

Wyłącznie do diagnostyki *in vitro* i do użytku profesjonalnego
Obsługa Klienta i Obsługa Techniczna: 1- 800-822-2947
Klienci spoza USA: +49 6155 780 210

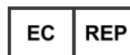
Ma zastosowanie wyłącznie dla klientów z USA
Podstawowe testy CLIA: krew pełna z heparyną litową, Wyłącznie testy Moderate Complexity (umiarkowana trudność): krew pełna z heparyną litową, osocze z heparyną litową lub surowica



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



The Tao of Excellence GmbH
Vorstadt 26,
8200 Schaffhausen
Szwajcaria



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Przeznaczenie

Dysk z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo® BioChemistry Panel Plus stosowany w połączeniu z analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress® służy do ilościowego oznaczania *in vitro* aminotransferazy alaninowej (ALT), albuminy, alkalicznej fosfatazy (ALP), amylazy, aminotransferazy asparaginianowej (AST), białka C-reaktywnego (CRP), wapnia, kreatyniny, gamma-glutamylotransferazy (GGT), glukozy, białka całkowitego, azotu mocznikowego we krwi (BUN) oraz kwasu moczowego w heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanym osoczu lub surowicy w laboratoriach klinicznych lub podczas badań przyłóżkowych. Metoda oznaczania CRP firmy Abaxis nie jest przeznaczona do analiz CRP wymagających dużej czułości.

2. Podsumowanie i objaśnienie testów

Dysk z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo BioChemistry Plus wraz z analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress stanowią system do diagnostyki *in vitro* ułatwiający lekarzom diagnozowanie poniższych chorób i stanów fizjologicznych:

Aminotransferaza alaninowa (ALT):	Choroby wątroby, w tym wirusowe zapalenie oraz marskość wątroby.
Albumina:	Choroby wątroby i nerek.
Alkaliczna fosfataza (ALP):	Choroby wątroby, kości, przytarczyc i jelit.
Amylaza:	Zapalenie trzustki.
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	Choroby wątroby, w tym zapalenie oraz żółtaczka wirusowa, wstrząs.
Białko C-reaktywne (CRP):	Zakażenie, obrażenia tkanek i choroby zapalne.
Wapń:	Choroby przytarczyc, kości i przewlekłe choroby nerek; tężyca.
Kreatynina:	Choroby nerek oraz monitorowanie dializy nerek.
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	Choroby wątroby, w tym marskość alkoholowa oraz pierwotne i wtórne guzy wątroby.
Glukoza:	Zaburzenia metabolizmu węglowodanów, w tym cukrzyca oraz hipoglikemia u osób dorosłych i dzieci.
Białko całkowite:	Choroby wątroby, nerek, szpiku kostnego, zaburzenia metaboliczne i odżywiania.
Azot mocznikowy we krwi (BUN):	Choroby nerek i zaburzenia metaboliczne.
Kwas moczowy:	Choroby nerek i zaburzenia metaboliczne, w tym niewydolność nerek i dna moczanowa.

Tak jak w przypadku każdego badania diagnostycznego przed postawieniem ostatecznej diagnozy należy uwzględnić wszystkie pozostałe badania wraz ze stanem klinicznym pacjenta.

3. Zasada procedury

Aminotransferaza alaninowa (ALT)

Aminotransferazę alaninową (ALT) oznaczono trzema metodami. Dwie z tych metod — metoda kolorymetryczna z reakcją sprzężoną z udziałem dinitrofenylohydrazyny^{1,2} oraz oznaczenie enzymatyczne z wykorzystaniem fluorescencji — są rzadko używane.³ Metoda enzymatyczna oparta na opracowaniach Wróblewskiego i LaDue⁴ jest najczęściej stosowaną techniką oznaczania stężeń aminotransferazy alaninowej (ALT) w surowicy. Modyfikowaną procedurę Wróblewskiego i LaDue zaproponowano jako zalecaną przez organizację International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej).⁵

Metoda stosowana w analizatorach Piccolo jest modyfikacją procedury zalecanej przez federację IFCC. W tej reakcji związek ALT katalizuje przeniesienie grupy aminowej od L-alaniny do α -ketoglutaranu w celu utworzenia L-glutaminianu

i pirogronianu. Dehydrogenaza mleczanowa katalizuje konwersję pirogronianu do mleczanu. Jednocześnie cząsteczka NADH utlenia się do cząsteczki NAD^+ , co przedstawiono w poniższym schemacie reakcji.

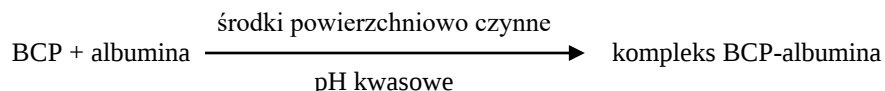


Zmiana różnicy absorbancji dla długości fal świetlnych wynoszących 340 nm i 405 nm jest spowodowana konwersją formy NADH do NAD^+ . Jest ona wprost proporcjonalna do ilości związku ALT w próbce.

Albumina (ALB)

Pierwsze metody oznaczania albumin to m.in. techniki polegające na frakcjonowaniu^{6,7,8} oraz określaniu zawartości tryptofanu w globulinach.^{9,10} Metody te są trudne w obsłudze i nie charakteryzują się dużą specyficznością. Za metody referencyjne uważa się dwie metody immunochemiczne. Są one jednak nieekonomiczne i czasochłonne.¹¹ Do oznaczania albumin najczęściej wykorzystuje się techniki wykorzystujące wiązanie barwnika. W metodach z zastosowaniem wiązania barwnika najczęściej używa się zieleni bromokrezolowej (BCG), może ona jednak powodować uzyskanie zbyt wysokiego stężenia albuminy, szczególnie przy dolnej wartości granicznej prawidłowego zakresu.¹² Najbardziej specyficznym ze stosowanych barwników jest purpura bromokrezolowa (BCP).^{13,14}

Purpura bromokrezolowa (BCP) po związaniu z albuminą zmienia kolor z żółtego na niebieski. Wraz ze zmianą koloru zmienia się wartość maksimum absorbancji.

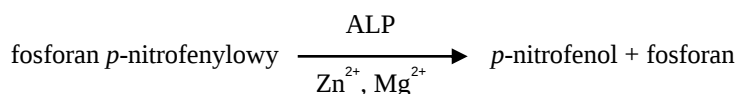


Ilość związanej albuminy jest proporcjonalna do stężenia albuminy w próbce. Jest to reakcja, dla której w punkcie końcowym oznacza się absorbancję przy długości fal świetlnych wynoszącej 600 nm.

Alkaliczna fosfataza (ALP)

Metody oznaczania alkalicznej fosfatazy opracowano po raz pierwszy ponad 60 lat temu. Niektóre z tych spektrofotometrycznych metod punktu końcowego lub dwóch punktów^{15,16} uważa się obecnie za przestarzałe lub mało skuteczne. Zastosowanie fosforanu *p*-nitrofenylowego (*p*-NPP) zwiększyło szybkość reakcji.^{17,18} Niezawodność tej techniki znacznie wzrosła dzięki zastosowaniu buforu przeznaczanego dla jonów metali w celu utrzymywania stałego stężenia jonów magnezu i cynku podczas reakcji.¹⁹ Metoda referencyjna według organizacji American Association for Clinical Chemistry, AACC (Amerykańskie Stowarzyszenie ds. Chemii Klinicznej)²⁰ wykorzystuje związek *p*-NPP jako substrat oraz bufor przeznaczony dla jonów metali.

Procedura Piccolo wykorzystuje modyfikowane metody zatwierdzone przez organizacje AACC i IFCC.²¹ Alkaliczna fosfataza hydrolizuje związek *p*-NPP w buforze przeznaczonym dla jonów metali, tworząc *p*-nitrofenol i fosforan.



Ilość związku ALP w próbce jest proporcjonalna do zwiększenia różnicy absorbancji przy długościach fal świetlnych wynoszących 405 nm i 500 nm.

