

Exclusivamente para uso diagnóstico  
in vitro y para uso profesional  
Servicio al cliente y técnico: 1-800-822-2947  
Clientes fuera de EE. UU.: +49 6155 780 210

Solo se aplica a clientes en EE. UU.  
Exención de CLIA: Usar sangre entera con heparina-  
litio, solo Complejidad Moderada: Usar sangre entera  
con heparina-litio, plasma con heparina-litio o suero



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



ABAXIS Europe GmbH  
Bunsenstr. 9-11  
64347 Griesheim  
Germany

## 1. Indicaciones

El disco reactivo químico Piccolo® General Chemistry 13, usado con el analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress®, se ha diseñado para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), amilasa, aspartato aminotransferasa (AST), calcio, creatinina, gamma glutamiltransferasa (GGT), glucosa, bilirrubina total, proteína total, nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y ácido úrico en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care.

### Solamente para clientes de EE.UU.

Los análisis de este panel están exonerados según los requisitos de CLIA '88. Si un laboratorio modificara las instrucciones del sistema de análisis, los análisis se considerarían de alta complejidad y quedarían sujetos a todos los requisitos de la CLIA. En los laboratorios exonerados según la CLIA, sólo puede analizarse sangre entera tratada con heparina-litio. En laboratorios de complejidad moderada, pueden utilizarse sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio o suero.

Se necesita un certificado de exoneración de la CLIA para realizar análisis exonerados por la CLIA. Un certificado de exoneración puede obtenerse de CMS (Centers for Medicare & Medicaid Services). Si necesita ayuda para obtener este certificado, diríjase a la comisión de acreditación de laboratorios (COLA), en el teléfono 1-800-981-9883.

## 2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco reactivo químico general 13 de Piccolo y el analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress constituyen un sistema de diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico a diagnosticar los trastornos siguientes:

Alanina aminotransferasa (ALT):	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis vírica y la cirrosis.
Albúmina:	Patologías del hígado y del riñón.
Fosfatasa alcalina (ALP):	Patologías del hígado, óseas, de la glándula paratiroides e intestinales.
Amilasa:	Pancreatitis.
Aspartato aminotransferasa (AST):	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia víricas; shock.
Calcio:	Enfermedades de la glándula paratiroides, óseas y nefropatías crónicas.
Creatinina:	Nefropatía y control de diálisis renal.
Gamma glutamiltransferasa (GGT):	Hepatopatías, incluidas cirrosis hepática y tumores hepáticos primarios y secundarios.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus del adulto y juvenil e hipoglucemia.
Bilirrubina total:	Hepatopatías, incluida la hepatitis y obstrucción de la vesícula biliar; ictericia.
Proteína total:	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición.
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN):	Nefropatías y enfermedades metabólicas.
Ácido úrico:	Alteraciones renales y metabólicas, incluida la insuficiencia renal y la gota.

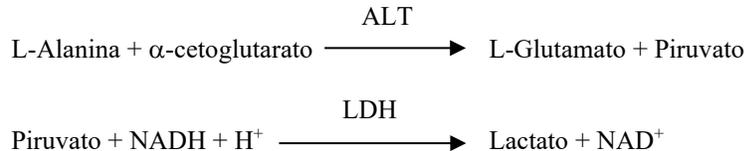
**Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, antes del diagnóstico final hay que considerar todos los restantes procedimientos de prueba, incluido el estado clínico del paciente.**

### 3. Principios de la prueba

#### Alanina aminotransferasa (ALT)

La alanina aminotransferasa (ALT) fue medida por tres métodos. Dos de estos métodos: la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina<sup>1,2</sup> y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente<sup>3</sup>. La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue<sup>4</sup>. La Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) ha propuesto un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado como el recomendado<sup>5</sup>.

El método desarrollado para ser usado con el analizador de Piccolo es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al  $\alpha$ -cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a  $\text{NAD}^+$ , como se muestra en el esquema siguiente de la reacción.

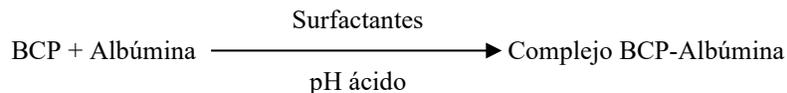


El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH a  $\text{NAD}^+$  y es directamente proporcional a la cantidad de ALT presente en la muestra.

#### Albúmina (ALB)

Los primeros métodos usados para medir la albúmina incluyen técnicas de fraccionamiento<sup>6,7,8</sup> y el contenido en tritofano de las globulinas<sup>9,10</sup>. Estos métodos son difíciles de utilizar y no tienen una especificidad elevada. Hay dos técnicas inmunoquímicas que se consideran métodos de referencia, pero son costosas y requieren mucho tiempo<sup>11</sup>. Las técnicas de tinción son los métodos usados con mayor frecuencia para el análisis de la albúmina. El verde de bromocresol (BCG) es el método de tinción usado con mayor frecuencia, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, en especial dentro del extremo inferior de los valores normales<sup>12</sup>. La púrpura de bromocresol (BCP) es la más específica de las tinturas en uso<sup>13,14</sup>.

La púrpura de bromocresol (BCP), al unirse a la albúmina, cambia su color de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

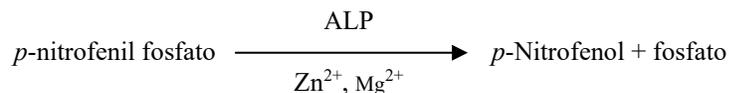


La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la diferencia en la absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

#### Fosfatasa alcalina (ALP)

Las técnicas para medir la fosfatasa alcalina fueron creadas hace más de 60 años. En estos momentos, a algunos de estos métodos espectrofotométricos de criterio de valoración o de dos puntos<sup>15,16</sup> se los considera obsoletos o demasiado complicados. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumentó la velocidad de la reacción<sup>17,18</sup>. La fiabilidad de esta técnica aumentó de manera considerable con el uso de un amortiguador de ión metálico para mantener la concentración de iones de magnesio y zinc en la reacción<sup>19</sup>. El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC)<sup>20</sup> usa el *p*-NPP como sustrato y un amortiguador con ión metálico.

El procedimiento de Piccolo se modificó a partir de los métodos AAC y IFCC<sup>21</sup>. La fosfatasa alcalina hidroliza el *p*-NPP en un amortiguador con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.



