

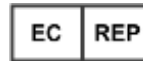
Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro* e professionale

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 disco reagente del Piccolo<sup>®</sup>MetLac 12 Panel, da utilizzarsi con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress<sup>®</sup>, è progettato per essere utilizzato nella determinazione quantitativa *in vitro* di albumina, calcio, cloruro, creatinina, glucosio, lattato, magnesio, fosforo, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico ematico (BUN) in sangue intero litio-eparinizzato o plasma litio-eparinizzato nel contesto di un laboratorio clinico o in un centro di assistenza sanitaria.

## 2. Sommario e spiegazione dei test

Il disco reagente MetLac 12 Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il medico nella diagnosi delle seguenti patologie.

Albumina:	Malattia epatica e renale.
Calcio:	Malattie paratiroidee, ossee e renali croniche; tetania.
Cloruro:	Disidratazione, diarrea e vomito prolungati, tubulopatia renale, iperparatiroidismo, ustioni, affezioni renali da perdita di sali, iperidratazione e terapia con tiazidici.
Creatinina:	Malattie renali e monitoraggio della dialisi renale.
Glucosio:	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Lattato:	Le misurazioni di lattato vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento di acidosi lattica, nel monitoraggio dell'ipossia tissutale e nella diagnosi di iperlattatemia.
Magnesio:	Ipomagnesemia e ipermagnesemia.
Fosforo:	Disidratazione, diabete, paratiroidismo, malattia renale.
Potassio:	Malattia renale glomerulare o tubulare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi <i>in vitro</i> , iperaldosteronismo, malnutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.
Sodio:	Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sale, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, ustioni, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia per diluizione, per deplezione e delusiva, sindrome da inadeguata secrezione di ADH.
Anidride carbonica totale:	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.
Azoto ureico ematico (BUN):	Malattie renali e metaboliche.

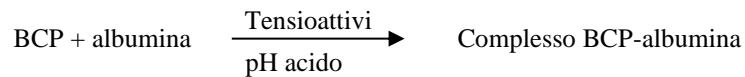
**Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.**

### 3. Principio della procedura

#### Albumina (ALB)

Tra i primi metodi usati per misurare l'albumina vi sono le tecniche di frazionamento<sup>1,2,3</sup> e il contenuto di triptofano delle globuline.<sup>4,5</sup> 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.<sup>6</sup> Le tecniche basate sul legame con coloranti sono le più usate per la misurazione dell'albumina. Il verde di bromocresolo (BCG) è il più diffuso fra i metodi basati su legame con colorante, ma può dare una concentrazione di albumina superiore a quella effettiva, soprattutto in prossimità dei valori normali più bassi.<sup>7</sup> Il violetto di bromocresolo (BCP) è il più specifico dei coloranti in uso.<sup>8,9</sup>

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.

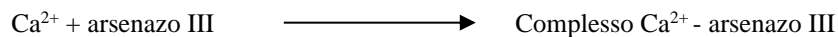


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint che viene misurata nell'assorbanza a 600 nm.

#### Calcio (CA)

I primi metodi utilizzati per analizzare il calcio si basavano sulla precipitazione del calcio con un eccesso di anioni.<sup>10,11,12</sup> I metodi di precipitazione sono complessi e spesso imprecisi. Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico; tale metodo, tuttavia, non è adatto ad analisi di routine.<sup>13</sup> I metodi più diffusi sono quelli spettrometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresoftaleina-complexone (CPC) o arsenazo III.<sup>14,15,16</sup> L'arsenazo III presenta una elevata affinità per il calcio e non è dipendente dalla temperatura come il CPC.

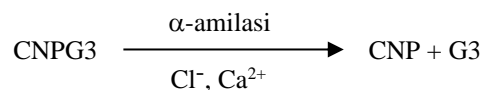
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.



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

#### Cloruro (CL<sup>-</sup>)

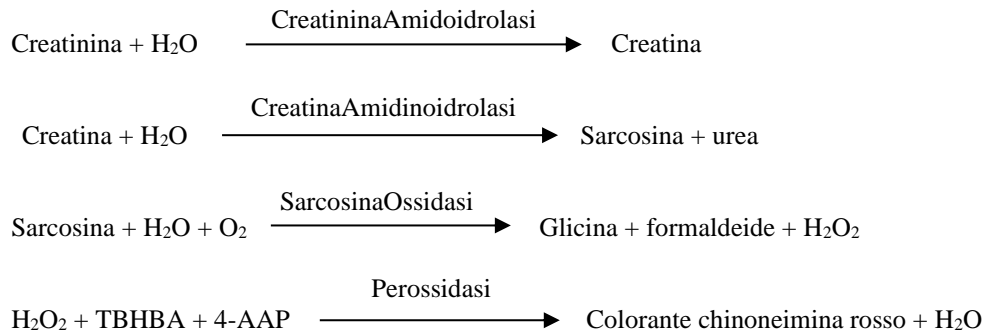
Il metodo per il cloruro Abaxis si basa sulla determinazione dell'attivazione dell'attività dell' $\alpha$ -amilasi in funzione del cloruro. L' $\alpha$ -amilasi disattivata viene riattivata mediante aggiunta dello ione cloro, consentendo al calcio di riassociarsi con l'enzima. La riattivazione dell'attività dell' $\alpha$ -amilasi è proporzionale alla concentrazione di ioni cloro nel campione. L' $\alpha$ -amilasi riattivata trasforma il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotrioside (CNPG3) in 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP) producendo colore e  $\alpha$ -maltotriosio (G3). La reazione si misura bicromaticamente; l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività di  $\alpha$ -amilasi riattivata e alla concentrazione di ioni cloruro nel campione.<sup>17</sup>



#### 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.<sup>18,19</sup> 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.<sup>20,21,22</sup> I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.<sup>23</sup>

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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Nella reazione Trinder, la perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno, acido 2,4,6-tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA) e 4-amminoantipirina (4-AAP) in un colorante rosso chinoneimina. Il ferrocianuro di potassio 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'etnia, 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 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 CKD. Generalmente, valori calcolati di eGFR < 60 ml/min. sono associati a un aumentato rischio di CKD con esiti avversi.<sup>24,25,26</sup>

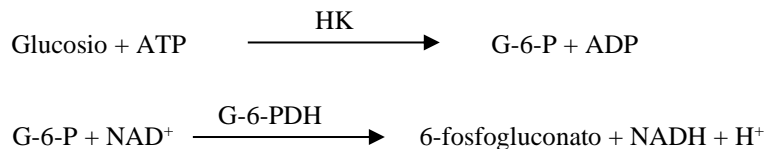
Il calcolo dell'eGFR viene effettuato dal dispositivo Piccolo in base all'età, al sesso e all'etnia del paziente. Il metodo Piccolo della creatinina è basato sul metodo di riferimento IDMS della creatinina, in modo che possa essere usata la seguente formula dell'equazione MDRD per il calcolo dell'eGFR.

