

Wylącznie do diagnostyki *in vitro*

i do użytku profesjonalnego

Obsługa Klienta i Obsługa Techniczna: 1-800-822-2947

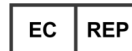
Klienci spoza USA: +49 6155 780 210



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 Piccolo® Hepatic Function Panel stosowany w połączeniu z biochemicznym analizatorem krwi Piccolo Xpress® jest przeznaczony do ilościowego oznaczania *in vitro* aminotransferazy alaninowej, albuminy, alkalicznej fosfatazy, aminotransferazy asparaginianowej, bilirubiny bezpośredniej i całkowitej oraz białka całkowitego w heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanym osoczu lub surowicy w laboratoriach klinicznych lub podczas badań przyłóżkowych.

2. Podsumowanie i objaśnienie testów

Dysk z odczynnikami panelu do Piccolo Hepatic Function Panel wraz z biochemicznym analizatorem krwi Piccolo Xpress stanowią system do diagnostyki *in vitro* ułatwiający lekarzom diagnozowanie następujących chorób i stanów fizjologicznych:

Aminotransferaza alaninowa:	Choroby wątroby, w tym wirusowe zapalenie oraz marskość wątroby, choroby serca.
Albumina:	Choroby wątroby i nerek.
Alkaliczna fosfataza:	Choroby wątroby, kości, przytarczyc i jelit.
Aminotransferaza asparaginianowa:	Choroby wątroby, w tym zapalenie oraz żółtaczka wirusowa, wstrząs.
Bilirubina bezpośrednia:	Choroby wątroby, zaburzenia hemolityczne, hematologiczne i metaboliczne, w tym zapalenie wątroby i niedrożność pęcherzyka żółciowego.
Bilirubina całkowita:	Zaburzenia pracy wątroby, w tym zapalenie oraz niedrożność pęcherzyka żółciowego, żółtaczka.
Białko całkowite:	Choroby wątroby, nerek, szpiku kostnego, zaburzenia metaboliczne i odżywiania.

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

3. Zasady 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.

ALT

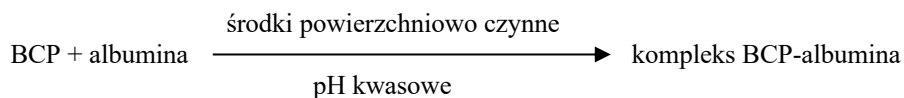


Zmiana różnicy absorbancji dla długości fal świetlnych wynoszących 340 nm i 405 nm jest spowodowana konwersją formy NADH do NAD⁺. Jest ona wprost proporcjonalna do ilości związku ALT w próbce.

Albumina (ALB)

Pierwsze metody oznaczania albumin to m.in. techniki polegające na frakcjonowaniu⁶⁻⁸ 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.

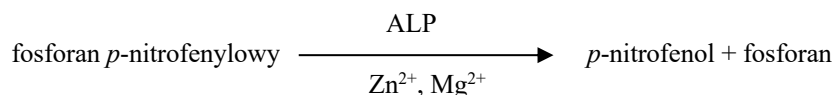


Ilość związanej albuminy jest proporcjonalna do stężenia albuminy w próbce. Jest to reakcja, dla której różnicę absorbancji oznacza się w punkcie końcowym przy długościach fal świetlnych wynoszących 600 nm i 550 nm.

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 organizację AACC i IFCC.²¹ Alkaliczna fosfataza hydrolizuje związek *p*-NPP w buforze przeznaczonym dla jonów metali, tworząc *p*-nitrofenol i fosforan.

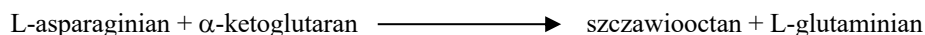


Ilość związku ALP w próbce jest proporcjonalna do zwiększenia różnicy absorbancji przy długościach fal świetlnych wynoszących 405 nm i 500 nm.

Aminotransferaza asparaginianowa (AST)

Test aminotransferazy asparaginianowej (AST) opiera się na metodzie opracowanej przez Karmena²² zmodyfikowanej przez Bergmeyera.²³ Aktualna metoda referencyjna według organizacji International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej) wykorzystuje technikę Karmen/Bergmeyera polegającą na sprzęganiu dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) i formy zredukowanej dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) podczas wykrywania związku AST w surowicy.^{23,24} Na potrzeby reakcji dodawana jest dehydrogenaza mleczanowa (LDH), aby zmniejszyć zakłócenia powodowane przez endogenne pirogronian.

