

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 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 odczytnikami panelu lipidowego Piccolo® Plus stosowany w połączeniu z biochemicznym analizatorem krwi Piccolo® lub analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress® służy do ilościowego oznaczania *in vitro* cholesterolu całkowitego (CHOL), cholesterolu frakcji lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL), trójglicerydów (TRIG), aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST) i glukozy (GLU) w litowo heparynizowanej krwi kapilarnej pełnej (pobranej z opuszka palca), w heparynizowanej krwi żyłnej pełnej, w heparynizowanym osoczu lub surowicy, w laboratoriach klinicznych lub podczas badań przyłóżkowych. Na podstawie oznaczeń CHOL, HDL i TRIG za pomocą analizatora obliczane są: cholesterol frakcji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), cholesterol frakcji lipoprotein o bardzo niskiej gęstości (VLDL), cholesterol nie-HDL oraz współczynnik cholesterol całkowity/cholesterol frakcji lipoprotein o wysokiej gęstości (TC/H).

Pomiary lipidów stosowane są w diagnostyce i leczeniu zaburzeń lipidowych i zaburzeń lipoprotein, miażdżycy tętnic, rozmaitych chorobach wątroby i nerek, cukrzycy i w innych chorobach, przy których występują zaburzenia metabolizmu lipidowego lub zaburzenia endokrynologiczne.

Dotyczy tylko klientów w USA

Test z użyciem tego panelu nie podlega kontroli zgodnie z przepisami CLIA '88. W przypadku modyfikacji instrukcji systemowych dotyczących testu przez laboratorium test jest traktowany jako wysoce złożony i podlega wszystkim wymogom CLIA. W przypadku laboratoriów niepodlegających kontroli CLIA testować można tylko krew pełną pobraną z użyciem heparynianu litu (żylną lub kapilarną). W przypadku stosowania w laboratoriach przeprowadzających oznaczenia o średniej złożoności można używać krwi pełnej i osocza pobranych z użyciem heparynianu litu lub surowicy.

Aby przeprowadzać testy niepodlegające kontroli CLIA, wymagany jest certyfikat niepodlegania kontroli CLIA. Certyfikat ten można uzyskać w placówkach Centers for Medicare & Medicaid Services (CMS) [Centra opieki medycznej i państwowej pomocy medycznej]. W celu uzyskania takiego certyfikatu należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Abaxis pod numerem (800) 822-2947.

2. Podsumowanie i objaśnienie testów

Znaczenie kliniczne

Oznaczenie lipidów i lipoprotein w surowicy jest pomocne w określeniu zagrożenia wystąpienia u badanej osoby chorób sercowo-naczyniowych (CVD [Cardiovascular Diseases]) oraz monitorowaniu leczenia.¹ Uzgodnione wytyczne dotyczące pomiarów i punktów odcięcia do interpretacji dostarczył program National Cholesterol Education Program (NCEP) [Krajowy Program Edukacji na Temat Cholesterolu].^{2,3,4}

Lipidy w krwiobiegu są transportowane przez lipoproteiny. Frakcja LDL, główne lipoproteiny przyczyniające się do rozwoju miażdżycy tętnic, przenoszą największą część cholesterolu w krwiobiegu. Leczenie mające na celu obniżenie ich poziomu okazało się skuteczne. W celu określenia łącznej ilości lipoprotein oznaczano przez wiele lat cholesterol całkowity w surowicy. Był to wygodny sposób oceny ryzyka wystąpienia chorób CVD. Jednak część cholesterolu jest transportowana przez cząsteczki HDL, które mają działanie przeciwmiażdżycowe i są powiązane w sposób odwrotnie proporcjonalny z ryzykiem rozwoju chorób CVD. Dlatego oznaczenie ilościowe poszczególnych najważniejszych lipoprotein transportujących cholesterol, LDL i HDL, umożliwia lepszą ocenę ryzyka ogólnego.

Trójglicerydy, główny materiał energetyczny zużywany przez organizm, są przenoszone do krwiobiegu przez duże lipoproteiny zwane chylomikronami (CM). Cząsteczki VLDL także transportują trójglicerydy syntezowane głównie w wątrobie z nadwyżek kwasów tłuszczowych. W krwiobiegu trójglicerydy ulegają hydrolizie, a powstałe w ten sposób kwasy tłuszczowe są transportowane do komórek obwodowych, pozostawiając resztkowe cząsteczki będące prekursorami lipoprotein LDL. Po nocnym nieprzyjmowaniu pokarmu chylomikrony zostają w zasadzie usunięte z krwiobiegu. Podwyższone poziomy trójglicerydów w próbkach pobranych od pacjentów na czczo oznaczają upośledzenie ich usuwania lub nadmierną produkcję, co może zwiększać ryzyko rozwoju chorób CVD. Dlatego ich oznaczanie jest przydatne w określaniu zaburzeń metabolicznych i ogólnego ryzyka.

Organizacja US National Heart, Lung and Blood Institute [Narodowy Instytut Zdrowia Serca, Płuc i Krwioobiegu w USA] uruchomiła Narodowy Program Edukacji Cholesterolowej, w ramach którego powołano panele ekspertów w celu opracowania klinicznych wytycznych dotyczących klasyfikacji i leczenia wysokich poziomów cholesterolu. Najnowsze wytyczne Adult Treatment Panel III [Leczenie dorosłych, panel III],^{2,3,4} zalecają opieranie decyzji dotyczących leczenia przede wszystkim na poziomach LDL, obliczonych w ramach panelu lipidowego po oznaczeniu cholesterolu całkowitego, HDL i trójglicerydów. Punkty odcięcia dla LDL wynoszące 100, 130, 160 i 190 mg/dl określają kategorie ryzyka: poziom optymalny, niemalże optymalny, granicznie wysoki, wysoki i bardzo wysoki. Wartość HDL poniżej 40 mg/dl jest uważana za niską i według panelu ATP III stanowi czynnik ryzyka wpływający na ustalenie leczenia mającego na celu obniżenie poziomu LDL. Wartość HDL przekraczająca 60 mg/dl jest uważana za wysoką. Jest ona pożądana i stanowi ujemny czynnik ryzyka przy wyborze odpowiedniego leczenia mającego na celu obniżenie poziomu LDL. W przypadku trójglicerydów punkty odcięcia wynoszące 150, 200 i 500 mg/dl wyznaczają poziomy: prawidłowy, granicznie wysoki, wysoki i bardzo wysoki. Dodatkowo obliczone stężenie cholesterolu nie-HDL optymalnie powinno wynosić < 130 mg/dl, ze zwiększonym ryzykiem choroby sercowo-naczyniowej związanej ze stężeniem 130 - 189 mg/dl i wysokim ryzykiem chorób układu krążenia związanych z wartością > 189 mg/dl.