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

### Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate utilizzando metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu<sup>27</sup> e Somogyi-Nelson<sup>28,29</sup>). 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 del pannello renale Piccolo MetLac 12 è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.<sup>30</sup>

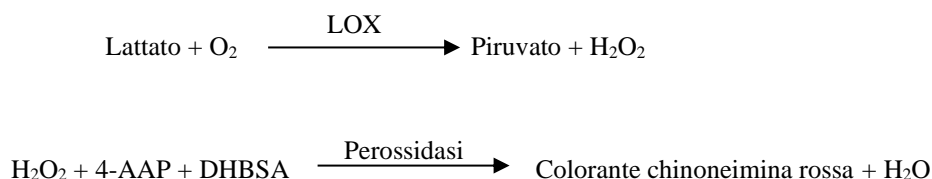
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione di nicotinammide adeninucleotide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

### Lattato (LAC)

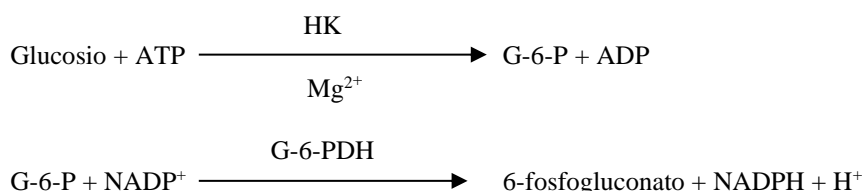
Nel metodo Abaxis, il lattato (LAC) viene ossidato dalla lattato ossidasi (LOX) in piruvato e perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La perossidasi catalizza la reazione tra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 4-aminotantipirina (4-AAP) e acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzensolfonico (DHBSA) per formare chinoneimina colorante rosso.



La velocità di formazione del colorante rosso è proporzionale alla concentrazione di LAC nel campione. La reazione viene misurata bicromaticamente a 515 nm e 600 nm.

### Magnesio (MG)

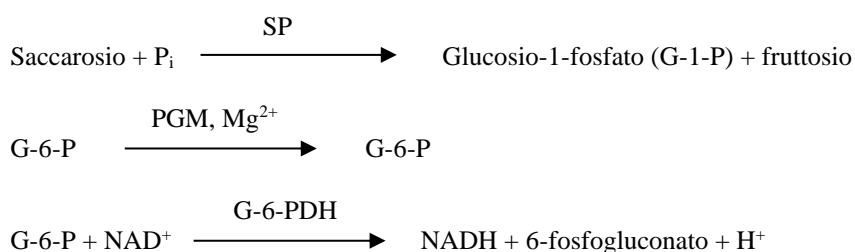
Il metodo di attivazione dell'esochinasi (HK) per il magnesio è la soluzione ideale per il sistema Piccolo in termini di sensibilità, precisione e accuratezza.<sup>31</sup> Il metodo enzimatico del magnesio può essere così riassunto:



La reazione limitante la velocità è quella dell'HK. Il magnesio del campione attiva l'HK, che a sua volta catalizza la scissione del glucosio formando glucosio-6-fosfato (G-6-P) e ADP. Il G-6-P reagisce con il nicotinamideadeninucleotide fosfato (NADP<sup>+</sup>) formando nicotinamideadeninucleotide fosfato ridotto (NADPH) e 6-fosfogluconato in presenza di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G-6-PDH). Questa è la reazione di velocità di primo ordine. La velocità di produzione di NADPH è direttamente proporzionale alla quantità di magnesio presente nel campione. L'assorbanza viene misurata bicromaticamente a 340 nm e 405 nm.

### Fosforo (PHOS)

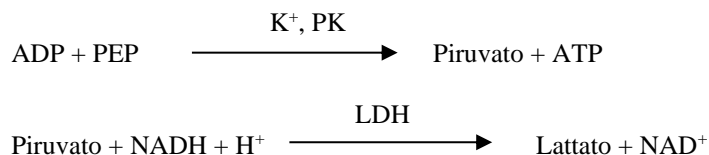
Il metodo enzimatico più adatto per il sistema Abaxis si basa sulla saccarosio fosforilasi (SP) accoppiata con fosfoglucomutasi (PGM) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH).<sup>32,33</sup> Applicando il sistema enzimatico a ogni mole di fosforo presente nel campione, si forma una mole di NADH. La quantità di NADH formata si può misurare come endpoint a 340 nm.



### Potassio (K+)

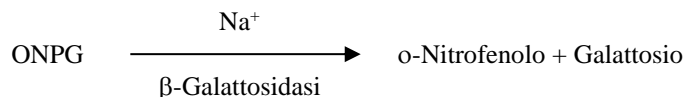
Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis si basa sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio e presenta linearità eccellente e sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.<sup>34,35,36</sup> L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e di glutammina sintetasi.<sup>34</sup>

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<sup>+</sup>. Il tasso di cambiamento nell'assorbanza causata dalla trasformazione dell'NADH in NAD<sup>+</sup> è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.