Amylaza (AMY)

W celu oznaczania amylazy opracowano 200 różnych testów. Większość procedur wykorzystuje buforowany roztwór polisacharydów, jednak stosowane są w nich różne techniki wykrywania. Metodom wiskozymetrycznym brakuje precyzji i dokładności²², natomiast w przypadku metod turbidymetrycznych i jodometrycznych występują problemy ze standaryzacją.^{23,24} Często używa się metod sacharogenicznych i chromolitycznych. „Klasyczną” techniką oznaczania amylazy jest metoda sacharogeniczna²⁵, jest ona jednak trudna i czasochłonna.²⁶ Ostatnio opracowano metody chromolityczne z zastosowaniem *p*-nitrofenylo-glikozydów jako substratów.²⁷ Oznaczenia te charakteryzuje większa specyficzność pod kątem amylazy trzustkowej niż amylazy ślinowej, a ich monitorowanie jest łatwe.²⁷

W metodzie Piccolo substrat, 2-chloro-*p*-nitrofenylo- α -D-maltotriozyd (CNPG3), reaguje z α -amylazą w próbce pacjenta, uwalniając 2-chloro-*p*-nitrofenol (CNP). Uwalnianie związku CNP powoduje zmianę koloru.



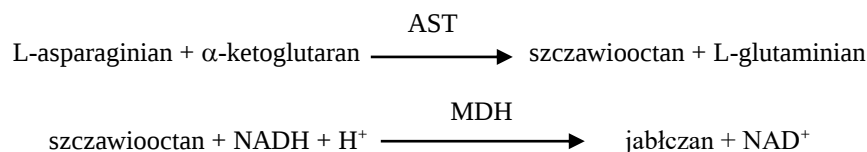
Reakcja jest oznaczana bichromatycznie przy długościach fal świetlnych wynoszących 405 nm i 500 nm. Zmiana absorbancji spowodowana powstawaniem związku CNP jest wprost proporcjonalna do aktywności α -amylazy w próbce.

Aminotransferaza asparaginianowa (AST)

Test aminotransferazy asparaginianowej (AST) opiera się na metodzie współczynnika Karmen²⁸ modyfikowanej przez Bergmeyer.²⁹ Aktualna metoda referencyjna według organizacji International Federation of Clinical Chemistry, IFCC

(Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej) wykorzystuje technikę Karmen/Bergmeyer'a polegającą na sprzęganiu dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) i formy zredukowanej dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) podczas wykrywania związku AST w surowicy.^{29,30} Na potrzeby reakcji dodawana jest dehydrogenaza mleczanowa (LDH), aby zmniejszyć zakłócenia powodowane przez endogenne pirogronian.

Związek AST katalizuje reakcję L-asparagianu i α -ketoglutaranu, w wyniku której powstaje szczawiooocian i L-glutaminian. Szczawiooocian jest konwertowany na jabłczan, a forma NADH jest utleniana do formy NAD^+ za pomocą katalizatora MDH.

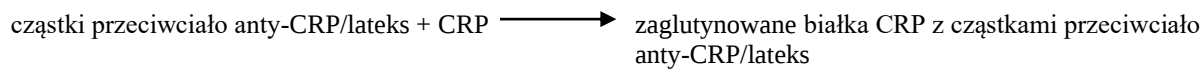


Współczynnik zmiany absorbancji przy długości fal świetlnych wynoszącej 340 nm/405 nm spowodowany przez konwersję formy NADH do NAD^+ jest wprost proporcjonalny do ilości związku AST występującego w próbce.

Białko C-reaktywne (CRP)

Pierwsze oznaczenia ilościowe białka CRP były przeznaczone przede wszystkim do celów badawczych i opierały się na metodologii ELISA.³¹ Później stosowano w tym celu metody immunonefelometryczne ze wzmocnieniem lateksem.³² Wymagają one jednak zastosowania nefelometru w celu pomiaru rozproszenia światła. W ostatnich latach opracowano kilka zautomatyzowanych oznaczeń immunoturbidymetrycznych i immunoluminometrycznych, które można przeprowadzać za pomocą standardowych klinicznych analizatorów biochemicznych.³³

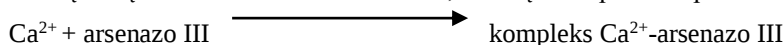
Metoda stosowana przez firmę Abaxis jest to immunologiczne oznaczenie turbidymetryczne z zastosowaniem wzmocnionej aglutynacji lateksowej. Probkę miesza się z zawiesiną mysich przeciwciał monoklonalnych przeciw ludzkiemu białku CRP związanych z lateksem. Białko CRP w próbce wiąże się z cząstkami przeciwciała-lateks. Zachodzi aglutynacja powodująca zmętnienie. Do oznaczenia ilości białka CRP wykorzystuje się rozpraszanie światła spowodowane zmętnieniem. Stopień zmętnienia mierzy się w postaci zmiany absorbancji przy długości fal świetlnych wynoszącej 630 nm. Zmiana absorbancji jest wprost proporcjonalna do ilości białka CRP w próbce.



Wapń (CA)

Pierwsza metoda używana do analizy wapnia polegała na wytrącaniu wapnia w obecności nadmiaru anionów.^{34,35,36} Metody z zastosowaniem wytrącania są pracochłonne i często niedokładne. Referencyjną metodą oznaczania wapnia jest atomowa spektroskopia absorpcyjna, nie nadaje się ona jednak do rutynowych zastosowań.³⁷ Najczęściej używa się metod spektrofotometrycznych wykorzystujących kompleks o-kreozofaleiny (CPC) lub wskaźniki arsenazo III metalochromowe.^{38,39,40} Wskaźnik Arsenazo III cechuje znaczne powinowactwo do wapnia oraz niezależność od temperatury (zależność od temperatury występuje w przypadku CPC).

Wapń w próbkach pacjentów wiąże się ze wskaźnikiem arsenazo III, tworząc kompleks wapń-barwnik.

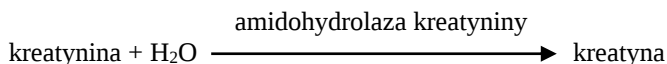


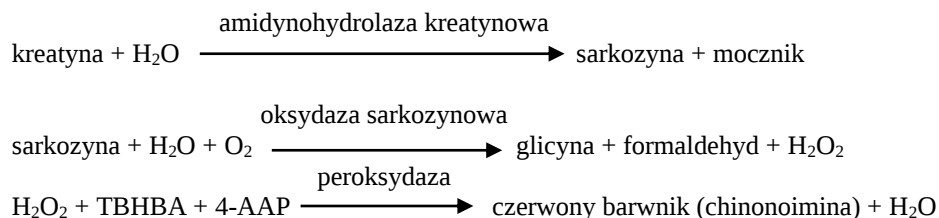
Pomiar dla reakcji przeprowadza się w punkcie końcowym przy długościach fal świetlnych wynoszących: 405 nm, 467 nm i 600 nm. Ilość wapnia całkowitego w próbce jest proporcjonalna do absorbancji.

