

Esclusivamente per uso diagnostico in vitro e professionale
Servizio clienti e assistenza tecnica: 1- 800-822-2947
Clienti al di fuori degli Stati Uniti: +49 6155 780 210



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



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Uso previsto

Il Piccolo® AmLyte 13, da utilizzarsi con l'Analizzatore chimico Piccolo Xpress®, è progettato per l'accertamento *in vitro* delle quantità di proteina c-reattiva (CRP), quantità di alanina aminotransferasi (ALT), albumina, amilasi, aspartato aminotransferasi (AST), calcio, creatina chinasi, creatinina, glucosio, potassio, sodio, bilirubina totale, e azoto ureico presenti nel sangue intero e nel plasma litio-eparinizzato o nel siero, nel contesto di un laboratorio clinico o in un centro di assistenza sanitaria. Il metodo Abaxis CRP non è destinato alla determinazione della CRP a sensibilità elevata.

2. Sommario e spiegazione dei test

Il Piccolo AmLyte 13 e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress® costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il medico nella diagnosi delle seguenti patologie.

Alanina aminotransferasi (ALT):	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi.
Albumina:	Malattie del fegato e dei reni.
Amilasi:	Pancreatite.
Aspartato aminotransferasi (AST)	Malattie epatiche, quali epatite e ittero virale, shock.
Calcio:	Paratiroido, malattie alle ossa e malattie renali croniche; tetania.
Proteina c-reattiva (CRP):	Infezione, lesione tissutale e patologie infiammatorie.
Creatina chinasi:	Infarto miocardico, distrofia muscolare progressiva, dermatomiosite, rabdomiolisi causata da ingestione di farmaci, iperosmolalità, malattia autoimmune, delirium tremens, convulsioni, sindrome di schiacciamento (crush syndrome), ipotiroidismo, conseguenze post-operatorie, strenua attività fisica, iniezioni intramuscolari, inattività fisica, riduzione della massa muscolare.“
Creatinina:	Malattie renali e monitoraggio della dialisi renale.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Potassio:	Malattia renale glomerulare o tubolare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi <i>in vitro</i> , iperaldosteronismo, denutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.
Sodio:	Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sali, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, ustioni, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia da diluizione, deplezione e psichica e sindrome da inappropriata secrezione di ADH
Bilirubina totale:	Disturbi epatici, tra cui epatite e ostruzione della cistifellea; itterizia.
Azoto ureico ematico (BUN):	Malattie renali e metaboliche.

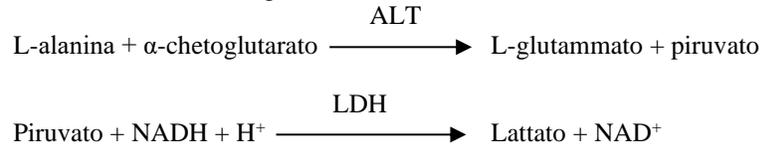
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principio della procedura

Alanina aminotransferasi (ALT)

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

Il metodo sviluppato per l'uso sugli analizzatori Piccolo è una modifica della procedura raccomandata dall'IFCC. In questa reazione, l'ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione seguente.

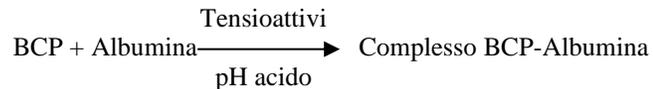


La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è dovuta alla conversione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

Albumina (ALB)

I primi metodi usati per misurare l'albumina includono tecniche di frazionamento^{6,7,8} e il contenuto di triptofano delle globuline.^{9,10} Questi metodi sono poco pratici nell'esecuzione e non hanno un elevato grado di specificità. Due tecniche immunochimiche sono considerate metodi di riferimento, ma sono costose e di lunga esecuzione.¹¹ Le tecniche di legame del colorante sono i metodi più frequentemente utilizzati per misurare l'albumina. Il bromocresolo verde (BCG) è il più comunemente usato tra i metodi di legame del colorante, ma può dare un valore della concentrazione di albumina troppo elevato, soprattutto nel livello basso di fascia normale.¹² Il bromocresolo violetto (BCP) è il più specifico dei coloranti in uso.^{13,14}

Il bromocresolo violetto (BCP), quando associato con l'albumina cambia colore da giallo a blu. L'assorbanza massima cambia con il cambiamento di colore.



L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint ed è misurata come differenza di assorbanza tra 600 nm e 550 nm.

Amilasi (AMY)

Circa 200 diversi test sono stati sviluppati per misurare l'amilasi. La maggior parte delle procedure utilizzano una soluzione tamponata di polisaccaride ma impiegano tecniche di rilevazione diverse. I metodi viscosimetrici mancano di precisione e accuratezza¹⁵, mentre i metodi turbidimetrici e iodometrici sono difficilmente standardizzabili.^{16,17} I metodi più comunemente utilizzati sono quelli saccarogenici e cromolitici. La tecnica "classica" di misurazione delle amilasi è un metodo saccarogenico¹⁸, ma è un metodo difficile e di lunga esecuzione.¹⁹ I metodi cromolitici che utilizzano i p-nitrofenil-glicosidi come substrati sono stati sviluppati solo di recente.²⁰ Questi test hanno una maggiore specificità per l'amilasi pancreatica piuttosto che per l'amilasi salivare e sono facilmente monitorabili.²⁰

Nel metodo Piccolo, il substrato, 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNP3), reagisce con le α -amilasi nel campione del paziente, rilasciando 2-cloro-p-nitrofenolo (CNP). Il rilascio di CNP crea un cambiamento di colore.



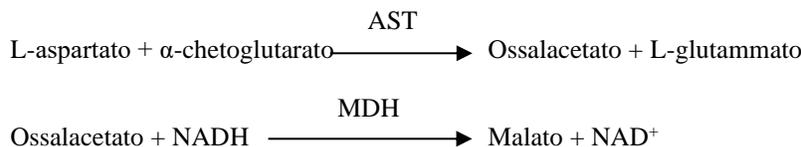
La reazione viene misurata bicromaticamente a 405 nm e 500 nm. La variazione di assorbanza dovuta alla formazione di CNP è direttamente proporzionale all'attività delle α -amilasi nel campione.