La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

### Amilasa (AMY)

Se desarrollaron 200 pruebas distintas para medir la amilasa. La mayoría de los procedimientos usan una solución polisacárida, pero emplean técnicas de detección distintas. Los métodos viscosimétricos carecen de precisión y exactitud<sup>22</sup>, mientras que los métodos turbidimétricos y yodométricos son difíciles de estandarizar<sup>23,24</sup>. Los métodos usados con mayor frecuencia son sacarogénicos y cromolíticos. La técnica “clásica” de medición de la amilasa es un método sacarogénico<sup>25</sup>, pero es difícil y exige demasiado tiempo<sup>26</sup>. Los métodos cromolíticos que utilizan *p*-nitrofenilglucósidos como sustratos fueron desarrollados recientemente<sup>27</sup>. Estos análisis tienen mayor especificidad para la amilasa pancreática que para la salival y son fácilmente monitorizables<sup>27</sup>.

En el método de Piccolo, el sustrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriosida (CNP3), reacciona con la  $\alpha$ -amilasa en la muestra del paciente, liberando 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP). La liberación del CNP crea un cambio en el color.

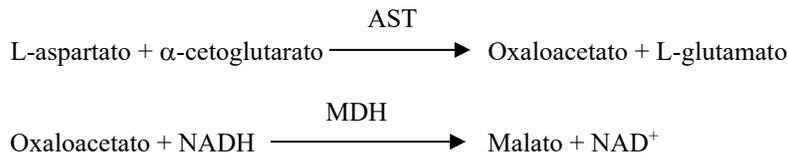


La reacción se mide bicromáticamente a 405 nm y 500 nm. El cambio en la absorbancia debido a la formación de CNP es directamente proporcional a la actividad de la  $\alpha$ -amilasa en la muestra.

### Aspartato aminotransferasa (AST)

La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método de velocidad de Karmen<sup>28</sup>, de acuerdo con la modificación de Bergmeyer<sup>29</sup>. El método de referencia actual de la Federación de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer del acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero<sup>29,30</sup>. Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

El AST cataliza la reacción del L-aspartato y  $\alpha$ -cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD<sup>+</sup> por el catalizador MDH.



El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD<sup>+</sup> es directamente proporcional a la cantidad de AST en la muestra.

### Calcio (CA)

Los primeros métodos usados para analizar calcio comprendieron el precipitado de calcio con un exceso de aniones<sup>31,32,33</sup>. Los métodos de precipitación son complicados y suelen ser imprecisos. El método de referencia para el calcio es la espectroscopia por absorción atómica; sin embargo, este método no es adecuado para su uso de rutina<sup>34</sup>. Los métodos espectrofotométricos que usan los indicadores metalocrómicos *o*-cresoltaleína complexona o arsenazo III, son los usados con más frecuencia<sup>35,36,37</sup>. El arsenazo III tiene gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio.

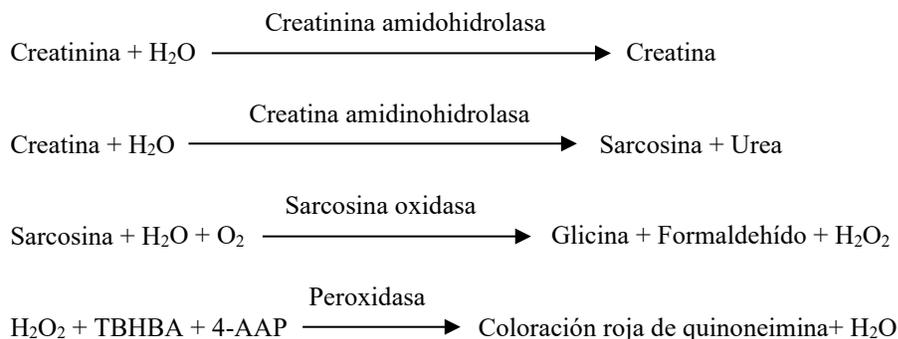


La reacción de punto final es controlada a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio total en la muestra es proporcional a la absorbancia.

### Creatinina (CRE)

El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método de referencia actual combina el uso de tierra de batán (floridina) con la técnica Jaffe para incrementar la especificidad de la reacción<sup>38,39</sup>. Se han desarrollado métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las diversas modificaciones de la técnica de Jaffe<sup>40,41,42</sup>. Los métodos que usan a la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia del ión amoníaco encontrado en las técnicas que utilizan creatinina iminohidrolasa<sup>43</sup>.

En las reacciones de acoplamiento de enzimas, la creatinina amidohidrolasa hidroliza la creatinina en creatina. Una segunda enzima, la creatina amidinohidrolasa, cataliza la formación de sarcosina a partir de la creatina. La sarcosina oxidasa provoca la oxidación de sarcosina a glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). En un acabado Trinder, la peroxidasa cataliza la reacción entre el peróxido de hidrógeno, 2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxibenzoico (TBHBA) y 4-aminoantipirina (4-AAAP) en una tintura roja de quinoneimina. Se agregan ferrocianuro de potasio y ascorbato oxidasa a la mezcla de la reacción para reducir al mínimo la interferencia potencial de la bilirrubina y el ácido ascórbico, respectivamente.



Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina endógena de los cálculos, la concentración de creatinina es proporcional a la intensidad del color rojo producido. La reacción de punto final se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 630 nm.

#### eGFR (calculada)

La creatinina sérica se mide de forma rutinaria como indicador de la función renal. Debido a que la edad, el sexo y la raza influyen en las concentraciones de creatinina, no es posible detectar la nefropatía crónica (NC) tan solo mediante la creatinina sérica. Así pues, el National Kidney Disease Education Program (Programa Nacional de Educación sobre la Nefropatía) recomienda encarecidamente que los laboratorios informen de forma rutinaria de la tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) cuando se mida la creatinina sérica en los pacientes mayores de 18 años. La comunicación de forma rutinaria de la eGFR junto con todas las determinaciones de creatinina sérica permite a los laboratorios ayudar a identificar a los individuos con función renal reducida y contribuye a facilitar la detección de la NC. Los valores calculados de la eGFR <60 mL/min generalmente están asociados con un mayor riesgo de resultados adversos de la NC.