Kreatynina (CRE)

Metoda Jaffe'a, zastosowana po raz pierwszy w roku 1886, nadal jest powszechnie stosowana w celu oznaczania poziomów kreatyniny we krwi. Aktualna metoda referencyjna łączy wykorzystanie ziemi fulerskiej (ziemi bielącej) w połączeniu z techniką Jaffe'a w celu zwiększenia specyficzności reakcji.^{41,42} Opracowano też metody enzymatyczne, które są bardziej specyficzne dla kreatyniny od różnych modyfikacji techniki Jaffe'a.^{43,44,45} W metodach wykorzystujących enzym — amidohydrolazę kreatyniny — zlikwidowano problem związany z zakłóceniami ze strony jonów amonowych, występujący w przypadku technik z zastosowaniem iminohydrolazy kreatyniny.⁴⁶

W sprzężonych reakcjach enzymatycznych amidohydrolaza kreatyniny hydrolizuje kreatyninę do kreatyny. Drugi enzym, amidohydrolaza kreatynowa, katalizuje tworzenie sarkozyny z kreatyny. Oksydaza sarkozynowa powoduje utlenianie sarkozyny do glicyny, formaldehydu i nadtlenku wodoru (H_2O_2). W końcowym etapie, gdy zachodzi reakcja Trindera, peroksydaza katalizuje reakcję między nadtlenkiem wodoru, kwasem 2,4,6-tribromo-3-hydroksybenzoesowym (TBHBA) oraz 4-aminoantypiryną (4-AAAP), w której powstaje czerwony barwnik — chinonoimina. Do mieszaniny reakcyjnej dodawane są sześciocyjanożelazian sodu i oksydaza askorbinowa w celu minimalizacji potencjalnych zakłóceń ze strony odpowiednio bilirubiny i kwasu askorbinowego.





Do oznaczenia stężenia kreatyniny w próbce używa się dwóch kuwet. Endogenną kreatynę oznacza się w kuwecie do oznaczenia zerowego, a następnie odejmuje od sumy kreatyny endogennej i kreatyny utworzonej w reakcjach enzymatycznych w kuwecie testowej. Po wyeliminowaniu kreatyny endogennej z obliczeń, stężenie kreatyniny jest proporcjonalne do intensywności otrzymanego koloru czerwonego. Pomiar dla reakcji przeprowadza się w punkcie końcowym. Jest to różnica absorbancji przy długościach fal świetlnych wynoszących 550 nm i 600 nm.

Wartość eGFR (obliczona)

Kreatyninę w surowicy oznacza się rutynowo jako wskaźnik czynności nerek. Ponieważ na stężenie kreatyniny ma wpływ wiek, płeć i pochodzenie etniczne, przewlekłej choroby nerek (CKD — Chronic Kidney Disease) można nie wykryć, oznaczając wyłącznie kreatyninę w surowicy. Dlatego w ramach programu National Kidney Disease Education Program (Narodowy Program Edukacji Chorób Nerek) zdecydowanie się zaleca, aby w przypadku oznaczania kreatyniny w surowicy u pacjentów w wieku lat 18 i starszych laboratoria rutynowo zgłaszały szacowaną wielkość filtracji kłębuszkowej (eGFR). Rutynowe zgłaszanie wartości eGFR wraz z wszystkimi oznaczeniami kreatyniny ułatwia laboratoriom identyfikację osób z osłabioną czynnością nerek oraz wykrywanie choroby CKD. Obliczone wartości eGFR wynoszące < 60 ml/min wiążą się zazwyczaj z podwyższonym ryzykiem występowania choroby CKD.^{47,48,49}

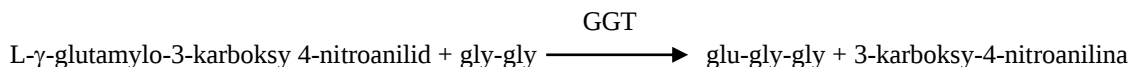
Obliczenia wartości eGFR w systemie Piccolo przeprowadza się, uwzględniając wiek, płeć i pochodzenie etniczne pacjenta. Metoda oznaczania kreatyniny w systemie Piccolo jest monitorowana względem metody referencyjnej IDMS dla kreatyniny, dlatego w celu obliczenia wartości eGFR można użyć poniższego równania MDRD.

$$\text{GFR (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{S}_{\text{Cr}})^{-1,154} \times (\text{wiek})^{-0,203} \times (0,742 \text{ dla kobiet}) \times (1,212 \text{ dla afroamerykanów})$$

Gamma-glutamylotransferaza (GGT)

Pierwsze opracowane metody oznaczania ilościowego gamma-glutamylotransferazy (GGT) zawierały drugą reakcję, w której powstawał barwnik azowy łączący się z chromoforem.^{50,51} Zmiana polegająca na zastosowaniu L-γ-glutamilo-p-nitroanilidu jako substratu reakcji wyeliminowała etap formowania barwnika.⁵² Z powodu słabej rozpuszczalności i niewielkiej stabilności L-γ-glutamilo-p-nitroanilidu procedurę tę modyfikowano, stosując w zamian jako substrat L-γ-glutamilo-3-karboksy-4-nitroanilid.⁵³ Metoda oznaczania GGT zalecana przez organizację International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej) wykorzystuje ten substrat, natomiast drugim substratem jest glicyloglicyna.⁵⁴

Firma Abaxis zmodyfikowała metodę zalecaną przez organizację IFCC tak, aby reakcja przebiegała w temperaturze 37°C. Dodanie próbki zawierającej gamma-glutamylotransferazę do substratów, L-γ-glutamilo-3-karboksy-4-nitroanilidu oraz glicyloglicyny (gly-gly), powoduje powstanie L-γ-glutamilo-glicyloglicyny (glu-gly-gly) oraz 3-karboksy-4-nitroaniliny.

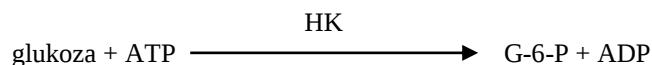


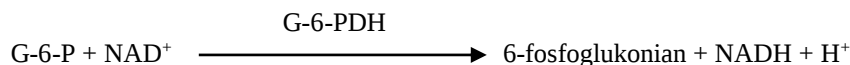
Absorbancję dla tej reakcji, dla której przeprowadza się pomiary kinetyczne, mierzy się przy długości fal świetlnych wynoszącej 405 nm. Wytwarzanie 3-karboksy-4-nitroaniliny jest wprost proporcjonalne do aktywności związku GGT w próbce.

Glukoza (GLU)

Oznaczanie stężenia glukozy początkowo przeprowadzano, używając metod polegających na redukcji miedzi (np. metody Folin-Wu⁵⁵ i Somogyi-Nelson^{56,57}). Brak specyficzności tych technik doprowadził do opracowania procedur oznaczania ilościowego przy użyciu enzymów — heksokinazy i oksydazy glukozowej. Test służący do oznaczania glukozy przeprowadzany za pomocą dysku z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo BioChemistry Plus to modyfikowana wersja metody wykorzystującej heksokinazę, którą zaproponowano jako podstawę referencyjnej metody oznaczania glukozy.⁵⁸

W wyniku reakcji glukozy z adenozyntrofosforanem (ATP), katalizowanej przez heksokinazę (HK), powstaje glukozo-6-fosforan (G-6-P) oraz adenozyndifosforan (ADP). Dehydrogenaza glukozo-6-fosforanowa (G-6-PDH) katalizuje reakcję G-6-P, w wyniku której powstaje 6-fosfoglukonian oraz redukcję dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD⁺) do NADH.



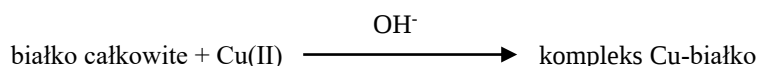


Absorbancja jest oznaczana bichromatycznie przy długościach fal świetlnych wynoszących 340 nm i 850 nm. Ilość wytworzonego związku NADH jest wprost proporcjonalna do ilości glukozy znajdującej się w próbce.

Białko całkowite (TP)

Metoda oznaczania białka całkowitego to modyfikowana reakcja biuretowa, znana z precyzji, dokładności i specyficzności.⁵⁹ Opracował ją Riegler,⁶⁰ a zmodyfikowali Weichselbaum⁶¹ Doumas i in.⁶² Reakcję biuretową zaproponowano jako potencjalną metodę referencyjną oznaczania białka całkowitego.

W reakcji biuretovej do roztworu białka dodawane są jony miedzi [Cu(II)] w silnie alkalicznym środowisku. Aby zapobiec wytrącaniu się wodorotlenku miedzi (II) i autoredukcji miedzi dodawane są odpowiednio: winian sodowo-potasowy oraz jodek potasu.⁶¹ Jony Cu(II) reagują z wiązaniami peptydowymi między atomami tlenu z grupy karbonylowej i azotu z grupy amidowej, tworząc kolorowy kompleks Cu-białko.

