

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

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



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Uso previsto

Il Disco Reagente per Piccolo® General Chemistry 6, da utilizzarsi con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress®, è progettato per l'accertamento in vitro delle quantità di alanina aminotransferasi (ALT), aspartato aminotransferasi (AST), creatinina, gamma glutamiltransferasi (GGT), glucosio e azoto ureico ematico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero nel contesto di un laboratorio clinico o in un centro di assistenza sanitaria.

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. Sommario e spiegazione dei test

Il Disco Reagente per Piccolo General Chemistry 6 e l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress costituiscono un sistema diagnostico in vitro che coadiuva il medico nella diagnosi delle seguenti patologie:

Alanina aminotransferasi (ALT):	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi.
Aspartato aminotransferasi (AST)	Malattie epatiche, quali epatite e ittero virale, shock.
Creatinina:	Malattie renali e monitoraggio della dialisi renale.
Gamma glutamiltransferasi (GGT)	Malattie epatiche, compresa cirrosi alcolica e tumori del fegato primari e secondari.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Azoto ureico ematico (BUN):	Malattie renali e metaboliche.

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

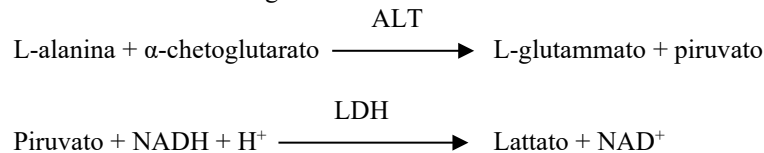
3. Principi del test

Alanina aminotransferasi (ALT)

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

Il metodo sviluppato per l'uso sugli analizzatori Piccolo è una modifica della procedura raccomandata dall'IFCC. In questa reazione, l'ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutamato e

piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione seguente.

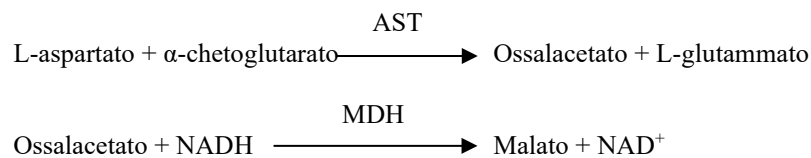


La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è dovuta alla conversione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

Aspartato aminotransferasi (AST)

Il test per l'aspartato transaminasi (AST) si basa sul metodo di Karmen⁶ con le modifiche introdotte da Bergmeyer.⁷ L'attuale metodo di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (Federazione Internazionale di Chimica Clinica - 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.^{7,8} Alla reazione si aggiunge lattato deidrogenasi (LDH) per ridurre l'interferenza causata dal piruvato endogeno.

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

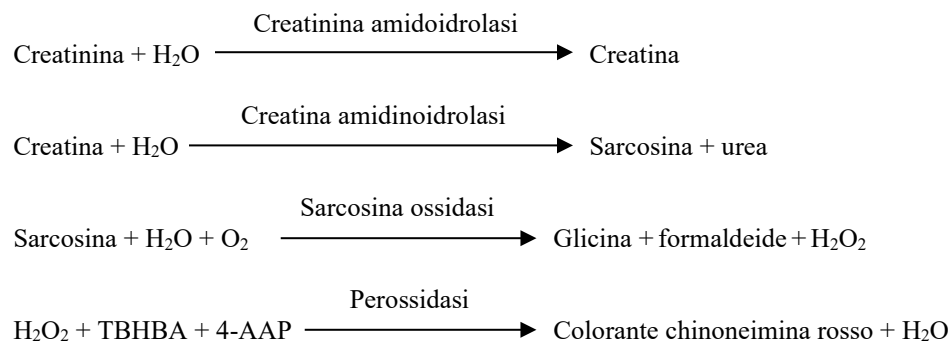


Il tasso di cambiamento nell'assorbanza a 340 nm/405 nm causato dalla trasformazione dell' NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{9,10} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{11,12,13} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.¹⁴

Nelle reazioni enzimatiche combinate, la creatinina amidoidrolasi idrolizza la creatinina in creatina. Un secondo enzima, la creatina amidinoidrolasi, catalizza la formazione di sarcosina dalla creatina. La sarcosina ossidasi dà luogo all'ossidazione della sarcosina in glicina, formaldeide e perossido di idrogeno (H_2O_2). Nel completamento Trinder, la perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno, acido 2,4,6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA) e 4-amminoantipirina (4-AAAP) in un colorante rosso chinoneimina. Il ferrocianuro di potassio e l'ascorbato ossidasi vengono aggiunti alla miscela di reazione per ridurre al minimo la possibile interferenza rispettivamente della bilirubina e dell'acido ascorbico.



