

Disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo®



Exclusivamente para uso diagnóstico

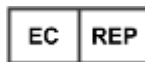
in vitro y para uso profesional

Servicio al cliente y técnico: 1-800-822-2947

Clientes fuera de EE. UU.: +49 6155 780 210



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



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Indicaciones

El disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo®, usado con el analizador químico Piccolo Xpress®, está diseñado para ser usado para la determinación cuantitativa *in-vitro* de proteína c reactiva (CRP), cloruro, creatina quinasa, creatinina, glucosa, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico (BUN) en sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina litio o suero, en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care. El método Abaxis CRP no está ideado para la medición de CRP de alta sensibilidad.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo y el analizador químico xpress constituyen un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al médico en el diagnóstico de las siguientes enfermedades:

Proteína C reactiva (CRP):	Infección, daño tisular y trastornos inflamatorios.
Cloruro:	Deshidratación, diarrea y vómitos prolongados, tubulopatía renal, hiperparatiroidismo, quemaduras, nefropatías perdedoras de sal, sobrehidratación y tratamiento con tiazidas.
Creatina quinasa:	Infarto de miocardio, distrofia muscular progresiva, dermatomiositis, rabdomiolisis debida a ingestión de fármacos, hiperosmolalidad, enfermedad autoinmune, delirium tremens, convulsiones, síndrome de Crush, hipotiroidismo, cirugía, ejercicio físico severo, inyección intramuscular, inactividad física, reducción en la masa muscular.
Creatinina:	Enfermedad renal y control de diálisis renal.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus e hipoglucemia del adulto y juvenil.
Potasio:	Enfermedad glomerular o tubular renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento excesivo con potasio endovenoso, sepsis, panhipopituitarismo, hemólisis <i>in vitro</i> , hiperaldosteronismo, malnutrición, hiperinsulinismo, alcalosis metabólica y pérdida gastrointestinal.
Sodio:	Deshidratación, diabetes insípida, pérdida de líquidos gastrointestinales hipotónicos, intoxicación por sal, disminución selectiva de la sensación de sed, pérdidas cutáneas, quemaduras, sudoración, hiperaldosteronismo, alteraciones del SNC, hiponatremia por dilución, por depleción y por delirio, y síndrome de secreción inadecuada de HAD.
Dióxido de carbono total:	Alcalosis y acidosis metabólica primarias, y alcalosis y acidosis respiratoria primarias.
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN):	Enfermedades renales y metabólicas.

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

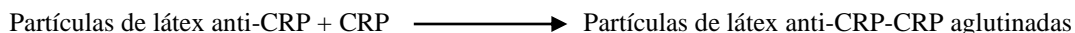
3. Principio del procedimiento

Proteína C reactiva (CRP):

Las pruebas originales para cuantificar la CRP se realizaron principalmente con fines de investigación y basándose en la metodología ELISA.¹ Más recientemente, se han utilizado métodos inmunofelométricos mejorados con látex.² No obstante;

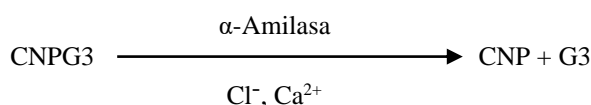
esto requiere un nefelómetro para medir la dispersión de la luz. Se han diseñado varias pruebas inmunturbidimétricas e inmunoluminométricas automatizadas que se pueden llevar a cabo con analizadores químicos clínicos convencionales.³

El método utilizado por Abaxis es un inmunoensayo turbidimétrico de aglutinación con látex. La muestra se mezcla con una suspensión de anticuerpos monoclonales de CRP antihumanos de ratón fijada al látex. La CRP en la muestra se une a las partículas de látex-anticuerpo y se aglutina creando turbidez. La dispersión de la luz de la turbidez se utiliza como medida de CRP. La turbidez se mide como un cambio en la absorbancia a 630 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la CRP en la muestra.



Cloruro (CL⁻)

El método se basa en la determinación de la activación, dependiente del cloruro, de la actividad de la α -amilasa. La α -amilasa desactivada se reactiva al añadir el ion cloruro, permitiendo que el calcio se vuelva a asociar con la enzima. La reactivación de la α -amilasa es proporcional a la concentración de iones de cloruro en la muestra. La α -amilasa reactivada convierte el sustrato, 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriosido (CNP3) en 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) que produce color y una α -maltotriosa (G3). La reacción se mide biocromáticamente y el aumento en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la α -amilasa reactivada y la concentración de ión cloruro en la muestra.⁴

