione avvenga a 37°C. L'aggiunta di campione contenente gamma glutammil transferasi ai substrati L- γ -glutammil-3-carbossi-4-nitroanilide e glicilglicina (gly-gly) dà luogo alla formazione di L- γ -glutammil-glicilglicina (glu-gly-gly) e 3-carbossi-4-nitroanilina.

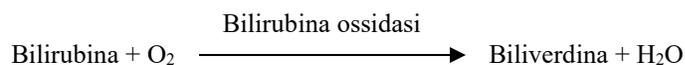


L'assorbanza di questa reazione nel tempo è misurata a 405 nm. La produzione di 3-carbossi-4-nitroanilina è direttamente proporzionale all'attività della GGT presente nel campione.

Bilirubina totale (TBIL)

I livelli di bilirubina totale sono stati finora rilevati, in genere, mediante test basati sull'acido solfanilico diazotato.^{32,44} È stato messo a punto un metodo nuovo e più specifico basato sull'enzima bilirubina ossidasi.^{34,35,36} Oltre a utilizzare il metodo di rilevazione della bilirubina totale più specifico, l'analizzatore Piccolo consente di ridurre al minimo il deterioramento da luce dell'analita in quanto il campione si può analizzare subito dopo il prelievo.

Nella procedura enzimatica, la bilirubina viene ossidata in biliverdina dalla bilirubina ossidasi. La reazione finale è la trasformazione della biliverdina in vari composti purpurei.

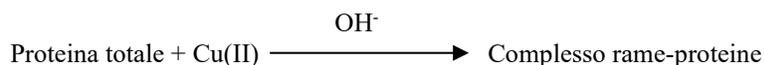


La bilirubina viene misurata come differenza di assorbanza tra 467 nm e 550 nm. L'assorbanza iniziale di questa reazione di punto finale viene ricavata in base alla provetta di campione bianco per la bilirubina e l'assorbanza finale si ottiene dalla provetta di campione test per la bilirubina. La quantità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

Proteina totale (TP)

Il metodo per le proteine totali è una variante della reazione con biuretto, di cui è nota la precisione, accuratezza e specificità.⁴⁵ La procedura fu inizialmente messa a punto da Riegler⁴⁶ e successivamente modificata da Weichselbaum,⁴⁷ Doumas, et al⁴⁸ hanno proposto la reazione con biuretto come possibile metodo di riferimento per le proteine totali.

Nella reazione con biuretto, la soluzione proteinica viene trattata con ioni rame [Cu(II)] in un mezzo fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio potassio e ioduro di potassio per prevenire rispettivamente la precipitazione dell'idrossido di rame e l'autoriduzione del rame.⁴⁷ Gli ioni Cu(II) reagiscono con i legami peptidici tra l'ossigeno carbonile e gli atomi di azoto ammidici formando un complesso rame-proteine colorato.



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

4. Principi della procedura

Consultare il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress per i principi della procedura.

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni disco reagente per Piccolo Liver Panel Plus contiene granuli secchi di reagente specifico per il test (come da descrizione che segue). In ogni disco è compreso un reagente secco per campione bianco (costituito da sostanza tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di alanina transaminasi (ALT), albumina (ALB), fosfatasi alcalina (ALP), amilasi (AMY), aspartato transaminasi (AST), e gamma glutammil transferasi (GGT). Sono inoltre compresi nel disco campioni bianco dedicati per bilirubina totale e proteine totali. Ogni disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi, eccipienti e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componente	Quantità/Disco
Reagente per l'alanina transaminasi	
L-alanina	874 µg
Acido α-chetoglutarico	54 µg
β-nicotinammide adenin dinucleotide ridotta (NADH)	7 µg
Lattato deidrogenasi (LDH) (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	0,09 U
Sostanze tampone, tensioattivo, eccipienti e conservanti	
Reagente per l'albumina	
Viola di bromocresolo, sale sodico	2 µg
Sostanze tampone, tensioattivo, eccipienti e conservanti	
Reagente fosfatasi alcalina	
Cloruro di magnesio	3 µg
Solfato di zinco	3 µg
p-NPP, sale disodico	56 µg
Sostanze tampone, tensioattivo, eccipienti e conservanti	