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

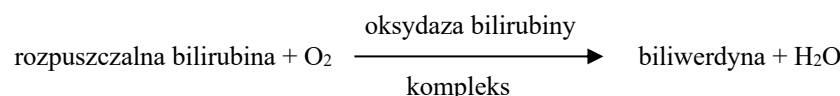


Współczynnik zmiany absorbancji przy długości fal świetlnych wynoszącej 340 nm/405 nm spowodowany przez konwersję formy NADH do NAD⁺ jest wprost proporcjonalny do ilości związku AST występującego w próbce.

Bilirubina bezpośrednia (DBIL)

Bilirubinę bezpośrednią w surowicy ludzkiej wykryli po raz pierwszy Van Den Bergh i Müller. Zaobserwowali oni, że barwnik w ludzkiej żółci reagował z diazowanym kwasem sulfanilowym bez dodatku alkoholu.²⁵ Obecnie często stosowane techniki oznaczania bilirubiny bezpośredniej to modyfikacje metody opracowanej przez Malloya i Evelyn,²⁶ polegająca na reakcji diazowanego kwasu sulfanilowego z bilirubiną, w wyniku której powstaje barwna azobilirubina (chromofor). Wyniki niektórych metod z użyciem kwasu diazowanego są nieprawidłowe, ponieważ istnieje możliwość oznaczenia formy niesprężonej bilirubiny jako bilirubiny bezpośredniej.²⁷ Bardziej specyficzne oznaczenie bilirubiny całkowitej opracowano po wyizolowaniu enzymu, oksydazy bilirubiny, z grzyba *Myrothecium verrucaria* MT-1.²⁸⁻³⁰ Metoda ta jest też specyficzna dla bilirubiny bezpośredniej, gdy reakcję przeprowadza się przy niższym odczynie pH.^{31,32}

W procedurze enzymatycznej rozpuszczalny kompleks bilirubiny (bilirubina bezpośrednia) jest utleniany przez oksydazę bilirubiny, w wyniku czego powstaje biliwerdyna.

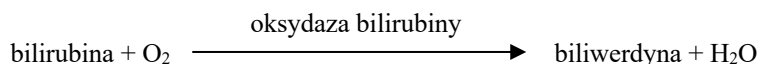


Bezpośrednia bilirubina jest oznaczana ilościowo jako różnica absorbancji przy długościach fal świetlnych wynoszących 467 nm i 550 nm. Początkowa absorbancja dla tej reakcji, dla której pomiar przeprowadza się w punkcie końcowym, jest ustalana przy użyciu kuwety do oznaczenia zerowego bilirubiny bezpośredniej, a absorbancja końcowa jest ustalana przy użyciu kuwety testowej z bilirubiną bezpośrednią. Ilość bilirubiny bezpośredniej w próbce jest proporcjonalna do różnicy między początkowym i końcowym pomiarem absorbancji.

Bilirubina całkowita (TBIL)

Poziomy bilirubiny całkowitej oznaczano zazwyczaj za pomocą testów wykorzystujących diazowany kwas sulfanilowy.^{26,33} Opracowano też nowszą, bardziej specyficzną metodę z zastosowaniem enzymu — oksydazy bilirubiny.²⁸⁻³⁰ Oprócz wykorzystania bardziej specyficznej metody oznaczania bilirubiny całkowitej, w analizatorze Piccolo zminimalizowano fotodegradację analitu, ponieważ próbkę można testować bezpośrednio po pobraniu.

W procedurze wykorzystującej enzym bilirubina jest utleniana przez oksydazę bilirubiny do biliwerdyny.

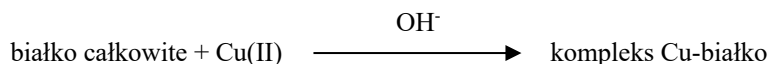


Ilość bilirubiny oznacza się, jako różnicę absorbancji przy długościach fal świetlnych wynoszących 467 nm i 550 nm. Początkowa absorbancja dla tej reakcji, dla której pomiar przeprowadza się w punkcie końcowym, jest ustalana przy użyciu kuwety do oznaczenia zerowego bilirubiny, a absorbancja końcowa jest ustalana przy użyciu kuwety testowej z bilirubiną. Ilość bilirubiny w próbce jest proporcjonalna do różnicy między początkowym i końcowym pomiarem absorbancji.