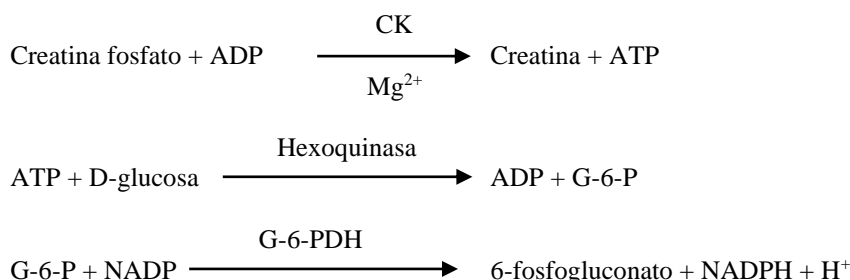


Creatina quinasa (CK)

La creatina quinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina por la adenosina trifosfato (ATP). La reacción de fosforilación se favorece por las condiciones alcalinas (óptimo a pH 9,0) y la reacción de desfosforilación es favorecida por las condiciones ácidas (óptimo a pH 6,5 a 37 °C). Los primeros métodos de medición de la CK se basaron en la “reacción anterógrada” con creatina fosfato y adenosina difosfato (ADP) como los productos.^{5,6,7} La sensibilidad de estas pruebas se demostró que era baja debido a problemas con interferencias. El procedimiento de elección utiliza la “reacción inversa” juntamente con una reacción que produce NADPH, que se relaciona de manera directa con los niveles de CK.^{8,9,10}

El procedimiento de medición CK usado por Abaxis es una versión modificada del método de la Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).¹¹ Las modificaciones principales son la fracción de volumen de la muestra, el amortiguador y la temperatura. Se agregó n-acetilo cisteína (NAC) para reactivar la CK¹². Se usó magnesio como factor para la CK y la hexoquinasa. Se agregó EDTA como estabilizador NAC y para la eliminación de varios cationes, como el calcio y el hierro, que inhiben a la CK. También se agregaron P¹, P⁵-di (adenosina-5') penta fosfato y adenosina monofosfato (AMP) para inhibir la adenilato quinasa, otra enzima de músculo esquelético y eritrocitos que reacciona con los sustratos utilizados para medir la CK.

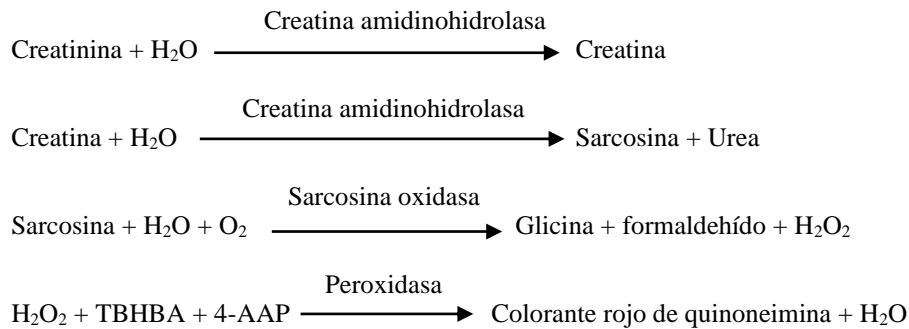
La creatina quinasa cataliza la formación de creatina y ATP a partir de creatina fosfato y ADP a pH 6,7. Con hexoquinasa como catalizador, ATP reacciona con D-glucosa para formar ADP y d-glucosa-6-fosfato (G-6-P), que reacciona con nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) para producir G-6-P y NADPH.



La formación de NADPH se mide como cambio en la absorbancia a 340 nm en relación con 405 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la creatina quinasa en la muestra.

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 fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción.^{13,14} Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe.^{15,16,17} Los métodos que utilizan la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan los problemas de la interferencia del ión amoníaco que se encuentra en las técnicas que usan la creatinina iminohidrolasa.¹⁸



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. El criterio de valoración del fin de la reacción se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 600 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.

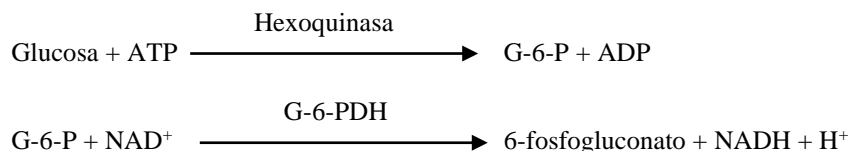
Piccolo calcula la eGFR usando la edad, el sexo y la raza del paciente. El método de Piccolo para la creatinina es comparable con el método de referencia para la creatinina IDMS, de forma que se puede utilizar la siguiente forma de la ecuación MDRD para el cálculo de la eGFR.