Tabella 1 (segue): Reagenti

Componente	Quantità/Disco
Reagente per l'amilasi	
CNPG3	40 µg
Sostanze tampone, tensioattivo, eccipienti e conservanti	
Reagente per l'aspartato transaminasi	
Acido L-aspartico	426 µg
Lattato deidrogenasi (LDH) (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	0,04 U
β-nicotinammide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	5 µg
Malicodeidrogenasi (MDH) (cuore di maiale)	0,01 U
Acido α-chetoglutarico	28 µg
Sostanze tampone, tensioattivo, eccipienti e conservanti	
Reagente per la gamma glutammil transferasi	
Glicilglicina	317 µg
Acido L-glutammico γ-(3-carbossi-4-nitroanilide)	30 µg
Sostanze tampone, tensioattivo, eccipienti e conservanti	
Reagente per la bilirubina totale	
Reagente Enzimatico per Bilirubina Beckman	0,1 U
Sostanza tampone, eccipienti e conservanti	
Bianco per la bilirubina totale	
Sostanza tampone, eccipienti e conservanti	
Reagente per proteine totali	
Tartrato di sodio potassio	343 µg
Solfato di rame	134 µg
Ioduro di potassio	28 µg
Eccipienti e conservanti	
Bianco per le proteine totali	
Tartrato di sodio potassio	343 µg
Ioduro di potassio	28 µg
Eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

- Il contenitore del diluente nel disco reagente viene aperto automaticamente al momento della chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non si può riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Accertarsi che il campione o controllo sia stato inserito nel disco prima di chiudere il cassetto.
- I dischi reagente usati contengono fluidi corporei umani. Si dovranno adottare le corrette prassi di prevenzione delle infezioni nel maneggiare e smaltire i dischi usati.⁴⁹ Si consulti il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress per le istruzioni sulle modalità di eliminazione di eventuali fuoriuscite di materiale a rischio biologico.
- I dischi reagente sono in plastica e possono spaccarsi o scheggiarsi in caso di caduta. Non utilizzare **in alcun caso** un disco che abbia subito cadute in quanto può rilasciare materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- I granuli di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. L'operatore non viene a contatto con i granuli di reagente se vengono seguite le procedure raccomandate. Qualora si debbano maneggiare i granuli (p. es., per pulire dopo aver fatto cadere e infranto un disco reagente), evitare l'ingestione, il contatto cutaneo e l'inalazione.

- I granuli di reagente e il diluente contengono azotidrato di sodio che può fare reazione con le tubature di piombo e rame formando azotidrati metallici altamente esplosivi. I reagenti non vengono a contatto con le tubature di piombo e rame se si seguono le procedure raccomandate. Tuttavia, qualora i reagenti dovessero venire a contatto con questo tipo di tubature, versare abbondanti quantità di acqua nei tubi stessi per impedire la formazione di azotidrati.

Conservazione

Conservare i dischi reagente negli astucci sigillati a 2-8°C (36-46°F). Per utilizzare i dischi reagente, estrarre dal frigorifero i dischi negli astucci di foglio d'alluminio sigillati. I dischi negli astucci sigillati possono restare a temperatura ambiente e poi rimessi in frigorifero varie volte. Accertarsi che il tempo totale di permanenza dei dischi a temperatura ambiente non superi le 48 ore. Aprire l'astuccio ed estrarre il disco subito prima di effettuare il test.

Non esporre i dischi, all'interno dell'astuccio o meno, alla luce solare diretta o a temperature superiori a 32°C (90°F). Il disco deve essere utilizzato entro 20 minuti dopo l'apertura dell'astuccio; una volta aperto l'astuccio non si deve rimettere il disco in frigorifero per utilizzo successivo.

Segni di instabilità o deterioramento del disco reagente

Non utilizzare un disco:

- dopo la data di scadenza. Se viene utilizzato un disco scaduto, sul visualizzatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress apparirà un messaggio di errore;
- estratto da un astuccio strappato o comunque danneggiato; oppure
- se il dessiccante è di colore rosa, guardandolo dalla striscia sulla confezione contenuta nell'astuccio del disco.

6. Strumento

Consultare il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress per avere informazioni dettagliate sull'uso dell'analizzatore.