Piccolo calcula la eGFR usando la edad, el sexo y la raza del paciente. El método de Piccolo para la creatinina es comparable con el método de referencia para la creatinina IDMS, de forma que se puede utilizar la siguiente forma de la ecuación MDRD para el cálculo de la eGFR.

$$\text{GFR (mL/min/1,73 m}^2) = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1.154} \times (\text{edad})^{-0.203} \times (0,742 \text{ si es mujer}) \times (1,212 \text{ si es afroamericano})$$

#### Gamma glutamiltransferasa (GGT)

Los primeros métodos cuantitativos desarrollados para medir la gamma glutamiltransferasa (GGT) precisaban una segunda reacción para formar un colorante azoico que se combinaba con un cromóforo<sup>44,45</sup>. El cambio a L- $\gamma$ -glutamyl-*p*-nitroanilida como sustrato en la reacción eliminó el paso de formación del colorante<sup>46</sup>. Debido a la pobre solubilidad y estabilidad de L- $\gamma$ -glutamyl-*p*-nitroanilida, este procedimiento fue modificado para usar el sustrato L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida<sup>47</sup>. El método GGT recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) se basaba en el último sustrato, con la glicilglicina como el otro sustrato<sup>48</sup>.

Abaxis modificó el método IFCC para que reaccione a 37°C. El agregado de una muestra con gamma glutamiltransferasa a los sustratos L- $\gamma$ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida y glicilglicina (gli-gli) produce la formación de L- $\gamma$ -glutamyl-glicilglicina (glu-gli-gli) y 3-carboxi-4-nitroanilina.

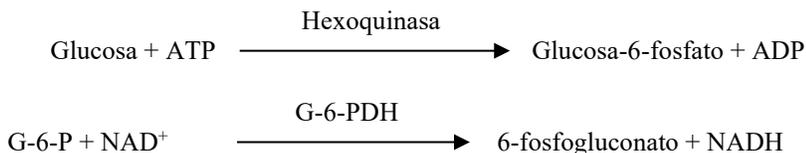


La absorbancia de este índice de reacción se mide a 405 nm. La producción de 3-carboxi-4-nitroanilina es directamente proporcional a la actividad de GGT en la muestra.

### Glucosa (GLU)

Las primeras mediciones de la concentración de glucosa fueron realizadas mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu<sup>49</sup> y Somogyi-Nelson<sup>50,51</sup>). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos mediante las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de glucosa incorporada en el disco reactivo químico general 13 de Piccolo es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que ha sido propuesto como base del método de referencia de glucosa<sup>52</sup>.

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>) a NADH.

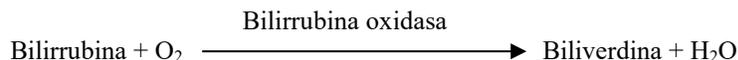


La absorbancia se mide bicromáticamente a 340 nm y 850 nm. La producción de NADH es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

### Bilirrubina total (TBIL)

Típicamente, los niveles de bilirrubina total se han evaluado por pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotizado<sup>53,54</sup>. Se ha desarrollado un método más moderno y más específico, que utiliza la enzima bilirrubina oxidasa<sup>55,56,57</sup>. Además de utilizar el método de prueba de la bilirrubina total más específico, la fotodegradación del parámetro se minimiza con el analizador Piccolo, porque la muestra se puede analizar inmediatamente después de obtenida.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina es oxidada por la bilirrubina oxidasa en biliverdina.

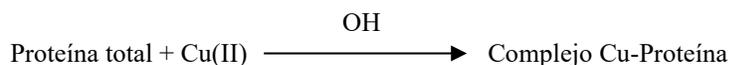


La bilirrubina se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.

### Proteína total (TP)

El método de las proteínas totales es una modificación de la reacción de biuret, reconocida por su precisión, exactitud y especificidad<sup>58</sup>. Originariamente desarrollada por Riegler<sup>59</sup> y modificada por Weichselbaum<sup>60</sup>, Doumas, et al<sup>61</sup>, propusieron una reacción de biuret como posible método de referencia para la determinación de proteínas totales.

En la reacción de biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico potásico y yoduro de potasio para impedir la precipitación de hidróxido de cobre y la autorreducción del cobre, respectivamente<sup>60</sup>. Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre los átomos de oxígeno carbonilo y nitrógeno amida para formar un complejo Cu-proteína coloreado.



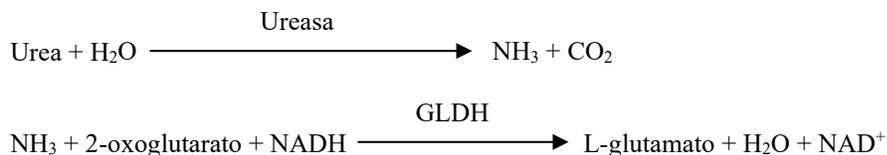
La cantidad de proteínas totales en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de proteína total es una reacción de valoración final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

### Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)

La urea puede ser medida tanto directa como indirectamente. La reacción de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, es la usada más comúnmente, pero emplea reactivos peligrosos<sup>62</sup>. Los métodos indirectos miden el amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas<sup>63</sup>. El amoníaco se cuantifica mediante distintos métodos, entre ellos la nesslerización (titulación ácida), la técnica de Berthelot<sup>64,65</sup> y las reacciones enzimáticas acopladas<sup>66,67</sup>. Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco<sup>68</sup>. Las

reacciones enzimáticas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad para el amoníaco y son las usadas habitualmente. Una de estas reacciones fue propuesta como posible método de referencia<sup>69</sup>.

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Al combinarse el amoníaco con 2-oxoglutarato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD<sup>+</sup>.

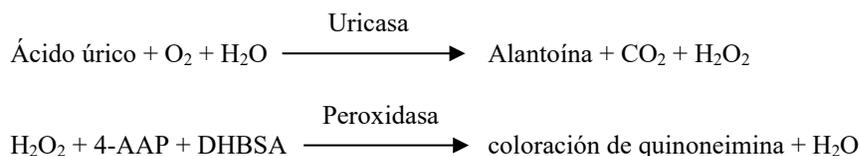


El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD<sup>+</sup> y es directamente proporcional a la cantidad de urea presente en la muestra.

### Ácido úrico (AU)

Los primeros métodos cuantitativos para determinar las concentraciones de ácido úrico en sangre se basaron en la reducción del ácido fosfotúngstico a azul de tungsteno en soluciones alcalinas de ácido úrico<sup>70,71</sup>. Se desarrolló una prueba de ácido úrico, con mayor especificidad, utilizando la enzima uricasa, específica para el ácido úrico. Desde entonces, este método ha pasado a ser la técnica química clínica de referencia para el ácido úrico<sup>72</sup>.

El método de la uricasa se acopla a través de un acabado de peroxidasa de Trinder<sup>73</sup>. En este método, la uricasa cataliza la oxidación de ácido úrico a alantoína y peróxido de hidrógeno. La peroxidasa cataliza la reacción entre el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), la 4-aminoantipirina (4-AAP) y el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenesulfónico (DHBSA) en una coloración de rojo quinoneimina. Se agrega ferrocianuro sódico y ascorbato oxidasa a la mezcla de la reacción para minimizar la potencial interferencia de bilirrubina y ácido ascórbico.



