

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

Applicabile esclusivamente ai clienti americani
Rinuncia CLIA: Per campioni di sangue intero utilizzare solo eparina di litio, Media complessità: Utilizzare solo sangue intero con eparina di litio, plasma con litio eparina o siero



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



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Uso previsto

Il disco reagente Piccolo® BioChemistry Panel Plus, in combinazione con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress®, è destinato alla determinazione quantitativa *in vitro* di alanina aminotransferasi (ALT), albumina, fosfatasi alcalina (ALP), amilasi, aspartato aminotransferasi (AST), proteina c-reattiva (CRP), calcio, creatinina, gamma glutamil transferasi (GGT), glucosio, proteine totali, azoto ureico ematico (BUN) e acido urico presenti nel sangue intero litio-eparinizzato, nel plasma litio-eparinizzato o nel siero, in 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 disco reagente per pannello biochimico Piccolo Plus e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il medico nella diagnosi delle patologie riportate di seguito.

Alanina aminotransferasi (ALT):	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi.
Albumina:	Malattie epatiche e renali.
Fosfatasi alcalina (ALP):	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali.
Amilasi:	Pancreatite.
Aspartato aminotransferasi (AST)	Malattie epatiche, quali epatite e ittero virale, shock.
Proteina c-reattiva (CRP):	Infezione, lesione tissutale e patologie infiammatorie.
Calcio:	Malattie paratiroidi, ossee e renali croniche; tetania.
Creatinina:	Malattie renali e monitoraggio della dialisi renale.
Gamma glutamil transferasi (GGT)	Malattie epatiche, compresa cirrosi alcolica e tumori del fegato primari e secondari.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Proteine totali:	Malattia renale, epatica, malattie del midollo osseo; disturbi metabolici e nutrizionali.
Azoto ureico ematico (BUN):	Malattie renali e metaboliche.
Acido urico:	Disturbi renali e metabolici, compresa insufficienza renale e gotta.

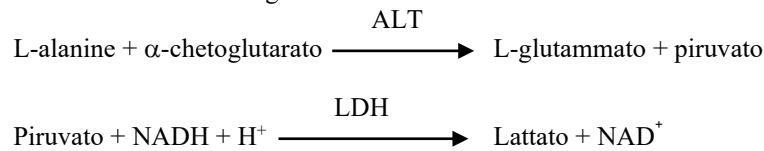
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principio della procedura

Alanina aminotransferasi (ALT)

L'alanina aminotransferasi (ALT) può essere misurata con tre metodi diversi. Due di questi metodi – tecnica colorimetrica di accoppiamento della dinitrofenilidrazina^{1,2} e dosaggio enzimatico mediante fluorescenza – vengono usati raramente.³ La tecnica più comunemente usata per determinare le concentrazioni di ALT nel siero è un metodo enzimatico basato sul lavoro di Wróblewski e LaDue⁴. È stata proposta una procedura Wróblewski e LaDue modificata come procedura raccomandata dall'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, la 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, il NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione seguente.

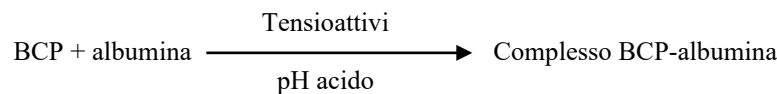


La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è dovuta alla conversione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

Albumina (ALB)

Tra i primi metodi usati per misurare l'albumina ricordiamo le tecniche di frazionamento^{6,7,8} e il contenuto di triptofano delle globuline.^{9,10} Tali metodi sono poco pratici nell'esecuzione e non presentano un elevato grado di specificità. Due tecniche immunochimiche sono considerate metodi di riferimento, ma sono costose e richiedono molto tempo.¹¹ Le tecniche colorimetriche rappresentano i metodi usati più frequentemente per misurare l'albumina. Il verde di bromocresolo (BCG) è il più diffuso fra i metodi basati su legame con colorante, ma può dare una concentrazione di albumina superiore a quella effettiva, soprattutto in prossimità del range normale inferiore.¹² Il violetto di bromocresolo (BCP) è il più specifico dei coloranti in uso.^{13,14}

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

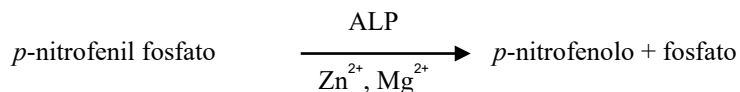


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint che viene misurata nell'assorbanza a 600 nm.

Fosfatasi alcalina (ALP)

Le prime tecniche per la misurazione della fosfatasi alcalina sono state messe a punto oltre 60 anni fa. Diversi di questi metodi spettrofotometrici di punto finale o a due punti^{15,16} sono oggi considerati antiquati o troppo complessi. L'uso di *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) ha aumentato la velocità della reazione.^{17,18} L'affidabilità di questa tecnica è stata notevolmente rafforzata mediante l'uso di una sostanza tampone con ioni metallici per mantenere la concentrazione di ioni magnesio e zinco nella reazione.¹⁹ Il metodo di riferimento della American Association for Clinical Chemistry (AACC)²⁰ utilizza *p*-NPP come substrato e un tampone a ioni metallici.