Testy Piccolo Total Cholesterol i HDL nie są certyfikowane przez Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN), które jest koordynowane przez Centers for Disease Control. Wymagania dotyczące dokładności i precyzji zostały wcześniej ustalone, aby spełnić wymagania dotyczące dokładności i precyzji CRMLN.

Panel lipidowy Piccolo Plus oraz biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo Xpress stanowią system do diagnostyki *in vitro* ułatwiający lekarzowi diagnozowanie i monitorowanie następujących chorób:

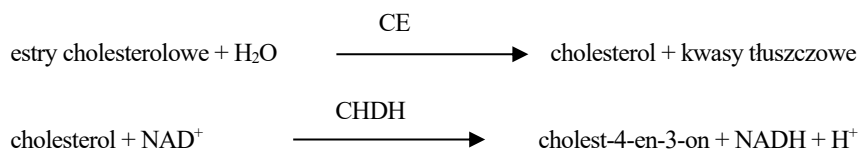
Aminotransferaza alaninowa:	Choroby wątroby, w tym wirusowe zapalenie oraz marskość wątroby
Aminotransferaza asparaginianowa:	Choroby wątroby, w tym zapalenie oraz żółtaczka wirusowa, wstrząs
Glukoza:	Zaburzenia metabolizmu węglowodanów, w tym cukrzyca oraz hipoglikemia u osób dorosłych i dzieci

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

3. Zasady procedur

Cholesterol całkowity (CHOL)

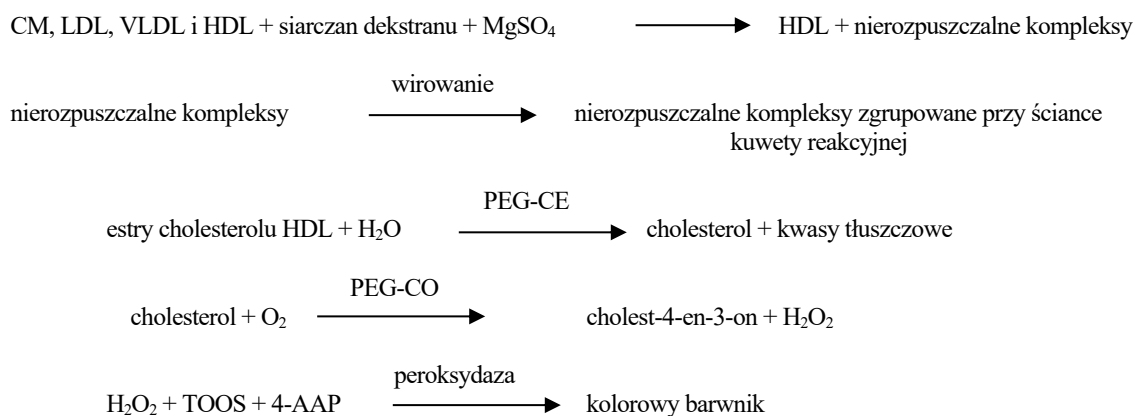
Oznaczenie CHOL firmy Abaxis to metoda enzymatyczna z pomiarem w punkcie końcowym, wykorzystująca esterażę cholesterolową (CE) oraz dehydrogenazę cholesterolową (CHDH).⁵



Związek CE hydrolizuje estry cholesterolowe, w wyniku czego powstaje cholesterol i kwasy tłuszczowe. Reakcja z udziałem związku CHDH powoduje konwersję cholesterolu do cholest-4-en-3-onu. Ilość związku NADH jest oznaczana bichromatycznie przy długościach fal świetlnych wynoszących 340 nm i 405 nm. Produkcja NADH jest wprost proporcjonalna do ilości cholesterolu w próbce. Wykonuje się także pomiar dla odczynnika do próby zerowej oznaczenia, aby zapewnić, że inne reakcje nie zakłócają obliczeń poziomów CHOL.

Cholesterol frakcji lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL)

Oznaczenie HDL firmy Abaxis to metoda z zastosowaniem wytrącania, wykorzystująca zmodyfikowaną glikolem polietylenowym esterażę cholesterolową (PEG-CE) oraz oksydazę cholesterolową (PEG-CO) w celu zwiększenia specyficzności.⁶ Mechanizm reakcji jest następujący:

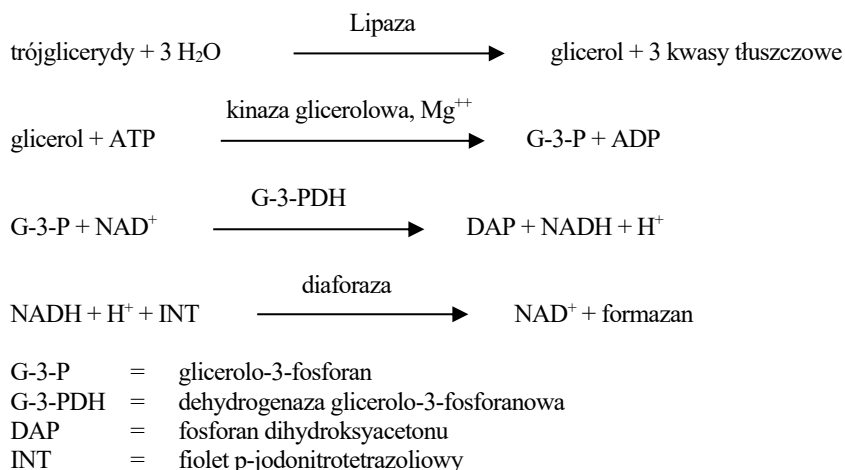


TOOS = N-etylo-N-(2-hydroksy-3-sulfopropilo)-3-metyloanilina, sól sodowa, dihydrat
 4-AAP = 4-aminoantypiryna

Czynniki wytrącające, siarczan dekstranu i siarczan magnezu ($MgSO_4$), tworzą w sposób specyficzny nierozpuszczalne kompleksy z chylomikronami (CM), VLDL i LDL w osoczu lub surowicy. Nierozpuszczalne kompleksy grupują się przy ścianie kuwety reakcyjnej w analizatorze. Pozostałe cząsteczki HDL hydrolizują pod wpływem PEG-CE, tworząc cholesterol i kwasy tłuszczowe. Cholesterol reaguje z PEG-CO, tworząc cholest-4-en-3-on i nadtlenek wodoru (H_2O_2). W reakcji nadtlenu wodoru powstaje produkt o purpurowej barwie, którego maksimum absorbancji występuje przy długości fal świetlnych wynoszącej 550 nm. Pomiar referencyjny wykonuje się przy długości fal świetlnych wynoszącej 630 nm. Stężenie cholesterolu HDL jest wprost proporcjonalne do maksimum absorbancji określonego podczas pomiaru w punkcie końcowym. Wykonuje się także pomiar dla odczynnika do próby zerowej, aby zapewnić, że inne reakcje nie zakłócają obliczeń poziomów HDL.

