

Piccolo® Comprehensive Metabolic Panel



Esclusivamente per uso diagnostico

in vitro e professionale

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

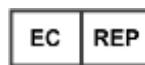
Clienti al di fuori degli Stati Uniti: +49 6155 780 210

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. Destinazione d'uso

Il disco reagente per il Piccolo® Comprehensive Metabolic Panel, da utilizzarsi con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress®, è destinato all'accertamento quantitativo *in vitro* di: alanina transaminasi (ALT), albumina, fosfatasi alcalina (ALP), aspartato transaminasi (AST), calcio, cloruro, creatinina, glucosio, potassio, sodio, bilirubina totale, anidride carbonica totale, proteine totali e azoto ureico ematico (BUN) nel sangue intero eparinizzato, nel plasma eparinizzato o nel 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 CMS (Centers for Medicare & Medicaid Services).

2. Sintesi e spiegazione degli esami clinici

Il disco reagente per il Piccolo Comprehensive Metabolic Panel e l'analizzatore chimico del sangue Piccolo costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il medico nella diagnosi delle seguenti patologie:

Alanina transaminasi (ALT):	Malattie epatiche, compresa epatite virale e cirrosi.
Albumina:	Malattie epatiche e renali.
Fosfatasi alcalina (ALP):	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali.
Aspartato transaminasi (AST):	Malattie epatiche, compresa epatite e itterizia virale, shock.
Calcio:	Malattie paratiroidi, ossee e renali croniche; tetanie.
Cloruro:	Disidratazione, diarrea e vomito prolungati, tubolopatia renale, iperparatiroidismo, ustioni, affezioni renali da perdita di sali, iperidratazione e terapia con tiazidici.
Creatinina:	Malattia renale e controllo della dialisi renale.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Potassio:	Malattia renale glomerulare o tubolare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi in vitro, iperaldosteronismo, malnutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.
Sodio:	Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sali, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, bruciori, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia diluitiva, depletiva e delusiva, sindrome da inadeguata secrezione di ADH.

Bilirubina totale:	Affezioni epatiche, compresa epatite e ostruzione della cistifellea; itterizia.
Anidride carbonica totale:	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.
Proteine totali:	Malattie epatiche, renali e del midollo osseo; disturbi metabolici e alimentari.
Azoto ureico ematico (BUN):	Malattie renali e metaboliche.

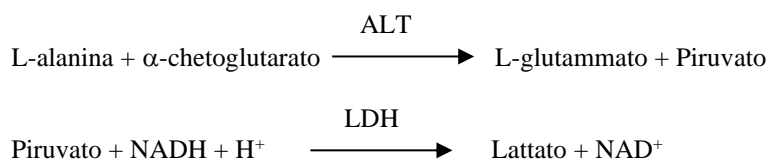
Come per ogni esame clinico diagnostico, prima della diagnosi definitiva si dovranno considerare tutti gli altri esami compreso lo stato clinico del paziente.

3. Principio su cui si basa la procedura

Alanina transaminasi (ALT)

L'alanina transaminasi (ALT) è stata misurata con tre metodologie. 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. È stata proposta una procedura Wróblewski e LaDue modificata come procedura raccomandata dall'International Federation of Clinical Chemistry (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).⁵

Il metodo messo a punto per utilizzo con gli analizzatori Piccolo è una variante della procedura raccomandata dalla IFCC. In questa reazione, la ALT catalizza il trasferimento di un gruppo ammidico 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.

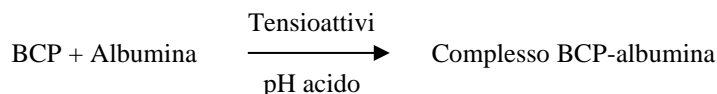


Il tasso di variazione nella differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

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 (BCP), legato con l'albumina, cambia colore da giallo a blu. L'assorbanza massima si modifica con il cambiamento di colore.

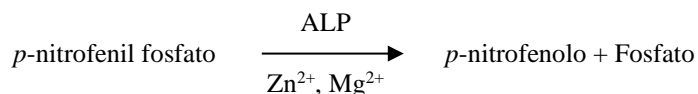


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Si tratta di una reazione di punto finale, misurata come differenza di assorbanza tra 600 nm e 550 nm.

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 AACC e IFCC.²¹ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in una sostanza tampone con ioni metallo formando *p*-nitrofenolo e fosfato.

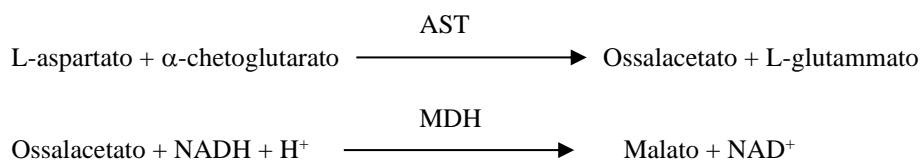


La quantità di ALP nel campione è proporzionale al tasso di aumento nella differenza di assorbanza tra 405 nm e 500 nm.

Aspartato transaminasi (AST)

Il test per l'aspartato transaminasi (AST) si basa sul metodo di Karmen²² con le modifiche introdotte da Bergmeyer.²³ 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.^{23,24} 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 viene trasformato in malato e l'NADH viene ossidata in NAD⁺ dal catalizzatore MDH.