7. Prelievo e preparazione dei campioni

Le tecniche di prelievo dei campioni sono descritte nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- La quantità minima di campione occorrente è di ~90 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o siero di controllo. Il ricettacolo del campione sul disco reagente può contenere fino a 120 µL.
- I campioni di sangue intero prelevati per puntura di una vena devono essere omogenei prima che il campione venga trasferito nel disco reagente. Invertire delicatamente la provetta di prelievo varie volte subito prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo; tale manovra può causare emolisi.
- I campioni di sangue intero prelevati per puntura di una vena si devono sottoporre a test entro 60 minuti dal prelievo.⁵⁰ Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **aspartato transaminasi** possono subire variazioni significative.⁵¹ Il campione può essere diviso in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8°C (36-46°F) qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.
- I risultati relativi alla **bilirubina totale** possono subire deterioramento da luce. I campioni di sangue intero non analizzati immediatamente si devono conservare al buio per non oltre 60 minuti. Qualora il campione non possa essere analizzato entro tale arco di tempo, si dovrà suddividere in plasma o siero e conservare al buio a bassa temperatura in una provetta con tappo.⁵²

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con il protocollo di analisi Piccolo è l'eparina di litio. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferisce con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel Piccolo Liver Panel Plus.
- L'**amilasi** viene secreta da varie ghiandole oltre che dal pancreas. Solo l'amilasi pancreatica è di interesse clinico.⁵³ La contaminazione di un campione con amilasi non pancreatica dà luogo a risultati artificialmente elevati. I campioni prelevati mediante puntura del dito sono più soggetti a contaminazione di quelli prelevati da una vena. Se i risultati relativi all'amilasi su un campione prelevato con puntura del dito non sono coerenti con i sintomi clinici del paziente, ripetere il test utilizzando un campione prelevato da una vena.

- Su campioni con concentrazione di trigliceridi >400 mg/dl, il test per le **proteine totali** può risultare alterato da interferenze con conseguente livello delle proteine totali superiore al reale. L'analizzatore Piccolo o l'analizzatore Piccolo Xpress elimina i risultati soggetti a un'interferenza da lipemia superiore al 10%. Sulla scheda dei risultati viene stampata la dicitura "LIP" al posto del risultato.

8. Procedura

Materiale occorrente

Consultare il manuale dell'operatore dell'analizzatore Piccolo o dell'analizzatore Piccolo Xpress per informazioni sulle modalità di ordinazione dei materiali occorrenti per il funzionamento dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress conformemente alla procedura consigliata.

- Un disco reagente Piccolo Liver Panel Plus, numero parte: 400-1003 (una confezione di dischi, numero parte: 400-0003)

Materiali necessari ma non forniti

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

Parametri del test

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress funziona a temperatura ambiente compresa tra 15°C e 32°C (59-90°F). Il tempo di analisi per ogni Piccolo Liver Panel Plus è meno di 14 minuti. L'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37°C (98,6°F) durante il periodo di rilevamento.

Procedura del test

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

Controllo qualitativo

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

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

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

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

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

Taratura

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress è tarato dal produttore prima della spedizione. Il codice a barre stampato sul relativo anello fornisce i dati di taratura specifici dei dischi. Si veda il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

9. Risultati

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress calcola e stampa automaticamente le concentrazioni degli analiti nel campione. I dettagli relativi al calcolo della reazione al punto finale e nel tempo sono indicati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress. L'interpretazione dei risultati è descritta in dettaglio nel manuale dell'operatore. I risultati vengono stampati su apposite schede fornite da Abaxis. Le schede risultati sono adesive sul retro per poterle facilmente applicare sulle cartelle dei pazienti.

La reazione di ciascun analita si verifica a 37°C (98,6°F).

10. Limiti d'uso della procedura

I limiti generici della procedura sono trattati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress è la **litio eparina**. Non utilizzare sodio eparina.
- Si consiglia vivamente di utilizzare sangue intero venoso o siero, anziché sangue intero prelevato per puntura del dito, per i test dell'**albumina**. Le tecniche di prelievo mediante puntura del dito possono causare più trauma cellulare rispetto alle tecniche di prelievo da vena.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-65% del volume di globuli rossi concentrati (una frazione di volume di 0,62-0,65) possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere dati come emolizzati. Questi campioni possono essere centrifugati per ottenere plasma e quindi rianalizzati in un nuovo disco reagente.
- L'**amilasi** viene secreta da varie ghiandole oltre che dal pancreas. Solo l'amilasi pancreatica è di interesse clinico.⁵³ La contaminazione di un campione con amilasi non pancreatica dà luogo a risultati artificialmente elevati. I campioni prelevati mediante puntura del dito sono più soggetti a contaminazione di quelli prelevati da una vena. Se i risultati relativi all'amilasi su un campione prelevato con puntura del dito non sono coerenti con i sintomi clinici del paziente, ripetere il test utilizzando un campione prelevato da una vena.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range di analisi, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress.**

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

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come agenti interferenti con gli analiti. Sono stati preparati pool di siero umano e ciascun potenziale agente interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di test riportati in NCCLS EP7-A.¹⁵

Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione.
- L'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza >10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).