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

Glucosa (GLU)

Las primeras mediciones de la concentración de glucosa fueron realizadas mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu¹⁹ y Somogyi-Nelson^{20,21}). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa incorporada en el disco reactivo MetLyte Plus CRP es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.²²

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por hexoquinasa (HK), resulta en 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^+) a NADH.

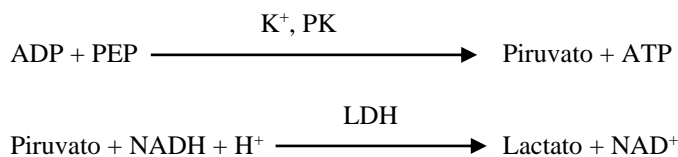


Potasio (K^+)

Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. El método enzimático Abaxis se basa en la activación de la piruvato quinasa con potasio, y muestra una linealidad excelente y una susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas.^{23,24,25} La interferencia de los iones sodio y amonio se reduce al mínimo al añadir Kryptofix y glutamina sintetasa, respectivamente.²³

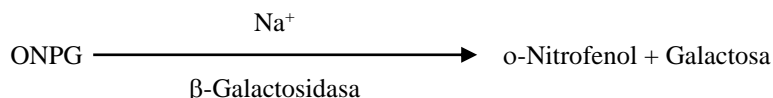
En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvatoquinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactatodeshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a

NAD⁺. El rango de cambio en la diferencia de absorbancia entre 340 y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.



Sodio (Na⁺)

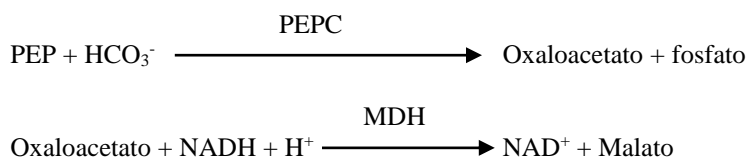
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración de sodio mediante instrumentación química clínica estándar.^{26,27,28} En la reacción enzimática de Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio presente en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.



Dióxido de carbono total (tCO₂)

El dióxido de carbono total en suero o en plasma existe como dióxido de carbono disuelto, derivados carbamino de las proteínas, iones de bicarbonato y carbonato, y ácido carbónico. El dióxido de carbono total puede ser medido por el indicador pH, el electrodo CO₂ y métodos enzimáticos espectrofotométricos, todos los cuales producen resultados exactos y precisos.^{29,30} El método enzimático es apropiado para usar con un analizador químico sanguíneo de rutina sin complejidad adicional para el proceso.

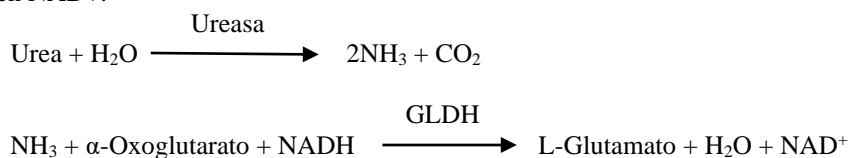
En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO₂) a bicarbonato (HCO₃⁻). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO₃⁻ reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC). La malato deshidrogenasa (MDH) cataliza la reacción de oxaloacetato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH) a NAD⁺ y malato. La velocidad del cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de tCO₂ en la muestra.



Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)

La urea puede ser medida tanto directa como indirectamente. La reacción de diacetyl monoxima, el único método directo para medir la urea, se utiliza con frecuencia, pero emplea reactivos peligrosos.³¹ Los métodos indirectos miden amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas.³² El amoníaco es cuantificado por una variedad de métodos, incluida la nesslerización (valoración ácida), la técnica de Berthelot.^{33,34} y reacciones enzimáticas acopladas.^{35,36} Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco.³⁷ Las reacciones de enzimas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad por el amoníaco y son usadas con frecuencia. Una de estas reacciones fue propuesta como un posible método de referencia.³⁸