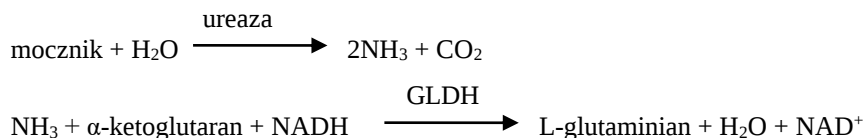


Ilość białka znajdującego się w próbce jest wprost proporcjonalna do absorbancji kompleksu Cu-białko. Test na białko całkowite jest reakcją, dla której pomiar przeprowadza się w punkcie końcowym. Absorbancję mierzy się jako różnicę absorbancji dla długości fal świetlnych wynoszących 550 nm i 850 nm.

Azot mocznikowy we krwi (BUN)

Mocznik można oznaczać metodą bezpośrednią lub pośrednią. Reakcja z udziałem monoooksymu diacetylu (jedyna bezpośrednia metoda oznaczania mocznika) jest często stosowana, jednak wymaga użycia niebezpiecznych odczynników.⁶³ Metody pośrednie polegają na oznaczaniu amoniaku powstałego z mocznika. Zastosowanie w nich ureazy — zwiększyło specyficzność tych testów.⁶⁴ Amoniak jest oznaczany ilościowo różnymi metodami, w tym za pomocą nessleryzacji (miareczkowania acydymetrycznego), metodą Berthelota.^{65,66} oraz z wykorzystaniem sprzężonych reakcji enzymatycznych.^{67,68} Podczas oznaczania amoniaku za pomocą procedur Berthelota z użyciem katalizatora uzyskuje się jednak błędne wyniki.⁶⁹ Sprzężone reakcje enzymatyczne są szybkie, charakteryzują się dużą specyficznością dla amoniaku i są często używane. Jedną z takich reakcji zaproponowano jako potencjalną metodę referencyjną.⁷⁰

W sprzężonej reakcji enzymatycznej ureaza hydrolizuje mocznik do amoniaku i ditlenku węgla. Po połączeniu amoniaku z α -ketoglutaranem i zredukowaną formą dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH), enzym — dehydrogenaza glutaminianowa (GLDH) — utlenia formę NADH do NAD^+ .

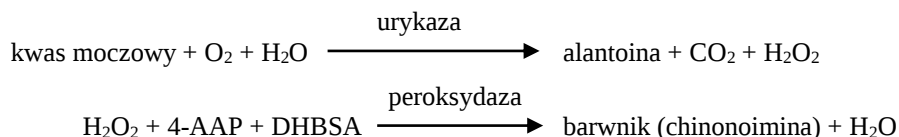


Zmiana różnicy absorbancji dla długości fal świetlnych wynoszących 340 nm i 405 nm jest spowodowana konwersją formy NADH do NAD^+ . Jest ona wprost proporcjonalna do ilości mocznika w próbce.

Kwas moczowy (UA)

Pierwsze metody ilościowego oznaczania stężeń kwasu moczowego we krwi opierały się na redukcji kwasu fosforowolframowego do błękitu wolframowego w alkalicznych roztworach kwasu moczowego.^{71,72} Opracowano test kwasu moczowego o lepszej specyficzności wykorzystujący enzym — urykazę. Metoda ta stała się od tego czasu standardową biochemiczną techniką oznaczania kwasu moczowego w warunkach klinicznych.⁷³

W metodzie tej reakcja z udziałem urykazy jest sprzężona z końcową reakcją Trindera katalizowaną przez peroksydazę.⁷⁴ Urykaza katalizuje utlenianie kwasu moczowego do alantoiny i nadtlenu wodoru. Peroksydaza katalizuje reakcję nadtlenu wodoru (H_2O_2), 4-aminoantypiryny (4-AAP) i kwasu 3,5-dichloro-2-hydroksybenzenosulfonowego (DHBSA), w wyniku której powstaje czerwony barwnik — chinonoimina. Do mieszaniny reakcyjnej dodawane są sześciocyjanożelazian sodu i oksydaza askorbinowa w celu minimalizacji potencjalnych zakłóceń ze strony bilirubiny i kwasu askorbinowego.



Ilość kwasu moczowego w próbce jest wprost proporcjonalna do absorbancji barwnika (chinonoiminy). Absorbancję końcową tej reakcji mierzy się bichromatycznie (pomiar w punkcie końcowym) przy długościach fal świetlnych wynoszących 500 nm i 600 nm.

4. Zasada działania

Zasady i ograniczenia procedury opisano w podręczniku operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress .

5. Opis odczynników

Odczynniki

Każdy dysk z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo BioChemistry Plus zawiera suche kulki odczynnikowe specyficzne dla określonego testu (opisane poniżej). W każdym dysku znajduje się suchy odczynnik do próby zerowej próbki (zawierający bufor, środki powierzchniowo czynne, substancje pomocnicze i środki konserwujące) przeznaczony do zastosowania podczas obliczania stężeń aminotransferazy alaninowej (ALT), albuminy (ALB), alkalicznej fosfatazy (ALP), amylazy (AMY), aminotransferazy asparaginianowej (AST), białka C-reaktywnego (CRP), wapnia (CA), gamma-glutamylotransferazy (GGT), glukozy (GLU), białka całkowitego (TP), azotu mocznikowego we krwi (BUN) i kwasu moczowego (UA). W dysku znajduje się specjalny odczynnik do oznaczenia zerowego, umożliwiający obliczenie stężenia kreatyniny (CRE). Każdy dysk zawiera także rozcieńczalnik, w którego skład wchodzi środki powierzchniowo czynne i środki konserwujące.

Tabela 1: Odczynniki

Składnik	Ilość/dysk
Adenozyno-5'-trifosforan	12 µg
L-alanina	874 µg
4-aminoantypiryna	27 µg
Chlorowodorek 4-aminoantypiryny	6 µg
Przeciwciała przeciw ludzkiemu białku CRP (kozie)	0,3 µg
Lateks powleczony przeciwciałami przeciw ludzkiemu białku CRP (mysimi)	67 µg
Arsenazo III, sól sodowa	3 µg
Oksydaza askorbinowa (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,4 U
Kwas L-asparaginowy	426 µg
Purpura bromokrezolowa	2 µg
2-chloro-4-nitrofenylo- α -D-maltotriozyd (CNPG3)	36 µg
Amidohydrolaza kreatynowa (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3 U
Amidohydrolaza kreatyniny (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1 U
Siarczan miedzi	210 µg
Kwas 3,5-dichloro-2-hydroksybenzenosulfonowy (DHBSA)	37 µg
Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (drożdże)	0,05 U
Dehydrogenaza glutaminianowa (wątroba wołowa)	0,01 U
Kwas L-glutaminowy γ -(3-karboksy-4-nitroanilid), sól amonowa	32 µg
Glicyloglicyna	317 µg
Heksokinaza (drożdże)	0,1 U
α -ketoglutaran, sól dwusodowa	37 µg
Kwas α -ketoglutarowy	72 µg
Dehydrogenaza mleczanowa (serce kurze)	0,002 U
Dehydrogenaza mleczanowa (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	0,1 U
Octan magnezu	7 µg
Chlorek magnezu	5 µg
Dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) (serce wieprzowe)	0,01 U
Dinukleotyd β -nikotynoamidoadeninowy (NAD)	20 µg
Zredukowana forma dinukleotydu β -nikotynoamidoadeninowego (NADH)	19 µg
Fosforan p-nitrofenylowy (p-NPP)	67 µg
Peroksydaza (chrzanowa)	0,9 U
Jodek potasu	28 µg
Oksydaza sarkozynowa (drobnoustroje)	0,7 U
Sześciocyjanożelazian (II) sodu	1 µg
Winian sodowo-potasowy	343 µg