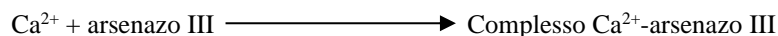


Il tasso di cambiamento nell'assorbanza a 340 nm/405 nm causata dalla trasformazione dell'NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Calcio (CA)

I primi metodi utilizzati per analizzare il calcio si basavano sulla precipitazione del calcio con un eccesso di anioni.^{25,26,27} I metodi basati sulla precipitazione sono complessi e spesso imprecisi. Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico; tale metodo, tuttavia, non è adatto ad analisi di routine.²⁸ I metodi più diffusi sono quelli spettrometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresoltaleina complexone o arsenazo III.^{29,30,31} L'arsenazo III presenta una elevata affinità con il calcio e non è dipendente dalla temperatura come il CPC.

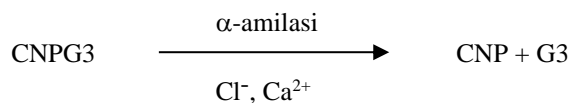
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.



La reazione al punto finale viene controllata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio nel campione è proporzionale all'assorbanza.

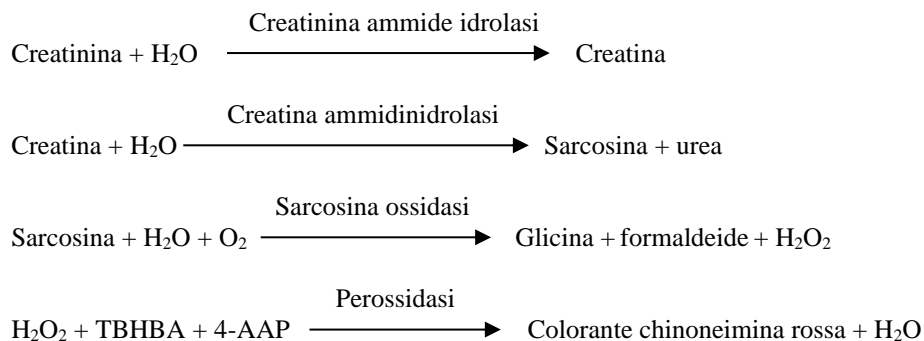
Cloruro (CL)

Il metodo si basa sulla determinazione dell'attivazione dell'attività dell' α -amilasi in funzione del cloruro. L' α -amilasi disattivata viene riattivata mediante l'aggiunta dello ione cloruro, consentendo al calcio di riassociarsi con l'enzima. La riattivazione dell'attività dell' α -amilasi è proporzionale alla concentrazione di ioni cloruro nel campione. L' α -amilasi riattivata trasforma il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNP3) in 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP) producendo colore e α -maltotriosio (G3). La reazione si misura bicromaticamente; l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività dell' α -amilasi riattivata e alla concentrazione dello ione cloruro nel campione.³²



Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, introdotto per la prima volta 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.^{33,34} 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.^{35,36,37} Nei metodi basati sull'enzima creatinina amidolasi si elimina il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra invece nelle tecniche che utilizzano creatinina immuno idrolasi.³⁸



Vengono utilizzate due provette per determinare la concentrazione di creatinina presente nel campione. La creatina endogena viene misurata nella provetta bianca, che viene sottratta dall'insieme di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella provetta test. Una volta eliminata la creatina endogena dai calcoli, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso prodotto. Per misurare la reazione al punto finale si prende la differenza di assorbanza tra 550 nm e 600 nm.

eGFR (calcolato)

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

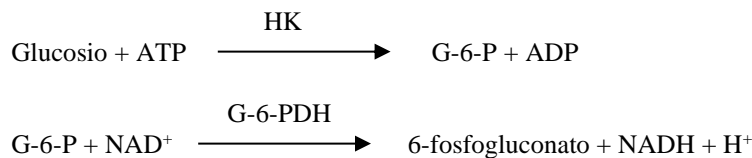
Il calcolo del eGFR stimato viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnicità del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo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

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

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione in rame (ad esempio Folin-Wu³⁹ e Somogyi-Nelson^{40,41}). A causa della mancanza di specificità delle tecniche di riduzione in rame, sono state messe a punto procedure quantitative utilizzando gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio inserito nel disco reagente per il metabolismo generale è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.⁴²

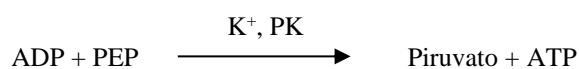
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione della nicotinammide adenin dinucleotide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

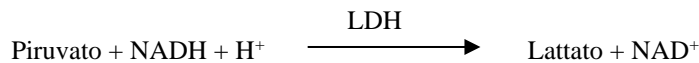


Potassio (K⁺)

Sono stati messi a punto metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis è basato sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio e risulta avere eccellente linearità e bassissima suscettibilità alle sostanze endogene.^{43,44,45} L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è ridotta al minimo con l'aggiunta, rispettivamente, di Kryptofix e di glutammina sintetasi.⁴³

Nella reazione enzimatica accoppiata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Allo stesso tempo, l'NADH viene ossidato in NAD⁺.

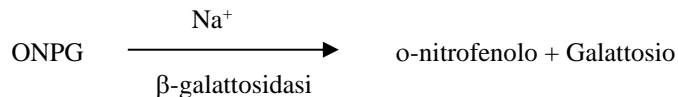




Il tasso di cambiamento nell'assorbanza tra 340 e 405 nm è causata dalla trasformazione dell'NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.

Sodio (NA⁺)

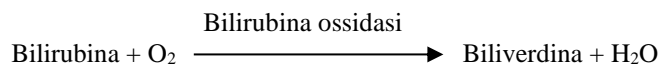
Sono stati messi a punto metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{46,47,48} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β-galattosidasi è attivata dal sodio presente nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione della o-nitrofenil-β-D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



Bilirubina totale (TBIL)

I livelli di bilirubina totale sono stati finora di norma rilevati mediante test basati sull'uso di acido sulfanilico diazotato.^{49,50} È stato messo a punto un metodo più moderno e specifico con l'enzima bilirubina ossidasi.^{51,52,53} Oltre a utilizzare un metodo più specifico per l'accertamento della bilirubina totale, con gli analizzatori Piccolo il fotodeterioramento dell'analita è ridotto al minimo in quanto il campione può essere analizzato immediatamente dopo il prelievo.