#### Sodio (Na<sup>+</sup>)

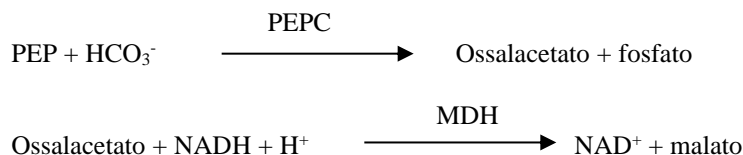
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.<sup>37,38,39</sup> Nella reazione enzimatica Abaxis, la β-galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione della o-nitrofenil-β-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



#### Anidride carbonica totale (tCO<sub>2</sub>)

L'anidride carbonica totale nel siero o nel plasma è presente sotto forma di anidride carbonica disciolta, derivati carbaminici delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata con i metodi enzimatici dell'indicatore pH, dell'elettrodo CO<sub>2</sub> e della spettrofotometria, tutti con risultati accurati e precisi.<sup>40,41</sup> Il metodo enzimatico è adatto all'utilizzo con analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, senza complessità aggiunta.

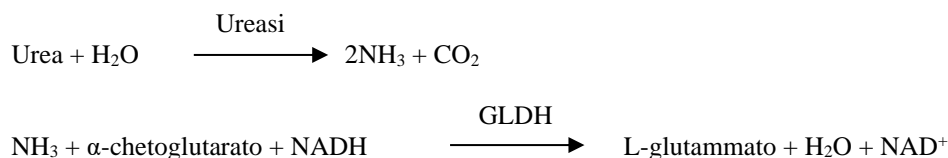
Nel metodo enzimatico il campione viene prima reso alcalino per modificare tutte le forme di anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) in bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malato deidrogenasi (MDH) catalizza la reazione di ossalacetato e nicotinamide adenindinucleotide ridotta (NADH) in NAD<sup>+</sup> e malato. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell'NADH in NAD<sup>+</sup> è direttamente proporzionale alla quantità di tCO<sub>2</sub> nel campione.



#### Azoto ureico ematico (BUN)

L'urea può essere misurata sia direttamente che indirettamente. La reazione al diacetilmonoxime, unico metodo diretto per misurare l'urea, è ampiamente usata ma si basa su reagenti pericolosi.<sup>42</sup> I metodi indiretti misurano l'ammoniaca formatasi dall'urea; l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.<sup>43</sup> È possibile quantificare l'ammoniaca con svariati metodi, tra i quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot<sup>44,45</sup> e le reazioni enzimatiche combinate.<sup>46,47</sup> Le procedure Berthelot catalizzate però risultano poco affidabili nel misurare l'ammoniaca.<sup>48</sup> Le reazioni enzimatiche combinate sono rapide, altamente specifiche per l'ammoniaca e ampiamente utilizzate. Una di tali reazioni è stata proposta come possibile metodo di riferimento.<sup>49</sup>

Nella reazione enzimatica accoppiata, l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica. Combinando l'ammoniaca con α-chetoglutarato e nicotinamide adenindinucleotide ridotto (NADH), l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida NADH in NAD<sup>+</sup>.



La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla conversione di NADH in NAD<sup>+</sup> 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 disco reagente del Piccolo MetLac 12 Panel contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (come da descrizione che segue). In ogni disco è compreso un reagente secco per bianco campione (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni albumina (ALB), cloruro ( $\text{CL}^-$ ), calcio (CA), glucosio (GLU), lattato (LAC), magnesio (MG), fosforo (PHOS), potassio ( $\text{K}^+$ ), sodio ( $\text{NA}^+$ ), anidride carbonica totale ( $\text{tCO}_2$ ) e azoto ureico ematico (BUN). 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**

<b>Componenti</b>	<b>Quantità/disco</b>
N-acetilcisteina	60 $\mu\text{g}$
Adenosina 5'-difosfato	36 $\mu\text{g}$
Adenosina -5'-difosfato, sale disodico	40 $\mu\text{g}$
Adenosina 5'-trifosfato	22 $\mu\text{g}$
Adenosina 5'-trifosfato, sale disodico	28 $\mu\text{g}$
Acido $\alpha$ -chetoglutarico	19 $\mu\text{g}$
4-Aminoantipirina	27 $\mu\text{g}$
Idrocloruro di 4-aminoantipirina	4 $\mu\text{g}$
Amilasi	0,036 U
Arsenazo III, sale sodico	1,7 $\mu\text{g}$
Ascorbato ossidasi ( <i>Cucurbita spp.</i> )	0,3 U
Brij	3 $\mu\text{g}$
Violetto di bromocresolo, sale di sodio	0,2 $\mu\text{g}$
Acetato di calcio	25 $\mu\text{g}$
Acido citrico	735 $\mu\text{g}$
Acido citrico, sale trisodico	567 $\mu\text{g}$
2-Cloro-4-nitrofenil- $\alpha$ -maltotriossido (CNPG3)	53 $\mu\text{g}$
Creatina amidinoidrolasi ( <i>Actinobacillus spp.</i> )	3 U
Creatinina ammididrolasi ( <i>Pseudomonas spp.</i> )	1 U
Acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzenesolfonico, sale sodico (DHBSA)	31 $\mu\text{g}$
Acido etilendiaminetetracetico (EDTA)	182 $\mu\text{g}$
Acido etilendiaminetetracetico (EDTA), sale disodico	17 $\mu\text{g}$
Acido etilene glicol-bis( $\beta$ -amminoetil etere)-N,N,N',N'-tetracetico EGTA)	19 $\mu\text{g}$
$\beta$ -galattosidasi	0,005 U
Glucosio-1,6-difosfato	1 $\mu\text{g}$
Acido L-Glutamico	9,2 $\mu\text{g}$
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi	0,1 U
Glutammato deidrogenasi	0,1 U
Glutaminasintetasi	0,17 U
Esochinasi	0,1 U
Imidazolo	29 $\mu\text{g}$
Lattato deidrogenasi (cuore di pollo)	0,13 U
Lattato ossidasi	0,002 U
Idrossido di litio, monoidrato	23 $\mu\text{g}$
Acetato di magnesio, tetraidrato	67 $\mu\text{g}$
Cloruro di magnesio, esaidrato	2 $\mu\text{g}$
Solfato di magnesio	33 $\mu\text{g}$
Malato deidrogenasi	0,1 U