La procedura Piccolo è una variante dei metodi AACC e IFCC.²¹ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in un tampone a ioni metallici e forma *p*-nitrofenolo e fosfato.



La quantità di ALP presente nel campione è proporzionale alla velocità di aumento nella differenza di assorbanza tra 405 nm e 500 nm.

Amilasi (AMY)

Sono stati messi a punto circa 200 diversi test per misurare l'amilasi. La maggior parte delle procedure si basa su una soluzione tamponata di polisaccaridi, ma le tecniche di rilevazione utilizzate sono diverse. I metodi viscosimetrici non sono affidabili in termini di precisione e accuratezza,²² mentre i metodi turbidimetrici e iodometrici sono difficili da standardizzare.^{23,24} Vengono comunemente usati i metodi saccarogenici e cromolitici. La tecnica "classica" di determinazione quantitativa dell'amilasi è un metodo saccarogenico,²⁵ ma è complesso e di lunga durata.²⁶ Recentemente sono stati sviluppati metodi cromolitici che utilizzano *p*-nitrofenilglicosidi come substrati.²⁷ Tali dosaggi hanno una specificità maggiore per l'amilasi pancreatica rispetto all'amilasi salivare e sono facilmente monitorati.²⁷

Nel metodo Piccolo, il substrato 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNP3), reagisce con l' α -amilasi nel campione prelevato dal paziente, rilasciando 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP). Il rilascio di CNP determina un cambiamento di colore.

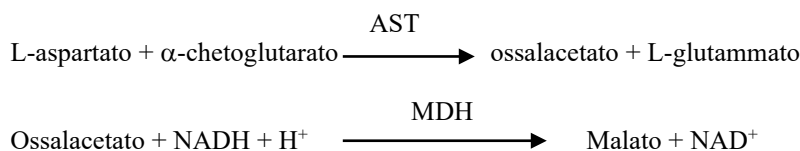


La reazione viene misurata bicromaticamente a 405 nm e 500 nm. La variazione di assorbanza dovuta dalla formazione di CNP è direttamente proporzionale all'attività dell' α -amilasi nel campione.

Aspartato aminotransferasi (AST)

Il test per l'aspartato aminotransferasi (AST) si basa sul metodo di Karmen²⁸ con le modifiche introdotte da Bergmeyer.²⁹ L'attuale metodo di riferimento dell'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa sulla tecnica Karmen/Bergmeyer di associazione della malato deidrogenasi (MDH) e della nicotinammide dinucleotide ridotta (NADH) per il rilevamento di AST nel siero.^{29,30} Alla reazione si aggiunge la lattato deidrogenasi (LDH) per ridurre l'interferenza causata dal piruvato endogeno.

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



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

Proteina c-reattiva (CRP)

I test originali per la determinazione quantitativa della CRP venivano utilizzati essenzialmente per la ricerca e si basavano sulla metodologia ELISA.³¹ Più recentemente, sono stati usati i metodi immunonefelometrici al lattice.³² In ogni caso, era necessario un nefelometro per misurare la luce diffusa. Oggi, sono stati sviluppati diversi test immunoturbidimetrici e immunoluminometrici automatizzati che possono essere eseguiti su analizzatori di chimica clinica convenzionali.³³

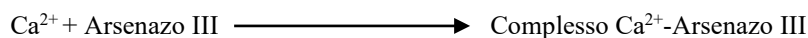
Il metodo usato da Abaxis è un dosaggio immunologico turbidimetrico con agglutinazione al lattice. Il campione viene mescolato con una sospensione di anticorpo monoclonale murino anti-CRP umana legata al lattice. La CRP nel campione si lega alle particelle di lattice ricoperte di anticorpo e si agglutina 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.



Calcio (CA)

I primi metodi utilizzati per analizzare il calcio si basavano sulla precipitazione del calcio con un eccesso di anioni.^{34,35,36} I metodi di precipitazione sono complessi e spesso imprecisi. Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico, che è però inadatta ad analisi di routine.³⁷ I metodi spettrofotometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresoltaleina complexone (CPC) o arsenazo III sono quelli più comunemente usati.^{38,39,40} L'arsenazo III presenta un'elevata affinità per il calcio e non è temperatura-dipendente come il CPC.

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

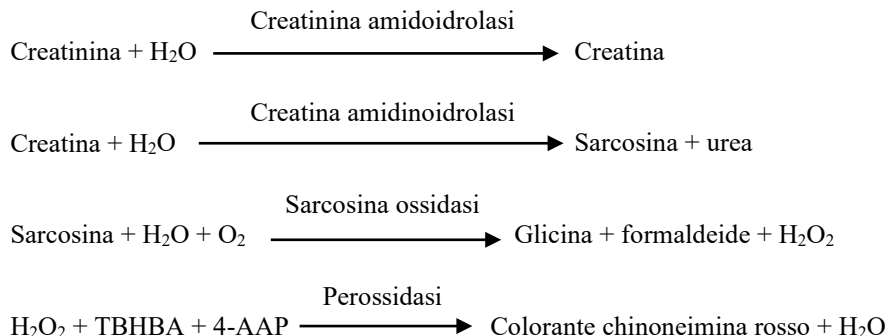


La reazione di endpoint viene monitorata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio totale nel campione è proporzionale all'assorbanza.