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

eGFR (calcolato)

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

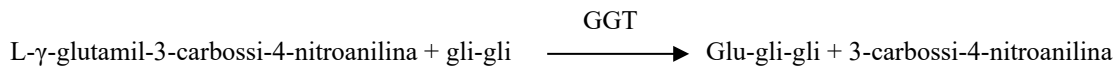
Il calcolo del eGFR stimato viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnicità del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo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

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

Gamma glutamiltransferasi (GGT)

I primi metodi quantitativi sviluppati per misurare la gamma glutamiltransferasi (GGT) comportavano una seconda reazione per formare un colorante azoico che si combinava con un cromoforo.^{15,16} Il passaggio a L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide come substrato nella reazione ha eliminato la fase di formazione del colorante.¹⁷ Date le scarse solubilità e stabilità di L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide, questa procedura è stata modificata al fine di usare il substrato L- γ -glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide.¹⁸ Il metodo GGT raccomandato dalla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa su quest'ultimo substrato, con glicilglicina come altro substrato.¹⁹

Abaxis ha modificato il metodo IFCC per la reazione a 37 °C. L'aggiunta di campioni contenente gamma glutamil transferasi ai substrati L- γ -glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide e glicilglicina (gli-gli) causa la formazione di L- γ -glutamyl-glicilglicina (glu-gli-gli) e 3-carbossi-4-nitroanilina.

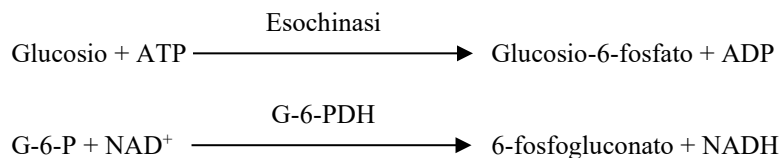


L'assorbanza di questa reazione di velocità viene misurata a 405 nm. La produzione di 3-carbossi-4-nitroanilina è direttamente proporzionale all'attività GGT nel campione.

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate utilizzando metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu²⁰ e Somogyi-Nelson^{21,22}). La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio inserito nel Disco Reagente per Piccolo General Chemistry 6 è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.²³

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

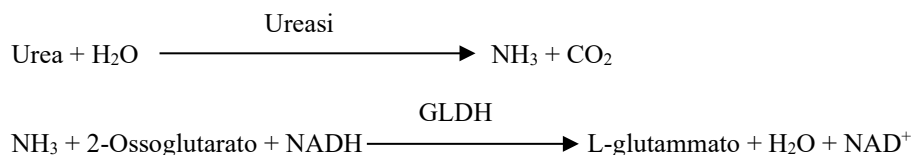


L'assorbanza viene misurata bicromaticamente a 340 nm e 850 nm. La produzione di NADH è direttamente proporzionale alla quantità di glucosio presente nel campione.

Azoto ureico ematico (BUN)

L'urea può essere misurata sia direttamente che indirettamente. L'unico metodo diretto di misurazione dell'urea è la reazione della diacetilmonossima, che utilizza però reagenti pericolosi.²⁴ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca creata dall'urea e l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.²⁵ L'ammoniaca può essere quantificata con svariati metodi, quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot^{26,27} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{28,29} Le procedure Berthelot catalizzate risultano tuttavia poco affidabili ai fini della misurazione dell'ammoniaca.³⁰ Le reazioni enzimatiche combinate sono rapide, altamente specifiche per l'ammoniaca e ampiamente usate. Una di tali reazioni è stata proposta come possibile metodo di riferimento.³¹

Nella reazione enzimatica accoppiata, l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica. Combinando l'ammoniaca con 2-ossoglutarato e nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida l'NADH in NAD⁺.