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



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

4. Principios de la operación

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

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas (descritos a continuación). Se incluye un reactivo de referencia de muestra seco (compuesto de amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizantes) en cada disco para usar en el cálculo de las concentraciones de proteína c reactiva (CRP), cloruro (CL⁻), creatina quinasa (CK), glucosa (GLU), potasio (K⁺), sodio (NA⁺), dióxido de carbono total (tCO₂) y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN). En el disco se incluye una muestra de referencia dedicada para calcular la concentración de creatinina (CRE). Cada disco contiene un diluyente que consta de surfactantes y estabilizantes.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/Disco
2, 4, 6-Tribromo-3-ácido hidroxibenzoico (TBHBA)	188 µg
2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriosida (CNPG3)	52,5 µg
4,7,13,16,21-Pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]triscosano (Kryptofix 221)	84 µg
4-Aminoantipirina clorhidrato	13 µg
Adenosina-5'-difosfato	38 µg
Adenosina-5'-monofosfato	33 µg
Adenosina-5'-trifosfato	11 µg
Amilasa	0,0357 U
Látex recubierto de CRP antihumano (ratón)	67,2 µg
CRP antihumano (cabra)	0,3 µg
Ascorbato oxidasa (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3 U
Acetato de calcio	25,2 µg
Ácido cítrico, sal trisódica	567 µg
Creatina amidinohidrolasa (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3 U
Creatina fosfato	122 µg
Creatinina amidohidrolasa (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1 U
Etilenglicol-bis (β -aminoetil éter)-N,N,N',N'-ácido tetra-acético (EGTA)	4 µg
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	191,1 µg
Glucosa	58 µg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) (levadura)	0,1 U
Glutamato deshidrogenasa	0,1 U
Glutamina sintetasa	0,2 U
Hexoquinasa (levadura)	0,2 U
Imidazol	26 µg
Lactato deshidrogenasa (corazón de pollo)	0,3 U
Acetato de magnesio	60 µg
Sulfato de magnesio	29 µg
Malato deshidrogenasa (corazón porcino)	0,1 U
N-Acetil cisteína	60 µg
<i>o</i> -Nitrofenil- β -D galactopiranosida (ONPG)	22 µg
P1, P5di (adenosina-5') pentafosfato	0,2 µg
Peroxidasa (rábano)	1 U
Fosfoenolpiruvato	23 µg
Fosfoenolpiruvato carboxilasa	0,001 U
Ferrocianuro de potasio	0,4 µg
Piruvato quinasa	0,01 U
Sarcosina oxidasa (microorganismos)	1 U
β -Nicotinamida adenina dinucleótido, (NAD)	20 µg

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad/Disco
β -Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	28 μ g
β -Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP)	101 μ g
Ureasa (haba blanca)	0,05 U
Ácido α -cetoglutárico	19 μ g
β -Galactosidasa	0,005 U
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y conservantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- El envase del diluyente del disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un disco con un envase de diluyente abierto. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el disco antes de cerrar el cajón.
- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las buenas prácticas de seguridad en el laboratorio cuando manipule y deseche los discos usados.³⁹ Consulte el Manual del usuario del analizador químico Piccolo Xpress para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames que presentan riesgo biológico.
- 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 de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse 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 usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. No permita que los discos sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa de aluminio sellada, retire el disco y use de acuerdo con las instrucciones del Manual del usuario del analizador químico Piccolo Xpress. Deseche los discos no usados transcurridos 20 minutos de 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 Piccolo Xpress.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo.

Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa la eficacia del reactivo. No use discos de bolsas dañadas.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico Piccolo Xpress para recibir información completa sobre el uso del analizador.

7. Obtención y preparación de las muestras

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

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 μ L de sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio, suero o material de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 μ L de muestra.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta suavemente el tubo de recolección varias veces antes de transferir la muestra. No agite el tubo para obtención de muestras; esto puede causar hemólisis.
- Las muestras de sangre entera deben obtenerse por venopunción, no de la sangre capilar.

- La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de **potasio**. Este problema puede pasar desapercibido cuando se analiza sangre entera (la liberación de potasio de apenas 0,5 % de los eritrocitos puede provocar aumentos en el nivel sérico del potasio de 0,5 mmol/l). Además, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con prontitud pueden tener mayores niveles de potasio debido a la filtración de potasio intracelular.⁴⁰
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción.⁴¹ 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.⁴²
- La refrigeración de muestras de sangre entera puede provocar cambios significativos en las concentraciones de **creatinina** y **glucosa**.⁴³ La muestra puede separarse en plasma y suero, y almacenarse en tubos de ensayo con tapa a 2-8 °C (36-46 °F) si la muestra no se analiza dentro de los 60 minutos.
- 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).
- La concentración de **dióxido de carbono total** es determinada con mayor precisión cuando la prueba se lleva a cabo inmediatamente después de abrir el tubo y lo más pronto posible después de la obtención y procesamiento de la sangre en el tubo cerrado. El aire contiene mucho menos dióxido de carbono que el plasma, y el dióxido de carbono gaseoso disuelto escapará de la muestra al aire, con la reducción resultante en el valor del dióxido de carbono de hasta 6 mmol/l en el curso de 1 hora.⁴⁴
- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo PN: 400-1034 (una caja de discos PN 400-0034)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico Piccolo Xpress
- Con cada 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 Piccolo Xpress opera a temperaturas ambientes entre 15 °C y 32 °C (59-90 °F). El tiempo de análisis para cada disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo es inferior 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 por paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico Piccolo Xpress.