- Per i livelli massimi di sostanze endogene, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.
- È stato inoltre riscontrato che lattato a 230 mg/dl e lattato deidrogenasi a 10.000 U/l non hanno alcun effetto sulle analisi su questo disco.

Effetti di sostanze terapeutiche

- I seguenti composti non interferiscono in modo significativo con le reazioni chimiche del disco reagente Piccolo. Un'interferenza significativa è definita come spostamento >10% nel risultato di un campione con valori normali. Ai gruppi di siero umano sono state aggiunte concentrazioni note di farmaci o sostanze chimiche; si è poi proceduto alla relativa analisi.

Sostanze terapeutiche od esogene	Concentrazione senza interferenza significativa (mg/dl)	Valori fisiologici o terapeutici ⁵⁴⁻⁵⁷ (mg/dl)
Acetamminofene	100	1-2
Acido acetilsalicilico	50	2-10
Cloramfenicolo	100	1-2,5
Cimetidina	16	0,1-1
Destrano	300	600-1.800
Eritromicina	10	0,2-2,0
Idroclorotiazide	7,5	—
Isoniazide	4	0,1-0,7
Chetoprofene	50	—
Lidocaina	1	0,15-0,6
Meticillina	100	—
Metotrexate	0,5	0,1
Metronidazolo	5	0,1
Nafcillina	1	—
Oxacillina	1	—
Fenitoina	3	1-2
Rifampina	0,5	0,4-3
Acido salicilico	25	15-30

Le sostanze elencate di seguito sono risultate avere interferenza superiore al 10%. Un'interferenza significativa è definita come spostamento >10% nel risultato di un campione con valori normali. Ai gruppi di siero umano sono state aggiunte concentrazioni note di farmaci o sostanze chimiche; si è poi proceduto alla relativa analisi.

	Concentrazione con interferenza significativa (mg/dl)	Valori fisiologici o terapeutici⁵⁴⁻⁵⁷ (mg/dl)	Interferenza
Alanina transaminasi (ALT)			
Acido ascorbico	20	0,8-1,2	aum 11%*
Ossalacetato	132	—	aum 843%
Albumina (ALB)			
Acetoacetato	102	0,05-3,60	dim 18%*
Ampicillina	30	0,5	dim 12%
Caffeina	10	0,3-1,5	dim 14%
Cloruro di calcio	20	—	dim 17%
Cefalotina (Keflin)	400	10	aum 13%
Ibuprofene	50	0,5-4,2	aum 28%
α -chetoglutarato	5	—	dim 11%
Nitrofurantoina	20	0,2	dim 13%
Prolina	4	—	aum 12%
Sulfalazina	10	2-4	dim 14%
Sulfanilamide	50	10-15	dim 12%
Teofillina	20	1-2	dim 11%
Fosfatasi alcalina(ALP)			
Teofillina	20	1-2	dim 42%
Bilirubina totale⁹ (TBIL)			
Dopamina	19	—	dim 55%
L-dopa	5	—	dim 17%

*aum=aumentato; dim=diminuito

Per ulteriori informazioni sui possibili interferenti chimici, si consulti la Bibliografia.

11. Valori previsti

Per il rilevamento dei valori di riferimento relativi ad alanina transaminasi, albumina, fosfatasi alcalina, amilasi, bilirubina totale e proteine totali sono stati analizzati sull'analizzatore chimico del sangue Piccolo campioni prelevati da un totale di 193 adulti maschi e femmine. Per il rilevamento dei valori di riferimento relativi all'aspartato transaminasi sono stati analizzati sull'analizzatore chimico del sangue Piccolo campioni prelevati da un totale di 186 adulti maschi e femmine. Per il rilevamento dei valori di riferimento relativi alla gamma glutammil transferasi sono stati analizzati sull'analizzatore chimico del sangue Piccolo campioni prelevati da un totale di 131 adulti maschi e femmine.

Questi valori devono intendersi esclusivamente come orientativi. Si consiglia agli studi o strutture mediche di definire valori minimi e massimi normali per l'area geografica in cui sono situati.