Białko całkowite (TP)

Metoda oznaczania białka całkowitego to modyfikowana reakcja biuretowa, znana z precyzji, dokładności i specyficzności.³⁴ Opracował ją Riegler,³⁵ a zmodyfikowali Weichselbaum³⁶ Doumas i in.³⁷ Reakcję biuretową zaproponowano jako potencjalną metodę referencyjną oznaczania białka całkowitego.

W reakcji biuretowej 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.³⁶ 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.

4. Zasada działania

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

5. Opis odczynników

Odczynniki

Każdy dysk odczynników panelu do Piccolo Hepatic Function Panel 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) i aminotransferazy asparaginianowej (AST). W dysku znajdują się specjalne odczynniki do oznaczenia zerowego bilirubiny całkowitej (TBIL), bilirubiny bezpośredniej (DBIL) i białka całkowitego (TP). Każdy dysk z odczynnikami zawiera także rozcieńczalnik, w którego skład wchodzi środki powierzchniowo czynne, substancje pomocnicze i środki konserwujące.

Tabela 1: Odczynniki

Składnik	Ilość/dysk
L-alanina	874 µg
Kwas L-asparaginowy	426 µg
Oksydaza bilirubiny	0,2 U
Purpura bromokrezolowa	2 µg
Siarczan miedzi (II)	134 µg
Kwas α-ketoglutarynowy	82 µg
Dehydrogenaza mleczanowa	0,13 U
Chlorek magnezu	3 µg
Dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) (serce wieprzowe)	0,01 U
Zredukowana forma dinukleotydu β-nikotynoamidoadeninowego (NADH)	12 µg
p-NPP	56 µg
Jodek potasu	28 µg
Winian sodowo-potasowy	343 µg
Siarczan cynku	3 µg
Bufory, środki powierzchniowo czynne, substancje pomocnicze i środki konserwujące	

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Do diagnostyki *in vitro*
- Pojemnik z rozcieńczalnikiem w dysku z odczynnikami jest otwierany automatycznie po zamknięciu szuflady analizatora. Dysku z otwartym pojemnikiem z rozcieńczalnikiem 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.³⁸ Instrukcje dotyczące czyszczenia rozlanych płynów niebezpiecznych biologicznie zawiera podręcznik operatora biochemicznego analizatora krwi 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 biochemicznego analizatora krwi 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 biochemicznego analizatora krwi 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 rotora z uszkodzonego woreczka.

6. Urządzenie

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

7. Pobieranie i przygotowywanie próbek

Techniki pobierania próbek opisano w podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress.

- Minimalna wymagana objętość próbki wynosi ~100 µl heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanego osocza, surowicy lub surowicy kontrolnej. 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 pobranej poprzez nakłucie żyły należy przeanalizować w ciągu 60 minut od pobrania.³⁹ Umieszczenie próbek krwi pełnej w lodówce może spowodować znaczące zmiany stężeń **aminotransferazy asparaginianowej**.⁴⁰ 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).
- Na wyniki oznaczeń **bilirubiny całkowitej i bezpośredniej** niekorzystny wpływ może mieć fotodegradacja.⁴¹ Probki krwi pełnej, których nie poddano niezwłocznej analizie, należy przechowywać w ciemnym miejscu przez maksymalnie 60 minut. Jeśli próbki nie można przeanalizować w tym czasie, należy z niej oddzielić osocze lub surowicę i umieścić je w zamkniętej probówce na próbkę w ciemnym miejscu i niskiej temperaturze.⁴²
- Z próbkami krwi pełnej lub osocza należy używać wyłącznie próżniowych probówek do pobierania próbek z heparynianem litu. Z próbkami surowicy należy używać próżniowych próbek bez antykoagulantu lub probówek do separacji surowicy.

8. Procedura

Wymagane materiały

- Jeden dysk z odczynnikami panelu do Piccolo Hepatic Function Panel

Materiały wymagane, ale niedostarczane z produktem

- Biochemiczny analizator krwi Piccolo Xpress
- Dostępne na rynku odczynniki kontrolne zalecane przez firmę Abaxis (informacje na ten temat zawiera podręcznik operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress).

Parametry testu

- Biochemiczny analizator krwi 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 Piccolo Hepatic Function Panel 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 biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress.

Kalibracja

Biochemiczny analizator krwi Piccolo Xpress jest kalibrowany przez producenta przed wysyłką. Kod paskowy wydrukowany na opasce dysku z odczynnikami zawiera wymagane przez analizator dane kalibracyjne specyficzne dla dysku. Patrz podręcznik operatora analizatora Piccolo.