Trójglicerydy (TRIG)

Oznaczenie TRIG firmy Abaxis to metoda enzymatyczna z pomiarem w punkcie końcowym, wykorzystująca cztery enzymy.^{7,8} Mechanizm reakcji jest następujący:

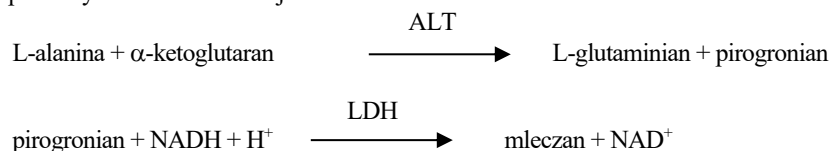


W pierwszym etapie trójglicerydy są hydrolizowane do glicerolu i kwasów tłuszczowych w reakcji katalizowanej przez lipazę. Glicerol jest następnie fosforylowany w reakcji z ATP katalizowanej przez kinazę glicerolową (GK). Następnie glicerolofosforan jest utleniany do fosforanu dihydroksyacetonu. Jednocześnie zachodzi redukcja formy NAD^+ do NADH. Katalizatorem tej reakcji jest dehydrogenaza glicerolo-3-fosforanowa (G-3-PDH). Forma NADH jest następnie utleniana. Jednocześnie zachodzi redukcja barwnika INT. Reakcja jest katalizowana przez diaforazę. Intensywność barwnego formazanu mierzy się bichromatycznie przy długościach fal świetlnych wynoszących 500 nm i 850 nm. Jest ona wprost proporcjonalna do stężenia trójglicerydów w próbce. Wykonuje się także pomiar dla odczynnika do próby zerowej oznaczenia, aby zapewnić, że inne reakcje nie zakłócają obliczeń poziomów TRIG. Wynikiem jest poziom trójglicerydów całkowitych, bez zerowego oznaczenia glicerolu.

Aminotransferaza alaninowa (ALT)

Aminotransferazę alaninową (ALT) oznaczono trzema metodami. Dwie z tych metod — metoda kolorymetryczna z reakcją sprzężoną z udziałem dinitrofenylohydrazyny^{9,10} oraz oznaczenie enzymatyczne z wykorzystaniem fluorescencji — są rzadko używane.¹¹ Metoda enzymatyczna oparta na opracowaniach Wróblewskiego i LaDue¹² 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].¹³

Metoda stosowana w analizatorach Piccolo lub Piccolo Xpress 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.

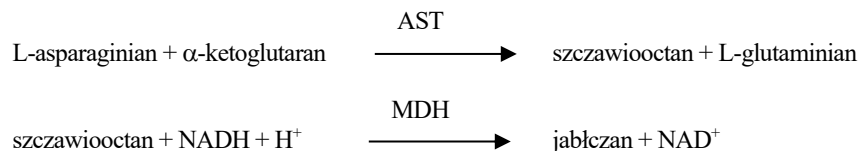


Zmiana różnicy absorbancji dla długości fal świetlnych wynoszących 340 nm i 405 nm jest spowodowana konwersją formy NADH do NAD^+ . Jest ona wprost proporcjonalna do ilości związku ALT w próbce.

Aminotransferaza asparaginianowa (AST)

Test aminotransferazy asparaginianowej (AST) opiera się na metodzie współczynnika Karmen¹⁴ modyfikowanej przez Bergmeyera.¹⁵ Aktualna metoda referencyjna według Międzynarodowa Federacji Chemii Klinicznej (IFCC)] wykorzystuje technikę Karmen/Bergmeyera polegającą na sprzęganiu dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) i formy zredukowanej dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) podczas wykrywania związku AST w surowicy.^{15,16} 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.

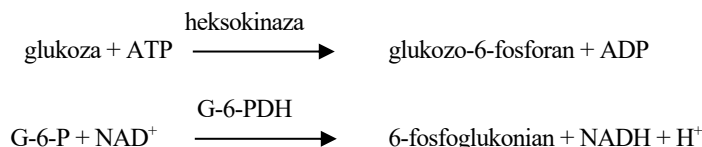


Współczynnik zmiany absorbancji przy długości fal świetlnych wynoszącej 340 nm/405 nm spowodowany przez konwersję formy NADH do NAD^+ jest wprost proporcjonalny do ilości związku AST występującego w próbce.

Głukoza (GLU)

Oznaczanie stężenia glukozy początkowo przeprowadzano, używając metod polegających na redukcji miedzi (np. metody Folin-Wu¹⁷ i Somogyi-Nelson^{18,19}). 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 lipidowego Piccolo Plus to modyfikowana wersja metody wykorzystującej heksokinazę, którą zaproponowano jako podstawę referencyjnej metody oznaczania glukozy.²⁰

W wyniku reakcji glukozy z adenozyntrifosforanem (ATP), katalizowanej przez heksokinazę (HK), powstaje glukoza-6-fosforan (G-6-P) oraz adenozyndifosforan (ADP). Dehydrogenaza glukoza-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.

LDL (obliczone)

Analizator Piccolo lub Piccolo Xpress automatycznie oblicza stężenie LDL w każdej próbce, wykorzystując bezpośrednio oznaczone wartości cholesterolu całkowitego, HDL i trójglicerydów oraz standardowy wzór Friedewalda.²¹ Wzoru tego nie można stosować w przypadku stężeń trójglicerydów przekraczających 400 mg/dl, pacjentów niebędących na czczo oraz pacjentów z hiperlipoproteinemią (dysbetalipoproteinemią) typu III.^{21,22} W przypadku stężenia trójglicerydów przekraczającego 400 mg/dl lub niedostępności jakiegokolwiek z oznaczanych bezpośrednio stężeń analitów wartość LDL nie jest zgłaszana. Na wydrukowanej karcie obok obliczonej wartości LDL występuje litera „C”, oznaczająca, że wynik ten został obliczony.

VLDL (obliczone)

Analizator Piccolo lub Piccolo Xpress automatycznie oblicza stężenie VLDL w każdej próbce, wykorzystując standardowy wzór: stężenie trójglicerydów/5 (jeśli jednostka to mg/dl).²¹ Wzoru tego nie można stosować w przypadku stężeń trójglicerydów przekraczających 400 mg/dl, pacjentów niebędących na czczo oraz pacjentów z hiperlipoproteinemią (dysbetalipoproteinemią) typu III.^{21,22} Gdy stężenie trójglicerydów jest niedostępne, wartość VLDL nie jest obliczana. Na wydrukowanej karcie obok obliczonej wartości VLDL występuje litera „C”, oznaczająca, że wynik ten został obliczony.