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) alla tecnica di Jaffe per aumentare la specificità della reazione.^{41,42} 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.^{43,44,45} I metodi che utilizzano l'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio riscontrato nelle tecniche che impiegano creatinina iminoidrolasi.⁴⁶

Nelle reazioni enzimatiche combinate, la creatinina amidoidrolasi idrolizza la creatinina in creatina. Un secondo enzima, la creatina amidinoidrolasi, catalizza la formazione di sarcosina dalla creatina. La sarcosina ossidasi dà luogo all'ossidazione della sarcosina in glicina, formaldeide e perossido di idrogeno (H₂O₂). Nel completamento Trinder, la perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno, acido 2,4,6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA) e 4-aminoantipirina (4-AAAP) in un colorante rosso chinoneimina. Il ferrocianuro di sodio e l'ascorbato ossidasi vengono aggiunti alla miscela di reazione per ridurre al minimo la possibile interferenza rispettivamente della bilirubina e dell'acido ascorbico.



Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai calcoli la creatina endogena, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso sviluppato. La reazione di endpoint è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 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 (CKD). 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 dell'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 CKD. Generalmente, valori calcolati di eGFR <60 ml/min sono associati a un aumentato rischio di CKD con esiti avversi.^{47,48,49}

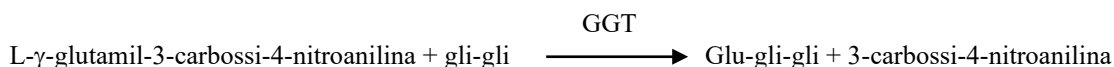
Il calcolo dell'eGFR viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnia del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo dell'eGFR.

$$\text{GFR (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1,154} \times (\text{Età})^{-0,203} \times (0,742 \text{ per le donne}) \times (1,212 \text{ per gli afroamericani})$$

Gamma glutamil transferasi (GGT)

I primi metodi quantitativi sviluppati per misurare la gamma glutamil transferasi (GGT) comportavano una seconda reazione per formare un colorante azoico che si combinava con un cromoforo.^{50,51} Il passaggio a L-γ-glutamyl-p-nitroanilide come substrato nella reazione ha eliminato la fase di formazione del colorante.⁵² Data la scarsa solubilità e stabilità della L-γ-glutamyl-p-nitroanilide, questa procedura è stata modificata al fine di usare il substrato L-γ-glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide.⁵³ Il metodo GGT raccomandato dalla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa su quest'ultimo substrato, con glicilglicina come altro substrato.⁵⁴

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

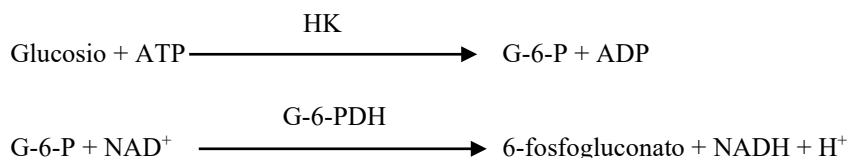


L'assorbanza di questa reazione di velocità viene misurata a 405 nm. La produzione di 3-carbossi-4-nitroanilina è direttamente proporzionale all'attività di GGT nel campione.

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu⁵⁵ e Somogyi-Nelson^{56,57}). La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio inserito nel disco reagente per il pannello biochimico Plus è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.⁵⁸

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

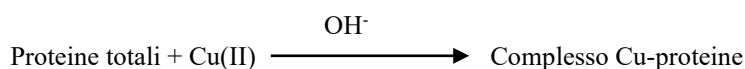


L'assorbanza viene misurata bicromaticamente a 340 nm e 850 nm. La produzione di NADH è direttamente proporzionale alla quantità di glucosio presente nel campione.

Proteine totali (TP)

Il metodo delle proteine totali è una modifica della reazione del biuretto, nota per la sua precisione, accuratezza e specificità.⁵⁹ Originariamente sviluppata da Riegler⁶⁰ e successivamente modificata da Weichselbaum,⁶¹ Dumas et al.,⁶² proponeva la reazione con biuretto come possibile metodo di riferimento per le proteine totali.

Nella reazione del biuretto, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.⁶¹ Gli ioni Cu(II) reagiscono con i legami peptidici tra gli atomi di ossigeno del gruppo carbonilico e di azoto del gruppo ammidico formando un complesso colorato Cu-proteine.