**Tabella 1: Reagenti (segue)**

<b>Componenti</b>	<b>Quantità/disco</b>
Cloruro di manganese	10 µg
D-mannitolo	1 051 µg
Ciclodestrina metilato	314 µg
Idrocloruro di 2-metil-4-isotizolin-3-one (MIT)	4,2 µg
β-nicotinamideadenindinucleotide (NAD)	83 µg
β-nicotinamideadenindinucleotide fosfato, sale sodico (NAD)	30 µg
β-Nicotinamideadenindinucleotide, ridotta (NADH)	36 µg
o-Nitrofenil-β-D-galattopiranoside (ONPG)	22 µg
n-ottilglucoside	31 µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo [8.8.5] triscosano (Kryptofix 221)	86 µg
Perossidasi (barbaforte)	1 U
Fosfoenol piruvato	57 µg
Fosfoenol piruvato carbossilasi	0,001 U
Fosfoglucumutasi	0,035 U
Pluronic F68	1 µg
Glicole polietilenico, 8000	4 µg
Ferrocianuro di potassio	0,7 µg
Piruvato chinasi	0,01 U
Sarcosina ossidasi (microorganismo)	1 U
Saccarosio	74 µg
Saccarosio fosforilasi	0,07 U
Cloruro di sodio	69 µg
Acido 2,4,6-Tribromo-3-idrossibenzoico (TBHBA)	188 µg
Trietanolaminaidrocloruro	214 µg
Triton X-100	26 µg
Ureasi (fagiolini)	0,05 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 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. Si dovranno adottare le corrette prassi di laboratorio nel maneggiare e smaltire i dischi usati.<sup>50</sup> 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 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

Una volta prelevati dal frigorifero, i dischi reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Non lasciare i dischi a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire la confezione in carta alluminio sigillata, estrarre il disco facendo attenzione a non toccare il codice a barre situato sulla parte superiore del disco. Seguire le istruzioni contenute 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 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 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 eparinizzato, plasma eparinizzato 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.
- 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 i campioni non emolizzati che non vengono elaborati immediatamente potrebbero presentare livelli di potassio maggiori a causa di perdite intracellulari.<sup>51</sup>
- Il prelievo di campioni di sangue intero con venipuntura per la determinazione del **lattato** richiede che il paziente sia a riposo per 2 ore, eviti qualsiasi esercizio con l'avambraccio, e che il sangue sia essere ottenuto senza laccio emostatico o subito dopo l'applicazione del laccio emostatico. Il lattato deve essere analizzato o i globuli rossi devono essere separati dal plasma appena possibile dopo il prelievo. Il lattato nel sangue intero aumenta rapidamente a causa della glicolisi.<sup>52</sup> Il lattato nel sangue aumenta di 0,01-0,02 mmol/l/minuto a temperatura ambiente in assenza di agenti antiglicolitici.<sup>53</sup>
- Per tutti gli altri metodi, i campioni di sangue intero prelevati per puntura di una vena devono essere sottoposti a test entro 60 minuti dal prelievo.<sup>54,55</sup> 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, 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.<sup>56</sup>
- Nei campioni di sangue intero refrigerati le concentrazioni di **glucosio** e **creatinina** possono subire variazioni significative.<sup>57</sup> Il campione può essere diviso in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8 °C qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.
- Per campioni di sangue intero o plasma, utilizzare solo provette di prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde).
- La concentrazione di **anidride carbonica totale** viene determinata con la massima accuratezza se si effettua l'analisi subito dopo l'apertura della provetta e quanto prima possibile dopo il prelievo e il trattamento del sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene molta meno anidride carbonica del plasma: pertanto, parte dell'anidride carbonica in forma gassosa verrà liberata dal campione nell'aria, con conseguente diminuzione del valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/l nel giro di un'ora.<sup>58</sup>
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel disco reagente.



## 8. Procedura

### Materiali forniti

- Un disco reagente Piccolo MetLac 12 - N. parte:400-1037 (una confezione di dischi, PN 400-0037)

### Materiale necessario ma non fornito

- 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 Piccolo MetLac 12 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 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 sul relativo anello fornisce i dati di taratura specifici dei 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. Abaxis raccomanda di eseguire il test dei controlli conformemente alle linee guida federali, statali e locali.

## 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 dell'analizzatore. 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 d'uso dell'analizzatore chimico Piccolo Xpress.

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con l'analizzatore chimico di sangue Piccolo e l'analizzatore chimico Piccolo Xpress è la **litio eparina**. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come l'EDTA, il fluoruro, l'ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscono con almeno uno dei complessi chimici contenuti nel disco reagente del MetLac 12 Panel.
- 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. È possibile centrifugare tali campioni per ottenere plasma. Il plasma può quindi essere rianalizzato in un nuovo disco reagente.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range dell'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 dell'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. È possibile rianalizzare il campione utilizzando un nuovo disco reagente.

## Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come interferenti con gli analiti. Per il lattato, sono stati preparati pool di plasma umano (per tutti gli altri analiti, pool di siero umano). Ciascun possibile interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di analisi riportati nelle linee guida CLSI (in passato NCCLS) EP7-P<sup>59</sup> e CLSI EP7-A2.<sup>60</sup>

### Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle concentrazioni 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, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/l) hanno un effetto significativo (ossia un aumento superiore al 10%) sul risultato del cloruro. La concentrazione di amilasi non viene valutata dal sistema Piccolo per ogni campione.
- Il dosaggio del potassio nel sistema Piccolo è un test combinato di piruvato chinasi (PK)/lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema Piccolo può pertanto recuperare un valore di potassio (K+) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello di potassio inaspettatamente 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