Aspartato aminotransferasi (AST)

Il test per l'aspartato transaminasi (AST) si basa sul metodo di Karmen²¹ con le modifiche introdotte da Bergmeyer.²² L'attuale metodo di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (Federazione Internazionale di Chimica Clinica - IFCC) si basa sulla tecnica Karmen/Bergmeyer di associazione della malato deidrogenasi (MDH) e della nicotinamide

dinucleotide ridotta (NADH) per il rilevamento di AST nel siero.^{22,23} Alla reazione si aggiunge lattato deidrogenasi (LDH) per ridurre l'interferenza causata dal piruvato endogeno.

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

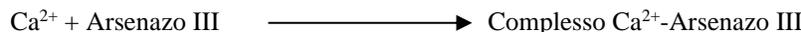


Il tasso di cambiamento nell'assorbanza a 340 nm/405 nm causato dalla trasformazione dell'NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Calcio (CA)

I primi metodi utilizzati per analizzare il calcio si basavano sulla precipitazione del calcio con un eccesso di anioni.^{24,25,26} I metodi di precipitazione sono complessi e spesso imprecisi. Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico; tuttavia, questo metodo non è adatto per l'uso di routine.²⁷ I metodi spettrofotometrici che utilizzano sia l'*o*-cresoltaleina complexone che gli indicatori metallocromici arsenazo III sono più comunemente usati.^{28,29,30} L'arsenazo III ha un'elevata affinità per il calcio e non è dipendente dalla temperatura come il CPC.

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



La reazione di endpoint è monitorata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio totale nel campione è proporzionale all'assorbanza.

Proteina c-reattiva (CRP)

I test originali per la determinazione quantitativa della CRP venivano utilizzati essenzialmente per la ricerca e si basavano sulla metodologia ELISA³¹. Più recentemente, sono stati usati i metodi immunonefelometrici al lattice³². In ogni caso, era necessario un nefelometro per misurare la luce diffusa. Oggi, sono stati sviluppati diversi test immunoturbidimetrici ed immunoluminometrici automatizzati che possono essere eseguiti su analizzatori di chimica clinica convenzionali.³³

Il metodo usato da Abaxis è un dosaggio immunologico turbidimetrico con agglutinazione al lattice migliorato. Il campione viene mescolato con una sospensione di anticorpo monoclonale murino anti CRP umana legata al lattice. La CRP nel campione si lega alle particelle di lattice ricoperte di anticorpo e si agglutina creando torbidità. La luce diffusa dalla torbidità è usata come misura di CRP. La torbidità viene misurata come una variazione nell'assorbanza a 630 nm. Questa variazione di assorbanza è direttamente proporzionale all'attività della CRP nel campione.

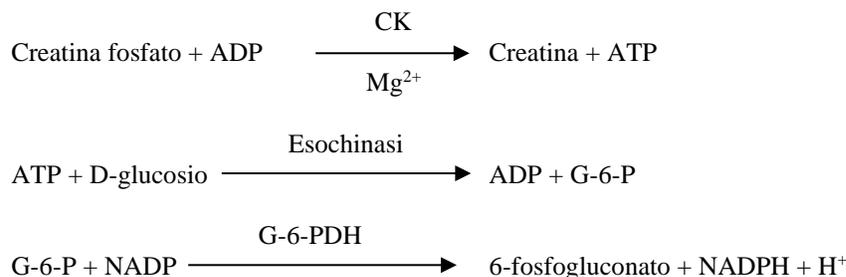


Creatina chinasi (CK)

La creatina chinasi catalizza la fosforilazione reversibile della creatina da parte dell'adenosina trifosfato (ATP). La reazione di fosforilazione è facilitata in ambiente alcalino (ottimale a pH 9,0) e la reazione di defosforilazione è facilitata in ambiente acido (ottimale a pH 6,5 a 37 °C). I primi metodi di misurazione della CK si basavano sulla "reazione in avanti" (forward reaction) i cui prodotti erano creatina fosfato e adenosina difosfato (ADP).^{34,35,36} La sensibilità di questi test è risultata ridotta a causa di problemi relativi alle interferenze. La procedura di scelta utilizza invece una "reazione inversa" abbinata a una reazione per produrre NADPH, che è direttamente correlato ai livelli di CK.^{37,38,39}

"Il metodo di misurazione della CK utilizzato da Abaxis è una versione modificata di quello in uso presso l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).⁴⁰ Le modifiche principali riguardano la frazione del volume di campione, la sostanza tampone e la temperatura." È stata aggiunta *n*-acetil cisteina (NAC) per riattivare CK.⁴¹ Il magnesio è usato come cofattore sia per CK che per esochinasi. È stato aggiunto EDTA come stabilizzatore per NAC e per la rimozione di vari cationi, quali calcio e ferro, che inibiscono CK. Sono stati inoltre aggiunti P^1 , P^5 -di (adenosina-5')pentafosfato e adenosina monofosfato (AMP) per inibire l'adenilato chinasi, un altro enzima eritrocitario e muscoloscheletrico che reagisce con i substrati usati per misurare CK.

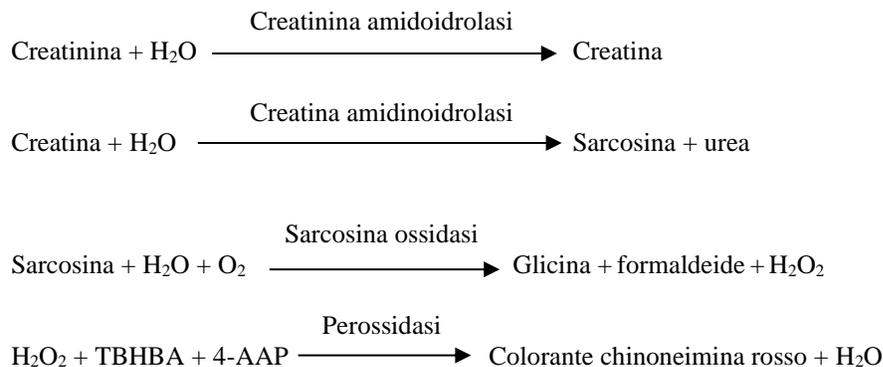
La creatina chinasi catalizza la formazione di creatina e ATP da creatina fosfato e ADP a pH 6,7. Con esochinasi come catalizzatore, l'ATP reagisce con il D-glucosio formando ADP e D-glucosio-6-fosfato (G-6-P), che a sua volta reagisce con nicotinamide adenin dinucleotide fosfato (NADP) in presenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) per produrre G-6-P e NADPH.