Calibración

El analizador químico Piccolo Xpress es calibrado por el fabricante antes de ser enviado. 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 Xpress.

Control de calidad

Consulte el Manual del usuario del analizador químico Piccolo Xpress para obtener información más detallada sobre la realización, registro, interpretación y extrapolación de los resultados de control.

9. Resultados

El analizador químico Piccolo Xpress calcula automáticamente e imprime 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 Piccolo Xpress.

En el Manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en tarjetas de resultados 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 usuario del analizador químico Piccolo Xpress.

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico Piccolo Xpress es **heparina-litio**. Abaxis realizó estudios demostrando que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirá con por lo menos un reactivo contenido en el disco reactivo MetLyte Plus CRP de Piccolo.
- Las muestras con hematocritos que superan 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.
- La CRP es una proteína de “fase aguda” y se eleva de forma no específica en respuesta a la inflamación. La variación intraindividual de la proteína c reactiva es significativa (30 a 60%) y debe tomarse en cuenta al interpretar valores.¹ Puede ser necesario realizar mediciones en serie para estimar la media real de la proteína c reactiva en cualquier individuo concreto.
- Los anticuerpos HAMA (anticuerpos antirratón humanos) hasta 115 ng/mL no causan interferencia. Las muestras de pacientes que han recibido preparados de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia pueden contener HAMA.
- El factor reumatoide hasta una concentración de 644 U/mL no causa interferencia.
- En este ensayo no se observó un efecto prozona (hook effect) a concentraciones de CRP de hasta 1.000 /mg/l.
- **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 Piccolo Xpress.**

Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema 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 como factores de interferencia con los analitos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada obstáculo potencial se basó en los niveles de prueba en CLSI EP7-A.⁴⁵

Efectos de las sustancias endógenas

- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra.
- El sistema 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.
- Los niveles de amilasa muy elevados (>9.000 U/l) tendrán un efecto significativo, superior al 10% de aumento, sobre el resultado del cloruro. El sistema Piccolo no evalúa la concentración de amilasa de cada muestra.
- Para el método CRP, los niveles de sustancias endógenas que disparan las supresiones de HEM, LIP o ICT son de 750 mg/dl para hemoglobina, 750 mg/dl para lipidemia y 35 mg/dl para bilirrubina.
- La prueba de potasio en el sistema Piccolo es una prueba de acoplamiento de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH). Por consiguiente, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el sistema Piccolo puede recuperar un valor de potasio (K+) falsamente elevado. En tales casos, será necesario confirmar los resultados de potasio inesperadamente elevados utilizando otra metodología.
- Póngase en contacto con el Servicio Técnico 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.⁴⁶ Se define a la interferencia significativa como un desvío superior al $\pm 10\%$ 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. Consulte la Tabla 2 para ver una lista de las sustancias exógena y terapéuticas evaluadas. **Consulte la TABLA 3 para ver una lista de los analitos donde se observó interferencia.**

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas

Interferente potencial	Concentración máxima probada (mg/dl a menos que se indique lo contrario)
Paracetamol	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico	20
Cafeína	10
Cloruro cálcico	20
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
Dopamina	19
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutaciona	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniacida	4
α -cetoglutarato	5
Cetoprofen	50
L-dopa	5
Lidocaína	1
Lactato de litio	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoína	20
Oxacilina	1
Oxaloacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoína (5,5-Difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Piruvato	44
Rifampina	0,5
Ácido salicílico	50
Sulfadiazina	150
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

Tabla 3: Las siguientes sustancias mostraron un desvío superior al $\pm 10\%$ en el resultado para una muestra en límites normales.

	Concentración que produce una interferencia superior al 10%	% de interferencia^A observado
Proteína C reactiva		
Glutaciona	30	13% dism.
Isoniacida	4	16% dism.
L-dopa	5	28% dism.
Oxaloacetato	132	57% dism.
Creatina quinasa		
Cefalotina	400	43% dism.
Dopamina	15	46% dism.
L-dopa	5	13% dism.
Metotrexato	0,5	16 % dism.
Nitrofurantoína	20	18 % dism.
Creatinina		
Ácido ascórbico	20	11% dism.
Dopamina	19	80% dism.
L-dopa	5	71% dism.
Epinefrina	1	45% dism.
Glutaciona	30	13% dism.
Glucosa		
Oxaloacetato	132	11% dism.
Piruvato	44	13% dism.
Potasio		
Penicilina G	100	17% aum.
Sulfadiazina	150	12% dism.
Sodio		
Cefalotina	400	12% aum.
Metotrexato	0,5	11% aum.
Penicilina G	100	10% aum.
Dióxido de carbono total		
Paracetamol	100	11% aum.
Ácido ascórbico	20	12% dism.
Cefalotina	400	13 % aum.
Cimetidina	16	19% dism.
Eritromicina	10	21% dism.
Lidocaína	1	23% aum.
Metotrexato	0,5	80% dism.
Nitrofurantoína	20	13 % aum.
Ácido salicílico	50	17% dism.
Sulfadiazina	150	25 % dism.