Kwas 2,4,6-tribromo-3-hydroksybenzoesowy (TBHBA)	188 µg
Ureaza (kanawalia mieczokształtna)	0,05 U
Urykaza (bakteryjna)	0,04 U
Siarczan cynku	3 µg

Bufory, środki powierzchniowo czynne, substancje pomocnicze i środki konserwujące

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Do diagnostyki *in vitro*
- Pojemnik z rozcieńczalnikami w dysku z odczynnikami jest otwierany automatycznie po zamknięciu szuflady analizatora. Dysku z otwartym pojemnikiem z rozcieńczalnikami nie można używać ponownie. Przed zamknięciem szuflady należy się upewnić, że w dysku umieszczono próbkę lub materiał kontrolny.
- Zużyte dyski z odczynnikami zawierają ludzkie płyny ustrojowe. Podczas obsługi dysków oraz utylizacji zużytych dysków należy przestrzegać dobrych praktyk laboratoryjnych związanych z zapewnieniem bezpieczeństwa.⁷⁵ Instrukcje dotyczące czyszczenia rozlanych płynów niebezpiecznych biologicznie zawiera podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress .
- Dyski z odczynnikami są plastikowe i w przypadku upuszczenia mogą pęknąć lub się wyszczerbić. **W żadnym wypadku nie wolno** używać dysku, który upuszczono, gdyż mogłoby to spowodować przedostanie się substancji niebezpiecznych biologicznie do wnętrza analizatora.
- Kulki odczynnikowe mogą zawierać kwasy lub substancje żrące. W przypadku przestrzegania zalecanych procedur operator nie ma styczności z tymi kulkami. W sytuacji wymagającej manipulowania kulkami (np. przy czyszczeniu po upuszczeniu i pęknięciu dysku z odczynnikami) należy unikać połykania, kontaktu ze skórą oraz wdychania kulek odczynnikowych.

Instrukcje dotyczące postępowania z odczynnikami

Dyski z odczynnikami można używać bezpośrednio po wyjęciu z lodówki, bez ich ogrzewania. Przed użyciem dysków nie należy pozostawiać ich w szczelnie zamkniętych woreczkach foliowych (opakowaniach) w temperaturze pokojowej przez czas dłuższy niż 48 godzin. Otworzyć woreczek foliowy, wyjąć dysk i użyć go zgodnie z instrukcjami przedstawionymi w podręczniku operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress . Dysk, którego nie użyto w ciągu 20 minut od otwarcia woreczka, należy wyrzucić.

Przechowywanie

Dyski z odczynnikami należy przechowywać w szczelnie zamkniętych woreczkach, w których zostały dostarczone, w temperaturze 2–8°C (36–46°F). Nie narażać otwartych ani zamkniętych dysków na bezpośrednie działanie światła słonecznego lub temperatur przekraczających 32°C (90°F). Dyski z odczynnikami można zużyć do upływu terminu ważności podanego na opakowaniu. Termin ważności jest też zakodowany w kodzie paskowym wydrukowanym na opasce. W przypadku przeterminowania odczynników na ekranie analizatora biochemicznego Piccolo Xpress zostanie wyświetlony komunikat o błędzie.

Oznaki niestabilności/pogorszenia właściwości dysku z odczynnikami

Rozdarcie lub uszkodzenie woreczka w inny sposób może umożliwić przedostawanie się wilgoci do nieużywanego dysku oraz spowodować negatywny wpływ na działanie odczynników. Nie należy używać dysku z uszkodzonego woreczka.

6. Urządzenie

Kompletne informacje dotyczące korzystania z analizatora omówiono w Podręczniku operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress .

7. Pobieranie i przygotowywanie próbek

Techniki pobierania próbek opisano w rozdziale „Pobieranie próbek” podręcznika operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress .

- Minimalna wymagana objętość próbki wynosi ~100 µl heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanego osocza, surowicy lub materiału kontrolnego. Komora próbki w dysku z odczynnikami może zawierać do 120 µl próbki.
- Próbki krwi pełnej pobranej przez nakłucie żyły powinny być jednorodne przed ich przeniesieniem do dysku z odczynnikami. Tuż przed ich przeniesieniem należy kilkakrotnie delikatnie odwrócić probówkę z próbką. Nie należy wytrząsać probówki z próbką, gdyż może to spowodować hemolizę.
- Próbki krwi pełnej należy pobierać wyłącznie poprzez nakłucie żyły. Nie powinna to być krew włosniczkowa.

- Próbkę krwi pełnej pobranej poprzez nakłucie żyły należy przeanalizować w ciągu 60 minut od pobrania.⁷⁶ Na stężenie **glukozy** wpływ ma czas od ostatniego posiłku pacjenta oraz rodzaj pobranej próbki. Aby dokładnie oznaczyć stężenie glukozy, próbki należy pobrać od pacjenta nieprzyjmującego posiłków od co najmniej 12 godzin. W nieodwirowanych próbkach przechowywanych w temperaturze pokojowej stężenie glukozy spada w tempie około 5–12 mg/dl na godzinę.⁷⁷
- Z próbkami krwi pełnej lub osocza należy używać wyłącznie próżniowych probówek do pobierania próbek z heparynianem litu (z zieloną zatyczką). Z próbkami surowicy należy używać próżniowych próbek bez antykoagulantu (z czerwoną zatyczką) lub probówek do separacji surowicy (z czerwono-czarną zatyczką).
- Schłodzenie w lodówce próbek krwi pełnej może spowodować znaczne zmiany stężenia **aminotransferazy asparaginianowej, kreatyniny i glukozy**.⁷⁸ Jeśli próbki nie można przeanalizować w ciągu 60 minut, można z niej oddzielić osocze lub surowicę i przechowywać je w zamkniętych probówkach na próbki w temperaturze 2–8°C (36–46°F).
- Test należy rozpocząć w ciągu 10 minut od przeniesienia próbki do dysku z odczynnikami.

8. Procedura

Dostarczane materiały

- Jeden dysk z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo BioChemistry Plus, PN: 400-1035 (pudełko dysków, PN 400-0035)

Materiały wymagane, ale niedostarczane z produktem

- Analizator biochemiczny Piccolo Xpress
- Pipety do przenoszenia próbek (o stałej objętości wynoszącej ok. 100 µl) i ich końcówki są dostarczane z każdym analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress. Można je też zamawiać w firmie Abaxis.
- Dostępne na rynku odczynniki kontrolne zalecane przez firmę Abaxis (w celu uzyskania informacji dotyczących zatwierdzonym materiałom kontrolnym i oczekiwanych wartości należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Abaxis).
- Licznik czasu

Parametry testu

Analizator biochemiczny Piccolo Xpress można obsługiwać w temperaturze otoczenia wynoszącej od 15°C do 32°C (59–90°F). Czas analizy każdego dysku z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo BioChemistry Plus wynosi mniej niż 14 minut. Dysk z odczynnikami na czas trwania oznaczenia jest utrzymywany przez analizator w temperaturze 37°C (98,6°F).

Procedura testu

Kompletną procedurę pobierania próbek oraz procedury obsługi krok po kroku opisano w podręczniku operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

Kalibracja

Analizator biochemiczny Piccolo Xpress jest kalibrowany przez producenta przed wysyłką. Kod paskowy wydrukowany na opasce zawiera wymagane przez analizator dane kalibracyjne specyficzne dla dysku. Patrz podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

Kontrola jakości

Szczegółowe instrukcje dotyczące analizowania, rejestrowania, interpretacji i wykreślania wyników kontroli zawiera podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

9. Wyniki

Analizator biochemiczny Piccolo Xpress automatycznie oblicza i drukuje stężenia analitów w próbce. Szczegółowe informacje dotyczące obliczeń dla reakcji, dla których przeprowadza się pomiary w punkcie końcowym i pomiary kinetyczne, zawiera podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

W podręczniku operatora opisano także interpretację wyników. Wyniki są drukowane na taśmie wyników dostarczanej przez firmę Abaxis. Tył taśmy wyników jest samoprzylepny, aby ułatwić ich umieszczenie w dokumentacji pacjenta.