La formazione di NADPH è misurata come variazione nell'assorbanza a 340 nm rispetto a 405 nm. Questa variazione di assorbanza è direttamente proporzionale all'attività della creatina chinasi nel campione.

Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{42,43} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{44,45,46} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.⁴⁷



Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai calcoli la creatina endogena, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso sviluppato. La reazione di endpoint è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 600 nm.

eGFR (calcolato)

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

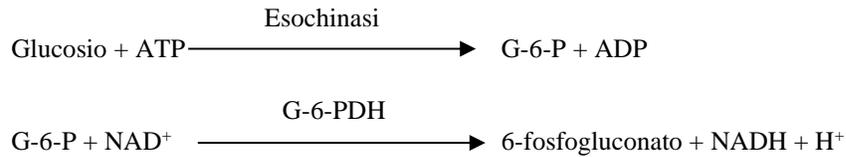
Il calcolo del eGFR stimato viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnicità del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo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

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

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate utilizzando metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu⁴⁸ e Somogyi-Nelson^{49,50}). La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio inserito nel AmLyte 13 è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.⁵¹

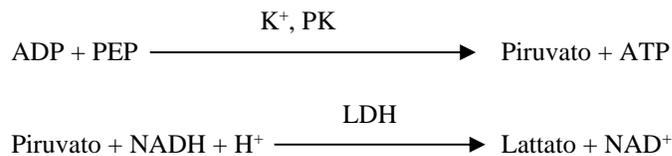
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione di nicotinammide adenin dinucleotide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



Potassio (K⁺)

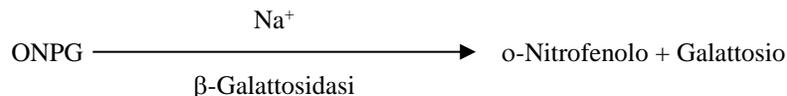
Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis si basa sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio e presenta linearità eccellente e sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.^{52,53,54} L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e di glutammia sintetasi.⁵²

Nella reazione enzimatica combinata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l'NADH viene ossidato in NAD⁺. La velocità di cambiamento dell'assorbanza è causata dalla trasformazione dell'NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.



Sodio (Na⁺)

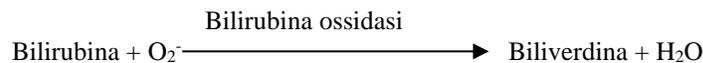
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{55,56,57} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β-galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione dell'o-nitrofenil-β-D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



Bilirubina totale (TBIL)

I livelli di bilirubina totali sono stati generalmente misurati da test che impiegano acido solfanilico diazotato.^{58,59} Un nuovo metodo più specifico è stato sviluppato utilizzando l'enzima bilirubina ossidasi.^{60,61,62} Oltre a utilizzare il metodo totale più specifico, il test della bilirubina, la fotodegradazione dell'analita è minimizzata sugli analizzatori Piccolo perché il campione può essere testato immediatamente dopo il prelievo.

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

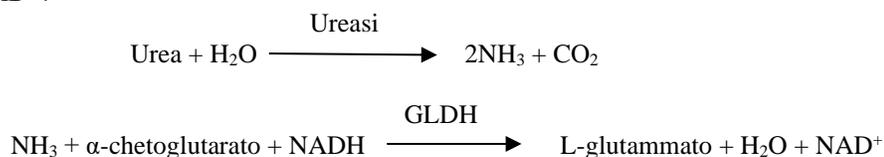


La bilirubina viene misurata come differenza di assorbanza tra 467 nm e 550 nm. L'assorbanza iniziale di questa reazione di endpoint viene determinata dalla cuvetta in bianco di bilirubina e l'assorbanza finale è data dalla cuvetta del test della bilirubina. La quantità di bilirubina nel campione è proporzionale alla differenza tra le misurazioni dell'assorbanza iniziale e finale.

Azoto ureico ematico (BUN)

L'urea può essere misurata sia direttamente che indirettamente. La reazione al diacetil monoxime, unico metodo diretto per misurare l'urea, è ampiamente usata ma si basa su reagenti pericolosi.⁶³ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca formatasi dall'urea; l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.⁶⁴ L'ammoniaca si può quantificare con svariati metodi, tra i quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot.^{65,66} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{67,68} Le procedure Berthelot catalizzate però risultano poco affidabili nel misurare l'ammoniaca.⁶⁹ Le reazioni enzimatiche combinate sono rapide, altamente specifiche per l'ammoniaca, e ampiamente usate. Una di tali reazioni è stata proposta come possibile metodo di riferimento.⁷⁰