^A Dism.= disminución en la concentración del analito especificado; Aum. = aumento en la concentración del analito especificado

- Para la prueba de cloruro, el bromuro a niveles tóxicos (≥ 15 mmol/l) puede causar un efecto significativo (>10% de aumento) sobre el resultado del cloruro. El yoduro a concentraciones muy altas (30 mmol/l, el nivel más elevado que se ha probado) no tiene efecto. Los niveles fisiológicos normales de bromuro y yoduro no interfieren en el Sistema de prueba del cloruro de Piccolo.

11. Valores esperados

Las muestras de 125 a 150 varones y mujeres adultos se analizaron en el analizador químico sanguíneo de Piccolo y las muestras de 69 varones y mujeres adultos en el analizador químico Piccolo Xpress para CRP para determinar los intervalos de referencia. Los rangos de electrolitos fueron calculados sobre la base del 95% del intervalo de referencia de los valores combinados (totales) obtenidos de los sujetos de referencia y el rango de la CRP se basó en la transferibilidad demostrada de los intervalos de referencia para el Beckman.⁴⁷ Estos intervalos son proporcionados solamente como guía. Se recomienda que su consultorio o institución establezca los rangos normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 4: Intervalos de referencia de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Proteína C reactiva	< 7,5 mg/l	< 7,5 mg/l
Cloruro	98-108 mmol/l	98-108 mmol/l
Creatina quinasa (mujer)	30 -190 U/l	30 -190 U/l
Creatina quinasa (varón)	39 -380 U/l	39 -380 U/l
Creatinina	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Glucosa	73-118 mg/dl	4,1-6,6 mmol/l
Potasio	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Dióxido de carbono total	18-33 mmol/l	18-33 mmol/l
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol/l

12. Características de eficacia

Linealidad

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

Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Proteína C reactiva	5,0-200,0 mg/l	5,0-200,0 mg/l
Cloruro	80-135 mmol/l	80-135 mmol/l
Creatina quinasa	5 -5.000 U/l	5 -5.000 U/l
Creatinina	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Glucosa	10-700 mg/dl	0,6-38,9 mmol/l
Potasio	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Dióxido de carbono total	5-40 mmol/l	5-40 mmol/l
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 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, GLU >700* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá “<” con un asterisco, por ejemplo, GLU <10* 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 Técnico de Abaxis.

Sensibilidad

El límite inferior del intervalo informable (dinámico) para cada analito es: proteína c reactiva 5,0 mg/l, cloruro 80 mmol/l; creatina quinasa 5 U/l, creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosa 10 mg/dl (0,6 mmol/l); potasio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; dióxido de carbono total 5 mmol/l y nitrógeno ureico sanguíneo 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l).

Precisión

Se condujeron estudios de precisión de acuerdo con las recomendaciones⁴⁸ CLSI EP5-A g con modificaciones sobre la base de CLSI EP18-A⁴⁹ para dispositivos usados en unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total se determinaron mediante dos niveles de materiales de referencia disponibles comercialmente y dos niveles de mezclas de plasma en el caso del potasio. Los estudios utilizaron múltiples instrumentos. Se utilizaron dos lotes de discos reactivos para los electrolitos y uno para la proteína c reactiva. Las pruebas de creatina quinasa, creatinina, glucosa, sodio y nitrógeno ureico fueron realizadas en un centro; las de potasio y dióxido de carbono total se realizaron en dos centros a lo largo de 20 días; la prueba de proteína c reactiva (suero 1, control 1 y control 2) y de cloruro se realizaron en dos centros a lo largo de cinco días. Los sueros 2 y 3 y los plasmas 1 y 2 de proteína C reactiva se analizaron en un solo centro durante un período de cinco días. Las pruebas de potasio se llevaron a cabo en un sitio exonerado por la CLIA utilizando tres analizadores, un lote de discos de reactivo y dos operadores durante cinco días.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Proteína C reactiva (mg/l)			
<u>Suero 1</u>	N = 80		
Media		8,3	8,3
DE		0,70	0,81
% VR		8,4	9,8
<u>Suero 2</u>	N = 40		
Media		8,1	8,1
DE		0,49	0,51
% VR		6,1	6,3
<u>Suero 3</u>	N = 40		
Media		8,8	8,8
DE		0,54	0,54
% VR		6,2	6,2
<u>Plasma 1</u>	N = 40		
Media		34,5	34,5
DE		1,04	1,09
% VR		3,0	3,2
<u>Plasma 2</u>	N = 40		
Media		105,5	105,5
DE		2,06	2,30
% VR		1,9	2,2
<u>Control 1</u>	N = 80		
Media		33,0	33,0
DE		1,21	2,12
% VR		3,7	6,4
<u>Control 2</u>	N = 80		
Media		108,0	108,0
DE		1,88	3,14
% VR		1,7	2,9
Cloruro (mmol/l)			
<u>Control 1</u>	N = 160		
Media		97,8	97,8
DE		1,63	1,74
% VR		1,7	1,7
<u>Control 2</u>			
Media		113,6	113,6
DE		1,97	2,22
% VR		1,7	2,0