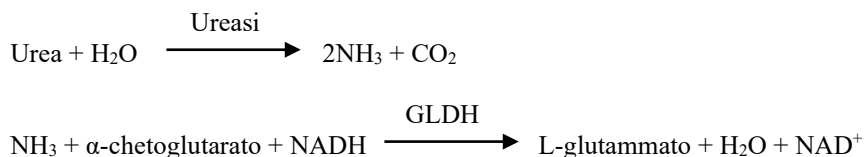


La quantità di proteine totali presenti nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del complesso Cu-proteine. Il test delle proteine totali è una reazione di endpoint e l'assorbanza è data dalla differenza in assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

Azoto ureico ematico (BUN)

L'urea può essere misurata sia direttamente che indirettamente. L'unico metodo diretto di misurazione dell'urea è la reazione della diacetilmonossima, metodo comunemente usato ma che utilizza reagenti pericolosi.⁶³ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca creata dall'urea e l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.⁶⁴ L'ammoniaca può essere quantificata con svariati metodi, quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot^{65,66} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{67,68} Le procedure Berthelot catalizzate risultano tuttavia poco affidabili ai fini della misurazione dell'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. Alla combinazione di ammoniaca con α -chetoglutarato e nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida NADH in NAD⁺.



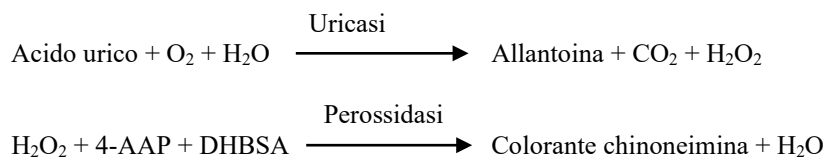
La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla conversione di NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di urea presente nel campione.

Acido urico (UA)

I primi metodi per la determinazione quantitativa delle concentrazioni di acido urico nel sangue si basavano sulla riduzione dell'acido fosfotungstico in blu di tungsteno nelle soluzioni alcaline di acido urico.^{71,72} È stato in seguito messo a punto un test

per l'acido urico avente maggiore specificità, basato sull'enzima specifico uricasi. Tale metodo rappresenta ora la tecnica chimica clinica standard per l'acido urico.⁷³

Il metodo dell'uricasi è accoppiato con completamento Trinder alla perossidasi.⁷⁴ In questo metodo, l'uricasi catalizza l'ossidazione dell'acido urico in allantoina e perossido di idrogeno. La perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno (H₂O₂), 4-aminoantipirina (4-AAP) e acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzenesolfonico (DHBSA) in colorante chinoneimina rosso. Il ferrocianuro di sodio e l'ascorbato ossidasi vengono aggiunti alla miscela di reazione per ridurre al minimo la possibile interferenza della bilirubina e dell'acido ascorbico.



La quantità di acido urico nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del colorante chinoneimina. L'assorbanza finale di questa reazione di endpoint viene misurata bicromaticamente a 500 nm e 600 nm.

4. Principio del test

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

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni disco reagente per pannello biochimico Piccolo Plus contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (come descritto di seguito). In ogni disco è compreso un campione bianco-reagente secco (costituito da sostanza tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di alanina aminotransferasi (ALT), albumina (ALB), fosfatasi alcalina (ALP), amilasi (AMY), aspartato aminotransferasi (AST), proteina c-reattiva (CRP), calcio (CA), gamma glutamil transferasi (GGT), glucosio (GLU), proteine totali (TP), azoto ureico (BUN) e acido urico (UA). Sono inoltre compresi nel disco campioni bianco dedicati per calcolare le concentrazioni di creatinina (CRE). Ciascun disco contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componente	Quantità/Disco
Adenosina-5'-trifosfato	12 µg
L-alanina	874 µg
4-Aminoantipirina	27 µg
Idrocloruro di 4-aminoantipirina	6 µg
Anti-CRP umana (capra)	0,3 µg
Lattice rivestito di anti-CRP umana (murina)	67 µg
Arsenazo III, sale sodico	3 µg
Ascorbato ossidasi (Cucurbita spp.)	0,4 U
Acido L-aspartico	426 µg
Porpora di bromocresolo	2 µg
2-Cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNPG3)	36 µg
Creatina amidinoidrolasi (Actinobacillus spp.)	3 U
Creatinina amidinoidrolasi (Pseudomonas spp.)	1 U
Solfato di rame (II)	210 µg
Acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzenesolfonico (DHBSA)	37 µg
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi (lievito)	0,05 U
Glutammato deidrogenasi (fegato di bovino)	0,01 U
Acido L-glutammico γ -(3-carbossi-4-nitroanilide), sale d'ammonio	32 µg
Glicilglicina	317 µg
Esochinasi (lievito)	0,1 U
α -chetoglutarato, sale disodico	37 µg
Acido α -chetoglutarico	72 µg
Lattato deidrogenasi (cuore di pollo)	0,002 U
Lattato deidrogenasi (Staphylococcus epidermidis)	0,1 U
Acetato di magnesio	7 µg
Cloruro di magnesio	5 µg
Malato deidrogenasi (MDH) (cuore porcino)	0,01 U
β -nicotinamide adenin dinucleotide (NAD)	20 µg
β -Nicotinamide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	19 µg
p-Nitrofenil fosfato (p-NPP)	67 µg
Perossidasi (barbaforte)	0,9 U
Ioduro di potassio	28 µg
Sarcosina ossidasi (microrganismo)	0,7 U
Ferrocianuro di sodio	1 µg
Tartrato di sodio e potassio	343 µg
Acido 2,4,6-Tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA)	188 µg
Ureasi (fagiolini)	0,05 U
Uricasi (microbica)	0,04 U
Solfato di zinco	3 µg
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 è possibile riutilizzare un disco con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel disco.
- I dischi reagente usati contengono liquidi organici umani. Manipolare e smaltire i dischi usati in conformità alle buone pratiche di sicurezza in laboratorio.⁷⁵ Consultare il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress per istruzioni sulla pulizia e rimozione di sostanze a rischio biologico inavvertitamente versate.
- I dischi reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. Non utilizzare **mai** un disco che abbia subito cadute in quanto può rilasciare materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- Le microsfele di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfele di reagente. In caso di manipolazione delle microsfele (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