Nella procedura enzimatica, la bilirubina viene ossidata in biliverdina dalla bilirubina ossidasi.

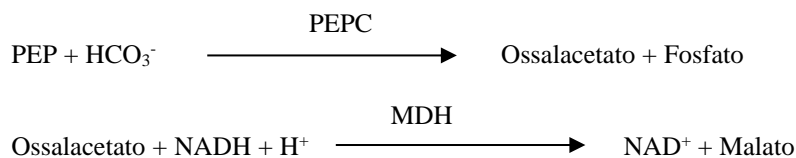


La bilirubina viene misurata come differenza di assorbanza tra 467 nm e 550 nm. L'assorbanza iniziale di questa reazione di punto finale viene ricavata in base alla provetta di campione bianco per la bilirubina e l'assorbanza finale si ottiene dalla provetta di campione test per la bilirubina. La quantità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

Anidride carbonica totale (tCO₂)

L'anidride carbonica totale è presente nel siero o nel plasma in forma di anidride carbonica disciolta, carbammino-derivati delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata con i metodi enzimatici dell'indicatore pH, dell'elettrodo CO₂ e della spettrofotometria, tutti con risultati accurati e precisi.^{54,55} Il metodo enzimatico è adatto all'utilizzo con analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, senza complessità aggiunta.

Nel metodo enzimatico il campione viene prima reso alcalino per modificare tutte le forme di anidride carbonica (CO₂) in bicarbonato (HCO₃⁻). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'HCO₃⁻ reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malicodeidrogenasi (MDH) catalizza la reazione dell'ossalacetato e scompone la nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) in NAD⁺ e malato. Il tasso di cambiamento nell'assorbanza a causa della trasformazione dell'NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla quantità di tCO₂ presente nel campione.

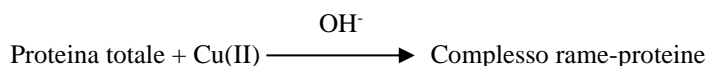


Proteine totali (TP)

Il metodo per le proteine totali è una variante della reazione con biuretto, nota per la sua precisione, accuratezza e specificità.⁵⁶ Il metodo è stato messo a punto da Riegler e poi modificato da Weichselbaum, Dumas, et al. La reazione con biuretto viene proposta come metodo di riferimento per le proteine totali.^{57,58,59}

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 impedire rispettivamente la precipitazione dell'idrossido di

rame e l'autoriduzione del rame.⁵⁸ Gli ioni Cu(II) reagiscono con legami peptidici tra gli atomi di ossigeno carbonile e azoto ammidi formando un complesso rame-proteine colorato.

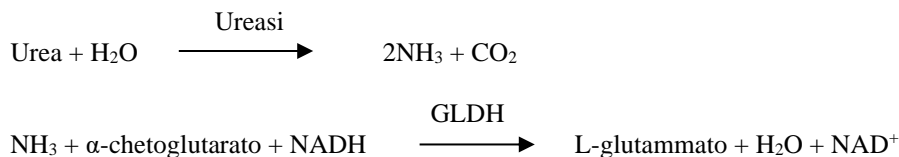


La quantità di proteina totale presente nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del complesso Cu-proteine. Il test per le proteine totali è una reazione di punto finale e l'assorbanza si misura come differenza dell'assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

Azoto ureico ematico (BUN)

È possibile misurare l'urea sia direttamente che indirettamente. La reazione al diacetil monoxime, unico metodo diretto per misurare l'urea, è ampiamente usata ma si basa su reagenti pericolosi.⁶⁰ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca formatasi dall'urea; l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.⁶¹ L'ammoniaca si può quantificare con svariati metodi, tra i quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot^{62,63} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{64,65} Le procedure Berthelot catalizzate però risultano poco affidabili nel misurare l'ammoniaca.⁶⁶ Le reazioni enzimatiche accoppiate sono rapide, altamente specifiche per l'ammoniaca e ampiamente usate. Una di tali reazioni è stata proposta come possibile metodo di riferimento.⁶⁷

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



Il tasso di variazione nella differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione di NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di urea presente nel campione.