La cantidad de ácido úrico en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia de la coloración de quinoneimina. La absorbancia final de esta reacción de punto final se mide biocromáticamente a 500 nm y 600 nm.

## 4. Principios del procedimiento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

## 5. Descripción de los reactivos

### Reactivos

Cada disco reactivo químico general 13 de Piccolo contiene puntos específicos para pruebas secas (descritos a continuación). En cada disco se incluye un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizadores) para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), amilasa (AMY), aspartato aminotransferasa (AST), calcio (CA), gamma glutamiltransferasa (GGT), glucosa (GLU), nitrógeno ureico (BUN) y ácido úrico (AU). En el disco se incluyen muestras de referencia específicas para creatinina (CRE), bilirrubina total (TBIL) y proteína total (TP). Cada disco reactivo contiene también un disolvente formado por surfactantes, excipientes y estabilizadores.

**Tabla 1: Reactivos**

<b>Componente</b>	<b>Cantidad/disco</b>
Adenosina-5-difosfato	4 µg
Adenosina-5-trifosfato	11 µg
L-alanina	874 µg
4-aminoantipirina-HCl (4-AAP)	20 µg
Arsenazo III, sal sódica	3 µg
Ascorbato oxidasa ( <i>Cucurbita ssp.</i> )	0,5 U
Ácido L-aspártico	426 µg
Bilirrubina oxidasa	0,1 U
Púrpura de bromcresol	2 µg
2-Cloro- <i>p</i> -nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriosido (NPG3)	40 µg
Creatina amidinohidrolasa ( <i>Actinobacillus spp.</i> )	2 U
Creatinina amidohidrolasa ( <i>Pseudomonas spp.</i> )	1 U
Sulfato cúprico	134 µg
Ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenosulfónico (DHBSA)	37 µg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (levadura)	0,05 U
Ácido L-glutámico deshidrogenasa (hígado bovino)	0,01 U
Ácido L-glutámico $\gamma$ -(3-carboxi-4-nitroanilina), sal de amonio	30 µg
Glicilglicina	317 µg
Hexoquinasa (levadura)	0,1 U
$\alpha$ -cetoglutarato, sal disódica	28 µg
Ácido $\alpha$ -cetoglutarico	72 µg
Lactato deshidrogenasa (corazón de pollo)	0,002 U
Lactato deshidrogenasa (LDH) (microbiana)	0,03 U
Lactato deshidrogenasa ( <i>Staphylococcus epidermidis</i> )	0,1 U
Acetato de magnesio	7 µg
Cloruro de magnesio	3 µg
Malato deshidrogenasa (MDH) (corazón porcino)	0,01 U
Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD <sup>+</sup> )	20 µg
Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	18 µg
Peroxidasa (rábano)	0,8 U
<i>p</i> -Nitrofenil fosfato ( <i>p</i> -NPP)	56 µg
Ferrocianuro de potasio	0,4 µg
Yoduro de potasio	56 µg
Sarcosina oxidasa (microorganismos)	0,6 U
Ferrocianuro sódico	1 µg
Potasio sódico tartrato	686 µg
Ácido 2,4,6-Tribromo-3-hidroxibenzoico	188 µg
Ureasa (haba blanca)	0,05 U
Uricasa (microbiana)	0,04 U
Sulfato de zinc	3 µg
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y estabilizadores	

**Advertencias y precauciones**

- Para uso diagnóstico *in Vitro*
- El envase del diluyente en el disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un disco con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Compruebe que la muestra o la prueba fue colocada en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las prácticas de seguridad del laboratorio cuando manipule y elimine discos usados<sup>74</sup>. Consulte el Manual del operador del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames biopeligrosos.
- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallarse si se caen. **Nunca** use un disco que se haya caído ya que puede diseminar material biológico peligroso en el interior del analizador.
- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso en que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras dejar caer y romper un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

### Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los discos de reactivo pueden ser usados directamente del refrigerador sin calentar. No permita que los discos permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes de usar. Abra la bolsa de cierre hermético y saque el disco, teniendo cuidado de no tocar el anillo del código de barras situado en la parte superior del disco. Utilizar de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o Piccolo Xpress. Debe desechar los discos no usados en los 20 minutos siguientes a la apertura de la bolsa.

### Almacenamiento

Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2–8°C (36–46°F). No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32°C (90°F). Los discos de reactivo pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en el paquete. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress.

### Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo

Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin uso entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar el rendimiento del reactivo de manera negativa. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

## 6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress para obtener información completa acerca del uso del analizador.

## 7. Recolección y preparación de las muestras

En la sección “Obtención de muestras” del manual del operador del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o material de referencia. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta el tubo de recolección con suavidad varias veces antes de transferir la muestra. No sacuda el tubo de recolección; esto puede causar hemólisis.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción<sup>75</sup>. Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el tiempo transcurrido desde que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida de él. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente que haya ayunado por lo menos, durante 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5–12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente<sup>76</sup>.
- La refrigeración de muestras de sangre entera puede provocar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa, creatinina y glucosa**<sup>77</sup>. La muestra puede separarse en plasma o suero, y almacenarse en tubos de ensayo tapados a 2–8°C (36–46°F) si la muestra no se analiza dentro de los 60 minutos.
- Los resultados de la **bilirrubina total** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación<sup>78</sup>. Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato se deben almacenar en la oscuridad por períodos que no excedan los 60 minutos.

Si la muestra no se puede analizar dentro de dicho período, debe separarse en plasma o suero, y almacenarse en un tubo de muestra con tapa, en la oscuridad a baja temperatura<sup>79</sup>.

- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).
- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.

## 8. Procedimiento

### Materiales suministrados

- Un disco reactivo químico general 13 de Piccolo PN: 400-1029 (una caja de discos PN: 400-0029)

### Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico sanguíneo de Piccolo o analizador químico Piccolo Xpress.
- Con cada analizador químico de sangre Piccolo o analizador químico Piccolo Xpress se suministran pipetas de transferencia de muestras (volumen fijo de aproximadamente 100 µl) y puntas, y pueden solicitarse repuestos a Abaxis.
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).
- Cronómetro

### Parámetros de prueba

El analizador químico de sangre Piccolo o Piccolo Xpress funciona a una temperatura ambiente entre 15° C y 32°C (59-90°F). El tiempo de análisis para cada disco reactivo químico general 13 de Piccolo es menor a 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37°C (98,6°F) durante el intervalo de medición.