Una volta 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 la confezione in carta alluminio sigillata, estrarre il disco e utilizzarlo seguendo le istruzioni fornite nel Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress. Smaltire i dischi non utilizzati entro 20 minuti dall'apertura della confezione.

Conservazione

Conservare i dischi reagente nelle confezioni sigillate a 2-8 °C. Non esporre i dischi, aperti o ancora sigillati, alla luce solare diretta o a temperature superiori a 32 °C. 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 dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

Le tecniche di raccolta dei campioni sono descritte nella sezione "Raccolta dei campioni" del Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico 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 mediante venipuntura devono essere omogenei prima che il campione venga trasferito nel disco reagente. Capovolgere delicatamente la provetta di prelievo alcune volte 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.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dal prelievo.⁷⁶ Le concentrazioni di **glucosio** sono influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente e dal tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, è necessario prelevare i campioni 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.⁷⁷
- Per campioni di sangue intero o plasma, utilizzare solo provette di prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette di prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso/nero).

- La refrigerazione di campioni di sangue intero può causare variazioni significative nelle concentrazioni di **aspartato aminotransferasi, creatinina e glucosio**.⁷⁸ Il campione può essere separato in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8 °C qualora non fosse possibile analizzarlo entro 60 minuti.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel disco reagente.

8. Procedura

Materiali forniti

- Un disco reagente Piccolo BioChemistry Panel Plus, PN: 400-1035 (una confezione di dischi, PN 400-0035)

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. Il tempo di analisi per ogni disco reagente per pannello biochimico Piccolo Plus è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il disco reagente a una temperatura di 37 °C.

Procedura del test

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

Per le procedure dettagliate di esecuzione, registrazione, interpretazione e rappresentazione grafica dei risultati dei controlli, vedere il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

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 dell'operatore dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

L'interpretazione dei risultati è descritta nel Manuale dell'operatore. I risultati vengono stampati su appositi nastri forniti da Abaxis. I nastri dei risultati sono provvisti di un adesivo sul retro per poterli facilmente applicare sulle cartelle dei pazienti.

10. Limiti della procedura

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

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con il sistema analizzatore chimico Piccolo Xpress è la **litio eparina**. Non utilizzare sodio eparina. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscono con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel disco reagente per pannello biochimico Piccolo Plus.
- 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 devono essere tenute in considerazione quando si interpretano i valori.³¹ 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 è causa di interferenze. È possibile che i campioni prelevati da pazienti ai quali sono stati somministrati preparati 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 è causa di interferenza.
- 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. Ciascun possibile interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di analisi riportati nelle linee guida CLSI (già NCCLS) EP7-P⁷⁹ (eccetto CRP) e CLSI EP7-A⁸⁰ (CRP).

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 nastro 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 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.
- Per i livelli massimi di sostanze endogene, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Effetti delle sostanze esogene e terapeutiche

Basandosi sulle raccomandazioni di Young,⁸¹ sono state selezionate sostanze esogene e terapeutiche come interferenti potenziali per i metodi di test di Abaxis. 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. Per un elenco delle sostanze esogene e terapeutiche valutate, vedere la Tabella 2. **Vedere la TABELLA 3 per un elenco di analiti in cui è stata osservata interferenza.**

Tabella 2: Valutazione delle sostanze esogene e terapeutiche

Possibile interferente	Massima concentrazione testata^A (mg/dl se non diversamente specificato)
Acetaminofene	100
Acetoacetato	102
Acido acetilsalicilico	50
Ampicillina	30
Acido ascorbico (eccetto CRP)	20
Acido ascorbico (solo CRP)	3
Caffeina	10
Cloruro di calcio (eccetto CRP)	20
Cloruro di calcio (solo CRP)	NE
Cefalotina (Keflin)	400
Cloramfenicolo	100
Cimetidina	16
L-dopa	5
Dopamina (eccetto CRP)	19
Dopamina (solo CRP)	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutazione	30
Idroclorotiazide	7,5
Ibuprofene	50
Isoniazide	4
α -chetoglutarato (eccetto CRP)	5
α -chetoglutarato (solo CRP)	NE
Chetoprofene	50
Lidocaina	1
Lattato (eccetto CRP)	230
Lattato di litio (solo CRP)	84
Meticillina	100
Metotrexate	0,5
Metildopa (solo AST, GLU, TP e UA)	0,5
Metildopa (tutti gli altri)	NE
Metronidazolo	5
Nafcillina	1
Nitrofurantoina	20
Oxacillina	1
Ossalacetato	132
Penicillina G	100
Fenitoina (5,5-difenilidantione)	3
Prolina	4
Piruvato (eccetto CRP)	44
Piruvato (solo CRP)	NE
Rifampina (solo AST, GLU, TP e UA)	1,5
Rifampina (tutti gli altri)	0,5
Acido salicilico (eccetto CRP)	25
Acido salicilico (solo CRP)	50
Sulfalazina (eccetto CRP)	10
Sulfalazina (solo CRP)	NE