Współczynnik cholesterol całkowity/HDL (obliczony)

Analizator Piccolo lub Piccolo Xpress automatycznie oblicza współczynnik cholesterol całkowity/HDL (skrót: TC/H) dla każdej próbki. Jeśli bezpośrednio oznaczone stężenie cholesterolu całkowitego lub HDL jest niedostępne, współczynnik ten nie jest obliczany. Na wydrukowanej karcie obok obliczonej wartości TC/H występuje litera „C”, oznaczająca, że wynik ten został obliczony.

Pomiar nie-HDL (średni) – dostępny tylko przy urządzeniu Xpress

Miernik Piccolo Xpress automatycznie oblicza poziom cholesterolu nie-HDL (oznaczonego w skrócie jako nHDLc) dla każdej próbki. Wartość nHDLc jest obliczany poprzez odejmowanie poziomu cholesterolu HDL od całkowitego poziomu cholesterolu (CHOL). Ta taśma wynikowej obliczona wartość nHDLc jest oznaczona literą „C” w celu określenia rodzaju pomiaru. W przypadku bezpośredniego pomiaru całkowitego stężenia cholesterolu (CHOL) lub braku wartości HDL, wartość nHDLc nie jest obliczana.

4. Zasada działania

Zasady i ograniczenia procedury opisano w podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress. Analizator Piccolo oraz dysk z odczynnikami szczegółowo opisali Schembri i in.²³

5. Opis odczynników

Odczynniki

Każdy dysk z odczynnikami panelu lipidowego Piccolo Plus zawiera suche kulki odczynnikowe specyficzne dla określonego testu (opisane poniżej). W każdym dysku znajduje się suchy odczynnik (w postaci kulek) do próby zerowej próbki (zawierający bufor, środki powierzchniowo czynne i substancje pomocnicze) przeznaczony do zastosowania podczas obliczania stężeń aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), glukozy (GLU) oraz cholesterolu frakcji lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL). W dysku znajdują się specjalne kulki odczynnikowe do oznaczenia zerowego umożliwiające obliczenie stężenia CHOL i TRIG. Każdy dysk zawiera także rozcieńczalnik, w którego skład wchodzi środek powierzchniowo czynny i środki konserwujące.

Tabela 1: Odczynniki

Składniki	Ilość/dysk
4-aminoantypiryna	6,7 µg
Adenozyno 5'-trifosforan, sól dwusodowa	21,2 µg
L-alanina	492 µg
Kwas L-asparaginowy	426 µg
Oksydaza askorbinowa	0,042 U
Dehydrogenaza cholesterolowa	0,27 U
Esteraza cholesterolowa (Genzyme-N)	0,27 U
Esteraza cholesterolowa (Genzyme-P)	0,0080 U
Siarczan dekstranu	8,4 µg
Diaforaza	0,25 U
N-etylo-N-(2-hydroksy-3-sulfopropyl)-3-metyloanilina, sól sodowa, dihydrat (TOOS)	79 µg
Dehydrogenaza glukozo-6-fosforanowa	0,046 U
Kinaza glicerolowa	0,084 U
Dehydrogenaza glicerolo-3-fosforanowa	0,21 U
Heksokinaza	0,059 U
Chlorek jodonitrotetrazoliowy (INT)	8,4 µg
α-ketoglutaran, sól dwusodowa	37 µg
Kwas α-ketoglutarowy	30 µg
Dehydrogenaza mleczanowa	0,070 U
Lipaza	16,8 U
Octan magnezu, czterowodny	6,8 µg
Chlorek magnezu, sześciowodny	8,6 µg
Siarczan magnezu, siedmiowodny	197 µg
Dehydrogenaza jabłczanowa	0,013 U
Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy, wolny kwas	19,7 µg
Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy, sól jednosodowa	455 µg
Zredukowana forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego	9,6 µg
PEG-esteraza cholesterolowa	0,013 U
PEG-oksydaza cholesterolowa	0,089 U
Peroksydaza	0,27 U
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.²⁴ Instrukcje dotyczące czyszczenia rozlanych płynów niebezpiecznych biologicznie zawiera podręcznik operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub 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. Dysk, którego nie użyto w ciągu 20 minut od otwarcia woreczka, należy wyrzucić. 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 lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

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 etykiecie na pudełku oraz na każdym woreczku. Termin ważności jest też zakodowany w kodzie paskowym wydrukowanym na opasce. W przypadku przeterminowania odczynników na ekranie biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub 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 biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

7. Pobieranie i przygotowywanie próbek

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

- Zgodnie z wytycznymi ATP III,^{2,3,4} do określania stężenia CHOL, HDL, TRIG i LDL należy użyć próbek pobranych na czczo (nieprzyjmowanie pokarmu przez 8–12 godzin). Dlatego zdecydowanie zaleca się stosowanie z dyskiem panelu lipidowego próbek pobranych na czczo. Jeśli pacjent nie był na czczo, wartości TRIG i obliczone LDL są nieprawidłowe.
- Minimalna wymagana objętość próbki to ~100 µl heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanego osocza, surowicy lub materiału kontrolnego. Komora próbki w dysku z odczynnikami może zawierać do 120 µl próbki.
- Próbkę krwi pełnej pobranej poprzez nakłucie żyły należy przeanalizować w ciągu 60 minut od pobrania.^{25,26} 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.²⁷

- Schłodzenie w lodówce próbek krwi pełnej może spowodować znaczne zmiany stężeń **aminotransferazy asparaginianowej i glukozy**.²⁸ 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.

Instrukcje dotyczące pobierania próbki krwi żyłnej:

- Do próbek krwi pełnej lub osocza należy używać wyłącznie próżniowych probówek do pobierania próbek z heparyną litową (z zieloną zatyczką) z separatorem żelowym lub bez niego. Do próbek surowicy należy używać próżniowych probówek bez antykoagulantu (z czerwoną zatyczką) lub probówek z separatorem surowicy (z czerwoną lub czerwono-czarną zatyczką).
- Probki krwi pełnej pobrane poprzez 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.

Instrukcje dotyczące pobierania próbki krwi kapilarnej:

- W celu uzyskania wiarygodnych wyników należy zastosować poprawne i odpowiednie techniki pobierania próbki metodą kapilarną.
- Do pobrania próbki krwi kapilarnej ręce pacjenta powinny zostać dokładnie umyte mydłem (bez dodatku gliceryny lub glicerolu) oraz ciepłą wodą. Następnie ręce należy dokładnie osuszyć.
- Przy pobieraniu próbki krwi kapilarnej dopuszcza się delikatne uciskanie palca w kierunku miejsca ukłucia, jednak nie należy wyciskać palca w celu wywołania wypływu krwi, gdyż może to spowodować nadmierną hemolizę.