Tabla 6: Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Creatina quinasa (U/l)	N = 120		
<u>Control 1</u>			
Media		134	134
DE		2,7	2,7
% VR		2,0	2,0
<u>Control 2</u>			
Media		526	526
DE		7,7	7,7
% VR		1,5	1,5
Creatinina (m/dl)	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		1,1	1,1
DE		0,14	0,14
% VR		12,5	13,1
<u>Control 2</u>			
Media		5,2	5,2
DE		0,23	0,27
% VR		4,4	5,2
Glucosa (mg/dl)	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		66	66
DE		0,76	1,03
% VR		1,1	1,6
<u>Control 2</u>			
Media		278	278
DE		2,47	3,84
% VR		0,9	1,4
Potasio (mmol/l)	N = 150		
<u>Control 1</u>			
Media		3,2	3,2
DE		0,09	0,11
% VR		2,8	3,3
<u>Control 2</u>	N = 149		
Media		6,2	6,2
DE		0,09	0,10
% VR		1,4	1,7
<u>Mezcla de plasma 1</u>	N = 150		
Media		3,2	3,2
DE		0,07	0,09
VR		2,3	2,9
<u>Mezcla de plasma 2</u>	N = 150		
Media		5,4	5,4
DE		0,09	0,10
VR		1,6	1,9
Sodio (mmol/l)	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		143,5	143,5
DE		2,28	2,28
% VR		1,6	1,6
<u>Control 2</u>			
Media		120,0	120,0
DE		2,13	2,13
% VR		1,8	1,8

Tabla 6: Precisión (continuación)

Analito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Dióxido de carbono total (mmol/l)			
	N = 120		
<u>Control 1</u>			
Media		21,4	21,4
DE		2,29	2,29
% VR		10,7	10,7
<u>Control 2</u>			
Media		10,5	10,5
DE		0,90	0,90
% VR		8,6	8,6
Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)			
	N = 80		
<u>Control 1</u>			
Media		19	19
DE		0,35	0,40
% VR		1,9	2,1
<u>Control 2</u>			
Media		65	65
DE		1,06	1,18
% VR		1,6	1,8

Precisión del potasio en sangre entera

La precisión de la sangre entera se probó en un sitio exonerado por la CLIA por dos operadores exonerados por la CLIA. En el estudio se utilizaron cuatro analizadores Piccolo Xpress con 16 réplicas por muestra para cuatro (4) muestras de sangre entera fresca con heparina de litio.

Tabla 7: Precisión del potasio en sangre entera

Potasio (mmol/l)	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Sangre entera 1			
	N = 16		
Media		3,9	3,9
DE		0,06	0,11
VR		1,6	2,8
Sangre entera 2			
	N = 16		
Media		4,0	4,0
DE		0,11	0,14
VR		2,9	3,4
Sangre entera 3			
	N = 16		
Media		4,0	4,0
DE		0,11	0,15
VR		2,8	3,9
Sangre entera 4			
	N = 16		
Media		4,0	4,0
DE		0,11	0,13
VR		2,7	3,4

Se obtuvieron y analizaron muestras de sangre entera y suero anticoagulados con heparina-litio en el analizador químico sanguíneo Piccolo y con métodos de comparación para cloro, creatina quinasa, creatinina, glucosa, potasio, sodio, dióxido de carbono total y nitrógeno ureico. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico sanguíneo Piccolo en los centros de campo, y las muestras séricas se analizaron con el analizador químico sanguíneo Piccolo y mediante métodos de comparación. En algunos casos, se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir el rango dinámico. Para CRP, se analizaron muestras de plasma tratado con heparina-litio en el analizador químico Piccolo Xpress® y con un método de comparación.