Kontrola jakości

Działanie biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress można zweryfikować, analizując materiały kontrolne. Materiały kontrolne zalecane przez firmę Abaxis wymieniono w podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress. Inne materiały kontrolne oparte na ludzkiej surowicy lub osoczu mogą nie być zgodne z oznaczeniem.

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

9. Wyniki

Biochemiczny analizator krwi 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 biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress.

W podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress opisano także interpretację wyników. Wyniki są drukowane na kartach wyników dostarczanych przez firmę Abaxis. Tył kart wyników jest samoprzylepny, aby ułatwić ich umieszczenie w dokumentacji pacjenta.

10. Ograniczenia procedury

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

- Jedynym antykoagulantem **zalecanym do stosowania** z biochemicznym analizatorem krwi Piccolo Xpress jest **heparynian litu**. 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 Piccolo Hepatic Function Panel.
- Wyniki dla próbek z hematokrytem przekraczającym 62% objętości skoagulowanych krwinek czerwonych mogą być nieprawidłowe. Probki o wysokim hematokrycie mogą być zgłaszane jako zhemolizowane. Probki te można odwirować w celu oddzielenia osocza, a następnie ponownie przeanalizować w nowym dysku z odczynnikami.
- 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 biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress.**

Ostrzeżenie: Dokładne testy biochemicznego analizatora krwi 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. Dlatego część wyników może przekraczać referencyjne zakresy wartości. Probkę taką można przeanalizować ponownie za pomocą nowego dysku z odczynnikami.

Zakłócenia

Przetestowano różne substancje mogące zakłócać oznaczenia analitów. Przygotowano pule surowicy ludzkiej. Badane stężenie poszczególnych potencjalnych substancji zakłócających oparto na poziomach testowych podanych w dokumencie NCCLS EP7-A.⁴⁵

Wpływ substancji endogennych

- Fizjologiczne stany zakłócające (hemoliza, lipemia i żółtaczka) powodują zmiany zgłaszanych stężeń niektórych analitów. U dołu każdej karty testu drukowane są wskaźniki dla próbek informujące operatora o poziomach substancji zakłócających występujących w każdej próbce. System biochemiczny do analizy krwi Piccolo Xpress pomija wszystkie wyniki, na które wpływa zakłócenie o wartości >10% spowodowane hemolizą, lipemią lub żółtaczką. Na karcie wyników w miejscu wyniku nanoszony jest odpowiednio tekst „HEM”, „LIP” lub „ICT”.

Wpływ substancji leczniczych

- Znaczne zakłócenia zdefiniowano jako przesunięcie wyników wynoszące >10% dla próbki w prawidłowym zakresie. Do pul próbek ludzkich dodano znane stężenia leków lub substancji chemicznych, a następnie przeanalizowano uzyskane w ten sposób próbki.

Tabela 2: Oceniane substancje terapeutyczne

	Zakres fizjologiczny lub terapeutyczny⁴³⁻⁴⁸	Najwyższe zbadane stężenie (mg/dl)
Substancje endogenne		
Acetaminofen	1–2	100
Kwas acetylosalicylowy	2–10	50
Chloramfenikol	1–2,5	100
Cymetydyna	0,1-1	16
Erytromycyna	0,2–2	10
Izoniazyd	0,1–0,7	4
Ketoprofen	—	50
Metocyлина	—	100
Metotreksat	0,1	0,5
Metronidazol	0,1	5
Nafcyлина	—	1
Oksacyлина	—	1
Fenytoina	1–2	3

Tabela 3: Substancje powodujące znaczące zakłócenia (>10%)