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



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

4. Principio del test

Per i principi e i limiti della procedura, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni PiccoloAmLyte 13 contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (come da descrizione che segue). In ogni disco è compreso un reagente secco per campione bianco (costituito da sostanza tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di alanina transaminasi (ALT), albumina (ALB), amilasi (AMY), aspartato aminotransferasi (AST), calcio (CA), proteina c-reattiva (CRP), creatina chinasi (CK), glucosio (GLU), potassio (K⁺), sodio (NA⁺), e azoto ureico (BUN). Sono inoltre compresi nel disco campioni bianco dedicati per calcolare le concentrazioni di creatinina (CRE), e bilirubina totale (TBIL). Ciascun disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componente	Quantità/disco
Acido 2, 4, 6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA)	188 µg
2-Cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNP3)	52,5 µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo [8.8.5] trisocoso (Kryptofix 221)	84 µg
Idrocloruro di 4-aminoantipirina	13 µg
Adenosina-5'-difosfato	38 µg
Adenosina-5'-monofosfato	33 µg
Adenosina-5'-trifosfato	11 µg
Amilasi	0,0357 U
Lattice rivestito di anti-CRP umana (murina)	268,8 µg
Anti-CRP umana (capra)	0,5 µg
Ascorbato ossidasi (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3 U
Acetato di calcio	25,2 µg
Acido citrico, sale trisodico	567 µg
Creatina amidinoidrolasi (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3 U
Creatina fosfato	122 µg
Creatinina ammididrolasi (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1 U
Acido etilenglicol-bis (β -amminoetilere)-N,N,N',N'-tetracetico (EGTA)	4 µg
Acido etilendiaminotetracetico (EDTA)	191,1 µg
Glucosio	58 µg
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) (lievito)	0,1 U
Gluttammato deidrogenasi	0,1 U
Gluttamina sintetasi	0,2 U

Tabella 1: Reagenti (segue)

Componente	Quantità/disco
Esochinasi (lievito)	0,2 U
Imidazolo	26 µg
Lattato deidrogenasi (cuore di pollo)	0,3 U
Acetato di magnesio	60 µg
Solfato di magnesio	29 µg
Malato deidrogenasi (cuore porcino)	0,1 U
N-acetilcisteina	60 µg
<i>o</i> -nitrofenil-β-D galattopiranoside (ONPG)	22 µg
P1, P5di (adenosina-5') pentafosfato	0,2 µg
Perossidasi (barbaforte)	1 U
Fosfoenol piruvato	23 µg
Fosfoenol piruvato carbossilasi	0,001 U
Ferrocianuro di potassio	0,4 µg
Piruvato chinasi	0,01 U
Sarcosina ossidasi (microorganismo)	1 U
Colato di sodio	58 µg
Laurilsolfato di sodio	145 µg
Sulfidrilico bloccato BSA	420 µg
β-nicotinamide adenin dinucleotide, (NAD)	20 µg
β-Nicotinamide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	28 µg
β-Nicotinammide adenin dinucleotide fosfato (NADP)	101 µg
Ureasi (fagiolini)	0,05 U
Acido α-chetoglutarico	19 µg
β-galattosidasi	0,005 U
Tamponi, tensioattivi, eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico *in vitro*
- Il contenitore del diluente nel disco reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non si può riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel disco.
- I dischi reagente usati contengono fluidi organici umani. Si dovranno adottare le corrette prassi di laboratorio nel maneggiare e smaltire i dischi usati.³⁹ Si consulti il Manuale dell'Operatore dell'Analizzatore Chimico Piccolo Xpress per le istruzioni sulle modalità di eliminazione di eventuali fuoriuscite di materiale a rischio biologico.
- I dischi reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. Non utilizzare **mai** un disco eventualmente caduto in quanto può diffondere materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- Le microsfere di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione delle microsfere (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un disco reagente), evitare l'ingestione, il contatto cutaneo e l'inalazione.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i dischi reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Non lasciare i dischi sigillati nei sacchetti di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire il sacchetto sigillato di foglio d'alluminio, estrarre il disco e utilizzarlo seguendo le istruzioni fornite nel manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress. Smaltire un disco nel caso in cui non venga utilizzato entro 20 minuti dall'apertura della confezione.

Conservazione

Conservare i dischi reagente nelle confezioni sigillate a 2-8 °C (36-46 °F). Non esporre i dischi, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90 °F). I dischi reagente possono essere utilizzati fino alla data di scadenza

indicata sulla confezione. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress viene visualizzato un messaggio di errore.

Indicazioni di instabilità/deterioramento del disco reagente

In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non ancora utilizzato e alterare le prestazioni del reagente. Non utilizzare dischi prelevati da sacchetti danneggiati.

6. Strumento

Per informazioni complete sull'uso dell'analizzatore, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

Le tecniche di raccolta dei campioni sono descritte nella sezione "Raccolta dei campioni" del manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- La quantità minima del campione è di ~100 µl di sangue intero litio-eparinizzato, plasma litio-eparinizzato, siero o materiale di controllo. La camera di raccolta del campione sul disco reagente può contenere fino a 120 µl di campione.
- I campioni di sangue intero prelevati da una vena devono essere omogenei prima che il campione venga trasferito nel disco reagente. Capovolgere delicatamente la provetta del prelievo varie volte subito prima di trasferire il campione. Non agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- I campioni di sangue intero devono essere prelevati soltanto mediante venipuntura e non dai capillari.
- L'emolisi può dare luogo a risultati erroneamente elevati nei dosaggi del **potassio**. Tale problema potrebbe non essere rilevato durante l'analisi di sangue intero (il rilascio di potassio anche solo dallo 0,5% degli eritrociti può determinare un aumento del livello di potassio nel siero di 0,5 mmol/l). Inoltre, anche campioni non emolizzati non tempestivamente trattati potrebbero presentare livelli di potassio aumentati a causa di perdita intracellulare di potassio.⁷¹
- I campioni di sangue intero prelevati per puntura di una vena devono essere sottoposti a test entro 60 minuti dal prelievo.⁷² Le concentrazioni di **glucosio** sono soggette a variazioni in funzione del tempo trascorso da quando il paziente ha ingerito cibo e del tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, i campioni si devono prelevare da pazienti a digiuno da almeno 12 ore. Le concentrazioni di glucosio diminuiscono di circa 5 - 12 mg/dl in 1 ora se lasciate in campioni non centrifugati a temperatura ambiente.⁷³
- Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **aspartato aminotransferasi**, **creatinina** e **glucosio** possono subire variazioni significative.⁷⁴ Il campione può essere separato in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8 °C (36-46 °F) qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso/nero).
- I risultati della **bilirubina totale** possono essere negativamente influenzati dalla fotodegradazione.⁷⁵ I campioni di sangue intero non analizzati immediatamente devono essere conservati al buio per non più di 60 minuti. Se il campione non può essere analizzato entro tale termine, si dovrà suddividere in plasma o siero e conservato in una provetta con tappo al buio a bassa temperatura.⁷⁶
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel disco reagente.