En la tabla 7 se muestran las estadísticas de correlación representativas.

Tabla 7: Correlación del analizador químico sanguíneo de Piccolo o el analizador químico Piccolo Xpress (para CRP) con métodos de comparación

	Coefficiente de correlación	Pendiente	Intercepción	VER	N	Rango de muestra	Método de comparación
Proteína C reactiva (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,6	113	5,4-198,6	Beckman
Cloruro (mmol/l)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71-118	Vitros 950
Creatina quinasa (U/l)	0,967	1,194	-25	9,05	47	6-813	Cobas Fara®
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
Glucosa (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
Potasio en sangre entera (mmol/l) (laboratorio exonerado)	0,984	0,99	0,13	0,10	130	1,3-9,5	Plasma Siemens VISTA
Potasio en sangre entera (mmol/l) (laboratorio moderadamente complejo)	0,984	0,98	0,12	0,18	178	1,5-8,6	Plasma Siemens VISTA
Suero de potasio (mmol/l) (laboratorio moderadamente complejo)	0,990	0,98	0,06	0,14	178	1,4-8,5	Suero Siemens VISTA
Sodio (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiómetro KNA™ 2
Dióxido de carbono total (mmol/l)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6-39	Cobas Fara
Nitrógeno ureico sanguíneo (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

Se debe tener en cuenta que el suero suele dar resultados más altos de K+ en comparación con la sangre entera o el plasma por razones fisiológicas. La variación puede fluctuar entre aproximadamente 0,2 y 0,9 mmol/l y depende de varios factores. El efecto principal depende del número de células sanguíneas presentes en la muestra del paciente.⁸²

Tabla 8: Correlación de tipos de muestras para CRP

Para el método de prueba CRP, el análisis de regresión de Deming para el tipo de muestra dio los resultados siguientes con n = 21.

Eje Y	Eje X	R²	Pendiente	Intercepción
Plasma tratado con heparina-litio	Sangre entera tratada con heparina-litio	1,000	0,995	0,2
Suero	Sangre entera tratada con heparina-litio	0,999	1,005	0,5
Suero	Plasma tratado con heparina-litio	0,999	1,010	0,3

Para CRP no se observaron diferencias significativas entre la sangre entera tratada con heparina-litio, el plasma tratado con heparina-litio y el suero.

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

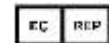


Precaución



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. Bibliografia

1. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. *Clin. Chem.* 1997; 43: 52-58.
2. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-2141.
3. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem.* 2001; 47: 418-425.
4. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem.* 1988; 34: 552-553.
5. Kuby SA, Noda, L and Lardy HA. Adenosinetriphosphate-creatine transphosphorylase. *J. Biol Chem.* 1954; 209: 191-201.
6. Tanzer MI And Gilvarg C. Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem.* 1959; 234: 3201-3204.
7. Nuttall FQ And Wedin DS. A simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med.* 1966; 68: 324-332.
8. Oliver IT. A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem J.* 1955; 61: 116-122.
9. Rosalki SB. An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination. *J Lab Clin Med.* 1967; 69: 696-705.
10. Szasz G, Gruber W and Bernt E. Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem.* 1976; 22: 650-656.
11. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). 1979 Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta.* IFCC Sections: 98: 163-174.
12. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. 1976. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest.* 36: 711-723.
13. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbetimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1970; 8: 582-587.
14. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
15. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem.* 1975; 21: 1422-1426.
16. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem.* 1982; 28: 114-117.
17. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem.* 1983; 29: 1494-1496.
18. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, and Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
19. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
20. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
21. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
22. Kaplan LA. Glucose. 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.
23. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem.* 1989; 35: 817-820.
24. 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.
25. 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.
26. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc.* 1989; 111: 6339-6350.
27. 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.
28. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem.* 1988; 34: 2295-2298.
29. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol.* 1960; 33: 181-185.
30. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989; 869-872.

14. Bibliografía (continuación)

31. 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.
32. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem. 1914; 19: 211-228.
33. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol. 1960; 13: 156-159.
34. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem. 1962; 8: 130-132.
35. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensh. 1965; 43: 174-175.
36. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta. 1971; 35: 33-37.
37. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem. 1977; 49: 464-469.
38. 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.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
40. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; 1058-1059.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
42. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta. 1972; 39: 35-40.
43. 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.
44. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; 1065-1066.
45. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
46. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
47. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
48. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.