8. Procedura

Dostarczane materiały

- Jeden dysk z odczynnikami panelu lipidowego Piccolo Plus, PN: 400-1030 (pudełko dysków, PN: 400-0030)

Materiały wymagane, ale niedostarczane z produktem

- Biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo Xpress
- Pipeta do przenoszenia próbek (o stałej objętości wynoszącej ok. 100 µl) i jej końcówki są dostarczane z każdym biochemicznym analizatorem krwi Piccolo i 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 materiałów kontrolnych i oczekiwanych wartości należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Abaxis).
- Licznik czasu

Parametry testu

Biochemiczny analizator krwi Piccolo lub 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 lipidowego Piccolo Plus wynosi mniej niż 15 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 lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

Kalibracja

Biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo Xpress jest kalibrowany przez producenta przed wysyłką. Kod paskowy wydrukowany na opasce zawiera wymagane przez analizator dane kalibracyjne specyficzne dla dysku. Więcej informacji na ten temat zawiera podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo lub Piccolo Xpress.

Kontrola jakości

Informacje na ten temat zawiera rozdział 2.4 podręcznika operatora analizatora Piccolo lub rozdział 6 (Kalibracja i kontrola jakości) podręcznika operatora analizatora Piccolo Xpress. Działanie biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress można zweryfikować, analizując materiały kontrolne. Listę zatwierdzonych materiałów do kontroli jakości wraz z dopuszczalnymi zakresami wartości można uzyskać w dziale pomocy technicznej firmy Abaxis. Inne materiały kontrolne oparte na ludzkiej

surowicy lub osoczu mogą nie być zgodne z oznaczeniem. Materiały do kontroli jakości należy przechowywać zgodnie z informacjami w instrukcji bezpośredniej dołączanej do tych materiałów.

Jeśli wyniki kontroli przekraczają dopuszczalny zakres wartości, należy ją jednokrotnie powtórzyć. Jeśli jej wartości nadal przekraczają ten zakres, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej. Nie należy zgłaszać wyników testu, jeśli wartości uzyskane dla materiałów kontrolnych przekraczają wyznaczone limity. Szczegółowe instrukcje dotyczące analizowania, rejestrowania, interpretacji i wykreślenia wyników kontroli zawiera podręcznik operatora analizatora Piccolo lub Piccolo Xpress.

Laboratoria niepodlegające kontroli: firma Abaxis zaleca przeprowadzanie testów kontrolnych zgodnie z poniższymi zaleceniami:

- co najmniej co 30 dni
- zawsze w przypadku znacznej zmiany warunków laboratoryjnych, np. po przeniesieniu analizatora Piccolo w nowe miejsce lub przy zmianach kontrolowania temperatury
- gdy zalecane jest szkolenie lub ponowne szkolenie personelu
- z każdą nową serią odczytników (testy niepodlegające kontroli CLIA w laboratoriach niepodlegających tej kontroli)

Laboratoria podlegające kontroli: Firma Abaxis zaleca, aby testy kontrolne były zgodne z wytycznymi federalnymi, stanowymi i lokalnymi.

9. Wyniki

Biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo Xpress automatycznie oznacza, oblicza i drukuje stężenia analitów w próbce. W przypadku wyników obliczanych, a nie oznaczanych bezpośrednio (LDL, VLDL i TC/H), po wynikach występuje litera „C” oznaczająca, że wartości zostały obliczone. Szczegółowe informacje dotyczące obliczeń dla reakcji, dla których przeprowadza się pomiary w punkcie końcowym i pomiary kinetyczne, zawiera podręcznik operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

W podręczniku operatora 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 w podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

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

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

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 CLSI EP7-A.²⁹

Wpływ substancji endogennych

- Fizjologiczne stany zakłócające (hemoliza, żółtaczkę i lipemia) powodują zmiany zgłaszanych stężeń niektórych analitów. U dołu każdej karty wyników drukowane są wskaźniki dla próbek informujące operatora o poziomach substancji zakłócających występujących w każdej próbce.

- Biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo Xpress pomijają 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”.
- Aby uzyskać informacje na temat maksymalnych poziomów substancji endogennych, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Abaxis.

Wpływ substancji leczniczych

Na podstawie zaleceń Younga wybrano dziewiętnaście substancji terapeutycznych potencjalnie zakłócających metody testowe firmy Abaxis.³⁰ Znaczne zakłócenia zdefiniowano jako przesunięcie wyniku wynoszące > 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.

Tabela 2: Oceniane substancje terapeutyczne

	Zakres fizjologiczny lub terapeutyczny ^{29,30} (mg/dl)	Najwyższe zbadane stężenie (mg/dl)
Acetaminofen	2–10	100
Acetylooctan litu	0,05–3,6	102
Kwas acetylosalicylowy	1–2	50
Kwas askorbinowy		20
Digoksyna	0,8–1,5	5
Glutation		30
Heparynian litu		4,4 (800 U/dl)
β-hydroksymaślan	0,21–2,81	1.000
Ibuprofen	0,5–4,2	50
Izoniazyd	0,1–0,7	4
α-ketoglutaran		5
Mleczan litu	6–12	84
Lidokaina	0,5–0,6	1
Metocylicyna sodowa		100
Szczawiooctan		132
Fenytoina	1–2	3
Pirogronian	0,3–0,9	44
Kwas salicylowy		50
Teofilina	1–2	20

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

	Zakres fizjologiczny/tera- peutyczny (mg/dl)	Stężenie, przy którym występuje zakłócenie > 10% (mg/dl)	Zakłócenie (%)
Aminotransferaza alaninowa (ALT)			
Kwas askorbinowy		20	11% wzr.
Szczawiooctan		132	700% wzr.
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)			
Szczawiooctan		132	95% spd.
Glukoza (GLU)			
Szczawiooctan		132	14% spd.
Pirogronian	0,3–0,9	44	16% spd.

Szczawiooctan i pirogronian zmiareczkowano w celu określenia stężenia powodującego zakłócenia mniejsze niż 10%. W przypadku szczawiooctanu limit dla ALT, AST i GLU wynosi odpowiednio 6,6 mg/dl, 33 mg/dl i 13,2 mg/dl. W przypadku pirogronianu limit dla GLU wynosi 11 mg/dl.