8. Procedura

Materiali forniti

- Un Piccolo AmLyte 13 N. parte: 400-1041 (una confezione di dischi, N. parte 400-0041)

Materiali necessari ma non forniti

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

Parametri del test

L'analizzatore chimico Piccolo Xpress funziona a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59-90 °F). Il tempo di analisi per ogni Piccolo AmLyte 13 è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37 °C (98,6 °F).

Procedura del test

Le procedure complete per la raccolta dei campioni e le istruzioni operative dettagliate sono riportate nel manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

Calibrazione

L'analizzatore chimico Piccolo Xpress è calibrato dal fabbricante prima della spedizione. Il codice a barre stampato sull'apposito anello fornisce i dati di calibrazione specifici per i dischi. Vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

Controllo qualità

Vedere il manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress per le procedure dettagliate di esecuzione, registrazione, interpretazione e rappresentazione grafica dei risultati.

9. Risultati

L'analizzatore chimico Piccolo Xpress calcola e stampa automaticamente le concentrazioni di analiti nel campione. I dettagli dei calcoli delle reazioni di endpoint e velocità sono riportati nel manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

L'interpretazione dei risultati è descritta nel manuale dell'operatore. I risultati vengono stampati su rochetto di nastro fornito da Abaxis. I rochetti dei risultati sono provvisti di un adesivo che ne consente l'agevole apposizione sulle cartelle dei pazienti.

10. Limiti della procedura

I limiti generici della procedura sono descritti nel manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con il sistema analizzatore chimico Piccolo Xpress è la **litio eparina**. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi altro anticoagulante contenente ioni ammonio interferisce con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel Piccolo AmLyte 13.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-65% del volume di globuli rossi concentrati (una frazione di volume di 0,62-0,65) possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Tali campioni si possono centrifugare per ottenere plasma e poi rianalizzare in un nuovo disco reagente.
- La CRP è una proteina di fase acuta e aumenta in maniera non specifica in risposta all'infiammazione. Le variazioni intra-individuali di proteina c-reattiva sono significative (dal 30 al 60%) e dovrebbero essere tenute in considerazione quando si interpretano i valori.⁷⁷ Potrebbero essere necessarie misurazioni di serie per valutare la media reale di proteina c-reattiva in uno specifico individuo.
- La presenza di anticorpi umani antimurini (HAMA) fino a 115 ng/ml non interferisce. È possibile che i campioni prelevati da pazienti ai quali sono state somministrate preparazioni a base di anticorpi monoclonali murini a scopo diagnostico o terapeutico contengano HAMA.
- La presenza di fattore reumatoide in una concentrazione massima pari a 644 U/ml non interferisce.
- Non è stato osservato alcun effetto prozona durante l'analisi con concentrazioni di CRP pari ad un massimo di 1.000 mg/l.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range di analisi, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento. Non diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress.**

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

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come agenti interferenti con gli analiti. Sono stati preparati pool di siero umano e ciascun potenziale agente interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di test riportati in CLSI EP7-A.⁷⁸

Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione.
- L'analizzatore chimico Piccolo Xpress elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sul rochetto di nastro dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- Per il metodo CRP, i livelli di sostanze endogene che attivano la sospensione di HEM, LIP o ICT sono pari a 750 mg/dl per l'emoglobina, 750 mg/dl per la lipemia e 35 mg/dl per la bilirubina.
- Il dosaggio del potassio nel sistema Piccolo è un test combinato di piruvato chinasi (PK)/lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema Piccolo può pertanto recuperare un valore di potassio (K+) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello inteso di potassio elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.
- Per i livelli massimi di sostanze endogene, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Effetti delle sostanze esogene e terapeutiche

Basandosi sulle raccomandazioni di Young, sono state selezionate trentacinque sostanze esogene e terapeutiche come interferenti potenziali per i metodi di test di Abaxis.⁷⁹ Un'interferenza significativa viene definita come uno spostamento maggiore di $\pm 10\%$ nel risultato di un campione con range normale. Ai gruppi di siero umano sono state aggiunte concentrazioni note di farmaci o sostanze chimiche; si è poi proceduto alla relativa analisi. Vedere la Tabella 2 per un elenco di sostanze esogene e terapeutiche valutate. **Vedere la TABELLA 3 per un elenco di analiti in cui è stata osservata interferenza.**

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche

Potenziali interferenti	Massima concentrazione testata (mg/dl a meno di diversa specificazione)
Acetaminofene	100
Acetoacetato	102
Acido acetilsalicilico	50
Ampicillina	30
Acido ascorbico	20
Caffeina	10
Cefalotina (Keflin)	400
Cloramfenicolo	100
Cimetidina	16
Dopamina	19
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glucosio*	700
Glutazione	30
Acido glicolico*	7,6
Idroclorotiazide	7,5
Idrossiurea*	0,7
Ibuprofene	50
Isoniazide	4
α -Chetoglutarato	5
Chetoprofene	50
L-dopa	5
Lidocaina	1
Lattato di litio	84
Meticillina	100

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

Potenziali interferenti	Massima concentrazione testata (mg/dl a meno di diversa specificazione)
Metotrexate	0,5
Metronidazolo	5
Nafcillina	1
Nitrofurantoina	20
Oxacillina	1
Ossalacetato	132
Penicillina G	100
Fenitoina (5,5-difenilidantione)	3
Prolina	4
Piruvato	44
Rifampicina	0,5
Acido salicilico	50
Sulfadiazina	150
Sulfanilamide	50
Teofillina	20

Tabella 3: Le seguenti sostanze hanno mostrato uno spostamento maggiore di $\pm 10\%$ nel risultato di un campione con range normale.