Tabella 2: Valori di riferimento Piccolo

Analita	Valori di riferimento	
	Unità comuni	Unità SI
Alanina trans-aminasi (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albumina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Fosfatasi alcalina (ALP), sesso maschile	53-128 U/l	53-128 U/l
Fosfatasi alcalina (ALP), sesso femminile	42-141 U/l	42-141 U/l
Amilasi (AMY)	14-97 U/l	14-97 U/l
Aspartato transaminasi (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Gamma glutammil transferasi (GGT)	5-65 U/l	5-65 U/l
Bilirubina totale (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 µmol/l
Proteina totale (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l

L'**amilasi** viene secreta da varie ghiandole oltre che dal pancreas. Solo l'amilasi pancreatica è di interesse clinico.⁵³ La contaminazione di un campione con amilasi non pancreatica dà luogo a risultati artificialmente elevati. I campioni prelevati mediante puntura del dito sono più soggetti a contaminazione di quelli prelevati da una vena. Se i risultati relativi all'amilasi su un campione prelevato con puntura del dito non sono coerenti con i sintomi clinici del paziente, ripetere il test utilizzando un campione prelevato da una vena.

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La chimica per ciascun analita è lineare nell'arco nei valori dinamici elencati di seguito se l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress viene utilizzato seguendo la procedura raccomandata (si veda il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress).

Tabella 3: Valori dinamici Piccolo

Analita	Valori dinamici	
	Unità comuni	Unità SI
Alanina trans-aminasi (ALT)	5-2.000 U/l	5-2.000 U/l
Albumina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasi alcalina (ALP)	5-2.400 U/l	5-2.400 U/l
Amilasi (AMY)	5-4.000 U/l	5-4.000 U/l
Aspartato transaminasi (AST)	5-2.000 U/l	5-2.000 U/l
Gamma glutammil transferasi (GGT)	5-3.000 U/l	5-3.000 U/l
Bilirubina totale (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-513 µmol/l
Proteine totali (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l

Se la concentrazione di analita è superiore al range di misurazione (range dinamico), ma inferiore al range del sistema, sulla scheda viene stampato un segno ">" in corrispondenza del limite superiore e un asterisco dopo il numero, es. ALT >2000* U/l. Se la concentrazione è inferiore al range dinamico, viene stampato il segno "<" con un asterisco, es. ALT <5* U/l. Per valori macroscopicamente superiori al range di misurazione (range del sistema), viene stampato il segno "~~~~" anziché il risultato. Raccogliere un nuovo campione e rieseguire il test ogni volta che su una scheda viene stampato il segno "~~~~". Se i risultati relativi al secondo campione vengono nuovamente soppressi, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori rilevabili per ogni analita sono i seguenti: alanina transaminasi 10 U/l; albumina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasi alcalina 5 U/l; amilasi 5 U/l; aspartato transaminasi 5 U/l; gamma glutammil transferasi 5 U/l; bilirubina totale 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); proteine totali 2 g/dl (20 g/l).

Precisione

Sono stati effettuati studi di precisione seguendo le linee guida NCCLS EP5-T2.⁶⁰ I risultati relativi alla precisione in esecuzione e totale sono stati ottenuti mediante test su due livelli di materiale di controllo.

Tabella 4: Precisione (N=80)

Analita	In esecuzione	Totale
Alanina transaminasi (U/l)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	21	21
DV	2,76	2,79
%CV	13,4	13,5
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	52	52
DV	2,70	3,25
%CV	5,2	6,2
Albumina (g/dl)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	5,6	5,6
DV	0,09	0,11
%CV	1,7	2,1
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	3,7	3,7
DV	0,07	0,11
%CV	2,0	2,9
Fosfatasi alcalina (U/l)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	39	39
DV	1,81	2,29
%CV	4,6	5,8
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	281	281
DV	4,08	8,75
%CV	1,5	3,1
Amilasi (U/l)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	46	46
DV	2,40	2,63
%CV	5,2	5,7
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	300	300
DV	11,15	11,50
%CV	3,7	3,8

Tabella 4 (segue): Precisione (N=80)

Analita	In esecuzione	Totale
Aspartato transaminasi (U/l)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	47	49
DV	0,98	0,92
%CV	2,07	1,88
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	145	147
DV	1,83	1,70
%CV	1,26	1,16
Gamma glutammil transferasi (U/l)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	25	25
DV	0,59	0,74
%CV	2,34	2,94
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	106	106
DV	1,52	2,29
%CV	1,43	2,15
Bilirubina totale (mg/dl)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	0,8	0,8
DV	0,06	0,07
%CV	8,0	9,3
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	5,2	5,2
DV	0,09	0,15
%CV	1,7	2,8
Proteine totali (g/dl)		
<u>Livello di controllo 1</u>		
Media	6,8	6,8
DV	0,05	0,08
%CV	0,8	1,2
<u>Livello di controllo 2</u>		
Media	4,7	4,7
DV	0,09	0,09
%CV	2,0	2,0