11. Punkty odcięcia/Oczekiwane wartości

Punkty odcięcia dla oznaczeń lipidów/lipoprotein ustalono w ramach Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej. Są one następujące:^{2,3,4}

Tabela 4: Wartości diagnostyczne^{2,3,4}

	Interpretacja	Punkty odcięcia mg/dl	Punkty odcięcia mmol/l
Cholesterol całkowity (CHOL)	Pożądany	< 200	< 5,17
	Granicznie wysoki	200–239	5,17–6,18
	Wysoki	≥ 240	6,20
HDL	Niski poziom HDL — czynnik ryzyka	< 40	< 1,03
	Wysoki poziom HDL — ujemny czynnik ryzyka (pożądany)	≥ 60	≥ 1,55
Trójglicerydy (TRIG)	Prawidłowy	< 150	< 1,70
	Granicznie wysoki	150–199	1,70–2,25
	Wysoki	200–499	2,26–5,64
	Bardzo wysoki	≥ 500	≥ 5,65
LDL*	Optymalny	< 100	< 2,58
	Niemalże optymalny	100–129	2,58–3,33
	Granicznie wysoki	130–159	3,36–4,11
	Wysoki	160–189	4,13–4,88
	Bardzo wysoki	≥ 190	≥ 4,91
VLDL (CALC) **	Prawidłowy	< 30	
	Wysoki	≥ 30	
nHDLc (CALC)**	Optymalny	< 130	< 3,37
	Podwyższone ryzyko	130–189	3,37–4,90
	Wysokie ryzyko	> 189	> 4,90
		Mężczyźni	Kobiety
Współcz. chol. całkow./HDL	Niskie ryzyko	≤ 5	≤ 4,5
	Wysokie ryzyko	> 5	> 4,5

* Analizator Piccolo lub Piccolo Xpress oblicza stężenie LDL za pomocą wzoru Friedewalda.²¹

** Więcej informacji zawiera: NCEP, Raport ATP III z 2002 r., Rozdział II. Rationale for Intervention, 3. Other Lipid Risk Factors, str. II-9.²

Współczynnik cholesterol całkowity/HDL (TC/H)

Współczynnik określający stosunek cholesterolu całkowitego do HDL (TC/H) jest obliczany dla wygody użytkowników. Współczynnik TC/H wynoszący ≤ 5 jest zazwyczaj pożądanym w przypadku mężczyzn. Ponieważ u kobiet wartości HDL są zazwyczaj wyższe niż u mężczyzn, niekiedy zaleca się stosowanie dla nich punktu odcięcia wynoszącego 4,5.³¹ Niektórzy propagują ten współczynnik jako prosty i wygodny sposób wyrażania ryzyka wystąpienia chorób CVD za pomocą pojedynczej wartości, uwzględniającej cholesterol całkowity jako znacznik lipoprotein miażdżycowych w liczniku oraz przeciwmiażdżycowy cholesterol HDL w mianowniku.¹ Użytkownicy powinni pamiętać, że chociaż współczynnik TC/H jest ważnym czynnikiem prognostycznym ryzyka wystąpienia chorób CVD, jak wykazały liczne badania epidemiologiczne,¹ program NCEP nie zaleca korzystania z niego podczas leczenia pacjentów. Wytyczne kliniczne NCEP zalecają oparcie decyzji dotyczących leczenia na stężeniach poszczególnych lipoprotein (Tabela 4). Według tych wytycznych współczynnik ten jest uważany za potencjalny wskaźnik dodatkowy oprócz priorytetowych oznaczeń poszczególnych lipoprotein.^{2,3,4}

Cholesterol nie-HDL (nHDLc)

Raport NCEP ATP III 2002 zawiera informacje na temat użyteczności medycznej pomiaru nHDLc. Badania wykazały, że cholesterol nie-HDL wykazuje większy związek ze śmiertelnością na choroby niedokrwienne w porównaniu do cholesterolu LDL. Co więcej cholesterol nie-HDL wykazuje większe powinowactwo do każdej apolipoproteiny B (apoB), pierwotną apolipoproteiną związaną ze wszystkimi aterogennymi lipoproteinami.²

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. Powyższe zakresy mają jedynie charakter poglądowy. Zaleca się ustalenie w placówce zakresów prawidłowych dla określonej populacji pacjentów.

Tabela 5: Zakresy referencyjne dla systemu Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Aminotransferaza alaninowa (ALT)	10–47 U/l	10–47 U/l
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	11–38 U/l	11–38 U/l
Glukoza (GLU)	73–118 mg/dl	4,05–6,55 mmol/l

12. Charakterystyka robocza

Liniowość

Właściwości chemiczne każdego analitu są liniowe w zakresie dynamicznym podanym poniżej, gdy biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo Xpress jest obsługiwany zgodnie z zalecaną procedurą (patrz podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo Xpress). Oszacowanie to oparto na dokumencie CLSI EP6-P2.³²

Tabela 6: Zakresy dynamiczne w systemie Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
CHOL	20–520 mg/dl	0,52–13,5 mmol/l
HDL	15–100 mg/dl	0,39–2,59 mmol/l
TRIG	20–500 mg/dl	0,23–5,65 mmol/l
ALT	5–1000 U/l	5–1000 U/l
AST	5–1000 U/l	5–1000 U/l
GLU	10–700 mg/dl	0,56–38,9 mmol/l

Jeśli stężenie analitu przekracza zakres pomiarowy (dynamiczny), ale jest mniejsze od limitu zakresu systemowego, na wydrukowanej karcie przy górnym limicie pojawi się znak „>” oraz gwiazdka po liczbie, np. CHOL > 520* mg/dl. Jeśli jest ono niższe od zakresu dynamicznego, wydrukowany zostanie znak „<” oraz gwiazdka, np. CHOL < 20* mg/dl. W przypadku wartości znacznie przekraczających zakres pomiarowy (systemowy), zamiast wyniku wydrukowany zostanie znak „~~~~”. Za każdym razem gdy na wydrukowanej karcie pojawia się znak „~~~~”, należy pobrać nową próbkę i ponownie przeprowadzić test. Jeśli wyniki dla drugiej próbki zostaną znowu pominięte, należy zadzwonić do działu obsługi technicznej firmy Abaxis.

Czułość

Dolne limity zgłaszanego (dynamicznego) zakresu poszczególnych analizatów: cholesterol — 20 mg/dl (0,52 mmol/l); HDL — 15 mg/dl (0,39 mmol/l), trójglicerydy — 20 mg/dl (0,23 mmol/l), aminotransferaza alaninowa — 5 U/l, aminotransferaza asparaginianowa — 5 U/l i glukoza — 10 mg/dl (0,56 mmol/l).