4. Funzionamento

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

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni disco reagente per il Piccolo Comprehensive Metabolic Panel 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), aspartato transaminasi (AST), calcio (CA), cloruro (CL⁻), glucosio (GLU), potassio (K⁺), sodio (NA⁺), anidride carbonica totale (tCO₂), proteine totali (TP) e azoto ureico ematico (BUN). Sono inoltre compresi nel disco campioni bianco dedicati per creatinina (CRE) e bilirubina totale (TBIL). Ogni disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componente	Quantità/Disco
Acido 2,4,6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA)	188 µg
2-Cloro-4-nitrofenil- α -maltotrioside (CNPG3)	53 µg
Idrocloruro di 2-metil-4-isotizolin-3-one (MIT)	4,2 µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5] triscosano (Kryptofix 221)	86 µg
Idrocloruro di 4-amminoantipirina	13 µg
Adenosina 5'-difosfato	36 µg
Adenosina 5'-trifosfato	22 µg
Acido α -chetoglutarico	101 µg
Amilasi	0,036 U
Arsenazo III, sale sodico	1,7 µg
Ascorbato ossidasi (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3 U
Bilirubina ossidasi	0,1 U
Violetto di bromocresolo	2,2 µg
Acetato di calcio	25 µg
Acido citrico, sale trisodico	567 µg
Creatina amidinoidrolasi (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3 U
Creatinine amidohidrolase (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1 U
Solfato di rame	134 µg
Acido etilene glicol-bis (etere β -amminoetile)-N,N,N',N'-tetracetico EGTA)	4 µg
Acido etilen-diamminotetracetico (EDTA)	178 µg
Acido etilene diammin tetracetico (EDTA), sale disodico	15 µg
β -galattosidasi	0,005 U
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi (lievito)	0,05 U
Glutammato deidrogenasi (fegato di bue)	0,01 U
Glutammina sintetasi	0,17 U
Esochinasi (lievito)	0,1 U
Imidazolo	29 µg
Lattato deidrogenasi	0,27 U
L-alanina	874 µg
Acido L-aspartico	426 µg
Acido L-glutammico	9,2 µg
Cloruro di magnesio	3 µg
Solfato di magnesio	33 µg
Malico deidrogenasi (cuore porcino)	0,1 U
Cloruro di manganese	10 µg
N-acetilcisteina	60 µg
β -nicotinammide adenin dinucleotide (NAD)	40 µg
β -nicotinammide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	48 µg
o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside (ONPG)	22 µg
Perossidasi (barbaforte)	1 U
Fosfoenol piruvato	57 µg
Fosfoenol piruvato carbossilasi	0,001 U
p-NPP	56 µg
Ferrocianuro di potassio	0,4 µg
Ioduro di potassio	28 µg
Piruvato chinasi	0,01 U
Sarcosina ossidasi (microorganismo)	1 U
Tartrato di sodio potassio	343 µg
Ureasi (fagiolini)	0,05 U
Solfato di zinco	3 µg
Sostanze tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*
- 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 laboratorio nel maneggiare e smaltire i dischi usati.⁶⁸ Per le istruzioni sulle modalità di eliminazione di eventuali fuoriuscite di materiale a rischio biologico, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.
- 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.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

I dischi reagente possono essere utilizzati direttamente dal frigorifero senza riscaldarli. Non lasciare i dischi sigillati negli astucci di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire l'astuccio di foglio d'alluminio sigillato, estrarre il disco e utilizzarlo seguendo le istruzioni contenute nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress. Se un disco non viene utilizzato entro 20 minuti dopo l'apertura dell'astuccio, dovrà essere gettato via.

Conservazione

Conservare i dischi reagente negli astucci sigillati a 2-8°C (36-46°F). Non esporre i dischi, aperti o meno, alla luce solare diretta o a temperature superiori a 32°C (90°F). I dischi reagente si possono utilizzare fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. La data di scadenza è inoltre indicata in forma codificata nel codice a barre stampato sul relativo anello. In caso di reagenti scaduti, sul display dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress viene visualizzato un messaggio di errore.

Segni di instabilità o deterioramento del disco reagente

Se l'astuccio è strappato o comunque danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare dischi prelevati da astucci danneggiati.

6. Strumento

Per informazioni dettagliate sull'uso dell'analizzatore, vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

7. Prelievo e preparazione dei campioni

Le tecniche di prelievo dei campioni sono descritte nella sezione "Prelievo dei campioni" del manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del 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. Il ricettacolo del campione sul disco reagente può contenere fino a 120 µl.
- I campioni di sangue intero prelevati da 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 scuotere la provetta di prelievo; tale manovra potrebbe causare emolisi.
- L'emolisi può dar luogo a risultati erroneamente elevati nelle analisi relative al potassio. Tale problema potrebbe non essere rilevato se si analizza sangue intero (il rilascio di potassio anche solo dallo 0,5% degli eritrociti può far aumentare il livello di potassio nel siero di 0,5 mmol/l). Inoltre, anche i campioni non emolizzati che non vengono elaborati immediatamente potrebbero presentare livelli di potassio maggiori a causa del passaggio di potassio tra cellule.⁶⁹

- I campioni di sangue intero prelevati per puntura di una vena si devono sottoporre a test entro 60 minuti dal prelievo.⁷⁰ Le concentrazioni di **glucosio** sono soggette a variazioni in funzione del tempo trascorso da quando il paziente ha ingerito cibo e del tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, i campioni si devono prelevare da pazienti a digiuno da almeno 12 ore. Le concentrazioni di glucosio diminuiscono di circa 5-12 mg/dL in 1 ora se lasciate in campioni non centrifugati a temperatura ambiente.⁷¹
- Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **aspartato transaminasi, creatinina e glucosio** possono subire variazioni significative.⁷² 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.⁷³ 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.⁷⁴
- Utilizzare solo provette da prelievo evacuate all'eparina di litio (tappo verde) per i campioni di sangue intero o di plasma. Utilizzare provette da prelievo evacuate senza additivo (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero) per i campioni di siero.
- Iniziare il test non oltre 10 minuti dopo aver trasferito il campione nel disco reagente.
- La massima precisione nel determinare la concentrazione di anidride carbonica totale si ha quando l'analisi viene effettuata immediatamente dopo aver aperto la provetta e quanto prima possibile dopo aver prelevato ed elaborato il sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene molta meno anidride carbonica del plasma: pertanto, parte dell'anidride carbonica in forma gassosa verrà liberata dal campione nell'aria, con conseguente diminuzione del valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/L nel giro di un'ora.⁷⁵

8. Procedura

Materiale in dotazione

- Un disco reagente per Piccolo Comprehensive Metabolic Panel, numero parte: 400-1028 (una confezione di dischi, numero parte: 400-0028)

Materiale necessario ma non in dotazione

- Analizzatore chimico del sangue Piccolo o analizzatore chimico Piccolo Xpress
- Ogni analizzatore chimico del 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 disponibili 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 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 Comprehensive Metabolic Panel è meno di 14 minuti. L'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37°C (98,6°F) durante l'intervallo di misurazione.