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

4. Principi della procedura

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

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni Disco Reagente per Piccolo General Chemistry 6 contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (come descritto di seguito). 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), aspartato aminotransferasi (AST), gamma glutamiltransferasi (GGT), glucosio (GLU), e azoto ureico ematico (BUN). Il disco per la creatinina (CRE) include un bianco campione dedicato. Ogni disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi, eccipienti e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componente	Quantità/disco
Adenosina-5'-difosfato	4 µg
Adenosina-5'-trifosfato	11 µg
L-alanina	874 µg
4-Amminoantipirina HCl	14 µg
Ascorbato ossidasi (<i>Cucurbita</i> spp.)	0,4 U
Acido L-aspartico	426 µg
Creatina amidinoidrolasi (<i>Actinobacillus</i> spp.)	2 U
Creatinina ammididrolasi (<i>Pseudomonas</i> spp.)	1 U
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi (lievito)	0,05 U
Acido L-gluttammico deidrogenasi (fegato di bue)	0,01 U
Acido L-gluttammico γ-(3-carbossi-4-nitroanilide), sale d'ammonio	30 µg
Glicilglicina	317 µg
Esochinasi (lievito)	0,1 U
α-chetoglutarato, sale disodico	28
Acido α-chetoglutarico	72 µg
Lattato deidrogenasi (cuore di pollo)	0,002 U
Lattato deidrogenasi (LDH) (microbico)	0,03 U
Lattato deidrogenasi (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	0,1 U
Acetato di magnesio	7 µg
Malato deidrogenasi (MDH) (cuore porcino)	0,01 U
Nicotinammide adenin dinucleotide (NAD ⁺)	20 µg
β-Nicotinamide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	18 µg
Perossidasi (barbaforte)	0,6 U
Ferrocianuro di potassio	0,4 µg
Sarcosina ossidasi (microorganismo)	0,6 U
Acido 2,4,6-Tribromo-3-idrossibenzoico	188 µg
Ureasi (fagiolini)	0,05 U
Tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Il contenitore del diluente nel disco reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel disco.
- I dischi reagente usati contengono fluidi organici umani. Manipolare e smaltire i dischi usati in conformità a prassi di laboratorio riconosciute.³² Consultare il Manuale dell'operatore dell'Analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress per istruzioni sulla pulizia e rimozione di sostanze a rischio biologico inavvertitamente versate.
- I dischi reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. Non utilizzare **mai** un disco eventualmente caduto in quanto può diffondere materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- Le microsfere di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione delle microsfere (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un disco reagente), evitare l'ingestione, il contatto cutaneo e l'inalazione.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i dischi reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Non lasciare i dischi a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire la confezione in carta alluminio sigillata, estrarre il disco facendo attenzione a non toccare il codice a barre situato sulla parte superiore del disco. Seguire le istruzioni contenute nel Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress. Smaltire un disco nel caso in cui non venga utilizzato entro 20 minuti dall'apertura della confezione.

Conservazione

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

Indicazioni di instabilità/deterioramento del disco reagente

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

6. Strumento

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

7. Raccolta e preparazione dei campioni

Le tecniche di raccolta dei campioni sono descritte nella sezione "Raccolta dei campioni" del Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- La quantità minima del campione è di ~100 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o materiale di controllo. La camera di raccolta del campione sul disco reagente può contenere fino a 120 µl di campione.
- I campioni di sangue intero prelevati da una vena devono essere omogenei prima che il campione venga trasferito nel disco reagente. Capovolgere delicatamente la provetta del prelievo varie volte subito prima di trasferire il campione. Non agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta.³³ Le concentrazioni di **glucosio** sono influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente e dal tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, i campioni si devono prelevare da pazienti a digiuno da almeno 12 ore. Le concentrazioni di glucosio diminuiscono di circa 5-12 mg/dl in 1 ora se lasciate in campioni non centrifugati a temperatura ambiente.³⁴

- Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **aspartato aminotransferasi, creatinina e glucosio** possono subire variazioni significative.³⁵ Il campione può essere separato in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8 °C (36-46 °F) qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel disco reagente.