Precyzja

Badania precyzji przeprowadzono na podstawie wytycznych CLSI EP5-A.³³ Modyfikacje oparto na dokumencie CLSI EP18-P³⁴ dla urządzeń do wykorzystania modułowego. Precyzję w obrębie serii i całkowitą określono, używając dwóch próbek. Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące precyzji przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7: Precyzja

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
CHOL (mg/dl)			
<u>Surowica 1</u>	N = 160		
Średnia		223,7	223,7
SD		3,0	5,7
%CV		1,3	2,6
<u>Surowica 2</u>	N = 160		
Średnia		202,2	202,2
SD		3,1	4,4
%CV		1,5	2,2
HDL (mg/dl)			
<u>Surowica 1</u>	N = 160		
Średnia		55,3	55,3
SD		1,4	1,9
%CV		2,6	3,5
<u>Surowica 2</u>	N = 160		
Średnia		38,0	38,0
SD		1,3	1,6
%CV		3,5	4,3
TRIG (mg/dl)			
<u>Surowica 1</u>	N = 160		
Średnia		206,8	206,8
SD		4,7	5,5
%CV		2,3	2,6
<u>Surowica 2</u>	N = 160		
Średnia		163,7	163,7
SD		1,8	2,4
%CV		1,1	1,5
ALT (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
AST (U/l)			
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		46	46
SD		1,58	1,59
%CV		3,4	3,5
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		147	145
SD		1,70	1,83
%CV		1,2	1,3
Glukoza (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

Dane te wskazują, że oznaczenia CHOL, HDL i TRIG spełniają kryteria precyzji ustalone przez program NCEP.^{2,3,4}

Korelacja – Pobieranie próbek krwi żyłnej

Pobrano próbki surowicy, które oznaczono następnie za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo oraz metod porównawczych. Wszystkie wyniki testów uzyskano w placówkach w terenie. Probki wybrano w taki sposób, aby zapewnić odpowiedni rozkład wartości, używając wartości podanych w wytycznych CLSI EP9-A2 jako docelowych wartości dla każdego analitu.³⁵ Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące korelacji przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8: Korelacja analizy za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo z metodami porównawczymi

Oznaczenie	Współczynnik korelacji (r)	Nachylenie	Punkt przecięcia	SEE (Std. błąd oszacowania)	N	Zakres próbek	Metoda porównawcza
Cholesterol (mg/dl)	0,997	1,079	-17,1	4,5	174	115–342	Oznaczenie cholesterolu Bayer za pomocą analizatora Hitachi 917
HDL (mg/dl)	0,965	0,851	8,3	3,9	166	23–97	Roche HDL-C plus, analizator Hitachi 917
Trójglicerydy (mg/dl)	0,999	0,983	8,2	4,4	172	38–487	Oznaczenie trójglicerydów Bayer za pomocą analizatora Hitachi 917
Aminotransferaza alaninowa (U/l)	0,981 0,985	0,905 0,946	1,3 -2,5	3,21 2,84	86 67	10–174 10–174	Paramax® Technicon
Aminotransferaza asparaginianowa (U/l)	0,93 1,0	0,87 0,97	5,3 3,0	2,76 1,9	159 46	13–111 13–252	Paramax DAX™
Glukoza (mg/dl)	0,987 0,997	1,009 0,943	-2,8 1,2	3,89 4,69	251 91	72–422 56–646	Paramax Beckman

Tabela 9: Obliczona wartość odzysku wyników oznaczeń panelu lipidowego firmy Abaxis – Pobieranie próbek krwi żyłnej

Oznaczenie	Stężenie oznaczone za pomocą urządzenia mg/dl	Obliczona wartość odzysku oznaczeń za pomocą systemu Piccolo metodą regresji liniowej na podstawie powyższych danych mg/dl	Odchylenie mg/dl	Odchylenie (%)
Cholesterol (CHOL)	200	199	-1	-0,5
	240	242	2	0,8
HDL	40	42	2	5,0
	60	59	-1	-1,7
Trójglicerydy (TRIG)	150	156	6	4,0
	200	205	5	2,5

Korelacja – Pobieranie próbek krwi kapilarnej

Pobrano próbki heparynizowanej krwi kapilarnej pełnej, które oznaczono pojedynczo za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo Xpress. Pasujące próbki osocza krwi żyłnej pochodzące od tego samego podmiotu zostały przeanalizowane metodami badawczymi Roche. Probki krwi kapilarnej zostały przeanalizowane w trzech miejscach, w warunkach nielaboratoryjnych i dane zostały połączone. Probki wybrano w taki sposób, aby zapewnić odpowiedni rozkład wartości, używając wartości podanych w wytycznych CLSI EP9-A2 jako docelowych wartości dla każdego analitu.²¹

Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące korelacji przedstawiono w Tabeli 9.

Tabela 10: Korelacja analizy za pomocą biochemicznego analizatora Piccolo Xpress z metodami lipidowymi do testów lipidowych – Pobieranie próbek krwi kapilarnej

Oznaczenie	Współczynnik korelacji (r)	Nachylenie	Punkt przecięcia	SEE (Std. błąd oszacowania)	N	Zakres próbki (mg/dl)	Metoda porównawcza
Cholesterol całkowity (CHOL)	0,995	0,97	1,2	5,6	639	21–412	Oznaczenie cholesterolu całkowitego metodą Roche na Cobas 6000
HDL	0,981	0,99	-1,6	2,7	559	21–93	Oznaczenie cholesterolu HDL metodą Roche trzeciej generacji na Cobas 6000
Trójglicerydy (TRIG)	0,996	0,96	4,1	7,9	588	36–496	Oznaczenie trójglicerydów metodą Roche na Cobas 6000

Tabela 11: Obliczona wartość odzysku wyników oznaczeń panelu lipidowego firmy Abaxis – Pobieranie próbki krwi kapilarnej

Oznaczenie	Stężenie oznaczone Metodą Roche mg/dl	Obliczona wartość odzysku oznaczeń za pomocą systemu Piccolo metodą regresji liniowej na podstawie powyższych danych mg/dl	Odchylenie mg/dl	Odchylenie (%)
Cholesterol (CHOL)	200	194	-6	-3,0
	240	233	-7	-3,3
	40	38	-2	-5,0
HDL	60	58	-2	-3,3
	150	148	-2	-1,3
Trójglicerydy (TRIG)	200	296	-4	-2,0

Dokładność — Certyfikacja Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) [Sieć laboratoryjna ds. referencyjnej metody dla cholesterolu]

Dokładność testów Piccolo dla całkowitego cholesterolu i cholesterolu HDL została ustalona zgodnie z wymogami protokołu oceny metody HDL Cholesterol Method for Manufacturers amerykańskiego National Reference System for Cholesterol, CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network), październik 2018 r. przy użyciu surowicy. Kluczową częścią protokołu CRMLN jest analiza regresji liniowej testów Piccolo w porównaniu z metodami referencyjnymi. Dokładność oznaczenia całkowitego cholesterolu w porównaniu z metodą referencyjną Abell-Kendall jest wskazywana przez współczynnik korelacji (R^2) wynoszący 0,996, nachylenie 0,972 i punkt przecięcia wynoszący 7,2 mg / dl. Współczynnik zmienności międzyseryjnej ($n = 10$) w teście Piccolo całkowitego cholesterolu określono na poziomie 0,8%.