Correlazione

I campioni di sangue intero e siero eparinizzati sono stati prelevati da pazienti presso due strutture. I campioni di sangue intero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo sul posto presso i siti, mentre i campioni di siero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo e con metodi comparativi. In alcuni casi sono stati usati campioni a integrazione elevata e bassa per coprire la gamma dei valori dinamici. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi "in singolo" nello stesso giorno. Nella tabella 5 sono riportate statistiche di correlazione rappresentative.

Tabella 5: Correlazione dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo con il metodo di comparazione

	Sangue intero	
	Lab 1	Lab 2
Alanina transaminasi (U/l)		
Correlazione	0,98	0,99
Pendenza	0,91	0,94
Intercetta	1,3	-2,5
SEE	3,21	2,84
N	86	67
Valori di riferimento del campione	10-174	10-174
Metodo di comparazione	Paramax®	Technicon
Albumina (g/dl)		
Correlazione	0,85	0,90
Pendenza	1,0	0,88
Intercetta	-0,3	-0,1
SEE	0,22	0,21
N	261	100
Valori di riferimento del campione	1,1-5,3	1,5-5,0
Metodo di comparazione	Paramax®	Beckman
Fosfatasi alcalina (U/l)		
Correlazione	0,99	0,93
Pendenza	0,97	1,14
Intercetta	-5,9	-17,6
SEE	3,97	4,79
N	99	80
Valori di riferimento del campione	27-368	26-150
Metodo di comparazione	Paramax®	Technicon
Amilasi (U/l)		
Correlazione	0,98	0,96
Pendenza	0,69	1,07
Intercetta	-4,7	-4,1
SEE	3,11	3,47
N	99	80
Valori di riferimento del campione	11-92	19-118
Metodo di comparazione	Paramax®	Technicon
Aspartato transaminasi (U/l)		
Correlazione	0,93	1,0
Pendenza	0,87	0,97
Intercetta	5,3	3,0
SEE	2,76	1,90
N	159	46
Valori di riferimento del campione	13-111	13-252
Metodo di comparazione	Paramax®	DAX™
Gamma glutammil transferasi (U/l)		
Correlazione	1,0	1,0*
Pendenza	0,98	1,60*
Intercetta	-0,4	3,1*
SEE	3,29	18,57*
N	135	49
Valori di riferimento del campione	5-312	27-1848
Metodo di comparazione	Paramax®	Beckman

Tabella 5: Correlazione dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo con il metodo di comparazione

	Sangue intero	
	Lab 1	Lab 2
Bilirubina totale (mg/dl)		
Correlazione	0,97	0,98
Pendenza	0,90	1,11
Intercetta	0,0	-0,4
SEE	0,07	0,09
N	250	91
Valori di riferimento del campione	0,2-3,7	0,1-6,4
Metodo di comparazione	Paramax®	Beckman
Proteina totale (g/dl)		
Correlazione	0,85	0,87
Pendenza	0,93	0,94
Intercetta	0,6	0,3
SEE	0,19	0,16
N	251	92
Valori di riferimento del campione	5,7-9,2	6,5-9,2
Metodo di comparazione	Paramax®	Beckman

*Il laboratorio 2 ha effettuato test solo sul siero nell'analizzatore Piccolo per la correlazione del test della gamma glutammil transferasi.

Risultati di uno studio condotto con operatori inesperti

È stato condotto uno studio con "operatori inesperti" ai cui partecipanti sono state fornite unicamente le istruzioni per i test, chiedendo loro di eseguire test di 3 dischi con campioni randomizzati in cieco. I campioni erano costituiti da pool di siero preparati a tre livelli per ciascuno degli otto analiti: ALT, albumina, ALP, AMY, AST, GGT, bilirubina totale e proteine totali. I partecipanti non erano stati in alcun modo addestrati all'esecuzione del test. Sono stati complessivamente arruolati circa 60 partecipanti da 3 centri, in rappresentanza di una popolazione demografica diversificata (livello di istruzione, età, sesso, ecc.).