### Procedimiento de prueba

La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso a paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress.

### Calibrado

El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress está calibrado por el fabricante antes de su envío al cliente. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del disco. Ver el Manual del operador del analizador químico Piccolo o Piccolo Xpress.

### Control de calidad

Consulte la Sección 2.4 del manual del usuario de Piccolo o la Sección 6 (Calibración y control de calidad) del manual del usuario de Piccolo Xpress. El rendimiento del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo Xpress puede verificarse por medio de controles. Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para solicitar una lista de los materiales de control de calidad homologados con los límites de aceptación. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles. Los materiales de control de calidad deben almacenarse conforme a las instrucciones del prospecto incluido con los controles.

Si los controles dan resultados fuera de los límites, repita una vez. Si siguen fuera de los límites, llame al servicio de asistencia técnica. Si los controles incumplen los límites de la etiqueta, no utilice sus resultados. Consulte el Manual del usuario de Piccolo o Piccolo Xpress para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

**Laboratorios exonerados:** Abaxis recomienda las pruebas de control de la siguiente manera:

- Al menos cada 30 días.
- Siempre que hayan cambiado las condiciones de laboratorio de manera significativa, por ejemplo, traslado del Piccolo a otro lugar o cambios en el control de temperatura.
- Cuando se indique la formación o nueva formación del personal.
- Con cada lote nuevo (análisis exonerados por CLIA en laboratorios en estado exonerado).

**Laboratorios no exonerados:** Abaxis recomienda que las pruebas de control se hagan conforme a las recomendaciones federales, estatales y locales.

## 9. Resultados

El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress calcula e imprime automáticamente las concentraciones de analitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario del analizador químico en cuestión.

En el manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados. Éstos se imprimen en tarjetas de resultado proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

## 10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress.

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico de sangre Piccolo o el sistema químico Piccolo Xpress es **heparina-litio**. No utilizar heparina sódica.
- Abaxis realizó estudios que demuestran que EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante que contenga iones de amonio interferirán al menos con un producto químico contenido en el disco reactivo químico general 13 de Piccolo.
- Las muestras con hematocritos que superen el 62-65% del volumen concentrado de eritrocitos (una fracción de volumen de 0,62-0,65) pueden dar resultados falsos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo disco reactivo.
- **Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress.**

**Advertencia:** Pruebas exhaustivas del sistema químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al disco reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo disco reactivo.

## Interferencia

Se probaron sustancias que interfieren con los sustratos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada interferente potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-P<sup>80</sup>.

## Efectos de las sustancias endógenas

- Los interferentes fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipemia) causan cambios en las concentraciones informadas de algunos parámetros. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de obstáculos presentes en cada muestra.
- El sistema químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress suprime cualquier resultado que sea afectado por más del 10% de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la tarjeta tendrá impreso "HEM", "LIP" o "ICT" respectivamente.
- Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

## Efectos de las sustancias exógenas y terapéuticas

- Se seleccionaron treinta y cinco sustancias exógenas y terapéuticas como interferentes potenciales para los métodos de prueba de Abaxis sobre la base de las recomendaciones de Young.<sup>81</sup> La interferencia significativa se define como una desviación >10 % en el resultado para una muestra dentro de los valores normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con una concentración conocida de los fármacos o productos químicos, y después analizadas.

**Tabla 2: Exógenos y sustancias terapéuticas evaluados**

	Rango fisiológico o terapéutico <sup>80-85</sup> (mg/dl)	Concentración más elevada probada (mg/dl)
Acetaminofeno	1-2	100
Acetoacetato	0,05-3,60	102
Ácido acetilsalicílico	2-10	50
Ampicilina	0,5	30
Ácido ascórbico	0,8-1,2	20
Cafeína	0,3-1,5	10
Cloruro de calcio	—	20
Cefalotina (Keflin)	10	400
Cloranfenicol	1-2,5	100
Cimetidina	0,1-1	16
L-dopa	—	5
Dopamina	—	19
Epinefrina	—	1
Eritromicina	0,2-2,0	10
Glutation	—	30
Ibuprofeno	0,5-4,2	50
Isoniacida	0,1-0,7	4
$\alpha$ -cetoglutarato	—	5
Cetoprofen	—	50
Meticilina	—	100
Metotrexato	0,1	0,5
Metildopa	0,1-0,5	0,5
Metronidazol	0,1	5
Nafcilina	—	1
Nitrofurantoína	0,2	20
Oxacilina	—	1
Oxaloacetato	—	132
Fenitoína	1-2	3
Prolina	—	4
Piruvato	0,3-0,9	44
Rifampina	0,4-3	1,5
Ácido salicílico	15-30	25
Sulfalazina	2-4	10
Sulfanilamida	10-15	50
Teofilina	1-2	20

- Las siguientes sustancias mostraron una interferencia superior al 10 %. Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al 10 % en el resultado para una muestra en límites normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con concentraciones conocidas de los fármacos o químicos, y luego analizadas.

**Tabla 3: Sustancias con interferencia significativa >10 %**

	<b>Rango fisiológico/ terapéutico <sup>80-85</sup> (mg/dl)</b>	<b>Concentración con &gt; 10 % interferencia (mg/dl)</b>	<b>% Interferencia</b>
<b>Alanina aminotransferasa (ALT)</b>			
Ácido ascórbico	0,8–1,2	20	11% aum.*
Oxaloacetato	—	132	843% aum.
<b>Albúmina (ALB)</b>			
Acetoacetato	0,05–3,60	102	18% dism.*
Ampicilina	0,5	30	12% dism.
Cafeína	0,3–1,5	10	14% dism.
Cloruro de calcio	—	20	17% dism.
Cefalotina (Keflin)	10	400	13% aum.
Ibuprofeno	0,5–4,2	50	28% aum.
α-cetoglutarato	—	5	11% dism.
Nitrofurantoína	0,2	20	13% dism.
Prolina	—	4	12% aum.
Sulfalazina	2–4	10	14% dism.
Sulfanilamida	10–15	50	12% dism.
Teofilina	1–2	20	11% dism.
<b>Fosfatasa alcalina (ALP)</b>			
Teofilina	1–2	20	42% dism.
<b>Creatinina (CRE)</b>			
Ácido ascórbico	0,8–1,2	20	11% dism.
Dopamina	—	19	80% dism.
L-dopa	—	5	71% dism.
Epinefrina	—	1	45% dism.
Glutation	—	30	13% dism.
<b>Glucosa (GLU)</b>			
Oxaloacetato	—	132	11% dism.
Piruvato	0,3–0,9	44	13% dism.
<b>Bilirrubina total (TBIL)</b>			
Dopamina	—	19	55% dism.
L-dopa	—	5	17% dism.
<b>Ácido úrico</b>			
Ácido ascórbico	0,8–1,2	20	13% dism.
Epinefrina	—	1	14% dism.
L-dopa	—	5	78% dism.
Metildopa	0,1–0,5	0,5	12% dism.
Rifampina	0,4–3	1,5	14% dism.
Ácido salicílico	15–30	25	20% dism.