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

Possibile interferente	Massima concentrazione testata ^A (mg/dl se non diversamente specificato)
Sulfadiazina (eccetto CRP)	NE
Sulfadiazina (solo CRP)	150
Sulfanilamide	50
Teofillina	20

^A NE = non eseguita

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

	Concentrazione che produce $>10\%$ di interferenza	% interferenza ^B osservata
Alanina aminotransferasi (ALT)		
Acido ascorbico	20	11% (aum.)
Ossalacetato	132	843% (aum.)
Albumina (ALB)		
Acetoacetato	102	18% (dim.)
Ampicillina	30	12% (dim.)
Caffeina	10	14% (dim.)
Cloruro di calcio	20	17% (dim.)
Cefalotina (Keflin)	400	13% (aum.)
Ibuprofene	50	28% (aum.)
α -chetoglutarato	5	11% (dim.)
Nitrofurantoina	20	13% (dim.)
Prolina	4	12% (aum.)
Sulfasalazina	10	14% (dim.)
Sulfanilamide	50	12% (dim.)
Teofillina	20	11% (dim.)
Fosfatasi alcalina (ALP)		
Teofillina	20	42% (dim.)
Proteina c-reattiva		
Glutazione	30	13% (dim.)
Isoniazide	4	16% (dim.)
L-dopa	5	28% (dim.)
Ossalacetato	132	57% (dim.)
Creatinina (CRE)		
Acido ascorbico	20	11% (dim.)
Dopamina	19	80% (dim.)
L-dopa	5	71% (dim.)
Epinefrina	1	45% (dim.)
Glutazione	30	13% (dim.)
Glucosio (GLU)		
Ossalacetato	132	11% (dim.)
Piruvato	44	13% (dim.)

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 $>10\%$ di interferenza	% interferenza^B osservata
Acido urico		
Acido ascorbico	20	13% (dim.)
Epinefrina	1	14% (dim.)
L-dopa	5	78% (dim.)
Metildopa	0,5	12% (dim.)
Rifampicina	1,5	14% (dim.)
Acido salicilico	25	20% (dim.)

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

11. Valori attesi

Per determinare i valori di riferimento per ALT, albumina, ALP, amilasi, calcio, creatinina, glucosio, proteine totali 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 per AST e acido urico, sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 186 adulti maschi e femmine. Per determinare i valori di riferimento per GGT, sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 131 adulti maschi e femmine. I valori di riferimento riportati di seguito per tali analiti sono stati calcolati in base all'intervallo di riferimento del 95% ricavato dai valori complessivi ottenuti dai soggetti di riferimento. Per determinare i valori relativi alla CRP, sono stati utilizzati campioni prelevati da un totale di 69 adulti maschi e femmine, analizzati con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress. Il range della CRP si basa sulla trasferibilità dimostrata degli intervalli di riferimento del Beckman.⁸² Tali range vengono riportati solo a scopo indicativo. Si consiglia allo studio o alla struttura di definire valori minimi e massimi normali per la propria popolazione di pazienti.

Tabella 4: Valori 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
Fosfatasi alcalina (ALP)		
Femmina	42-141 U/l	42-141 U/l
Maschio	53-128 U/l	53-128 U/l
Amilasi (AMY)	14-97 U/l	14-97 U/l
Aspartato aminotransferasi (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Proteina c-reattiva	<7,5 mg/l	<7,5 mg/l
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dl	2,00-2,58 mmol/l
Creatinina	0,6-1,2 mg/dl	53-106 μ mol/l
Gamma glutamil transferasi (GGT)	5-65 U/l	5-65 U/l
Glucosio	73-118 mg/dl	4,1-6,6 mmol/l
Proteine totali (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l
Azoto ureico ematico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol/l
Acido urico (UA)		
Femmina	2,2-6,6 mg/dl	131-393 μ mol/l
Maschio	3,6-8,0 mg/dl	214-476 μ mol/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 (consultare il Manuale dell'operatore 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
Fosfatasi alcalina (ALP)	5-2400 U/l	5-2400 U/l
Amilasi (AMY)	5-4000 U/l	5-4000 U/l
Aspartato aminotransferasi (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Proteina c-reattiva	5,0-200,0 mg/l	5,0-200,0 mg/l
Calcio	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Creatinina	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Gamma glutamil transferasi (GGT)	5-3000 U/l	5-3000 U/l
Glucosio	10-700 mg/dl	0,6-38,9 mmol/l
Proteine totali (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l
Azoto ureico ematico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/l
Acido urico	1-15 mg/dl	100-900 µmol/l

Se la concentrazione dell'analita è superiore al range di misurazione (range dinamico) ma inferiore al range del sistema, sul nastro dei risultati sarà indicato un segno ">" accanto al limite immediatamente superiore e un asterisco dopo il numero, ad esempio: ALT >2000* U/l. Se invece la concentrazione risulta inferiore al range dinamico, un segno "<" verrà stampato con un asterisco, ad esempio ALT <5* U/l. Per valori macroscopicamente superiori al range di misurazione (range del sistema), al posto del risultato viene stampato il segno "~~~~". Raccogliere un nuovo campione e rieseguire il test ogni volta che su un nastro viene stampato il segno "~~~~". Se i risultati relativi al secondo campione vengono nuovamente soppressi, rivolgersi all'assistenza tecnica Abaxis.

Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti: alanina aminotransferasi 5 U/l; albumina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasi alcalina 5 U/l; amilasi 5 U/l; aspartato aminotransferasi 5 U/l; proteina c-reattiva 5,0 mg/l; calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); gamma glutamil transferasi 5 U/l; glucosio 10 mg/dl (0,6 mmol/l); proteine totali 2 g/dl (20 g/l); azoto ureico ematico 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l) e acido urico 1 mg/dl (100 µmol/l).

Precisione

Sono stati effettuati studi di precisione seguendo le linee guida CLSI EP5-T2⁸³ (eccetto CRP) e EP5-A⁸⁴ con modifiche basate su CLSI EP18-A⁸⁵ per i 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. Per gli studi sono stati usati più strumenti. I test su ALT, AST, albumina, ALP, amilasi, calcio, creatinina, GGT, glucosio, proteine totali, BUN e acido urico sono stati eseguiti presso due siti con due lotti di dischi reagente nell'arco di 20 giorni. I test sulla proteina c-reattiva sono stati condotti con un lotto di dischi reagente nel corso di cinque giorni; i test siero 1, controllo 1 e controllo 2 sono stati condotti presso due siti; i test siero 2, siero 3, plasma 1 e plasma 2 sono stati condotti presso un unico sito.

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

Tabella 6: Precisione

Analita	Dimensione del campione	Intra-sessione	Totale
Alanina aminotransferasi (U/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		21	21
DS		2,76	2,79
% CV		13,4	13,5
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		52	52
DS		2,70	3,25
% CV		5,2	6,2
Albumina (g/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		5,6	5,6
DS		0,09	0,11
% CV		1,7	2,1
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		3,7	3,7
DS		0,07	0,11
% CV		2,0	2,9
Fosfatasi alcalina (U/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		39	39
DS		1,81	2,29
% CV		4,6	5,8
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		281	281
DS		4,08	8,75
% CV		1,5	3,1
Amilasi (U/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		46	46
DS		2,40	2,63
% CV		5,2	5,7
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		300	300
DS		11,15	11,50
% CV		3,7	3,8
Aspartato aminotransferasi (U/l)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		47	47
DS		0,98	1,84
% CV		2,1	3,9
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		145	145
DS		1,83	4,62
% CV		1,3	3,2

Tabella 6: Precisione (segue)

Analita	Dimensione del campione	Intra-sessione	Totale
Proteina c-reattiva (mg/l)			
<u>Siero 1</u>	N = 80		
Media		8,3	8,3
DS		0,70	0,81
% CV		8,4	9,8
<u>Siero 2</u>	N = 40		
Media		8,1	8,1
DS		0,49	0,51
% CV		6,1	6,3
<u>Siero 3</u>	N = 40		
Media		8,8	8,8
DS		0,54	0,54
% CV		6,2	6,2
<u>Plasma 1</u>	N = 40		
Media		34,5	34,5
DS		1,04	1,09
% CV		3,0	3,2
<u>Plasma 2</u>	N = 40		
Media		105,5	105,5
DS		2,06	2,30
% CV		1,9	2,2
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		33,0	33,0
DS		1,21	2,12
% CV		3,7	6,4
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		108,0	108,0
DS		1,88	3,14
% CV		1,7	2,9
Calcio (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		8,6	8,6
DS		0,21	0,25
% CV		2,4	2,9
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		11,8	11,8
DS		0,39	0,40
% CV		3,3	3,4
Creatinina (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		1,1	1,1
DS		0,14	0,14
% CV		12,5	13,1
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		5,2	5,2
DS		0,23	0,27
% CV		4,4	5,2

Tabella 6: Precisione (segue)

Analita	Dimensione del campione	Intra-sessione	Totale
Gamma glutamil transferasi (U/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		25	25
DS		0,59	0,74
% CV		2,3	2,9
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		106	106
DS		1,52	2,29
% CV		1,4	2,2
Glucosio (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		66	66
DS		0,76	1,03
% CV		1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		278	278
DS		2,47	3,84
% CV		0,9	1,4
Proteine totali (g/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		6,8	6,8
DS		0,05	0,08
% CV		0,8	1,2
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		4,7	4,7
DS		0,09	0,09
% CV		2,0	2,0
Azoto ureico ematico (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		19	19
DS		0,35	0,40
% CV		1,9	2,1
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		65	65
DS		1,06	1,18
% CV		1,6	1,8
Acido urico (mg/dl)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		3,8	3,8
DS		0,15	0,18
% CV		4,0	4,8
<u>Controllo 2</u>	N = 80		
Media		7,5	7,5
DS		0,24	0,29
% CV		3,2	3,9