Per il lattato, sono state selezionate 41 sostanze esogene e terapeutiche come potenziali interferenti con i metodi di analisi Abaxis basandosi sulle raccomandazioni di Young.<sup>61</sup> Per tutti gli altri metodi, sono state selezionate e testate 35 sostanze esogene e terapeutiche. Un'interferenza significativa viene definita come uno spostamento maggiore di  $\pm 10\%$  nel risultato di un campione con range normale. Per il lattato, ai pool di plasma umano sono state aggiunte concentrazioni note di farmaci o sostanze chimiche; si è poi proceduto alla relativa analisi. Per tutti gli altri analiti, sono stati utilizzati pool di siero umano. 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**

Potenziali interferenti	Concentrazione massima testata (mg/dl se non diversamente specificato)
Acetaminofene	100
Acetoacetato	102
Acido acetilsalicilico	50
Ampicillina	30
Acido ascorbico	20
Bromuro*	30
Caffeina	10
Cefalotina (Keflin)	400
Cloramfenicolo	100
Cimetidina	16
Digossina*	5
D-lattato*	45
Dopamina	19
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glucosio*	700
Glutazione	30
Acido glicolico*	7,6
Idroclorotiazide	7,5
Idrossiurea*	0,7

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

Potenziali interferenti	Concentrazione massima testata (mg/dl se non diversamente specificato)
Ibuprofene	50
Isoniazide	4
$\alpha$ -Chetoglutarato	5
Chetoprofene	50
L-dopa	5
Lidocaina	1
Lattato di litio**	84
Metformina*	500
Meticillina	100
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
Acido urico*	30

\*Testato per il solo lattato

\*\*Omesso per il solo lattato

Per un elenco degli analiti in cui è stata osservata un'interferenza, vedere la Tabella 3.

**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 <sup>A</sup> osservata
<b>Albumina</b>		
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.)
$\alpha$ -chetoglutarato	5	11% (dim.)
Nitrofurantoina	20	13% (dim.)
Prolina	4	12% (aum.)
Sulfadiazina	10	14% (dim.)
Sulfanilamide	50	12% (dim.)
Teofillina	20	11% (dim.)

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

	<b>Concentrazione che produce &gt; 10% di interferenza</b>	<b>% interferenza<sup>A</sup> osservata</b>
<b>Creatinina</b>		
Acido ascorbico	20	11% (dim.)
Dopamina	19	80% (dim.)
L-dopa	5	71% (dim.)
Epinefrina	1	45% (dim.)
Glutazione	30	13% (dim.)
<b>Glucosio</b>		
Ossalacetato	132	11% (dim.)
Piruvato	44	13% (dim.)
<b>Lattato</b>		
Dopamina	13	85% (dim.)
Dopamina	0,52	Non significativo
L-dopa	5	49% (dim.)
L-dopa	0,50	Non significativo
<b>Magnesio</b>		
	Nessuno	Nessuno
<b>Fosforo</b>		
Nitrofurantoina	20	19% (aum.)
Ossalacetato	132	14% (dim.)
<b>Potassio</b>		
Penicillina G	100	17% (aum.)
Sulfadiazina	150	12% (dim.)
<b>Sodio</b>		
Cefalotina	400	12% (aum.)
Metotrexate	0,5	11% (aum.)
Penicillina G	100	10% (aum.)
<b>Anidride carbonica totale</b>		
Acetaminofene	100	11% (aum.)
Acido ascorbico	20	12% (dim.)
Cefalotina	400	13% (aum.)
Cimetidina	16	19% (dim.)
Eritromicina	10	21% (dim.)
Lidocaina	1	23% (aum.)
Metotrexate	0,5	80% (dim.)
Nitrofurantoina	20	13% (aum.)
Acido salicilico	50	17% (dim.)
Sulfadiazina	150	25% (dim.)

<sup>A</sup> dim. = diminuita concentrazione dell'analita specifico; aum. = aumentata concentrazione dell'analita specifico

- Il bromuro a livelli tossici ( $\geq 15$  mmol/l) può causare un effetto significativo (aumento >10%) sul risultato dell'analisi del cloro. Lo ioduro a concentrazioni molto elevate (30 mmol/l, livello massimo testato) non ha alcun effetto. Normali livelli fisiologici di bromuro e ioduro non interferiscono con il sistema Piccolo di test del cloro.

## 11. Valori attesi

Per accertare l'intervallo dei valori di riferimento per le analisi indicate di seguito, sono stati analizzati con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress campioni prelevati da circa 90-140 adulti, maschi e femmine. Tali intervalli sono forniti a titolo puramente indicativo. Si raccomanda allo studio o alla struttura medica di definire i range normali per la propria popolazione di pazienti.<sup>62,63</sup>

**Tabella 4: Analizzatore chimico Piccolo Xpress Valori di riferimento**

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Albumina	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Calcio	8,0-10,3 mg/dl	2,0-2,58 mmol/l
Cloro	98-108 mmol/l	98-108 mmol/l
Creatinina	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Glucosio	73-118 mg/dl	4,1-6,6 mmol/l
Lattato	4,8-18,9 mg/dl*	0,53-2,10 mmol/l
Magnesio	1,6-2,3 mg/dl	0,66-0,95 mmol/l
Fosforo (plasma)	2,2-4,1 mg/dl	0,71-1,32 mmol/l
Fosforo (siero)	2,5-4,4 mg/dl**	0,81-1,42 mmol/l
Potassio	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Anidride carbonica totale	18-33 mmol/l	18-33 mmol/l
Azoto ureico ematico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol urea/l

\*Negli Stati Uniti, le unità di misura SI sono utilizzate per refertazione del lattato. Per convertire i valori espressi in "mmol/l" a valori in "mg/dl" moltiplicare il valore in mmol/l per il fattore 9,009.