8. Procedura

Materiali forniti

- Un Disco Reagente per Piccolo General Chemistry 6 - N. parte: 400-1006 (una confezione di dischi, numero parte: 400-0006)

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 di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress funzionano a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59-90 °F). Il tempo di analisi per ogni Disco Reagente per Piccolo General Chemistry 6 è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37 °C (98,6 °F).

Procedura del test

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

Calibrazione

L'analizzatore chimico di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress vengono calibrati dal produttore prima della spedizione. Il codice a barre stampato sull'apposito anello fornisce i dati di calibrazione specifici per i dischi. Vedere il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico di sangue Piccolo e 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.

9. Risultati

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

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

10. Limiti della procedura

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

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress è la **litio eparina**. Non utilizzare sodio eparina.
- Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferisce con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel Disco Reagente per Piccolo General Chemistry 6.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-65% del volume di globuli rossi concentrati (una frazione di volume di 0,62-0,65) possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Tali campioni si possono centrifugare per ottenere plasma e poi rianalizzare in un nuovo disco reagente.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range di analisi, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress.**

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

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come agenti interferenti con gli analiti. Sono stati preparati pool di siero umano. Ogni potenziale interferente è stato analizzato alla concentrazione indicata in NCCLS EP7-P.³⁶

Effetti di sostanze endogene

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

Effetti delle sostanze esogene e terapeutiche

- Sono state selezionate trentacinque sostanze esogene e terapeutiche in quanto potenziali interferenti con i metodi di analisi Abaxis, secondo le raccomandazioni di Young.³⁷ Si definisce interferenza significativa uno spostamento maggiore del 10% nel risultato relativo a un campione che rientra nei valori normali. Pool di siero umano sono stati supplementati con una concentrazione nota di farmaci o sostanze chimiche e quindi analizzati.

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche

	Range fisiologico terapeutico³⁶⁻⁴¹ (mg/dl)	Massima concentrazione testata (mg/dl)
Acetaminofene	1-2	100
Acetoacetato	0,05-3,60	102
Acido acetilsalicilico	2-10	50
Ampicillina	0,5	30
Acido ascorbico	0,8-1,2	20
Caffeina	0,3-1,5	10
Cloruro di calcio	—	20
Cefalotina (Keflin)	10	400
Cloramfenicolo	1-2,5	100
Cimetidina	0,1-1	16
L-dopa	—	5
Dopamina	—	19
Epinefrina	—	1
Eritromicina	0,2-2,0	10
Glutazione	—	30
Ibuprofene	0,5-4,2	50
Isoniazide	0,1-0,7	4
α -chetoglutarato	—	5
Chetoprofene	—	50
Meticillina	—	100
Metotrexate	0,1	0,5
Metildopa	0,1-0,5	0,5
Metronidazolo	0,1	5
Nafcillina	—	1
Nitrofurantoina	0,2	20
Oxacillina	—	1
Ossalacetato	—	132
Fenitoina	1-2	3
Prolina	—	4
Piruvato	0,3-0,9	44
Rifampicina	0,4-3	1,5
Acido salicilico	15-30	25
Sulfalazina	2-4	10
Sulfanilamide	10-15	50
Teofillina	1-2	20

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

Tabella 3: Sostanze con interferenza significativa >10%

	Range fisiologico o terapeutico³⁶⁻⁴¹ (mg/dl)	Concentrazione con interferenza > 10% (mg/dl)	Interferenza %
Alanina aminotransferasi (ALT)			
Acido ascorbico	0,8-1,2	20	aum 11%*
Ossalacetato	—	132	aum 843%
Creatinina (CRE)			
Acido ascorbico	0,8-1,2	20	dim. 11%
Dopamina	—	19	dim. 80%
L-dopa	—	5	dim. 71%
Epinefrina	—	1	dim. 45%
Glutathione	—	30	dim. 13%
Glucosio (GLU)			
Ossalacetato	—	132	dim. 11%
Piruvato	0,3-0,9	44	dim. 13%

* aum=aumentato; dim=diminuito.

Per ulteriori informazioni sui possibili interferenti chimici, consultare la Bibliografia.