	Concentrazione che produce interferenza >10%	% interferenza ^A osservata
Alanina aminotransferasi (ALT)		
Acido ascorbico	20	aum 11% *
Ossalacetato	132	aum 843%
Albumina (ALB)		
Acetoacetato	102	dim. 18% *
Ampicillina	30	dim. 12%
Caffeina	10	dim. 14%
Cloruro di calcio	20	dim. 17%
Cefalotina (Keflin)	400	aum 13%
Ibuprofene	50	aum 28%
-Chetoglutarato	5	dim. 11%
Nitrofurantoina	20	dim. 13%
Prolina	4	aum 12%
Sulfalazina	10	dim. 14%
Sulfanilamide	50	dim. 12%
Teofillina	20	dim. 11%
Proteina c-reattiva		
Glutazione	30	dim. 13%
Isoniazide	4	dim. 16%
L-dopa	5	dim. 28%
Ossalacetato	132	dim. 57%
Creatina chinasi		
Cefalotina	400	dim. 43%
Dopamina	15	dim. 46%
L-dopa	5	dim. 13%
Metotextrate	0,5	dim. 16 %
Nitrofurantoina	20	dim. 18 %

Tabella 3: Le seguenti sostanze hanno mostrato uno spostamento maggiore di $\pm 10\%$ nel risultato di un campione con range normale. (segue)

	Concentrazione che produce interferenza >10%	% interferenza^A osservata
Creatinina		
Acido ascorbico	20	dim. 11%
Dopamina	19	dim. 80%
L-dopa	5	dim. 71%
Epinefrina	1	dim. 45%
Glutazione	30	dim. 13%
Glucosio		
Ossalacetato	132	dim. 11%
Piruvato	44	dim. 13%
Potassio		
Penicillina G	100	aum. 17%
Sulfadiazina	150	dim. 12%
Sodio		
Cefalotina	400	aum. 12%
Metotrexate	0,5	aum. 11%
Penicillina G	100	aum. 10%
Alanina aminotransferasi (ALT)		
Acido ascorbico	20	aum 11% *
Ossalacetato	132	aum 843%
Bilirubina totale (TBIL)		
Dopamina	19	dim. 55%
L-dopa	5	dim. 17%

^A dim. = diminuita concentrazione dell'analita specifico; aum. = aumentata concentrazione dell'analita specifico

11. Valori attesi

Per determinare i valori di riferimento relativi ad ALT, albumina, amilasi, calcio, creatinina, glucosio, bilirubina totale, e BUN sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 193 adulti maschi e femmine, analizzati con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo. Per determinare i valori di riferimento relativi all'AST, sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 186 adulti maschi e femmine. I campioni di 125-150 maschi e femmine adulti sono stati analizzati per la presenza di elettroliti sull'analizzatore di chimica ematica Piccolo e i campioni di 69 maschi e femmine adulti sono stati analizzati sull'analizzatore chimico Piccolo Xpress per la CRP per determinare gli intervalli di riferimento. Questi valori di elettroliti sono stati calcolati in base all'intervallo di riferimento del 95% ricavato dai valori complessivi ottenuti dai soggetti di riferimento e l'intervallo di CRP si basava sulla trasferibilità dimostrata degli intervalli di riferimento del Beckman.⁸⁰ Tali intervalli vengono riportati a solo titolo indicativo. Si consiglia allo studio o alla struttura di definire valori minimi e massimi normali per la propria popolazione di pazienti.

Tabella 4: Intervalli di riferimento Piccolo

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Alanina aminotransferasi (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albumina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Amilasi (AMY)	14-97 U/l	14-97 U/l
Aspartato aminotransferasi (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dl	2,00-2,58 mmol/l
Proteina c-reattiva	< 7,5 mg/l	< 7,5 mg/l

Tabella 4: Intervalli di riferimento Piccolo (segue)

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Creatina chinasi (Femmina)	30-190 U/l	30-190 U/l
Creatina chinasi (Maschio)	39-380 U/l	39-380 U/l
Creatinina	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Glucosio	73-118 mg/dl	4,1-6,6 mmol/l
Potassio	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Bilirubina totale (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 µmol/l
Azoto ureico ematico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol/l

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se l'analizzatore chimico Piccolo Xpress è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress).

Tabella 5: Range dinamici Piccolo

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Alanina aminotransferasi (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albumina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Amilasi (AMY)	5-4000 U/l	5-4000 U/l
Aspartato aminotransferasi (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Calcio	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Proteina c-reattiva	5,0-200,0 mg/l	5,0-200,0 mg/l
Creatina chinasi	5-5.000 U/l	5-5.000 U/l
Creatinina	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Glucosio	10-700 mg/dl	0,6-38,9 mmol/l
Potassio	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Bilirubina totale (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-513 µmol/l
Azoto ureico ematico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/l

Se la concentrazione dell'analita è superiore ai valori di rilevamento (range dinamico) ma inferiore ai valori previsti dal sistema, sul rochetto dei risultati sarà indicato un segno ">" vicino al limite immediatamente superiore e un asterisco dopo il numero, ad esempio: GLU >700* U/l. Se invece la concentrazione risulta inferiore al range dinamico, un segno "<" verrà stampato con un asterisco, ad esempio GLU <10* U/l. Per valori macroscopicamente superiori al range di misurazione (range del sistema), al posto del risultato viene stampato il segno "~~~~". Raccogliere un nuovo campione e rieseguire il test ogni volta che su un rochetto viene stampato il segno "~~~~". Se i risultati relativi al secondo campione vengono nuovamente soppressi, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Sensibilità

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti: alanina aminotransferasi 5 U/l; albumina 1 g/dl (10 g/l); amilasi 5 U/l; aspartato aminotransferasi 5 U/l; calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); proteina c-reattiva 5,0 mg/l; creatina chinasi 5 U/l; creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosio 10 mg/dl (0,6 mmol/l); potassio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; bilirubina totale 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); e azoto ureico 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l).