\*\* Non si riscontrano differenze tra la concentrazione di fosforo rilevata nel sangue intero eparinizzato e nel plasma eparinizzato. Nel siero la concentrazione è invece risultata lievemente superiore (0,3 mg/dl) rispetto al sangue intero eparinizzato e al plasma eparinizzato. Tale aumento è in linea con la differenza tra il fosforo presente nel siero e nel plasma descritta in letteratura.<sup>64, 65, 66, 67</sup>

## 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: Analizzatore chimico Piccolo Xpress Range dinamici**

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Albumina	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Calcio	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Cloro	80-135 mmol/l	80-135 mmol/l
Creatinina	0,2-20 mg/dl	18-1,768 µmol/l
Glucosio	10-700 mg/dl	0,6-38,9 mmol/l
Lattato	2,7-90,0 mg/dl	0,30-9,99 mmol/l
Magnesio	0,1-8,0 mg/dl	0,04-3,3 mmol/l
Fosforo	0,2-20 mg/dl	0,06-6,5 mmol/l
Potassio	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Anidride carbonica totale	5-40 mmol/l	5-40 mmol/l
Azoto ureico ematico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol urea/l

### Sensibilità

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti: albumina 1 g/dl (10 g/l); calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); cloruro 80 mmol/l; creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosio 10 mg/dl (0,56 mmol/l); lattato 0,07 mmol/l (0,6

mg/dl); magnesio 0,1 mg/dl (0,04 mmol/l); fosforo 0,2 mg/dl (0,06 mmol/l); potassio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; anidride carbonica totale 5 mmol/l; azoto ureico 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l).

### Precisione

Gli studi sulla precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida CLSI (in passato NCCLS) EP5-A e CLSI EP5-A2<sup>68,69</sup>, con modifiche in base alle linee guida CLSI (in passato NCCLS) EP18-P e CLSI EP18-A2 relative ai dispositivi a utilizzo unitario.<sup>70, 71</sup> I risultati relativi alla precisione intra-sessione (within-run) e a quella totale sono stati ricavati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio e nel caso del potassio due livelli di pool di plasma. Per gli studi sono stati usati più strumenti. I test di precisione per l'albumina, il calcio, la creatinina, il glucosio, il sodio e l'azoto ureico sono stati eseguiti in una sede; quelli per il potassio e l'anidride carbonica totale sono stati eseguiti presso due sedi nell'arco di 20 giorni e i test per il cloruro e il fosforo sono stati condotti presso due sedi nell'arco di cinque giorni. I test di precisione per il lattato è stato condotto in due centri su controlli 1, 2 e 3 utilizzando due lotti di dischi per un periodo di cinque giorni; su pool di plasma ad Abaxis per un periodo di cinque giorni; e sul sangue intero in tre centri da parte di due operatori, ognuno analizzava 10 replicati su 10 analizzatori Abaxis. 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 presentati nella Tabella 6.

**Tabella 6: Precisione**

Analiti	Dimensione del campione	Intra-sessione	Totale
<b>Albumina (g/dl)</b>	N=80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		5,6	5,6
DS		0,09	0,11
% CV		1,7	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		3,7	3,7
DS		0,07	0,11
% CV		2,0	2,9
<b>Calcio (mg/dl)</b>	N=80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		8,6	8,6
DS		0,21	0,25
% CV		2,4	2,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		11,8	11,8
DS		0,39	0,40
% CV		3,3	3,4
<b>Cloro (mmol/l)</b>	N=160		
<u>Controllo 1</u>			
Media		97,8	97,8
DS		1,63	1,74
% CV		1,7	1,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		113,6	113,6
DS		1,97	2,22
% CV		1,7	2,0
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	N=80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		1,1	1,1
DS		0,14	0,14
% CV		12,5	13,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
DS		0,23	0,27
% CV		4,4	5,2

**Tabella 6: Precisione (segue)**

<b>Analiti</b>	<b>Dimensione del campione</b>	<b>Intra-sessione</b>		<b>Totale</b>
<b>Glucosio (mg/dl)</b>	N = 80			
<u>Controllo 1</u>				
Media		66		66
DS		0,76		1,03
% CV		1,1		1,6
<u>Controllo 2</u>				
Media		278		278
DS		2,47		3,84
% CV		0,9		1,4
<b>Lattato (mmol/l)</b>	N = 80			
<u>Controllo 1</u>				
Media		1,62		1,62
DS		0,03		0,04
% CV		1,8		2,2
<u>Controllo 2</u>	N = 80			
Media		3,63		3,63
DS		0,05		0,08
% CV		1,5		2,3
<u>Controllo 3</u>	N = 80			
Media		6,99		6,99
DS		0,18		0,36
% CV		2,6		5,2
<u>Pool di plasma 1</u>	N = 40			
Media		0,86		0,86
DS		0,02		0,02
% CV		1,9		1,9
<u>Pool di plasma 2</u>	N = 40			
Media		6,22		6,22
DS		0,20		0,20
% CV		3,2		3,2
		<b>Operatore 1</b>	<b>Operatore 2</b>	<b>Combinato</b>
<u>Sangue intero 1</u> - Sito 1*		(N = 10)	(N = 10)	(N = 20)
Media		1,52	1,50	1,51
DS		0,03	0,02	0,03
% CV		2,1	1,7	2,0
<u>Sangue intero 2</u> - Sito 1				
Media		0,72	0,70	0,71
DS		0,02	0,02	0,02
% CV		2,2	2,5	2,7
<u>Sangue intero 3</u> - Sito 1				
Media		4,67	4,59	4,63
DS		0,17	0,10	0,15
% CV		3,7	2,3	3,1
<u>Sangue intero 4</u> - Sito 1				
Media		4,13	4,17	4,15
DS		0,12	0,17	0,15
% CV		3,0	4,1	3,5