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

Alanino aminotransferasi (ALT)

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

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

Albumina (ALB)

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

Fosfatasi alcalina (ALP)

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

Amilasi (AMY)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	72,1 U/l	126,9 U/l	260,0 U/l
%CV	2,4%	2,1%	1,9%
Range osservato	67 – 75	120 – 133	248 – 273
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Aspartato aminotransferasi (AST)

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

Gamma glutamil transferasi (GGT)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	35,0 U/l	86,2 U/l	131,3 U/l
%CV	2,8%	1,5%	1,5%
Range osservato	33 – 38	83 – 90	123 – 135
Percentuale di risultati nel range ± 15,0%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Bilirubina totale (TBIL)

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

Proteine totali (TP)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	4,8 g/dl	5,7 g/dl	7,1 g/dl
%CV	2,0%	1,5%	1,5%
Range osservato	4,6 – 5,3	5,3 – 5,9	6,7 – 7,5
Percentuale di risultati nel range ± 5,9%	98.4% 61/62 IC 95%: da 91,3% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

13. Simboli



Usare entro



Numero catalogo



Codice lotto



Dispositivo Medico Diagnostico in vitro



Consultare le istruzioni per l'uso



Produttore



Non riutilizzare



Numero di dispositivi di test nel kit



Sequenza di produzione



Numero di serie

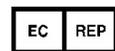


Attenzione



Limitazione di temperatura

PN:
Numero parte



Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea



Indica la conformità alle Direttive Europee specificate



Struttura del codice a barre nel format standard dell'Health Industry Bar Code (HIBC)



Identificativo Unico del dispositivo (UDI) in formato leggibile ad occhio umano e dalla macchina usato per identificare correttamente I dispositivi medici attraverso la loro distribuzione e uso



Raccolta dei rifiuti separata per questo articolo elettronico indicato; Apparecchiatura fabbricata/immessa sul mercato dopo il 13 agosto 2005; Indica la conformità con l'articolo 14(4) della Direttiva 2012/19 UE (RAEE) per l'Unione Europea (UE).

14. Bibliografia

1. Tonhazy, NE, NG White and WW Umbreit. 1950. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 28: 36-42.
2. Reitman, S and S Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.
3. Murray, RL. 1989. Alanine aminotransferase. *In: LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation.* St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 895-898.
4. Wróblewski, F and JS LaDue. 1956. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 91: 569-571.
5. Bergmeyer, HU and M Hørder. 1980. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 18: 521-534.
6. Howe, PE. 1921. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 49: 93-107.
7. Howe, PE. 1921. The determination of proteins in blood—a micro method. *J Biol Chem* 49: 109-113.
8. Wolfson, WQ, C Cohn, E Calvary and F Ichiba. 1948. 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* 18: 723-730.
9. Saifer, A, S Gerstenfeld and F Vacsler. 1961. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 7: 626-636.
10. Saifer, A and T Marven. 1966. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 12: 414-417.
11. Gendler, SM. 1989. Albumin. *In: LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation.* St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp.1029-1033.
12. Webster, D, AHC Bignell and EC Attwood. 1974. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 53: 101-108.
13. Louderback, A, EH Mealey and NA Taylor. 1968. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell, AE and BE Northam. 1978. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 24: 80-86.
15. King, EJ and AR Armstrong. 1934. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 31: 376-381.
16. Kind, PRN and EJ King. 1954. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. 1937. Uber die Phosphomonoesterase. *Enzymologia* 4: 217-231.
18. Fujita, H. 1939. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 30: 69-87.
19. Petitclerc, C, M Delisle, M Martel, C Fecteau and N Brière. 1975. 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* 53: 1089-1100.
20. Tietz, NW, CA Burtis, P Duncan, K Ervin, CJ Petitclerc, AD Rinker, D Shuey and ER Zygowicz. 1983. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 29: 751-761.
21. Bowers, GN, Jr, HU Bergmeyer, M Hørder and DW Moss. 1979. 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* 98: 163F-174F.
22. McNeely, MDD. 1989. Amylase. *In: LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation.* St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 906-909.
23. Zinterhofer, L, L Wardlaw, P Jatlow and D Seligson. 1973. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. *Clin Chim Acta* 43: 5-12.
24. Centros para el control de enfermedades. 1975. Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; nov, 1975.
25. Somogyi, M. 1960. Modifications of two methods for the assay of amylase. *Clin Chem* 6: 23-35.
26. Gillard, BK, HC Markman and SA Feig. 1977. Direct spectrophotometric determination of a-amylase activity in saliva, with *p*-nitrophenyl α -maltoside as substrate. *Clin Chem* 23: 2279-2282.
27. Wallenfels, K, P Földi, H Niermann, H Bender and K Linder. 1978. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. *Carbohydrate Res* 61: 359-368.
28. Karmen, A. 1955. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 34: 131-133.
29. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, M Hørder and DW Moss. 1977. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 23: 887-899.