Correlazione

I campioni di sangue intero e siero litio-eparinizzati sono stati prelevati da pazienti presso due strutture. I campioni di sangue intero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo sul posto; i campioni di siero sono stati analizzati con metodi comparativi. In due casi sono stati utilizzati i risultati di analisi su campioni di siero eseguiti con l'analizzatore Piccolo (opportunamente indicati nella tabella). In alcuni casi, sono stati usati campioni supplementati alti e bassi per coprire il range dinamico. Per la CRP, i campioni sono stati prelevati da pazienti presso un unico sito. I campioni di plasma litio-eparinizzati sono stati analizzati con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress e con un metodo comparativo. Sono stati scelti campioni rispondenti ai valori di distribuzione contenuti nelle linee guida CLSI EP9-A2.⁸⁶ I campioni sono stati analizzati "in singolo" con metodi Abaxis e metodi comparativi nello stesso giorno. La Tabella 7 riporta le statistiche di correlazione rappresentative.

Tabella 7: Correlazione dell'analizzatore chimico del sangue Piccolo o dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress (per la CRP) con i metodi comparativi

	Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Range campione	Metodo comparativo
Alanina	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
Aminotransferasi (U/l)	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albumina (g/dl)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Fosfatasi alcalina (U/l)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27-368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26-150	Technicon
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	1,90	46	13-252	DAX™
Proteina c-reattiva (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,60	113	5,4-198,6	Beckman
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
Creatinina (mg/dl)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4-14,7	Paramax
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4-7,5	Beckman
Gamma glutamil transferasi (U/l)	1,0	0,98	-0,4	3,29	135	5-312	Paramax
	1,0**	1,60	3,1	18,57	49	27-1848	Beckman
Glucosio (mg/dl)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72-422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56-646	Beckman
Proteine totali (g/dl)	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7-9,2	Paramax
	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5-9,2	Beckman
Azoto ureico ematico (mg/dl)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6-52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6-38	Beckman
Acido urico (mg/dl)	0,979	0,958	-0,3	0,20	159	1,4-7,6	Paramax
	0,975	0,908	-0,6	0,31	44	2,1-12,1	DAX

* I campioni di siero di pazienti ospedalizzati hanno fornito un range più ampio, e probabilmente più utile, rispetto ai campioni di sangue intero venoso di pazienti ambulatoriali. I dati di correlazione per il test del calcio effettuato con Piccolo si riferiscono a questi campioni di siero.

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

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	R²	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, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce 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, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978; 24: 80-86.
15. King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori Y. Über die Phosphomonoesterase. *Enzymologia* 1937; 4: 217-231.
18. Fujita H. Über die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983; 29: 751-761.
21. Bowers GN Jr, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979; 98: 163F-174F.
22. 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.
23. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. *Clin Chim Acta*. 1973; 43: 5-12.
24. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
25. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. *Clin Chem* 1960; 6: 23-35.
26. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of α -amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl α -maltoside as substrate. *Clin Chem* 1977; 23: 2279-2282.
27. 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.
28. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
29. Bergmeyer HU, 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.
30. Bergmeyer HU, et al. 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.
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.

14. Bibliografia (segue)

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. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J Biol Chem* 1921; 47: 475-481.
35. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. *J Biol Chem* 1925; 63: 461-464.
36. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J Biol Chem*. 1937; 118: 539-544.
37. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 8. Cooper GR, ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
38. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
39. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.
40. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112.
41. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8: 582-587.
42. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
43. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
44. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
45. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
46. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
47. National Kidney Disease Education Program (NKDEP). Creatinine Standardization. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/creatinine_standardization.htm (Accessed September 2010).
48. National Kidney Disease Education Program (NKDEP) Creatinine Standardization Recommendations. IVD Manufacturers. http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/IVD_Manufacturers.htm (Accessed September 2010).
49. National Kidney Foundation. GFR Calculator. http://www.kidney.org/professionals/kls/gfr_calculator.cfm (Accessed September 2010).
50. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
51. Goldberg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960; 91: 61-70.
52. Orłowski M, Meister A. γ -Glutamyl-*p*-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochim Biophys Acta* 1963; 73: 679-681
53. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
54. Shaw LM, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ -glutamyltransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
55. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
56. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
57. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
58. Kaplan LA. Glucose. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
59. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
60. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-245.
61. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946; 16: 40-49.
62. Dumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27: 1642-1650.

14. Bibliografia (segue)

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 and 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. Folin O, Denis W. A new (colorimetric) method for the determination of uric acid in blood. J Biol Chem 1912-1913; 13: 469-475.
72. Brown H. The determination of uric acid in human blood. J Biol Chem 1945; 158: 601-608.
73. Feichtmeir TV, Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. Am J Clin Pathol 1955; 25: 833-839.
74. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26: 227-231.
75. Clinical and Laboratory Standards Institute. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
76. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
77. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972; 39: 35-40.
78. 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.
79. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
80. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Publication EP7-P. Wayne, PA: CLSI, 1986.
81. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
82. 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.
83. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – second edition. CLSI Document EP5-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
84. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
85. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
86. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.