Procedura del test

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

Taratura

L'analizzatore chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress sono tarati dal produttore prima della spedizione. Il codice a barre stampato sul relativo anello fornisce i dati di taratura specifici dei dischi. Consultare il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo.

Controllo qualitativo

Per siti esenti da CLIA, consultare la sezione relativa al controllo qualitativo alle pagine 9-10 della guida rapida all'uso del Piccolo Xpress. Per siti di moderata complessità, consultare la sezione 2.4 del manuale dell'operatore dell'analizzatore ematochimico o la sezione 6 (Taratura e controllo qualitativo) del manuale dell'operatore 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 del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress calcolano e stampano 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 e 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.

10. Limiti d'uso della procedura

I limiti procedurali generali sono trattati nel manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo e dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con il sistema chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress è la **litio eparina**. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferisce con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel disco reagente per Piccolo Comprehensive Metabolic Panel. Non utilizzare eparina di sodio.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-65% del volume dei 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. Tali campioni si possono centrifugare per ottenere plasma e poi rianalizzare in un nuovo disco reagente.
- **Eventuali risultati di un dato test che superino i valori minimi e massimi di riferimento per l'analisi in questione si dovranno analizzare con un altro metodo di esame approvato o inviati a un laboratorio di fiducia. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress.**

Avvertenza: Le numerose prove condotte sul sistema chimico del sangue Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress hanno evidenziato che, in casi molto rari, il flusso di campione erogato all'interno del disco reagente può non essere regolare all'interno del ricettacolo del campione. A causa del flusso irregolare, è possibile che venga analizzata una quantità inadeguata di campione, e diversi risultati potrebbero superare i valori di riferimento minimi e massimi. Il campione può essere rianalizzato usando un nuovo disco reagente.

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come interferenti con gli analiti. Sono stati preparati gruppi di siero umano. Ogni potenziale interferente è stato analizzato alla concentrazione indicata in NCCLS EP7-P.⁷⁶

Effetti delle sostanze endogene

- Gli interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle risultanze delle concentrazioni di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati sulla parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore sui livelli di interferenti presenti in ogni campione.
- Il sistema chimico del sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress eliminano ogni eventuale risultato falsato da un'interferenza superiore al 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati verrà stampata la dicitura "HEM", "LIP" o "ICT" rispettivamente, al posto dei risultati.
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/l) avranno un effetto rilevante, con aumento >10%, sul risultato relativo al cloruro. La concentrazione di amilasi non viene valutata dal sistema Piccolo per ogni campione.
- Il dosaggio del potassio nel sistema Piccolo è un test combinato di piruvato chinasi (PK) / lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema Piccolo può pertanto recuperare un valore di potassio (K⁺) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello inteso di potassio elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.
- Per i livelli massimi di sostanze endogene, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Effetti delle sostanze esogene e terapeutiche

- Sono state selezionate trentacinque sostanze come potenziali interferenti con i metodi di test di Abaxis secondo le raccomandazioni di Young.⁷⁷ Si definisce interferenza significativa uno spostamento superiore al $\pm 10\%$ nel risultato relativo a un campione rientrante nei valori normali. Ai gruppi di siero umano sono state aggiunte concentrazioni note di farmaci o sostanze chimiche; si è poi proceduto alla relativa analisi. Per un elenco delle sostanze esogene e terapeutiche valutate vedere la Tabella 2. **Per un elenco di analiti nei quali è stata osservata un'interferenza vedere la Tabella 3.**

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche

Potenziale interferente	Massima concentrazione testata (mg/dl se non diversamente specificato)
Acetaminofene	100
Acetoacetato	102
Acido acetilsalicilico	50
Ampicillina	30
Acido ascorbico	20
Caffeina	10
Cloruro di calcio	20
Cefalotina (Keflin)	400
Cloramfenicolo	100
Cimetidina	16
Dopamina	19
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutatione	30
Idroclorotiazide	7,5
Ibuprofene	50
Isoniazide	4
α -Chetoglutarato	5
Chetoprofene	50
L-dopa	5
Lidocaina	1
Lattato di litio	84
Meticillina	100
Metotrexato	0,5
Metronidazolo	5
Nafcillina	1
Nitrofurantoina	20

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche (segue)

Potenziale interferente	Massima concentrazione testata (mg/dl se non diversamente specificato)
Oxacillina	1
Ossaloacetato	132
Penicillina G	100
Fenitoina (5,5-Difenilidantione)	3
Prolina	4
Rifampina	0,5
Acido salicilico	50
Sulfadiazine	150
Sulfanilamide	50
Teofillina	20

Per un elenco di analiti nei quali è stata osservata un'interferenza vedere la Tabella 3.

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

	Concentrazione che produce >10% interferenza	% interferenza ^A osservata
Alanino transaminasi		
Acido ascorbico	20	11% aum.
Ossaloacetato	132	843% aum.
Albumina		
Acetoacetato	102	18% dim.
Ampicillina	30	12% dim.
Caffeina	10	14% dim.
Cloruro di calcio	20	17% dim.
Cefalotina (Keflin)	400	13% aum.
Ibuprofene	50	28% aum.
α -chetogluturato	5	11% dim.
Nitrofurantoina	20	13% dim.
Prolina	4	12% aum.
Sulfadiazine	10	14% dim.
Sulfanilamide	50	12% dim.
Teofillina	20	11% dim.
Fosfatasi alcalina		
Teofillina	20	42% dim.
Creatinina		
Acido ascorbico	20	11% dim.
Dopamina	19	80% dim.
L-dopa	5	71% dim.
Epinefrina	1	45% dim.
Glutazione	30	13% dim.
Glucosio		
Ossaloacetato	132	11% dim.
Piruvato	44	13% dim.
Potassio		
Penicillina G	100	17% aum.
Sulfadiazine	150	12% dim.