	Zakres fizjologiczny lub terapeutyczny⁴³⁻⁴⁸ (mg/dl)	Stężenie, przy którym występują znaczące zakłócenia (mg/dl)	Zakłócenie^A
Aminotransferaza alaninowa (ALT)			
Kwas askorbinowy	0,8–1,2	20	11% wzr.
Szczawiooctan	—	132	843% wzr.
Albumina (ALB)			
Acetylooctan	0,05–3,60	102	18% spd.
Ampicylina	0,5	30	12% spd.
Kofeina	0,3–1,5	10	14% spd.
Chlorek wapnia	—	20	17% spd.
Cefalotyna (Keflin)	10	400	13% wzr.
Ibuprofen	0,5–4,2	50	28% wzr.
α-ketoglutaran	—	5	11% spd.
Nitrofurantoina	0,2	20	13% spd.
Prolina	—	4	12% wzr.
Sulfasalazyna	2–4	10	14% spd.
Sulfanilamid	10–15	50	12% spd.
Teofilina	1–2	20	11% spd.
Alkaliczna fosfataza (ALP)			
Teofilina	1–2	20	42% spd.
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)			
	Brak	Brak	Brak
Całkowita bilirubina bezpośrednia (DBIL)			
Kwas askorbinowy	0,8–1,2	2,5	30% spd.
Dopamina	0,3–1,5	15	50% spd.
Bilirubina całkowita (TBIL)			
Dopamina	—	19	55% spd.
Lewodopa	—	5	17% spd.
Białko całkowite (TP)			
	Brak	Brak	Brak

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

Więcej informacji dotyczących potencjalnych chemicznych substancji zakłócających można znaleźć w pozycjach wymienionych w bibliografii.

11. Oczekiwane wartości

W celu określenia zakresów referencyjnych użyto łącznie 125 próbek pobranych od dorosłych mężczyzn i kobiet, które przeanalizowano za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress. Powyższe zakresy mają jedynie charakter poglądowy. Poziomy ALP u dzieci w okresie wzrostu są bardzo zmienne.⁴⁷ Zaleca się ustalenie w placówce prawidłowych zakresów dla określonej populacji pacjentów.

Tabela 4: Zakresy referencyjne dla systemu Piccolo

Analit	Zakres referencyjny	
	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), mężczyźni	53–128 U/l	53–128 U/l
Alkaliczna fosfataza (ALP), kobiety	42–141 U/l	42–141 U/l
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	11–38 U/l	11–38 U/l
Bilirubina bezpośrednia (DBIL)	0–0,3 mg/dl	0–5,1 µmol/l
Bilirubina całkowita (TBIL)	0,2–1,6 mg/dl	3,4–27,4 µmol/l
Białko całkowite (TP)	6,4–8,1 g/dl	64–81 g/l

12. Charakterystyka robocza

Liniowość

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

Tabela 5: Zakresy dynamiczne w systemie Piccolo

Analit	Zakres dynamiczny	
	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
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Bilirubina bezpośrednia (DBIL)	0,1–15 mg/dl	1,7–257 µmol/l
Bilirubina całkowita (TBIL)	0,1–30 mg/dl	1,7–513 µmol/l
Białko całkowite (TP)	2–14 g/dl	20–140 g/l

Czułość (limity wykrywania)

Dolny limit wykrywania poszczególnych analitów jest następujący: aminotransferaza alaninowa — 5 U/l; albumina — 1 g/dl (10 g/l); alkaliczna fosfataza — 5 U/l; aminotransferaza asparaginianowa — 5 U/l; bilirubina bezpośrednia — 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); bilirubina całkowita — 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l) oraz białko całkowite — 2 g/dl (20 g/l).

Precyzja

Badania precyzji dla wszystkich oznaczeń przeprowadzono według wytycznych NCCLS EP5-T2.⁴⁹ Wyniki dla precyzji w obrębie serii i całkowitej uzyskano, testując dwa poziomy materiału kontrolnego. Próbkę kontrolną analizowano dwukrotnie, dwa razy każdego dnia, przez 20 dni w okresie czterech tygodni. Wyniki badań precyzji przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6: Precyzja (N = 80)

Analit	W obrębie serii	Całkowita
Aminotransferaza alaninowa (U/l)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>	21	21
Średnia	2,76	2,79
SD	13,4	13,5
%CV		
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	52	52
SD	2,70	3,25
%CV	5,2	6,2
Albumina (g/dl)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	5,6	5,6

Tabela 6: Precyzja (N = 80) (cd.)

Analit	W obrębie serii	Całkowita
SD	0,09	0,11
%CV	1,7	2,1
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	3,7	3,7
SD	0,07	0,11
%CV	2,0	2,9
Alkaliczna fosfataza (U/l)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	39	39
SD	1,81	2,29
%CV	4,6	5,8
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	281	281
SD	4,08	8,75
%CV	1,5	3,1
Aminotransferaza asparaginianowa (U/l)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	47	49
SD	0,98	0,92
%CV	2,1	1,9
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	145	147
SD	1,83	1,70
%CV	1,3	1,2
Bilirubina bezpośrednia (mg/dl)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	0,4	0,4
SD	0,03	0,03
%CV	6,5	6,6
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	2,2	2,2
SD	0,10	0,12
%CV	4,8	5,6
Bilirubina całkowita (mg/dl)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	0,8	0,8
SD	0,06	0,07
%CV	8,0	9,3
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	5,2	5,2
SD	0,09	0,15
%CV	1,7	2,8
Białko całkowite (g/dl)		
<u>Poziom 1 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	6,8	6,8
SD	0,05	0,08
%CV	0,8	1,2
<u>Poziom 2 materiału kontrolnego</u>		
Średnia	4,7	4,7
SD	0,09	0,09
%CV	2,0	2,0