\* aum. = aumento; dism. = disminución.

Consulte la bibliografía para obtener información adicional sobre posibles interferencias químicas.

## 11. Valores esperados

Se usaron muestras de un total de 193 adultos varones y mujeres, analizadas en el analizador químico sanguíneo de Piccolo para determinar los intervalos de referencia para ALT, ALB, ALP, calcio, creatinina, glucosa, TBIL, TP y BUN. Se usaron muestras de un total de 186 adultos varones y mujeres para determinar el intervalo de referencia de la AST y ácido úrico. Se usaron muestras de un total de 131 adultos varones y mujeres para determinar el intervalo de referencia de la GGT. Estos intervalos sólo se ofrecen como guía. Se recomienda que su consultorio o institución establezca los intervalos normales para su población de pacientes en particular.

**Tabla 4: Intervalos de referencia Piccolo**

Sustrato	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	10–47 U/l	10–47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3–5,5 g/dl	33–55 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)		
Mujer	42–141 U/l	42–141 U/l
Varón	53–128 U/l	53–128 U/l
Amilasa (AMY)	14–97 U/l	14–97 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	11–38 U/l	11–38 U/l
Calcio (CA)	8,0–10,3 mg/dl	2,0–2,58 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,6–1,2 mg/dl	53–106 µmol/l
Gamma glutamiltransferasa (GGT)	5–65 U/l	5–65 U/l
Glucosa (GLU)	73–118 mg/dl	4,05–6,55 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,2–1,6 mg/dl	3,4–27,4 µmol/l
Proteína total (TP)	6,4–8,1 g/dl	64–81 g/l
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	7–22 mg/dl	2,5–7,9 mmol/urea/l
Ácido úrico		
Mujer	2,2–6,6 mg/dl	0,13–0,39 mmol/l
Varón	3,6–8,0 mg/dl	0,21–0,47 mmol/l

## 12. Características de eficacia

### Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico indicado a continuación cuando el analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress funciona de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress).

**Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo**

Sustrato	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Albúmina (ALB)	1–6,5 g/dl	10–65 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)	5–2400 U/l	5–2400 U/l
Amilasa (AMY)	5–4000 U/l	5–4000 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Calcio	4,0–16,0 mg/dl	1,0–4,0 mmol/l
Creatinina	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
Gamma glutamiltransferasa (GGT)	5–3.000 U/l	5–3.000 U/l
Glucosa	10–700 mg/dl	0,56–38,9 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,1–30 mg/dl	1,7–513 µmol/l
Proteína total (TP)	2–14 g/dl	20–140 g/l
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol/urea/l
Ácido úrico	1–15 mg/dl	0,1–0,9 mmol/l

Si la concentración del analito es superior al intervalo de medición (intervalo dinámico), pero inferior al intervalo del sistema, en la tarjeta impresa se indicarán un signo “>” en el límite superior y un asterisco detrás del número, por ejemplo, ALT >2000\* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá “<” con un asterisco, por ejemplo, ALT <5\* U/l. Para valores que tengan un valor enormemente más alto que el intervalo de medición (intervalo del sistema), se imprimirá “~~~” en lugar del resultado.

Cada vez que aparezca “~” en la tarjeta impresa, recoja una muestra nueva y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Abaxis.

### Sensibilidad (límites de detección)

El límite inferior del intervalo informable (dinámico) para cada analito es: alanina aminotransferasa 5 U/l; albúmina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasa alcalina 5 U/l; amilasa 5 U/l; aspartato aminotransferasa 5 U/l; calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); gamma glutamiltransferasa 5 U/l; glucosa 10 mg/dl (0,56 mmol/l); bilirrubina total 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); proteína total 2 g/dl (20 g/l); nitrógeno ureico 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l); y ácido úrico 1 mg/dl (0,1 mmol/l).

### Precisión

Se realizaron estudios de precisión que utilizaron las recomendaciones NCCLS EP5-T2<sup>86</sup>. Se determinaron los resultados de precisión total e intraserial evaluando dos niveles del material de referencia. Se realizaron los controles por duplicado dos veces durante 20 días a lo largo de un período de cuatro semanas. Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6: Precisión (N=80)**

<b>Parámetro</b>	<b>Intraserial</b>	<b>Total</b>
<b>Alanina aminotransferasa (U/l)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	21	21
DE	2,76	2,79
% VR	13,4	13,5
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	52	52
DE	2,70	3,25
% VR	5,2	6,2
<b>Albúmina (g/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	5,6	5,6
DE	0,09	0,11
% VR	1,7	2,1
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	3,7	3,7
DE	0,07	0,11
% VR	2,0	2,9
<b>Fosfatasa alcalina (U/l)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	39	39
DE	1,81	2,29
% VR	4,6	5,8
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	281	281
DE	4,08	8,75
% VR	1,5	3,1
<b>Amilasa (U/l)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	46	46
DE	2,40	2,63
% VR	5,2	5,7
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	300	300
DE	11,15	11,50
% VR	3,7	3,8

**Tabla 6: Precisión (N=80) (cont.)**

<b>Parámetro</b>	<b>Intraserial</b>	<b>Total</b>
<b>Aspartato aminotransferasa (U/l)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	47	49
DE	0,98	0,92
% VR	2,1	1,9
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	145	147
DE	1,83	1,70
% VR	1,3	1,2
<b>Calcio (mg/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	8,6	8,6
DE	0,21	0,25
% VR	2,4	2,9
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	11,8	11,8
DE	0,39	0,40
% VR	3,3	3,4
<b>Creatinina (mg/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	1,1	1,1
DE	0,14	0,14
% VR	12,5	13,1
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	5,2	5,2
DE	0,23	0,27
% VR	4,4	5,2
<b>Gamma glutamiltransferasa (U/l)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	25	25
DE	0,59	0,74
% VR	2,34	2,94
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	106	106
DE	1,52	2,29
% VR	1,43	2,15
<b>Glucosa (mg/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	66	66
DE	0,76	1,03
% VR	1,1	1,6
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	278	278
DE	2,47	3,84
% VR	0,9	1,4