Tabella 3: Le seguenti sostanze hanno evidenziato uno spostamento maggiore del $\pm 10\%$ nel risultato relativo a un campione che rientra nei valori normali. (segue)

	Concentrazione che produce $>10\%$ interferenza	% interferenza^A osservata
Sodio		
Cefalotina	400	12% aum.
Metotrexate	0,5	11% aum.
Penicillina G	100	10% aum.
Bilirubina totale		
Dopamina	19	55% dim.
L-dopa	5	17% dim.
Anidride carbonica totale		
Acetaminofene	100	11% aum.
Acido ascorbico	20	12% dim.
Cefalotina	400	13% aum.
Cimetidina	16	19% dim.
Eritromicina	10	21% dim.
Lidocaina	1	23% aum.
Metotrexate	0,5	80% dim.
Nitrofurantoina	20	13% aum.
Acido salicilico	50	17% dim.
Sulfadiazine	150	25% dim.

^A Dim. = diminuita concentrazione dello specifico analita; Aum. = aumentata concentrazione dello specifico analita

- Per l'analisi relativa al cloruro, il bromuro a livelli tossici (≥ 15 mmol/l) può avere un effetto rilevante (aumento $>10\%$) sul risultato del cloruro. Lo ioduro a concentrazioni molto elevate (30 mmol/l, livello massimo testato) non ha alcun effetto. Normali livelli fisiologici di bromuro e ioduro non interferiscono con il sistema Piccolo di test sul cloruro.

11. Valori previsti

Per accertare l'intervallo di riferimento sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo campioni prelevati da 60-140 adulti, maschi e femmine. Questi valori sono stati calcolati in base all'intervallo di riferimento del 95% ricavato dai valori complessivi ottenuti dai soggetti di riferimento.⁷⁸ Tali intervalli vengono riportati a solo titolo indicativo. I valori ALP nei bambini in crescita sono estremamente variabili.⁷⁹ 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 di Piccolo[®]

Analita	Unità comuni	Unità SI
Alanina transaminasi (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
Aspartato transaminasi (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dl	2,0-2,58 mmol/l
Cloruro (CL⁻)	98-108 mmol/l	98-108 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,6-1,2 mg/dl	53-106 μ mol/l
Glucosio (GLU)	73-118 mg/dl	4,05-6,55 mmol/l
Potassio (K⁺)	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio (NA⁺)	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Bilirubina totale (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 μ mol/l
Anidride carbonica totale (tCO₂)	18-33 mmol/l	18-33 mmol/l
Proteina totale (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l
Azoto ureico ematico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol urea/l

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

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

Tabella 5: Valori dinamici Piccolo®

Analita	Unità comuni	Unità SI
Alanina transaminasi (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albumina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasi alcalina (ALP), sesso maschile	5-2400 U/l	5-2400 U/l
Aspartato transaminasi (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Calcio (CA)	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Cloruro (CL ⁻)	80-135 mmol/l	80-135 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Glucosio (GLU)	10-700 mg/dl	0,56-38,9 mmol/l
Potassio (K ⁺)	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio (NA ⁺)	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Bilirubina totale (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-513 µmol/l
Anidride carbonica totale (tCO ₂)	5-40 mmol/l	5-40 mmol/l
Proteina totale (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l
Azoto ureico ematico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol urea/l

Se la concentrazione dell'analita è superiore ai valori di rilevamento (range dinamico) ma inferiore ai valori previsti dal sistema, sulla scheda dei risultati sarà indicato un segno ">" vicino al limite immediatamente superiore e un asterisco dopo il numero, ad esempio: ALT >2000* U/l. Se invece la concentrazione risulta inferiore al range dinamico, verrà 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

I limiti inferiori dell'intervallo (dinamico) rilevabile per ogni analita sono i seguenti: alanina transaminasi 5 U/l; albumina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasi alcalina 5 U/l; aspartato transaminasi 5 U/l; calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); cloruro 80 mmol/l; creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosio 10 mg/dl (0,56 mmol/l) potassio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; bilirubina totale 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); anidride carbonica totale 5 mmol/l; proteine totali 2 g/dl (20 g/l); azoto ureico ematico 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l).

Precisione

Gli studi sulla precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida NCCLS EP5-A⁸⁰ con modifiche in base a NCCLS EP18-P⁸¹ relative ai dispositivi a utilizzo unitario. I risultati relativi alla precisione nel corso dello svolgimento e totali sono stati ricavati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio e nel caso del potassio due livelli di pool di plasma. Per gli studi sono stati usati diversi strumenti e due lotti di dischi reagente. I test sul calcio, il glucosio, il sodio e l'azoto ureico sono stati svolti in un sito; quelli sul potassio e l'anidride carbonica totale sono stati svolti presso due siti nell'arco di 20 giorni; i test sul cloruro sono stati svolti presso due siti nell'arco di cinque giorni. I test sul potassio sono stati eseguiti in una struttura con esenzione CLIA, utilizzando tre analizzatori, un lotto di dischi reagenti e due operatori nell'arco di cinque giorni.

I risultati degli studi sulla precisione sono evidenziati nella tabella 6.