W porównaniu oznaczenia HDL w systemie Piccolo z metodą referencyjną HDL, polegającej na zastosowaniu wytrącania, a następnie oznaczenia cholesterolu metodą Abell-Kendalla, współczynnik korelacji wyniósł (R^2) 0,986, nachylenie — 0,968 oraz punkt przecięcia — 2,1 mg/dl. Ustalony współczynnik zmienności CV w obrębie serii ($n = 20$) dla oznaczenia HDL w systemie Piccolo wynosi 1,9%.

Zaobserwowane wyniki analityczne spełniały wymagania protokołu CRMLN dla całkowitego cholesterolu i HDL dla surowicy. Identyfikowalność testu Abaxis TRIG z metodą referencyjną została ustalona poprzez korelację z testem Cobas Triglycerides, który został ustandaryzowany względem metody ID / MS.

Wyniki badania przeprowadzonego z udziałem nieprzeszkolonych użytkowników

Przeprowadzono badanie z udziałem „nieprzeszkolonych użytkowników”, w którym uczestnicy otrzymali jedynie instrukcje dotyczące testu. Poproszono ich o przetestowanie 3 dysków ze ślepych próbkami z randomizacją. Próbkę składały się z pul surowicy przygotowanych w taki sposób, aby uzyskać trzy poziomy każdego z sześciu analizowanych: cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, trójglicerydów, ALT, AST i glukozy. Uczestnicy nie przeszli szkolenia dotyczącego zastosowania testu. Łącznie w badaniu uczestniczyło około 60 osób z 3 placówek. Reprezentowali oni zróżnicowaną populację (pod względem wykształcenia, wieku, płci itp.).

W poniższych tabelach przedstawiono podsumowanie skuteczności testu dla każdego analizowanego.

Cholesterol całkowity

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	63	63	63
Średnia	144,2 mg/dl	198,4 mg/dl	245,1 mg/dl
%CV	2,9%	2,3%	1,3%
Obserwowany zakres	122–154	186–222	237–255
Procent wyników w zakresie $\pm 11,1\%$ *	98,4% (62/63) 95% CI: od 91,5% do 100%	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%

*Ta wartość procentowa oparta jest na założeniu, że nie można prawidłowo odróżnić wartości prawidłowych od nieprawidłowych, gdy błędy przekraczają jedną czwartą prawidłowego zakresu. Uwzględniono zakres od 140 mg/dl do 220 mg/dl.

Cholesterol HDL

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	63	63	63
Średnia	29,4 mg/dl	44,4 mg/dl	58,9 mg/dl
%CV	3,3%	3,2%	2,0%
Obserwowany zakres	28–32	42–48	57–62
Procent wyników w zakresie $\pm 15,0\%$	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%

Trójglicerydy

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	63	63	63
Średnia	83,4 mg/dl	152,7 mg/dl	205,6 mg/dl
%CV	3,0%	1,5%	0,9%
Obserwowany zakres	77–96	148–164	201–210
Procent wyników w zakresie $\pm 15,0\%$	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%	100% (63/63) 95% CI: od 94,3% do 100%

Aminotransferaza alaninowa (ALT)

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	62	62	62
Średnia	45,4 U/l	98,9 U/l	184,3 U/l
%CV	3,7%	1,7%	1,5%
Obserwowany zakres	42–53	96–103	175–191
Procent wyników w zakresie ± 15,0%	98,4% 61/62 95% CI: od 91,3% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%

Aminotransferaza asparaginianowa (AST)

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	62	62	62
Średnia	56,0	120,4	276,3
%CV	2,4%	1,1%	1,0%
Obserwowany zakres	54–60	117–124	266–285
Procent wyników w zakresie ± 15,0%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%

Głukoza (GLU)

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	62	62	62
Średnia	95,2	130,3	365,8
%CV	1,1%	1,0%	0,8%
Obserwowany zakres	93–98	125–133	351–373
Procent wyników w zakresie ± 10,4%**	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%

** Uwzględniono zakres od 65 mg/dl do 99 mg/dl.

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



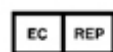
Ograniczenia w zakresie temperatury



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. Castelli, WP, et al. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Epidemiol* 1992; 2: 23-28.
2. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute, 2002.
3. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-97.
4. Warnick, GR, et al. Impact of the third cholesterol report from the Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program on the Clinical Laboratory. *Clin Chem* 2002; 48: 11-17.
5. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45: 2158-2163.
6. Warnick G, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001; 47: 1579-96.
7. Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. *Clin Chem* 1990; 36: 605-1613.
8. Cole TG, Klotzsch SG, McNamara JR. Measurement of triglyceride concentration. In *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Washington, DC: AACC Press. 2000: 207-219.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
13. 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.
14. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
15. 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.
16. Bergmeyer HU, Hørdér M, Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978; 24: 720-721.
17. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
18. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
19. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 1944; 153: 375-380.
20. 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.
21. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
22. Bachorik PS. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol. In *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Washington, DC: AACC Press. 2000: 245-263.
23. Schembri CT, et al. Centrifugation and capillarity integrated into a multiple analyte whole blood analyser. *J Automatic Chem* 1995; 17: 99-104. (journal's name changed in 2000 to *J Automated Methods & Management in Chemistry*).
24. Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Clinical laboratory waste management; approved guideline—second edition. CLSI Document GP5-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.
25. CLSI. Procedure for the collection of diagnostic specimens by venipuncture; approved guideline—fourth edition. CLSI Document H3-A4. Wayne, PA: CLSI, 1998.
26. CLSI. Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline—second edition. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
27. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39: 35-40.
28. 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.
29. CLSI. Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.

30. Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press. 1990 and 1991 Supplement.
31. Kroll MH, et al. Standardization of lipoprotein reporting. Am J Clin Pathol 2000; 114: 696-702.
32. CLSI. Evaluation of Linearity of Quantitative Analytical methods; proposed guideline—second edition. CLSI Document EP6-P2. Wayne, PA: CLSI, 2001.
33. CLSI. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
34. CLSI. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-P. Wayne, PA: CLSI, 1999.
35. CLSI. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline—second edition. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.