11. Valori attesi

Per determinare i valori di riferimento relativi ad ALT, creatinina, glucosio e BUN sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 193 adulti maschi e femmine, analizzati con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo. Per determinare i valori di riferimento relativi all'AST, sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 186 adulti maschi e femmine. Per determinare i valori di riferimento relativi alla GGT, sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 131 adulti maschi e femmine. Questi valori devono intendersi esclusivamente come orientativi. Si consiglia allo studio o alla struttura di definire valori minimi e massimi normali per la propria popolazione di pazienti.

Tabella 4: Intervalli di riferimento Piccolo

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Alanina aminotransferasi (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Aspartato aminotransferasi (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Creatinina (CRE)	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Gamma glutamiltransferasi (GGT)	5-65 U/l	5-65 U/l
Glucosio (GLU)	73-118 mg/dl	4,05-6,55 mmol/l
Azoto ureico ematico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol urea/l

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

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

Tabella 5: Range dinamici Piccolo

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Alanina aminotransferasi (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Aspartato aminotransferasi (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Creatinina (CRE)	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Gamma glutamiltransferasi (GGT)	5-3000 U/l	5-3000 U/l
Glucosio (GLU)	10-700 mg/dl	0,56-38,9 mmol/l
Azoto ureico ematico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/urea/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, ad esempio: ALT >2000* U/l. Se invece la concentrazione risulta inferiore al range dinamico, viene stampato un segno "<" con un asterisco, ad esempio ALT <5* U/l. Per valori macroscopicamente superiori al range di misurazione (range del sistema), al posto del risultato viene stampato il segno "~~~~". Raccogliere un nuovo campione e rieseguire il test ogni volta che su una scheda viene stampato il segno "~~~~". Se i risultati relativi al secondo campione vengono nuovamente soppressi, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti: alanina aminotransferasi 5 U/l; aspartato aminotransferasi 5 U/l; creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); gamma glutamiltransferasi 5 U/l; glucosio 10 mg/dl (0,56 mmol/l); azoto ureico ematico 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l).

Precisione

Sono stati effettuati studi di precisione seguendo le linee guida NCCLS EP5-T2.⁴² I risultati relativi alla precisione intra-serie e totale sono stati ottenuti mediante test su due livelli di materiale di controllo. I controlli sono stati analizzati in duplicato due volte al giorno per 20 giorni durante un periodo di quattro settimane. I risultati degli studi sulla precisione sono presentati nella Tabella 6.

Tabella 6: Precisione (N=80)

Analiti	Intra-sessione	Totale
Alanina aminotranferasi (U/l)		
<u>Controllo 1</u>		
Media	21	21
SD	2,76	2,79
%CV	13,4	13,5
<u>Controllo 2</u>		
Media	52	52
SD	2,70	3,25
%CV	5,2	6,2
Aspartato aminotransferasi (U/l)		
Controllo 1		
Media	47	49
SD	0,98	0,92
%CV	2.1	1.9
Controllo 2		
Media	145	147
SD	1,83	1,70
%CV	1,3	1,2

Tabella 6: Precisione (N=80) (segue)

Analiti	Intra-sessione	Totale
Creatinina (mg/dl)		
<u>Controllo 1</u>		
Media	1,1	1,1
SD	0,14	0,14
%CV	12,5	13,1
<u>Controllo 2</u>		
Media	5,2	5,2
SD	0,23	0,27
%CV	4,4	5,2
Gamma glutamiltransferasi (U/l)		
<u>Controllo 1</u>		
Media	25	25
SD	0,59	0,74
%CV	2,34	2,94
<u>Controllo 2</u>		
Media	106	106
SD	1,52	2,29
%CV	1,43	2,15
Glucosio (mg/dl)		
<u>Controllo 1</u>		
Media	66	66
SD	0,76	1,03
%CV	1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>		
Media	278	278
SD	2,47	3,84
%CV	0,9	1,4
Azoto ureico ematico (mg/dl)		
<u>Controllo 1</u>		
Media	19	19
SD	0,35	0,40
%CV	1,9	2,1
<u>Controllo 2</u>		
Media	65	65
SD	1,06	1,18
%CV	1,6	1,8

Correlazione

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 di sangue Piccolo sul posto; i campioni di siero sono stati analizzati con metodi comparativi. In due casi sono stati utilizzati i risultati di analisi su campioni di siero eseguiti con l'analizzatore Piccolo (opportunamente indicati nella tabella). In alcuni casi, sono stati usati campioni supplementati alti e bassi per coprire il range dinamico. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi "in singolo" nello stesso giorno. La Tabella 7 riporta i dati di correlazione rappresentativi.