14. Bibliografia (segue)

30. Ball, EG, JP Revel and O Cooper. 1956. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 221: 895-908.
31. Goldbarg, JA, OM Friedman, EP Pineda, EE Smith, R Chatterji, EH Stein and AM Rutenburg. 1960. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 91: 61-70.
32. Orłowski M and A Meister. 1963. γ -Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochim Biophys Acta* 73: 679-681.
33. Persijn, JP and W van der Slik. 1976. A new method for the determination of γ -glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 18: 421-427.
34. Shaw, LM, JH Stromme, JL London and L Theodorsen. 1983. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ -glutamyltransferase *J Clin Chem Clin Biochem* 18: 633-646.
35. Meites, S. 1982. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. *In: WR Faulkner and S Meites, comps., Selected Methods of Clinical Chemistry, vol. 9. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; pp. 119-124.*
36. Koller, A and LA Kaplan. 1989. Total serum protein. *In: LA Kaplan and AJ Pesce, comps., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation. St. Louis: The C.V. Mosby Company; pp. 1057-1060.*
37. Reigler, E. 1914. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 53: 242-245.
38. Weichselbaum, TE. 1946. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 16: 40-49.
39. Dumas, BT, DD Bayse, RJ Carter, T Peters Jr and R Schaffer. 1981. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 27: 1642-1650.
40. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Physician's Office Laboratory Guidelines, 2^o ed; Tentative Guideline. NCCLS document POL1-T2 (ISBN 1-56238-159-8). Villanova, PA: NCCLS; pp. A24-A28, A34.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1984. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
42. Rehak, NN and BT Chiang. 1988. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 34: 2111-2114.
43. Balistreri, WF and R Rej. 1994. Liver function. *In: CA Burtis and ER Ashwood, comps., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; p. 1466.*
44. Jacobs, DS, WR DeMott, PR Finley, RT Horvat, BL Kasten, Jr and LL Tilzer. 1994. Laboratory Test Handbook, 3rd ed. Hudson, OH: Lexi-Comp Inc.; pp. 127-128.
45. Benet, LZ and RL Williams. 1990. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. *In: AG Gilman, TW Rall, AS Nies and P Taylor, comps., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; pp. 1650-1735.*
46. Moss, DW and AR Henderson. 1994. Enzymes. *In: CA Burtis and ER Ashwood, comps., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 735-896.*
47. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1986. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. NCCLS Publication EP7-P. Villanova, PA: NCCLS; pp. 315-330.
48. Painter, PC, JY Cope and JL Smith. 1994. Appendix. *In: CA Burtis and ER Ashwood, comps., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 2161-2217.*
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Physician's Office Laboratory Guidelines, 2nd ed; Tentative Guideline. NCCLS document POL1-T2 (ISBN 1-56238-159-8). Villanova, PA: NCCLS; pp. A24-A28, A34.
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1984. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; p. 219.
51. Rehak, NN and BT Chiang. 1988. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 34: 2111-2114.
52. Henry, RJ, DC Cannon, and JW Winkelman. 1974. *Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd ed. New York: Harper and Row; pp. 417-421; 1058-1059*
53. Jacobs, DS, WR DeMott, PR Finley, RT Horvat, BL Kasten, Jr, and LL Tilzer. 1994. Laboratory Test Handbook, 3rd ed. Hudson, OH: Lexi-Comp Inc.; pp. 127-128.
54. Benet, LZ and RL Williams. 1990. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. *In: AG Gilman, TW Rall, AS Nies, and P Taylor, eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; pp. 1650-1735.*
55. Moss, DW and AR Henderson. 1994. Enzymes. *In: CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 735-896.*
56. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1986. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. NCCLS Publication EP7-P. Villanova, PA: NCCLS; pp. 315-330.

14. Bibliografia (segue)

57. Painter, PC, JY Cope, and JL Smith. 1994. Appendix. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; pp. 2161-2217.
58. Young, DS. 1990. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press.
59. Young, DS. 1991. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 1991 supplement to the third edition. Washington, DC: AACC Press.
60. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1992. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices, 2nd ed.; Tentative Guideline. NCCLS document EP5-T2. Villanova, PA: NCCLS.