**Tabella 6: Precisione (segue)**

Analiti	Dimensione del campione	Intra-sessione		Totale
		Operatore 1 (N = 10)	Operatore 2 (N = 10)	Combinato (N = 20)
<b>Lattato (mmol/l)</b>				
<u>Sangue intero 5 - Sito 2*</u>				
Media		1,00	1,02	1,01
DS		0,03	0,02	0,03
%CV		2,8	1,7	2,5
<u>Sangue intero 6 - Sito 2</u>				
Media		1,09	1,12	1,10
DS		0,03	0,03	0,03
%CV		2,6	2,3	2,7
<u>Sangue intero 7 - Sito 2</u>				
Media		6,18	6,38	6,28
DS		0,21	0,25	0,24
%CV		3,4	3,9	3,9
<u>Sangue intero 8 - Sito 2</u>	N =20			
Media		5,88	5,90	5,89
DS		0,32	0,17	0,25
%CV		5,5	2,9	4,2
<u>Sangue intero 9 - Sito 3*</u>	N =20			
Media		0,88	0,88	0,88
DS		0,03	0,04	0,03
%CV		3,3	4,3	3,8
<u>Sangue intero 10 - Sito 3</u>	N =20			
Media		1,09	1,06	1,08
DS		0,03	0,03	0,03
%CV		3,0	2,9	3,2
<u>Sangue intero 11 - Sito 3</u>	N =20			
Media		5,93	5,86	5,89
DS		0,24	0,14	0,20
%CV		4,1	2,5	3,3
<u>Sangue intero 12 - Sito 3</u>	N =20			
Media		7,76	7,76	7,76
DS		0,28	0,28	0,27
%CV		3,7	3,5	3,5

\* Prove eseguite su sangue intero in tre centri da due operatori con 10 ripetizioni per ogni operatore. Due campioni normali e due campioni elevati sono stati testati da ciascun operatore.

**Magnesio (mg/dl)**

N = 80

Controllo 1

Media	1,9	1,9
DS	0,03	0,06
%CV	1,7	3,4

Controllo 2

Media	3,9	3,9
DS	0,04	0,10
%CV	1,0	2,6



**Tabella 6: Precisione (segue)**

<b>Analiti</b>	<b>Dimensione del campione</b>	<b>Intra-sessione</b>	<b>Totale</b>
<b>Fosforo (mg/dl)</b>	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		3,1	3,1
DS		0,12	0,14
% CV		3,7	4,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		7,3	7,3
DS		0,09	0,15
% CV		1,3	2,0
<b>Potassio (mmol/l)</b>	N = 150		
<u>Controllo 1</u>			
Media		3,2	3,2
DS		0,09	0,11
% CV		2,8	3,3
<u>Controllo 2</u>	N = 149		
Media		6,2	6,2
DS		0,09	0,10
% CV		1,4	1,7
<u>Pool di plasma 1</u>	N = 150		
Media		3,2	3,2
DS		0,07	0,09
CV		2,3	2,9
<u>Pool di plasma 2</u>	N = 150		
Media		5,4	5,4
DS		0,09	0,10
CV		1,6	1,9
<b>Sodio (mmol/l)</b>	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		143,5	143,5
DS		2,28	2,28
% CV		1,6	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		120,0	120,0
DS		2,13	2,13
% CV		1,8	1,8
<b>Anidride carbonica totale (mmol/l)</b>	N = 120		
<u>Controllo 1</u>			
Media		21,4	21,4
DS		2,29	2,29
% CV		10,7	10,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		10,5	10,5
DS		0,90	0,90
% CV		8,6	8,6
<b>Azoto ureico (mg/dl)</b>	N = 80		
<u>Controllo 1</u>			
Media		19	19
DS		0,35	0,40
% CV		1,9	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		65	65
DS		1,06	1,18
% CV		1,6	1,8

### Precisione su sangue intero per il potassio

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

**Tabella 7: Precisione su sangue intero per il potassio**

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

Per il lattato, sono stati prelevati campioni di sangue intero litio-eparinizzato ed analizzati con l'analizzatore chimico Piccolo Xpress e con un(dei) metodo(i) comparativo(i). Per tutti gli altri analiti, sono stati prelevati ed analizzati campioni di siero.

**Tabella 7: Correlazione fra l'analizzatore chimico Piccolo Xpress e metodo comparativo**

	Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	SEE	N	Intervallo campione	Metodo comparativo
<b>Albumina</b> (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
<b>Calcio</b> (mg/dl)	0,980	0,98	-0,17	0,31	111	4,6-13,2	Beckman
<b>Cloro</b> (mmol/l)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71-118	Vitros® 950
<b>Creatinina</b> (mg/dl)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4-14,7	Paramax®
<b>Glucosio</b> (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
<b>Lattato</b> (mmol/l)	0,996	1,02	0,08	0,19	126	0,30-9,88	i-STAT
<b>Magnesio</b> (mg/dl)	0,992	0,990	0,0	0,16	44	0,8-6,8	Spettroscopia di emissione ottica atomica induttivamente accoppiata al plasma (ICP-OES)
<b>Fosforo</b> (mg/dl)	0,993	1,017	-0,2	0,236	90	0,8-11,7	Vitros® 950

<b>Potassio (mmol/l)</b> <b>Sangue intero</b> <b>(laboratorio esente)</b>	0,984	0,99	0,13	0,10	130	1,3-9,5	Siemens VISTA Plasma
<b>Potassio (mmol/l)</b> <b>Sangue intero</b> <b>(laboratorio di moderata</b> <b>complessità)</b>	0,984	0,98	0,12	0,18	178	1,5-8,6	Siemens VISTA Plasma
<b>Potassio (mmol/l)</b> <b>Siero</b> <b>(laboratorio di moderata</b> <b>complessità)</b>	0,99	0,98	0,06	0,14	178	1,4-8,5	Siemens VISTA Siero
<b>Sodio (mmol/l)</b>	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiometro KNA® 2
<b>Anidride carbonica totale</b> (mmol/l)	0,947	0,903	2,0	0,84	60	6-39	Cobas® Fara
<b>Azoto ureico ematico</b> (mg/dl)	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 paziente.