Tabella 7: Correlazione fra l'analizzatore chimico di sangue Piccolo e metodi comparativi

	Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Range campione	Metodo comparativo
Alanina aminotransferasi (U/l)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Aspartato aminotransferasi (U/l)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13-252	DAX™
Creatinina (mg/dl)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4-14,7	Paramax
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4-7,5	Beckman
Gamma glutamiltransferasi (U/l)	1,0	0,98	-0,4	3,29	135	5-312	Paramax
	1,0*	1,60	3,1	18,57	49	27-1848	Beckman
Glucosio (mg/dl)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72-422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56-646	Beckman
Azoto ureico ematico (mg/dl)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6-52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6-38	Beckman

*Uno dei centri ha effettuato test solo sul siero nell'analizzatore Piccolo per la correlazione del test della gamma glutamiltransferasi.

Risultati di uno studio condotto con operatori inesperti

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

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

Alanina aminotransferasi (ALT)

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

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%	100%	100%
	62/62	62/62	62/62
	IC 95%: da 94,2% a 100%	IC 95%: da 94,2% a 100%	IC 95%: da 94,2% a 100%

Creatinina (CRE)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	0,89	2,07	6,89
%CV	11,0	5,0	1,6
Range osservato	0,7 – 1,2	1,8 – 2,3	6,5 – 7,2
Percentuale di risultati nel range $\pm 15.0\%$	93.6 58/62 IC 95%: da 84,3% a 98,2%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

Gamma glutamiltransferasi (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 $\pm 15.0\%$	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%

Glucosio (GLU)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	95,2	130,3	365,8
%CV	1,1%	1,0%	0,8%
Range osservato	93 – 98	125 – 133	351 – 373
Percentuale di risultati nel range $\pm 10.4%**$	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

** È stato considerato l'intervallo di (65 mg/dl - 99 mg/dl).

Azoto ureico ematico (BUN)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	15,1	41,0	72,2
%CV	2,3	2,5	1,8
Range osservato	14 – 16	37 – 43	68 – 75
Percentuale di risultati nel range $\pm 15.0\%$	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

13. 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



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, WW Umbreit. 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, 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. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
7. Bergmeyer, HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-899.
8. Bergmeyer HU, Horder M, Moss DW. 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.
9. Knoll VE, Stamm D. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8: 582-587.
10. Haecckel R. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
11. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
12. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
13. Fossati P, Prencipe L, and Berti G. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
14. Whelton A, Watson AJ, Rock RC. 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.
15. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
21. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
22. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 1944; 153: 375-380.
23. 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.
24. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
25. Van Slyke DD, Cullen GE. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem* 1914; 19: 211-228.
26. Fawcett JK, Scott JE. A rapid and precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol* 1960; 13: 156-159.
27. Chaney AL, Marbach EP. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem* 1962; 8: 130-132.
28. Talke H, Schubert GE. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensh* 1965; 43: 174-175.
29. Hallett CJ, Cook JGH. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta* 1971; 35: 33-37.
30. Patton CJ, Crouch SR. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem* 1977; 49: 464-469.

14. Bibliografia (segue)

31. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980; 26: 816-826.
32. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines; tentative guideline – second edition. NCCLS Document POL1-T2 Wayne, PA: NCCLS, 1992.
33. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline – second edition. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
34. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39: 35-40.
35. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2111-2114.
36. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Publication EP7-P. Wayne, PA: NCCLS, 1986.
37. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press. 1990.
38. Benet LZ, Williams RL. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. Gilman AG, et al, eds. New York: McGraw-Hill, Inc. 1990: 1650-1735.
39. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 1991 supplement to the third edition. Washington, DC: AACC Press. 1991.
40. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 735-896.
41. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Appendix. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 2161-2217.
42. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – second edition. NCCLS Document EP5-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.