10. Ograniczenia procedury

Ogólne ograniczenia procedury omówiono o w podręczniku operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

- Jedynym antykoagulantem **zalecanym do stosowania** z analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress jest **heparynian litu**. Nie należy używać heparynianu sodu. Firma Abaxis przeprowadziła badania, które wykazały, że EDTA, fluorki, szczawiany oraz wszystkie antykoagulanty zawierające jony amonowe kolidują z co najmniej jednym związkiem chemicznym znajdującym się w dysku z odczynnikami panelu do oznaczeń biochemicznych Piccolo BioChemistry Plus.

- Wyniki dla próbek z hematokrytem przekraczającym 62–65% objętości skoagulowanych krwinek czerwonych (ułamek objętościowy wynoszący 0,62–0,65) mogą być nieprawidłowe. Próbkę o wysokim hematokrycie mogą być zgłaszane jako zhemolizowane. Próbkę tę można odwirować w celu oddzielenia osocza, a następnie ponownie przeanalizować w nowym dysku z odczynnikami.
- CRP to białko „fazy ostrej” powstające w sposób niespecyficzny w reakcji na stan zapalny. Różnice stężeń białka C-reaktywnego u poszczególnych osób są znaczne (od 30 do 60%). Należy to uwzględnić podczas interpretacji wyników.³¹ W celu oceny faktycznej wartości średniej białka C-reaktywnego u określonej osoby mogą być wymagane seryjne oznaczenia tego związku.
- Przeciwciała HAMA (ludzkie przeciwciała przeciwko antygenom mysim) w stężeniu do 115 ng/ml nie zakłócają oznaczenia. Próbkę od pacjentów przyjmujących preparaty z mysimi monoklonalnymi przeciwciałami w celach diagnostycznych lub terapeutycznych mogą zawierać przeciwciała HAMA.
- Czynniki reumatoidalne w stężeniu do 644 U/ml nie zakłóca oznaczenia.
- W oznaczeniu tym nie zaobserwowano efektu wysokiej dawki (efektu haka) przy stężeniach białka CRP wynoszących do 1000 mg/l.
- **Każdy uzyskany w określonym teście wynik przekraczający zakres dopuszczalny dla oznaczenia należy przeanalizować za pomocą innej zatwierdzonej metody lub wysłać do innego laboratorium. Nie należy rozcieńczać próbki i analizować jej ponownie za pomocą analizatora biochemicznego Piccolo Xpress .**

Ostrzeżenie: Dokładne testy analizatora biochemicznego Piccolo Xpress wykazały, że w bardzo rzadkich przypadkach próbki umieszczone w dysku z odczynnikami mogą nie spływać równomiernie do komory próbki. Z powodu nierównomiernego przepływu przeanalizowana może zostać niewłaściwa ilość próbki. Z tego powodu część wyników może przekraczać referencyjne zakresy wartości. Próbkę taką można przeanalizować ponownie za pomocą nowego dysku z odczynnikami.

Przetestowano różne substancje mogące zakłócać oznaczenia analitów. Przygotowano pule surowicy ludzkiej. Badane stężenie poszczególnych potencjalnych substancji zakłócających oparto na poziomach testowych podanych w dokumencie CLSI (poprzednio NCCLS) EP7-P.⁷⁹ (oprócz CRP) oraz CLSI EP7-A⁸⁰ (CRP).

Wpływ substancji endogennych

- Fizjologiczne stany zakłócające (hemoliza, żółtaczka i lipemia) powodują zmiany zgłaszanych stężeń niektórych analitów. U dołu każdej taśmy wyników drukowane są wskaźniki dla próbek informujące operatora o poziomach substancji zakłócających występujących w każdej próbce.
- Analizator biochemiczny Piccolo Xpress pomija wszystkie wyniki, na które wpływa zakłócenie o wartości > 10% spowodowane hemolizą, lipemią lub żółtaczką. Na taśmie wyników w miejscu wyniku nanoszony jest odpowiednio tekst „HEM”, „LIP” lub „ICT”.
- W przypadku metody oznaczania białka CRP poziomy substancji endogennych powodujących pominięcie wyników i wygenerowanie oznaczeń HEM, LIP lub ICT to: 750 mg/dl dla hemoglobiny, 750 mg/dl dla lipoprotein oraz 35 mg/dl dla bilirubiny.
- Aby uzyskać informacje na temat maksymalnych poziomów substancji endogennych, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Abaxis.

Wpływ substancji egzogennych i terapeutycznych

Na podstawie zaleceń Younga wybrano substancje egzogenne i terapeutyczne potencjalnie zakłócające metody testowe firmy Abaxis.⁸¹ Znaczne zakłócenia zdefiniowano jako przesunięcie wyniku większe niż $\pm 10\%$ dla próbki w prawidłowym zakresie. Do pul surowicy ludzkiej dodano znane stężenia leków lub substancji chemicznych, a następnie przeanalizowano uzyskane w ten sposób próbki. Listę ocenianych substancji egzogennych i terapeutycznych przedstawiono w tabeli 2. **Listę analitów, dla których zaobserwowano zakłócenia, przedstawiono w TABELI 3.**

Tabela 2: Oceniane substancje egzogenne i terapeutyczne

Potencjalna substancja zakłócająca	Najwyższe zbadane stężenie ^A (mg/dl, chyba że podano inaczej)
Acetaminofen	100
Acetyloctan	102
Kwas acetylosalicylowy	50
Ampicylina	30
Kwas askorbinowy (oprócz CRP)	20

Kwas askorbinowy (tylko CRP)	3
Kofeina	10
Chlorek wapnia (oprócz CRP)	20
Chlorek wapnia (tylko CRP)	NW
Cefalotyna (Keflin)	400
Chloramfenikol	100
Cymetydyna	16

Tabela 2: Oceniane substancje egzogenne i terapeutyczne (cd.)

Potencjalna substancja zakłócająca	Najwyższe zbadane stężenie ^A (mg/dl, chyba że podano inaczej)
Lewodopa	5
Dopamina (oprócz CRP)	19
Dopamina (tylko CRP)	13
Epinefryna	1
Erytromycyna	10
Glutation	30
Hydrochlorotiazyd	7,5
Ibuprofen	50
Izoniazyd	4
α -ketoglutaran (oprócz CRP)	5
α -ketoglutaran (tylko CRP)	NW
Ketoprofen	50
Lidokaina	1
Mleczan (oprócz CRP)	230
Mleczan litu (tylko CRP)	84
Metacylina	100
Metotreksat	0,5
Metyldopa (tylko AST, GLU, TP i UA)	0,5
Metyldopa (wszystkie pozostałe)	NW
Metronidazol	5
Nafcylina	1
Nitrofurantoina	20
Oksacylina	1
Szczawiooctan	132
Penicylina G	100
Fenytoina (5,5-difenylohydantoina)	3
Prolina	4
Pirogronian (oprócz CRP)	44
Pirogronian (tylko CRP)	NW
Rifampicyna (tylko AST, GLU, TP i UA)	1,5
Rifampicyna (wszystkie pozostałe)	0,5
Kwas salicylowy (oprócz CRP)	25
Kwas salicylowy (tylko CRP)	50
Sulfasalazyna (oprócz CRP)	10
Sulfasalazyna (tylko CRP)	NW
Sulfadiazyna (oprócz CRP)	NW
Sulfadiazyna (tylko CRP)	150
Sulfanilamid	50
Teofilina	20

^A NW = nie wykonanoTabela 3: Dla poniższych substancji wystąpiło przesunięcie wyniku przekraczające $\pm > 10\%$ dla próbek w prawidłowym zakresie.