Precisione

Gli studi sulla precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida CLSI EP5-A⁸¹ con modifiche in base a CLSI EP18-A⁸² relative ai dispositivi a utilizzo unitario. I risultati di precisione intra-sessione e totale sono stati determinati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio e nel caso del potassio due livelli di pool di plasma. Per gli studi sono stati usati più strumenti. Due lotti di dischi reagenti sono stati usati per gli elettroliti ed uno per la proteina c-reattiva. I test sulla creatina chinasi, la creatinina, il glucosio, il sodio e l'azoto ureico sono stati svolti in un sito; quelli sul potassio sono stati svolti presso due siti nell'arco di 20 giorni; i test sulla proteina c-reattiva (siero 1, controllo 1 e controllo 2) sono stati svolti presso due siti nell'arco di cinque giorni. I test sulla proteina c-reattiva (siero 2 e 3, plasma 1 e 2) sono stati svolti presso un

unico sito nell'arco di cinque giorni. I test sul potassio sono stati eseguiti in una struttura con esenzione CLIA, utilizzando tre analizzatori, un lotto di dischi reagenti e due operatori nell'arco di cinque giorni.

I risultati degli studi sulla precisione sono riportati nella Tabella 6.

Tabella 6: Precisione

Analiti	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Alanina aminotransferasi (U/l)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		21	21
SD		2,76	2,79
%CV		13,4	13,5
<u>Controllo 2</u>			
Media		52	52
SD		2,70	3,25
%CV		5,2	6,2
Albumina (g/dl)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		5,6	5,6
SD		0,09	0,11
%CV		1,7	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		3,7	3,7
SD		0,07	0,11
%CV		2,0	2,9
Amilasi (U/l)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Mean		46	46
SD		2,40	2,63
%CV		5,2	5,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		300	300
SD		11,15	11,50
%CV		3,7	3,8
Aspartato aminotransferasi (U/l)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Mean		47	47
SD		0,98	1,84
%CV		2,1	3,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		145	145
SD		1,83	4,62
%CV		1,3	3,2
Calcio (mg/dl)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Mean		8,6	8,6
SD		0,21	0,25
%CV		2,4	2,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		11,8	11,8
SD		0,39	0,40
%CV		3,3	3,4

Tabella 6: Precisione (segue)

Analiti	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Proteina c-reattiva (mg/l)	N = 80		
<u>Siero 1</u>			
Media		8,3	8,3
SD		0,70	0,81
%CV		8,4	9,8
<u>Siero 2</u>	N = 40		
Media		8,1	8,1
SD		0,49	0,51
% CV		6,1	6,3
<u>Siero 3</u>	N = 40		
Media		8,8	8,8
SD		0,54	0,54
% CV		6,2	6,2
Proteina c-reattiva (mg/l)			
<u>Plasma 1</u>	N = 40		
Media		34,5	34,5
SD		1,04	1,09
% CV		3,0	3,2
<u>Plasma 2</u>	N = 40		
Media		105,5	105,5
SD		2,06	2,30
% CV		1,9	2,2
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		33,0	33,0
SD		1,21	2,12
%CV		3,7	6,4
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		108,0	108,0
SD		1,88	3,14
%CV		1,7	2,9
Creatina chinasi (U/l)	N = 120		
<u>Siero 1</u>			
Media		134	134
SD		2,7	2,7
% CV		2,0	2,0
<u>Siero 2</u>			
Media		526	526
SD		7,7	7,7
% CV		1,5	1,5
Creatinina (mg/dl)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		1,1	1,1
SD		0,14	0,14
% CV		12,5	13,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,23	0,27
% CV		4,4	5,2

Tabella 6: Precisione (segue)

Analiti	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Glucosio (mg/dl)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		66	66
SD		0,76	1,03
% CV		1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		278	278
SD		2,47	3,84
% CV		0,9	1,4
Potassio (mmol/l)	N = 150		
<u>Controllo 1</u>			
Media		3,2	3,2
SD		0,09	0,11
% CV		2,8	3,3
<u>Controllo 2</u>	N = 149		
Media		6,2	6,2
SD		0,09	0,10
%CV		1,4	1,7
<u>Pool di plasma 1</u>	N = 150		
Media		3,2	3,2
SD		0,07	0,09
CV		2,3	2,9
<u>Pool di plasma 2</u>	N = 150		
Media		5,4	5,4
SD		0,09	0,10
CV		1,6	1,9
Sodio (mmol/l)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		143,5	143,5
SD		2,28	2,28
% CV		1,6	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		120,0	120,0
SD		2,13	2,13
% CV		1,8	1,8
Bilirubina totale (mg/dl)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		0,8	0,8
SD		0,06	0,07
%CV		8,0	9,3
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,09	0,15
%CV		1,7	2,8
Azoto ureico ematico (mg/dl)	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		19	19
SD		0,35	0,40
% CV		1,9	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		65	65
SD		1,06	1,18
% CV		1,6	1,8

Precisione su sangue intero per il potasio

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

Tabella 7: Precisione su sangue intero per il potassio

Potassio (mmol/l)	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Sangue intero 1	N = 16		
Media		3,9	3,9
SD		0,06	0,11
CV		1,6	2,8
Sangue intero 2	N = 16		
Media		4,0	4,0
SD		0,11	0,14
CV		2,9	3,4
Sangue intero 3	N = 16		
Media		4,0	4,0
SD		0,11	0,15
CV		2,8	3,9
Sangue intero 4	N = 16		
Media		4,0	4,0
SD		0,11	0,13
CV		2,7	3,4

Alcuni campioni di sangue intero litio-eparinizzato e di siero sono stati prelevati ed analizzati con l'analizzatore chimico ematico Piccolo e con uno o più metodi comparativi per determinare i livelli di cloro, creatina chinasi, creatinina, glucosio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico. I campioni di sangue intero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico ematico Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress (per CRP) presso i siti mentre i campioni di siero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico ematico Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress (per la CRP) e con metodi comparativi. In alcuni casi, sono stati usati campioni supplementati alti e bassi per coprire il range dinamico. Alcuni campioni di plasma litio-eparinizzati sono stati analizzati per determinare il livello di CRP con analizzatore chimico Piccolo Xpress e con un metodo comparativo.