Tabella 6: Precisione

Analita	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Alanina transaminasi (U/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		21	21
SD		2,76	2,79
CV		13,4	13,5

<u>Controllo 2</u>				
Media		52		52
SD		2,7		3,25
CV		5,2		6,2
Albumina (g/dl)				
<u>Controllo 1</u>		N = 80		
Media		5,6		5,6
SD		0,09		0,11
CV		1,7		2,1
<u>Controllo 2</u>				
Media		3,7		3,7
SD		0,07		0,11
CV		2,0		2,9
Fosfatasi alcalina (U/l)				
<u>Controllo 1</u>		N = 80		
Media		39		39
SD		1,81		2,29
CV		4,6		5,8
<u>Controllo 2</u>				
Media		281		281
SD		4,08		8,75
CV		1,5		3,1
Aspartato transaminasi (U/l)				
<u>Controllo 1</u>		N = 80		
Media		49		49
SD		0,98		0,98
CV		2,07		2,07
<u>Controllo 2</u>				
Media		147		147
SD		1,83		1,83
CV		1,26		1,26
Calcio (mg/dl)				
<u>Controllo 1</u>		N = 80		
Media		8,6		8,6
SD		0,21		0,25
CV		2,4		2,9
<u>Controllo 2</u>				
Media		11,8		11,8
SD		0,39		0,40
CV		3,3		3,4
Cloruro (mmol/l)				
<u>Controllo 1</u>		N = 160		
Media		97,8		97,8
DV		1,63		1,74
CV		1,7		1,7
<u>Controllo 2</u>				
Media		113,6		113,6
DV		1,97		2,22
CV		1,7		2,0
Creatinina (mg/dl)				
<u>Control 1</u>		N=80		
Media		1,1		1,1
DV		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

Tabella 6: Precisione (segue)

Analita	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Glucosio (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		66	66
DV		0,76	1,03
CV		1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		278	278
DV		2,47	3,84
CV		0,9	1,4
Potassio (mmol/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 150		
Media		3,2	3,2
DV		0,09	0,10
CV		2,8	1,7
<u>Controllo 2</u>	N = 149		
Media		6,2	6,2
DV		0,09	0,10
CV		1,4	1,7
<u>Pool di plasma 1</u>	N = 150		
Media		3,2	3,2
SD		0,07	0,09
CV		2,3	2,9
<u>Pool di plasma 2</u>	N = 150		
Media		5,4	5,4
SD		0,09	0,10
CV		1,6	1,9
Sodio (mmol/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		143,5	143,5
DV		2,28	2,28
CV		1,6	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		120,0	120,0
DV		2,13	2,13
CV		1,8	1,8
Bilirubina totale (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		0,8	0,8
SD		0,06	0,07
CV		8,0	9,3
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,09	0,15
CV		1,7	2,8
Anidride carbonica totale (mmol/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 120		
Media		21,4	21,4
DV		2,29	2,29
CV		10,7	10,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		10,5	10,5
DV		0,90	0,90
CV		8,6	8,6

Tabella 6: Precisione (segue)

Analita	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Proteine totali (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		6,8	6,8
SD		0,05	0,08
CV		0,8	1,2
<u>Controllo 2</u>			
Media		4,7	4,7
SD		0,09	0,09
CV		2,0	2,0
Azoto ureico (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
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

Precisione su sangue intero per il potassio

La precisione su sangue intero è stata testata in un sito esente da CLIA da due operatori con esenzione CLIA. Lo studio ha utilizzato quattro analizzatori Piccolo Xpress con 16 repliche per campione e quattro (4) campioni di sangue intero, fresco, con eparina di litio.

Tabella 7: Precisione su sangue intero per il potassio

Potassio (mmol/l)	Quantità del campione	In corso di svolgimento	Totale
Sangue intero 1	N = 16		
Media		3,9	3,9
SD		0,06	0,11
CV		1,6	2,8
Sangue intero 2	N = 16		
Media		4,0	4,0
SD		0,11	0,14
CV		2,9	3,4
Sangue intero 3	N = 16		
Media		4,0	4,0
SD		0,11	0,15
CV		2,8	3,9
Sangue intero 4	N = 16		
Media		4,0	4,0
SD		0,11	0,13
CV		2,7	3,4

Alcuni campioni di sangue intero eparinizzato e di siero sono stati prelevati ed analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo e con uno o più metodi comparativi. I campioni di sangue intero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico del sangue Piccolo sul posto presso i vari 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 utilizzati campioni integrativi con valori elevati e bassi in modo da coprire l'intera gamma dinamica.

La Tabella 7 riporta le statistiche di correlazione rappresentative.

Tabella 7: Correlazione dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo con i(l) metodi(o) di comparazione

	Correlazione coefficiente	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Valori di riferimento del campione (mmol/l)	Metodo comparativo
Alanina transaminasi (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
Albumina (g/dl)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Fosfatasi alcalina (U/l)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27-368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26-150	Technicon
Aspartato transaminasi (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™
Calcio (mg/dl)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2-11,9	Paramax
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1-9,9	Beckman
Cloruro (mmol/l)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71 - 118	Vitros 950
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
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
Potassio (mmol/l) Sangue intero (laboratorio esente)	0,984	0,99	0,13	0,10	130	1,3-9,5	Siemens VISTA Plasma
Potassio (mmol/l) Sangue intero (laboratorio di moderata complessità)	0,984	0,98	0,12	0,18	178	1,5-8,6	Siemens VISTA Plasma
Potassio (mmol/l) Siero (laboratorio di moderata complessità)	0,99	0,98	0,06	0,14	178	1,4-8,5	Siemens VISTA Siero
Sodio (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiometro KNA™ 2
Bilirubina totale (mg/dl)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax
	0,98	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Anidride carbonica totale (mmol/l)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6-39	Cobas Fara
Proteine totali (g/dl)	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7-9,2	Paramax
	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5-9,2	Beckman
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

* I campioni di siero da pazienti ricoverati hanno fornito una gamma di valori più ampia, e forse più utile, rispetto ai campioni di sangue intero venoso da pazienti ambulatoriali. Le statistiche di correlazione per il test del calcio effettuato con Piccolo sono basate su questi campioni di siero.