	Stężenie, przy którym wystąpiło zakłócenie $> 10\%$	Zaobserwowane zakłócenie (%) ^B
Aminotransferaza alaninowa (ALT)		
Kwas askorbinowy	20	11% wzr.
Szczawiooctan	132	843% wzr.
Albumina (ALB)		
Acetylooctan	102	18% spd.

Tabela 3: Dla poniższych substancji wystąpiło przesunięcie wyniku przekraczające $\pm > 10\%$ (cd.)

	Stężenie, przy którym wystąpiło zakłócenie $> 10\%$	Zaobserwowane zakłócenie (%)^B
Ampicylina	30	12% spd.
Kofeina	10	14% spd.
Chlorek wapnia	20	17% spd.
Cefalotyna (Keflin)	400	13% wzr.
Ibuprofen	50	28% wzr.
α -ketoglutaran	5	11% spd.
Nitrofurantoina	20	13% spd.
Prolina	4	12% wzr.
Sulfasalazyna	10	14% spd.
Sulfanilamid	50	12% spd.
Teofilina	20	11% spd.
Alkaliczna fosfataza (ALP)		
Teofilina	20	42% spd.
Białko C-reaktywne		
Glutation	30	13% spd.
Izoniazyd	4	16% spd.
Lewodopa	5	28% spd.
Szczawiooctan	132	57% spd.
Kreatynina (CRE)		
Kwas askorbinowy	20	11% spd.
Dopamina	19	80% spd.
Lewodopa	5	71% spd.
Epinefryna	1	45% spd.
Glutation	30	13% spd.
Glukoza (GLU)		
Szczawiooctan	132	11% spd.
Pirogronian	44	13% spd.
Kwas moczowy		
Kwas askorbinowy	20	13% spd.
Epinefryna	1	14% spd.
Lewodopa	5	78% spd.
Metyldopa	0,5	12% spd.
Rifampicyna	1,5	14% spd.
Kwas salicylowy	25	20% spd.

^B spd. = spadek stężenia określonego analitu; wzr. = wzrost stężenia określonego analitu

11. Oczekiwane wartości

W celu określenia zakresów referencyjnych dla substancji: ALT, albuminy, ALP, amylazy, wapnia, kreatyniny, glukozy, białka całkowitego i BUN użyto łącznie 193 próbek pobranych od dorosłych mężczyzn i kobiet, które przeanalizowano za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo. W celu określenia zakresu referencyjnego dla związku AST i kwasu moczowego użyto łącznie 186 próbek pobranych od dorosłych mężczyzn i kobiet. W celu określenia zakresu referencyjnego dla związku GGT użyto łącznie 131 próbek pobranych od dorosłych mężczyzn i kobiet. Poniższe zakresy obliczono dla tych analitów w oparciu o 95% przedział referencyjny oszacowany na podstawie łączonych (wszystkich) wartości uzyskanych dla osób badanych. Próbkę od 69 dorosłych mężczyzn i kobiet przeanalizowano pod kątem białka CRP za pomocą analizatora biochemicznego Piccolo Xpress. Zakres dla białka CRP oparto na potwierdzonej możliwości przeniesienia zakresów ustalonych dla metody Beckmana.⁸² Zakresy te mają jedynie charakter poglądowy. Zaleca się ustalenie w placówce zakresów prawidłowych dla określonej populacji pacjentów.

Tabela 4: Zakresy referencyjne dla systemu Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Aminotransferaza alaninowa (ALT)	10–47 U/l	10–47 U/l
Albumina (ALB)	3,3–5,5 g/dl	33–55 g/l
Alkaliczna fosfataza (ALP)		
Kobiety	42–141 U/l	42–141 U/l
Mężczyźni	53–128 U/l	53–128 U/l
Amylaza (AMY)	14–97 U/l	14–97 U/l
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	11–38 U/l	11–38 U/l
Białko C-reaktywne	< 7,5 mg/l	< 7,5 mg/l
Wapń (CA)	8,0–10,3 mg/dl	2,00–2,58 mmol/l
Kreatynina	0,6–1,2 mg/dl	53–106 µmol/l
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	5–65 U/l	5–65 U/l
Glukoza	73–118 mg/dl	4,1–6,6 mmol/l
Białko całkowite (TP)	6,4–8,1 g/dl	64–81 g/l
Azot mocznikowy we krwi (BUN)	7–22 mg/dl	2,5–7,9 mmol/l
Kwas moczowy (UA)		
Kobiety	2,2–6,6 mg/dl	131–393 µmol/l
Mężczyźni	3,6–8,0 mg/dl	214–476 µmol/l

12. Charakterystyka robocza

Liniowość

Właściwości chemiczne każdego analitu są liniowe w zakresie dynamicznym podanym poniżej, gdy analizator biochemiczny Piccolo Xpress jest obsługiwany zgodnie z zalecaną procedurą (patrz podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress).

Tabela 5: Zakresy dynamiczne w systemie Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Aminotransferaza alaninowa (ALT)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Albumina (ALB)	1–6,5 g/dl	10–65 g/l
Alkaliczna fosfataza (ALP)	5–2400 U/l	5–2400 U/l
Amylaza (AMY)	5–4000 U/l	5–4000 U/l
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Białko C-reaktywne	5,0–200,0 mg/l	5,0–200,0 mg/l
Wapń	4,0–16,0 mg/dl	1,0–4,0 mmol/l
Kreatynina	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	5–3000 U/l	5–3000 U/l
Glukoza	10–700 mg/dl	0,6–38,9 mmol/l
Białko całkowite (TP)	2–14 g/dl	20–140 g/l
Azot mocznikowy we krwi (BUN)	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol/l
Kwas moczowy	1–15 mg/dl	100–900 µmol/l

Jeśli stężenie analitu przekracza zakres pomiarowy (dynamiczny), ale jest mniejsze od limitu zakresu systemowego, na wydrukowanej taśmie przy górnym limicie pojawi się znak „>” oraz gwiazdka po liczbie, np. ALT > 2000* U/l. Jeśli jest ono niższe od zakresu dynamicznego, wydrukowany zostanie znak „<” oraz gwiazdka, np. ALT < 5* U/l. W przypadku wartości znacznie przekraczających zakres pomiarowy (systemowy), zamiast wyniku wydrukowany zostanie znak „~~~”. Za każdym razem gdy na wydrukowanej taśmie pojawia się znak „~~~”, należy pobrać nową próbkę i ponownie przeprowadzić test. Jeśli wyniki dla drugiej próbki zostaną znowu pominięte, należy zadzwonić do działu obsługi klienta firmy Abaxis.

Czułość (limity wykrywania)

Dolne limity zgłaszanego (dynamicznego) zakresu poszczególnych analizów: aminotransferaza alaninowa — 5 U/l; albumina — 1 g/dl (10 g/l); alkaliczna fosfataza — 5 U/l; amylaza — 5 U/l; aminotransferaza asparaginianowa — 5 U/l; białko C-reaktywne — 5,0 mg/l; wapń — 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); kreatynina — 0,2 mg/dl (18 µmol/l); gamma-glutamylotransferaza — 5 U/l; glukoza — 10 mg/dl (0,6 mmol/l); białko całkowite — 2 g/dl (20 g/l); azot mocznikowy we krwi — 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l mocznika) oraz kwas moczowy — 1 mg/dl (100 µmol/l).

Precyzja

Badania precyzji przeprowadzono według wytycznych CLSI EP5-T2⁸³ (oprócz oznaczenia CRP) oraz EP5-A.⁸⁴ Modyfikacje oparto na dokumencie CLSI EP18-A⁸⁵ dla urządzeń do wykorzystania modułowego. Precyzję w obrębie serii i całkowitą określono, używając dostępnych na rynku materiałów kontrolnych o dwóch poziomach. Badania przeprowadzono z użyciem wielu analizatorów. Testy ALT, AST, albuminy, ALP, amylazy, wapnia, kreatyniny, GGT, glukozy, białka całkowitego, BUN i kwasu moczowego przeprowadzono w dwóch placówkach w ciągu 20 dni, używając dwóch serii dysków z odczynnikami. Testy oznaczenia białka C-reaktywnego przeprowadzono w ciągu pięciu dni, używając jednej serii dysków z odczynnikami. Surowicę 1, poziom 1 materiału kontrolnego i poziom 2 materiału kontrolnego przebadano w dwóch placówkach, a surowicę 2, surowicę 3, osocze 1 i osocze 2 przebadano w jednej placówce.