Korelacja

W dwóch placówkach od pacjentów pobrano próbki heparynizowanej krwi pełnej i surowicy. Próbki krwi pełnej przeanalizowano za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress w placówkach w terenie, a próbki surowicy przeanalizowano za pomocą analizatora Piccolo oraz metod porównawczych. W niektórych przypadkach użyto próbek

suplementowanych na wysokim i niskim poziomie, aby uwzględnić cały zakres dynamiczny. Wszystkie próbki przeanalizowano jednokrotnie tego samego dnia. Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące korelacji przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7: Korelacja analizy za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress z metodą porównawczą

Analit	Współ- czynnik korelacji	Nachy- lenie	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
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
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™
Bilirubina bezpośrednia (mg/dl)	0,990	0,88	-0,1	0,08	263	0–12,8	Paramax®
Bilirubina całkowita (mg/dl)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2–3,7	Paramax®
	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1–6,4	Beckman
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

* Próbki surowicy od hospitalizowanych pacjentów zapewniły szerszy i prawdopodobnie bardziej przydatny zakres próbek niż próbki żyłnej krwi pełnej pobrane od pacjentów niehospitalizowanych.

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



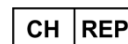
Numer seryjny



Uwaga



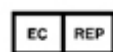
Ograniczenia w zakresie temperatury



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 and 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 albumina, 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 and Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by Medias 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*. LA Kaplan and 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* 53, 1974; 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* 14, 1968; 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 and AR Armstrong. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J*, 1931; 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. Umber die Mikrobestimung 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, 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 Chem Acta*, 1979; 98: 163F-174F.
22. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest*, 1955; 34: 131-133.
23. Bergmeyer et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartato transaminasi. *Clin Chem*, 1977; 23: 887-899.
24. Bergmeyer et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartato transaminasi. *Clin Chem*, 1978; 24: 720-721.
25. Van Den Bergh AAH, Müller P. Über eine Direkte und eine indirekte Diazoreaktion auf Bilirubin. *Biochem Z*, 1916; 77: 90-103.
26. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem*, 1937; 119: 481-490.
27. Dumas BT, Wu T-W. The measurement of bilirubin fractions in serum. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 1991; 28: 415-445.
28. Murao S and Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem*, 1981; 45: 2383-2384.
29. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem*, 1984; 30: 971. (Abstract)
30. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem*, 1986; 32: 329-332.
31. Dumas BT, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem*, 1986; 32: 1349-1353.
32. Otsuji S et al. A new enzymatic approach for estimating total and direct bilirubin. *Clin Biochem*, 1988; 21: 81-110.

13. Bibliografia (cd.)

33. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. *In: Faulkner WR and Meites S, eds. Selected methods of clinical chemistry. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry, 1982; 9: 119-124.*
34. Koller A and 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.*
35. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem, 1914; 53: 242-245.*
36. 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.*
37. Dumas BT et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem, 1981; 27: 1642-1650.*
38. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992
39. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline, 2nd ed. NCCLS document H18-T. Wayne, PA: NCCLS, 1988.
40. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem, 1988; 34: 2111-2114.*
41. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *In: Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation, 2nd ed. Kaplan LA and Pesce AJ, Eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company, 1989:1009-1015.*
42. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical chemistry: Principles and techniques, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417- 421, 1058 -1059.
43. Benet LZ, Williams RL. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. *In: Gilman AG, et al. Eds. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. New York: McGraw-Hill, Inc., 1990; 1650-1735.*
44. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA and Ashwood ER, Eds. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1994; 735-896.*
45. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. NCCLS document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
46. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Reference Information for the clinical laboratory. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia. WB Saunders Company, 1999: 1788-1846.*
47. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Appendix. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia. W.B. Saunders Company, 1994: 2161-2217.*
48. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
49. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices, 2nd ed.; approved guideline. NCCLS document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.