La Tabella 7 riporta i dati di correlazione rappresentativi.

Tabella 7: Correlazione dell'analizzatore chimico ematico Piccolo o l'analizzatore chimico Piccolo Xpress (per la CRP) con il(i) metodo(i) comparativo(i)

	Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Intervallo campione	Metodo comparativo
Alanina aminotransferasi (U/l)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albumina (g/dl)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Amilasi (U/l)	0,979	0,692	-4,7	3,11	99	11-92	Paramax
	0,963	1,065	-4,1	3,47	80	19-118	Technicon
Aspartato aminotransferasi (U/l)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13-252	DAX™
Calcio (mg/dl)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2-11,9	Paramax
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1-9,9	Beckman
Proteina c-reattiva (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,6	113	5,4-198,6	Beckman
Creatina chinasi (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
Glucosio (mg/dl)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72-422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56-646	Beckman
Potassio (mmol/l)	0,984	0,99	0,13	0,10	130	1,3 – 9,5	Siemens
Sangue intero (laboratorio esente)							VISTA Plasma
Potassio (mmol/l)	0,984	0,98	0,12	0,18	178	1,5 – 8,6	Siemens
Sangue intero (laboratorio di moderata complessità)							VISTA Plasma
Potassio (mmol/l)	0,99	0,98	0,06	0,14	178	1,4-8,5	Siemens
Siero (laboratorio di moderata complessità)							VISTA Siero
Sodio (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiometro KNA 2
Bilirubina totale (mg/dl)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax
	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Azoto ureico ematico (mg/dl)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6-52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6-38	Beckman

Si noti che il siero presenta in genere valori di K⁺ più elevati rispetto al sangue intero o al plasma per motivi fisiologici. La variazione oscilla tra circa 0,2 e 0,9 mmol/l e dipende da una serie di fattori. L'impatto principale è legato al numero di cellule ematiche presenti nel campione del paziente⁸³.

Tabella 8: Correlazione della tipologia di campione per CRP

L'analisi per tipologia di campione in base alla regressione di Deming, nell'ambito della determinazione del livello di CRP, ha dato i seguenti risultati su n = 21,

Asse Y	Asse X	R ²	Pendenza	Intercetta
Plasma litio-eparinizzato	Sangue intero litio-eparinizzato	1,000	0,995	0,2
Siero	Sangue intero litio-eparinizzato	0,999	1,005	0,5
Siero	Plasma litio-eparinizzato	0,999	1,010	0,3

Non sono state rilevate differenze significative nel livello di CRP nel sangue intero litio-eparinizzato, nel plasma litio-eparinizzato e nel siero,

13. Simboli



Usare entro



Numero catalogo



Codice lotto



Dispositivo Medico Diagnostico in vitro



Consultare le istruzioni per l'uso



Produttore



Non riutilizzare



Numero di dispositivi di test nel kit



Sequenza di produzione



Numero di serie

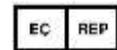


Attenzione



Limitazione di temperatura

PN:
Numero parte



Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea



Indica la conformità alle Direttive Europee specificate



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



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



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

14. Bibliografia

1. Tonhazy NE, NG White, WW Umbreit. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 1921; 49: 93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. *J Biol Chem* 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966; 12: 414-417.
11. Gendler SM, Albumin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. 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. McNeely MDD. Amylase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
16. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. *Clin Chim Acta* 1973; 43: 5-12.
17. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
18. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. *Clin Chem* 1960; 6: 23-35.
19. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of α -amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl α -maltoside as substrate. *Clin Chem* 1977; 23: 2279-2282.
20. Wallenfels K, et al. 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.
21. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
22. Bergmeyer HU, et al. 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.
23. Bergmeyer HU, Horder M, Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978; 24: 720-721.
24. 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.
25. 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.
26. Katzman E, Jacobi M. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J Biol Chem* 1937; 118: 539-544.
27. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol 8. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
28. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
29. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.

14. Bibliografia (segue)

30. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112.
31. 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.
32. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-2141.
33. 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.
34. Kuby SA, Noda, L and Lardy HA. Adenosinetriphosphate-creatine transphosphorylase. *J. Biol Chem.* 1954; 209: 191-201.
35. Tanzer MI And Gilvarg C. Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem.* 1959; 234: 3201-3204.
36. Nuttall FQ And Wedin DS. A simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med.* 1966; 68: 324-332.
37. Oliver IT. A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem J.* 1955; 61: 116-122.
38. Rosalki SB. An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination. *J Lab Clin Med.* 1967; 69: 696-705.
39. Szasz G, Gruber W and Bernt E. Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem.* 1976; 22: 650-656.
40. 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.
41. 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.
42. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1970; 8: 582-587.
43. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
44. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem.* 1975; 21: 1422-1426.
45. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem.* 1982; 28: 114-117.
46. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem.* 1983; 29: 1494-1496.
47. 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.
48. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
49. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
50. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
51. 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.
52. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem.* 1989; 35: 817-820.
53. 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.
54. 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.
55. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc.* 1989; 111: 6339-6350.
56. 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.
57. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem.* 1988; 34: 2295-2298.
58. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
59. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol. 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.58.

14. Bibliografia (segue)

60. Murao S Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-2384.
61. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1984; 30: 971. (Abstract)
62. Perry B, et al. of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-332.
63. 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.
64. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem.* 1914; 19: 211-228.
65. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol.* 1960; 13: 156-159.
66. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem.* 1962; 8: 130-132.
67. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensh.* 1965; 43: 174-175.
68. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta.* 1971; 35: 33-37.
69. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem.* 1977; 49: 464-469.
70. 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.
71. 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.
72. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
73. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40.
74. 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.
75. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
76. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row. 1974: 417-421; 1058-1059.
77. 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.
78. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
79. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
80. 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.
81. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
82. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
83. Hartland AJ, Hartland JH, Neary RN. Serum Potassium Is Unreliable as an Estimate of in Vivo Plasma Potassium. *Clin Chem* 1999;45:1091-1092.