### 13. Simboli



Usare entro



Numero catalogo



Codice lotto



Dispositivo Medico Diagnostico in vitro



Consultare le istruzioni per l'uso



Produttore



Non riutilizzare



Numero di dispositivi di test nel kit



Sequenza di produzione



Numero di serie



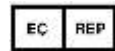
Attenzione



Limitazione di temperatura

PN:

Numero parte



Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea



Indica la conformità alle Direttive Europee specificate



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



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



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

## 14. Bibliografia

1. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J BiolChem* 1921; 49:93-07.
2. Howe PE. The determination of proteins in blood - a micro method. *J BiolChem* 1921;49:109-13.
3. 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 ClinPathol* 1948;18:723-30.
4. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by Medias of a tryptophan reaction. *ClinChem* 1961;7:626-36.
5. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *ClinChem* 1966;12:414-17.
6. Gendler SM. Albumin. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> Ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St Louis: The C.V. Mosby Company. 1989:1029-33.
7. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *ClinChim Acta* 1974; 53:101-8.
8. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *ClinChem* 1968; 14:793-794. (Abstract)
9. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *ClinChem* 1978;24:80-86.
10. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J BiolChem* 1921;47:475-481.
11. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. *J BiolChem* 1925;63:461-464.
12. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J Biol Chem*. 1937; 118:539-544.
13. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 8. GR Cooper, ed. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997:3-8.
14. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *ClinChem* 1964;10:686-703.
15. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *AnalChim Acta* 1971;53:194-198.
16. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
17. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *ClinChem* 1988;34:552-3.
18. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z KlinChemKlinBiochem* 1970;8:582-587.
19. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J ClinChemClinBiochem* 1980;18:385-394.
20. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *ClinChem* 1975; 21:1422-1426.
21. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *ClinChem* 1982;28:114-117.
22. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *ClinChem* 1983;29:1494-1496.
23. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
24. National Kidney Disease Education Program (NKDEP). Creatinine Standardization. [http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/creatinine\\_standardization.htm](http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/creatinine_standardization.htm) (Accessed September 2010).
25. National Kidney Disease Education Program (NKDEP). Creatinine Standardization Recommendations. IVD Manufacturers. [http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/IVD\\_Manufacturers.htm](http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals/IVD_Manufacturers.htm) (Accessed September 2010).
26. National Kidney Foundation. GFR Calculator. [http://www.kidney.org/professionals/kls/gfr\\_calculator.cfm](http://www.kidney.org/professionals/kls/gfr_calculator.cfm) (Accessed September 2010).
27. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J BiolChem* 1919;38:81-110.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J BiolChem* 1937;117:771-776.
29. Nelson N, et al. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J BiolChem* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> Ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
31. Tabata M, et al. Direct Spectrophotometry of magnesium in serum after reaction with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *ClinChem* 1985; 31: 703-705.
32. Schultz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An enzymic method for the measurement of inorganic phosphate determination. *AnalBioChem* 1967;19:300-314.

## 14. Bibliografia (segue)

33. Tedokon M, et al. Enzymatic assay of inorganic phosphate with use of sucrose phosphorylase and phosphoglucomutase. *ClinChem* 1992;38:512-515.
34. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *ClinChem*. 1989; 35:817-820.
35. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *ClinChem*. 1994; 40:846-847.
36. 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. *ClinChem* 1994;40:1528-1531.
37. Helgerson RC, et al. Host-guest complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J AmerChemSoc* 1989;111:6339-6350.
38. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *ClinChem* 1988;34:1709-1712.
39. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *ClinChem* 1988;34:2295-2298.
40. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J ClinPathol* 1960;33:181-185.
41. Korzun WJ, Miller WG. Carbon dioxide. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 869-872.
42. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. *In: Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR and Meites S, eds. Washington, DC: AACC Press. 1982: 365-373.
43. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J BiolChem* 1914; 19:211-228.
44. Fawcett JK, et al. A rapid and precise method for the determination of urea. *J ClinPathol* 1960; 13:156-159.
45. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *ClinChem* 1962;8:130-132.
46. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum im optischen test nach Warburg. *KlinWochensh* 1965; 43:174-175.
47. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *ClinChim Acta* 1971; 35:33-37.
48. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *AnalChem* 1977; 49:464-469.
49. 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. *ClinChem* 1980;26:816-826.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (formerly NCCLS)). Physician's office laboratory guidelines; Tentative Guideline – Second Edition. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
51. Scott, M.G. Electrolytes and blood gases. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
52. D.B. Sacks, Carbohydrates, in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999.
53. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Blood Gas and pH Analysis and related measurements; Approved Guidelines – Second Edition. Document C46-A2 Vol.29 No. 8. February 2009
54. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; Approved Guidelines – Second Edition. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; Approved Guidelines – Third Edition. CLSI Document H18-A3. Wayne, PA: CLSI, 2004.
56. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *ClinChim Acta* 1972; 39: 35-40.
57. Rehak NN, Chiang BT. Storage of Serum: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *ClinChem* 1988; 34:2111-4.
58. Scott, M.G. Electrolytes and blood gases. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-6.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; Proposed Guideline. CLSI Publication EP7-P. Wayne, PA: CLSI, 1986.
60. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Document EP7-A2. Wayne, PA: CLSI, 2005.
61. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3<sup>rd</sup> Ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
62. National Committee For Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, Approved Guidelines – Second Edition. NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
63. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, Approved Guidelines – Third Edition. CLSI Document C28-A3c. Wayne, PA: CLSI, 2010.
64. Lum G, Gambino S. Serum vs plasma determinations in routine chemistry. *ClinChem* 1972; 18(7); Abstr 134;710.

#### 14. Bibliografia (segue)

65. Lum G, Gambino S. A comparison of serum vs heparinized plasma for routine chemistry tests. *Am J ClinPathol* 1974; 61(1);108-13.
66. Carothers J, Kurtz N, Lehmann J, Jr. Error introduced by specimen handling before determination of inorganic phosphate concentrations in plasma and serum. *ClinChem* 1976; 22(11);1909-12.
67. Ladenson J, et al. Serum vs heparinized plasma for routine chemistry tests. *Am J ClinPath* 1974; 62(4);545-52.
68. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; Approved Guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA:CLSI, 1999.
69. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP5-A2. Wayne, PA:CLSI, 2004.
70. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; Proposed Guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA:CLSI, 2002.
71. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP18-A2. Wayne, PA:CLSI, 2009
72. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved Guideline. CLSI Document EP9-A. Wayne, PA:CLSI, 1995.
73. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP09-A2-IR. Wayne, PA:CLSI, 2010.