Si noti che il siero presenta in genere valori di K⁺ più elevati rispetto al sangue intero o al plasma per motivi fisiologici. La variazione oscilla tra circa 0,2 e 0,9 mmol/l e dipende da una serie di fattori. L'impatto principale è legato al numero di cellule ematiche presenti nel campione del paziente⁸².

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 14 analiti: ALT, albumina, ALP, AST, calcio, cloruro, creatinina, glucosio, potassio, sodio, bilirubina totale, anidride carbonica totale, proteine totali e azoto ureico ematico (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	98,4%	100%	100%
± 15,0%*	61/62 IC 95%: da 91,3% a 100%	62/62 IC 95%: da 94,2% a 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	100%	100%	100%
± 12,5%	62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	62/62 IC 95%: da 94,2% a 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	100%	100%	100%
± 15,0%	62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%

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%

Calcio (CA)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	8,0	10,5	13,1
%CV	1,7%	1,5%	1,4%
Range osservato	7,7 – 8,4	10,1 – 11,0	12,6 – 13,4
Percentuale di risultati nel range ± 6,3%	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%

Cloruro (CL)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	94,6	106,0	115,5
%CV	1,8	1,4	1,5
Range osservato	90 – 100	102 – 108	110 – 119
Percentuale di risultati nel range ± 2,4%	91,9% 57/62 IC 95%: da 82,2% a 97,3%	96,8% 60/62 IC 95%: da 88,8% a 99,6%	95,2% 59/62 IC 95%: da 86,5% a 99,0%

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 ± 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%

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 ± 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%

Potassio (K⁺)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	3,4	5,7	7,2
%CV	3,3	2,5	2,0
Range osservato	3,2 – 3,7	5,2 – 5,9	6,7 – 7,5
Percentuale di risultati nel range ± 8,6%	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%

Sodio (NA⁺)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	122,1	140,8	157,5

%CV	1,0	0,8	1,0
Range osservato	118 – 127	138 – 143	154 – 162
Percentuale di risultati nel range ± 3,1%	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%

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%

Anidride carbonica totale (tCO₂)

	Livello 1	Livello 2	Livello 3
N	62	62	62
Media	20,3	27,6	34,4
%CV	5,1	4,6	3,7
Range osservato	18 – 23	23 – 30	32 – 38
Percentuale di risultati nel range ± 14,7%	100% 62/62 IC 95%: da 94,2% a 100%	98,4% 61/62 IC 95%: da 91,3% 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%

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 ± 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

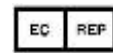


Attenzione



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/impressa 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, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
3. Murray, RL. Alanine aminotransferase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, 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, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3, IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980;18:521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 1921;49:93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. *J Biol Chem* 1921;49:109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumina, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948;18:723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S and Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by Medias of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961;7:626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966;12:414-417.
11. Gendler, SM. Albumin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, MealeyEH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978;24:80-86.
15. King, EJ and AR Armstrong. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. Uber die Phosphomonoesterase. *Enzymologia* 1937; 4: 217-231.
18. Fujita, H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C, Delisle M, Martel M. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-761.
21. Bowers GN Jr, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979; 98: 163F-174F.
22. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
23. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartato transaminasi. *Clin Chem* 1977; 23: 887-899.
24. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartato transaminasi. *Clin Chem* 1978;24:720-721
25. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J Biol Chem* 1921;47:475-481.
26. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. *J Biol Chem* 1925;63:461-464.
27. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J. Biol Chem* 1937;118:539-544.
28. Cali et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 8. Cooper GR, ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977: 3-8.
29. Kessler G, et al. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10:686-703.
30. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.

14. Bibliografia (segue)

31. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
32. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988;34:552-553.
33. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970;8:582-587.
34. Haecckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem.* 1980;18:385-394.
35. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum creatinine. 1975;21:1422-1426.
36. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. 1982;28:114-117.
37. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement.1983;29:1494-1496.
38. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994;1513-1575.
39. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919;38:81-110.
40. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937;117:771-776.
41. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucosio. *J Biol.* 1944;153:375-380.
42. Kaplan LA. Glucosio In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
43. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-820.
44. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-847.
45. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40:1528-1531.
46. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-6350.
47. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-1712.
48. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-2298.
49. Malloy, HT and Evelyn KA . The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
50. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982: 119-124.
51. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-2384.
52. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1984; 30: 971. (Abstract)
53. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-332.
54. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960;33:181-185.
55. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd ed. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
56. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
57. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-245.
58. Weichselbaum, TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946; 16: 40-49.
59. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27: 1642-1650.
60. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9.* Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
61. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
62. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960;13:156-159.
63. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962;8:130-132.
64. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensch*, 1965;43:174-175.

14. Bibliografia (segue)

65. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971;35:33-37.
66. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977;49:464-469.
67. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980;26:816-826.
68. CLSI. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
69. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
70. CLSI. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
71. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
72. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
73. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
74. Henry RJ, et al. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row, 1974: 417-421; 1058-1059.
75. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
76. CLSI. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
77. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
78. CLSI. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A2. Wayne, PA: CLSI, 2000.
79. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1999 pp. 676-684.
80. CLSI. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
81. CLSI. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
82. Hartland AJ, Hartland JH, Neary RN. Serum Potassium Is Unreliable as an Estimate of in Vivo Plasma Potassium. *Clin Chem* 1999;45:1091-1092.