**Tabla 6: Precisión (N=80) (cont.)**

<b>Parámetro</b>	<b>Intraserial</b>	<b>Total</b>
<b>Bilirrubina total (mg/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	0,8	0,8
DE	0,06	0,07
% VR	8,0	9,3
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	5,2	5,2
DE	0,09	0,15
% VR	1,7	2,8
<b>Proteínas totales (g/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	6,8	6,8
DE	0,05	0,08
% VR	0,8	1,2
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	4,7	4,7
DE	0,09	0,09
% VR	2,0	2,0
<b>Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	19	19
DE	0,35	0,40
% VR	1,9	2,1
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	65	65
DE	1,06	1,18
% VR	1,6	1,8
<b>Ácido úrico (mg/dl)</b>		
<u>Nivel de referencia 1</u>		
Media	3,8	3,8
DE	0,15	0,18
% VR	4,0	4,8
<u>Nivel de referencia 2</u>		
Media	7,5	7,5
DE	0,24	0,29
% VR	3,2	3,9

**Correlación**

Las muestras de suero y de sangre entera heparinizadas de los pacientes se extrajeron de dos sitios. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico de sangre de Piccolo en los sitios de campo y las muestras séricas se analizaron mediante métodos de comparación. En los dos casos, se utilizaron los resultados de las pruebas de las muestras séricas con Piccolo y éstos fueron indicados convenientemente en la tabla. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Todas las muestras fueron probadas en singlicato el mismo día. En la tabla 7 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

**Tabla 7: Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación**

	<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>Pendiente</b>	<b>Intercepta</b>	<b>VER</b>	<b>N</b>	<b>Límites de la muestra</b>	<b>Método de comparación</b>
<b>Alanina Aminotransferasa (U/l)</b>	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10–174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10–174	Technicon
<b>Albúmina (g/dl)</b>	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
<b>Fosfatasa alcalina (U/l)</b>	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27–368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26–150	Technicon
<b>Amilasa (U/l)</b>	0,979	0,692	-4,7	3,11	99	11–92	Paramax
	0,963	1,065	-4,1	3,47	80	19–118	Technicon
<b>Aspartato aminotransferasa (U/l)</b>	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13–111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13–252	DAX™
<b>Calcio (mg/dl)</b>	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
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	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
<b>Gamma glutamiltransferasa (U/l)</b>	1,0	0,98	-0,4	3,29	135	5–312	Paramax
	1,0**	1,60	3,1	18,57	49	27–1848	Beckman
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72–422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56–646	Beckman
<b>Bilirrubina total (mg/dl)</b>	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2–3,7	Paramax
	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1–6,4	Beckman
<b>Proteínas totales (g/dl)</b>	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
<b>Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)</b>	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6–52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6–38	Beckman
<b>Ácido úrico (mg/dl)</b>	0,979	0,958	-0,3	0,20	159	1,4–7,6	Paramax
	0,975	0,908	-0,6	0,31	44	2,1–12,1	DAX

\* Las muestras séricas de pacientes hospitalizados proporcionaron un rango de muestra más amplio, y posiblemente más útil, que las muestras de sangre entera venosa de pacientes ambulatorios. Las estadísticas de correlación para las pruebas del calcio de Piccolo corresponden a estas muestras de suero.

\*\* Un sitio utilizó solamente suero en el analizador Piccolo para la correlación de gamma glutamiltransferasa.

## Resultados de un estudio con usuarios sin preparación

Se llevó a cabo un estudio con “usuarios sin preparación”, en el que los participantes, únicamente con las instrucciones del análisis que se les proporcionaban, debían analizar tres discos con muestras aleatorizadas a ciegas. Las muestras se prepararon a base de suero con tres niveles de cada uno de los trece analitos: ALT, albúmina, ALP, AMY, AST, calcio, creatinina, GGT, glucosa, bilirubina total, proteína total, BUN y UA. Los participantes no tenían ninguna formación en la realización del análisis. Se reclutaron en total aproximadamente 60 participantes de 3 centros, que constituían una población suficientemente diversa (estudios, edad, sexo, etc.) a efectos demográficos.

En las tablas siguientes se muestra un resumen del rendimiento de cada analito.

### Alanina aminotransferasa (ALT)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	45,4 U/l	98,9 U/l	184,3 U/l
% VR	3,7%	1,7%	1,5%
Intervalo observado	42 – 53	96 – 103	175 – 191
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 15,0\%^*$	98,4% 61/62 95% IC: 91,3% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

\* Este porcentaje está basado en el supuesto de que es imposible distinguir correctamente entre valores normales y anormales cuando el error es mayor de una cuarta parte de intervalo normal. Se utilizó el intervalo (10 U/l - 47 U/l).

### Albúmina

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	3,0 g/dl	3,5 g/dl	4,2 g/dl
% VR	2,7%	2,5%	1,8%
Intervalo observado	2,9 – 3,2	3,3 – 3,7	4,0 – 4,4
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 12,5\%$	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

### Fosfatasa alcalina (ALP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	94,5 U/l	171,5 U/l	337,5 U/l
% VR	5,2%	3,2%	2,4%
Intervalo observado	85 – 106	160-184	287 – 388
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 15,0\%$	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

### Amilasa (AMY)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	72,1 U/l	126,9 U/l	260,0 U/l
% VR	2,4%	2,1%	1,9%
Intervalo observado	67 – 75	120 – 133	248 – 273
Porcentaje de resultados en el intervalo $\pm 15,0\%$	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Aspartato aminotransferasa (AST)**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	56,0	120,4	276,3
% VR	2,4%	1,1%	1,0%
Intervalo observado	54 – 60	117 – 124	266 – 285
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Calcio**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	8,0	10,5	13,1
% VR	1,7	1,5	1,4
Intervalo observado	7,7 – 8,4	10,1 – 11,0	12,6 – 13,4
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 6,3%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Creatinina**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,89	2,07	6,89
% VR	11,0	5,0	1,6
Intervalo observado	0,7 – 1,2	1,8 – 2,3	6,5 – 7,2
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	93,6 58/62 95% IC: 84,3% a 98,2%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Gamma glutamiltransferasa (GGT)**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	35,0 U/l	86,2 U/l	131,3 U/l
% VR	2,8%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	33 – 38	83 – 90	123 – 135
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Glucosa**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	95,2	130,3	365,8
% VR	1,1%	1,0%	0,8%
Intervalo observado	93 – 98	125 – 133	351 – 373
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 10,4%**	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

\*\* Se consideraron límites de (65 mg/dl - 99 mg/dl).