Wyniki badań precyzji przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6: Precyzja

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Aminotransferaza alaninowa (U/l)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		21	21
SD		2,76	2,79
%CV		13,4	13,5
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		52	52
SD		2,70	3,25
%CV		5,2	6,2
Albumina (g/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		5,6	5,6
SD		0,09	0,11
%CV		1,7	2,1
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		3,7	3,7
SD		0,07	0,11
%CV		2,0	2,9
Alkaliczna fosfataza (U/l)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		39	39
SD		1,81	2,29
%CV		4,6	5,8
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		281	281
SD		4,08	8,75
%CV		1,5	3,1
Amylaza (U/l)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		46	46
SD		2,40	2,63
%CV		5,2	5,7
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		300	300
SD		11,15	11,50
%CV		3,7	3,8
Aminotransferaza asparaginianowa (U/l)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		47	47
SD		0,98	1,84
%CV		2,1	3,9
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		145	145
SD		1,83	4,62
%CV		1,3	3,2

Tabela 6: Precyzja (cd.)

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Białko C-reaktywne (mg/l)			
<u>Surowica 1</u>	N = 80		
Średnia		8,3	8,3
SD		0,70	0,81
%CV		8,4	9,8
<u>Surowica 2</u>	N = 40		
Średnia		8,1	8,1
SD		0,49	0,51
%CV		6,1	6,3
<u>Surowica 3</u>	N = 40		
Średnia		8,8	8,8
SD		0,54	0,54
%CV		6,2	6,2
<u>Osocze 1</u>	N = 40		
Średnia		34,5	34,5
SD		1,04	1,09
%CV		3,0	3,2
<u>Osocze 2</u>	N = 40		
Średnia		105,5	105,5
SD		2,06	2,30
%CV		1,9	2,2
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		33,0	33,0
SD		1,21	2,12
%CV		3,7	6,4
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		108,0	108,0
SD		1,88	3,14
%CV		1,7	2,9
Wapń (mg/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		8,6	8,6
SD		0,21	0,25
%CV		2,4	2,9
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		11,8	11,8
SD		0,39	0,40
%CV		3,3	3,4
Kreatynina (mg/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		1,1	1,1
SD		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		5,2	5,2
SD		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
Gamma-glutamylotransferaza (U/l)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		25	25
SD		0,59	0,74
%CV		2,3	2,9
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		106	106
SD		1,52	2,29
%CV		1,4	2,2

Tabela 6: Precyzja (cd.)

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Głukoza (mg/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		66	66
SD		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		278	278
SD		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4
Białko całkowite (g/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		6,8	6,8
SD		0,05	0,08
%CV		0,8	1,2
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		4,7	4,7
SD		0,09	0,09
%CV		2,0	2,0
Azot mocznikowy we krwi (mg/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		19	19
SD		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		65	65
SD		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8
Kwas moczowy (mg/dl)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		3,8	3,8
SD		0,15	0,18
%CV		4,0	4,8
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		7,5	7,5
SD		0,24	0,29
%CV		3,2	3,9

Korelacja

W dwóch placówkach od pacjentów pobrano próbki krwi pełnej z użyciem heparynianu litu i surowicy. Próbki krwi pełnej przeanalizowano za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo w placówkach w terenie, a próbki surowicy przeanalizowano za pomocą metod porównawczych. W dwóch przypadkach użyto wyników badania próbek surowicy za pomocą analizatora Piccolo; przypadki te oznaczono odpowiednio w tabeli. W niektórych przypadkach użyto próbek suplementowanych na wysokim i niskim poziomie, aby uwzględnić cały zakres dynamiczny. Próbki oznaczane pod kątem CRP pobrano od pacjentów w jednej placówce. Próbki heparynizowanego osocza zbadano za pomocą analizatora biochemicznego Piccolo Xpress i metody porównawczej. Próbki wybrano w taki sposób, aby były zgodne z wytycznymi CLSI EP9-A2 dotyczącymi rozkładu wartości.⁸⁶ Próbki przeanalizowano jednokrotnie tego samego dnia za pomocą oznaczenia firmy Abaxis i metody porównawczej. Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące korelacji przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7: Korelacja analizy za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress (oznaczenie CRP) z metodami porównawczymi

	Współczynnik korelacji	Nachylenie	Punkt przecięcia	SEE (Std. błąd oszacowania)	N	Zakres próbki	Metoda Porównawcza
Aminotransferaza alaninowa (U/l)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10–174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10–174	Technicon

Tabela 7: Korelacja (cd.)

	Współczynnik korelacji	Nachylenie	Punkt przecięcia	SEE (Std. błąd oszacowania)	N	Zakres próbek	Metoda Porównawcza
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
Alkaliczna fosfataza (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
Amylaza (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
Aminotransferaza asparaginianowa (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™
Białko C-reaktywne (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,60	113	5,4–198,6	Beckman
Wapń (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
Kreatynina (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-glutamylotransferaza (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
Glukoza (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
Białko całkowite (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
Azot mocznikowy we krwi (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
Kwas moczowy (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

*Próbki surowicy od hospitalizowanych pacjentów zapewniły szerszy i prawdopodobnie bardziej przydatny zakres próbek niż próbki żyłnej krwi pełnej pobrane od pacjentów niehospitalizowanych. Dane statystyczne dotyczące korelacji testu oznaczania wapnia Piccolo uzyskano na podstawie tych próbek surowicy.

** W jednej placówce w celu zbadania korelacji oznaczenia gamma-glutamylotransferazy analizowano tylko surowicę za pomocą analizatora Piccolo.

Tabela 8: Korelacja oznaczenia białka CRP uwzględniająca typ próbki

W przypadku metody oznaczania białka CRP w wyniku analizy regresji Deminga uwzględniającej typy próbek uzyskano następujące wyniki (n = 21).

Oś Y	Oś X	R ²	Nachylenie	Punkt przecięcia
Heparynizowane osocze	Heparynizowana krew pełna	1,000	0,995	0,2
Surowica	Heparynizowana krew pełna	0,999	1,005	0,5
Surowica	Heparynizowane osocze	0,999	1,010	0,3

Nie zaobserwowano znaczących różnic między wynikami oznaczania białka CRP w heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanym osoczu i surowicy.

13. Symbolika



Termin ważności



Numer katalogowy



Kod partii



Urządzenie do diagnostyki in vitro



Zapoznać się z instrukcją obsługi



Producent



Nie wykorzystywać ponownie



Liczba urządzeń w zestawie testowym



Cykl produkcji



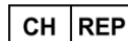
Numer seryjny



Uwaga



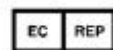
Ograniczenia w zakresie temperatury



Autoryzowany przedstawiciel w Szwajcarii

PN:

Numer części



Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej



Oznacza zgodność z określonymi dyrektywami europejskimi



Struktura kodu kreskowego UDI w standardowym formacie Health Industry Bar Code (HIBC)



Niepowtarzalny identyfikator urządzenia w postaci czytelnej dla człowieka i maszyny, używany do odpowiedniej identyfikacji wyrobów medycznych podczas ich dystrybucji i użytkowania



Oddzielna zbiórka odpadów dla wskazanego urządzenia elektronicznego; Sprzęt wyprodukowany / wprowadzony do obrotu po 13 sierpnia 2005 r.; Wskazuje na zgodność z art. 14 ust. 4 dyrektywy 2012/19/UE (WEEE) dla Unii Europejskiej (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 Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, 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 (cd.)

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. Haecckel 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. Goldbarg 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. Doumas 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 (cd.)

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.