**Bilirrubina total (TBIL)**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,86 mg/dl	2,5 mg/dl	5,7 mg/dl
% VR	6,1%	2,6%	1,8%
Intervalo observado	0,8 – 1,0	2,3 – 2,6	5,4 – 5,9
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Proteína total (TP)**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	4,8 g/dl	5,7 g/dl	7,1 g/dl
% VR	2,0%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	4,6 – 5,3	5,3 – 5,9	6,7 – 7,5
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 5,9%	98,4% 61/62 95% IC: 91,3% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	15,1	41,0	72,2
% VR	2,3	2,5	1,8
Intervalo observado	14 – 16	37 – 43	68 – 75
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

**Ácido úrico**

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	2,96	4,92	11,10
% VR	4,7	3,1	2,8
Intervalo observado	2,7 – 3,4	4,6 – 5,7	10,4 – 12,1
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% IC: 94,2% a 100%

### 13. Símbolos



Fecha de caducidad



Número de catálogo



Código de lote



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Consúltense las instrucciones de uso



Fabricante



No reutilizar



X número de dispositivos para pruebas en el kit



Secuencia de fabricación



Número de serie



Precaución



Límite de temperatura

PN:  
Número de partes



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Marca CE de conformidad con la legislación europea



Código de barras para el sector sanitario, (Health Industry Bar Code, HIBC), forma de identificación unificada para productos conforme a la UDI.



Identificador único de dispositivo, (Unique Device Identifier, UDI) en formato legible por humanos y por máquinas, que se emplea para identificar los productos sanitarios para su correcta distribución y uso.



Equipo electrónico: Desechar correctamente. Equipo fabricado/comercializado después del 13 de Agosto de 2005; Indica conformidad con el Artículo 14(4) de la Normativa 2012/19/EU (WEEE) para la Unión Europea (EU).

## 14. Bibliografía

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. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>a</sup> ed. Kaplan LA, Pesce AJ, comp. 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. 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, y otros. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948;18:723-30.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961;7:626-36.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966;12:414-17.
11. Gendler SM, Albumin. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>a</sup> ed. Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, EC Attwood. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, NA Taylor. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978; 24: 80-86.
15. King, EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 1954 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. 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, y otros. Mechanism of action of  $Mg^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble  $Zn^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, y otros. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-761
21. Bowers GN, Jr, y otros. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979 98: 163F-174F.
22. McNeely MDD. Amylase. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>a</sup> ed. Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
23. Zinterhofer L, y otros. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. *Clin Chim Acta* 1973; 43: 5-12.
24. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; nov, 1975.
25. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. *Clin Chem* 1960; 6: 23-35.
26. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of  $\alpha$ -amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl  $\alpha$ -maltoside as substrate. *Clin Chem* 1977; 23: 2279-2282.
27. Wallenfels K, y otros. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. *Carbohydrate Res* 1978; 61: 359-368.
28. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955 34: 131-133.
29. Bergmeyer, HU, y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977 23: 887-899.
30. Bergmeyer HU, Horder M, Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24:720-721
31. Kramer B, Tisdall FF. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J Biol Chem* 1921; 47: 475-481.

#### 14. Bibliografía (cont.)

32. Clark EP, Collips JB. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. *J Biol Chem* 1925; 63: 461-464.
33. Katzman E, Jacobi M. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J Biol Chem* 1937; 118: 539-544.
34. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. En: GR Cooper, comp., *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol 8. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
35. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
36. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.
37. Scarpa A y otros. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112.
38. Knoll VE, Stamm D. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8: 582-587.
39. Haecckel R. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
40. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
41. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
42. Fossati P, Prencipe L, y Berti G. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
43. Whelton A, Watson AJ, Rock RC. Nitrogen metabolites and renal function. En: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2ª ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 1513-1575.
44. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of  $\square$ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
45. Goldbarg JA, y otros. The colorimetric determination of  $\square$ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
46. Orłowski M, Meister A.  $\gamma$ -Glutamyl-p-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D- $\square$ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochim Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
47. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of  $\gamma$ -glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
48. Shaw LM, y otros. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for  $\gamma$ -glutamyltransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
49. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
50. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
51. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 1944; 153: 375-380.
52. Kaplan LA. Glucose. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AJ, comps., St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
53. Malloy, HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
54. Meites, S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. En: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol. 9. Faulkner WR, Meites S, comps. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.58.
55. Murao S Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-2384.
56. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1984; 30: 971. (Abstract)
57. Perry B y otros. of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-332.
58. Koller A Kaplan LA. Total serum protein. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AJ, comps., St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
59. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-245.
60. 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.
61. Doumas BT y otros. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27: 1642-1650.
62. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. En: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol 9. Faulkner WR, Meites S, comps. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
63. 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.

#### 14. Bibliografía (cont.)

64. Fawcett JK, Scott JE. A rapid and precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol* 1960; 13: 156-159.
65. Chaney AL, Marbach EP. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem* 1962; 8: 130-132.
66. Talke H, Schubert GE. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensh* 1965; 43: 174-175.
67. Hallett CJ, Cook JGH. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta* 1971; 35: 33-37.
68. Patton CJ, Crouch SR. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem* 1977; 49: 464-469.
69. Sampson EJ y otros. 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.
70. Folin O, Denis W. A new (colorimetric) method for the determination of uric acid in blood. *J Biol Chem* 1912-1913; 13: 469-475.
71. Brown H. The determination of uric acid in human blood. *J Biol Chem* 1945; 158: 601-608.
72. Feichtmeier TV, Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955; 25: 833-839.
73. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980; 26: 227-231.
74. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines; tentative guide line – segunda edición. NCCLS Document POL1-T2 Wayne, PA: NCCLS, 1992.
75. 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.
76. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39: 35-40.
77. 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.
78. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. En: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
79. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2ª ed. New York: Harper and Row. 1974: 417-421; 1058-1059
80. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Publication EP7-P. Wayne, PA: NCCLS, 1986.
81. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3ª ed. Washington, DC: AACC Press. 1990.
82. Benet LZ, Williams RL. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. In: *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8ª ed. Gilman AG, y otros, comps. New York: McGraw-Hill, Inc. 1990: 1650-1735.
83. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. 1991 suplemento a la tercera edición. Washington, DC: AACC Press. 1991.
84. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. En: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2ª ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 735-896.
85. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Appendix. En: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2ª ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 2161-2217.
86. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – segunda edición. NCCLS Document EP5-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.