

Dysk z odczynnikami Piccolo® MetLyte Plus CRP



Wyłącznie do diagnostyki *in vitro* i do użytku profesjonalnego

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

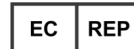
Klienci spoza USA: +49 6155 780 210



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 Piccolo® MetLyte Plus CRP stosowany w połączeniu z analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress® służy do ilościowego oznaczania *in vitro* białka C-reaktywnego (CRP), chlorków, kinazy kreatynowej, kreatyniny, glukozy, potasu, sodu, całkowitego ditlenku węgla i azotu mocznikowego we krwi (BUN) we krwi pełnej i osoczu pobranych z użyciem heparynianu litu lub surowicy, w laboratoriach klinicznych lub podczas badań przyłóżkowych. Metoda oznaczania CRP firmy Abaxis nie jest przeznaczona do analiz CRP wymagających dużej czułości.

2. Podsumowanie i objaśnienie testów

Dysk z odczynnikami Piccolo MetLyte Plus CRP wraz z analizatorem biochemicznym Piccolo Xpress stanowią system do diagnostyki *in vitro* ułatwiający lekarzom diagnozowanie następujących chorób i stanów fizjologicznych:

Białko C-reaktywne (CRP):	Zakażenie, obrażenia tkanek i choroby zapalne.
Chlorki:	Odwodnienie, długotrwała biegunka i wymioty, choroba kanalików nerkowych, nadczynność przytarczyc, oparzenia, choroby nerek wiążące się z utratą soli mineralnych, nadmiar wody w organizmie oraz podawanie leków tiazydowych.
Kinaza kreatynowa:	Zawał serca, postępująca dystrofia mięśniowa, zapalenie skórno-mięśniowe, rhabdomyoliza spowodowana przyjęciem leku, hiperosmolarność, choroba autoimmunologiczna, majaczenie drżenne, drgawki, zespół zmiażdżenia, niedoczynność tarczycy, chirurgia, intensywny wysiłek fizyczny, zastrzyk domięśniowy, nieaktywność fizyczna, zmniejszona masa mięśniowa.
Kreatynina:	Choroby nerek oraz monitorowanie dializy nerek.
Glukoza:	Zaburzenia metabolizmu węglowodanów, w tym cukrzyca oraz hipoglikemia u osób dorosłych i dzieci.
Potas:	Choroba kłębuszków lub kanalików nerkowych, niedoczynność kory nadnerczy, cukrzycowa kwasica ketonowa, zbyt intensywne dożylnie podawanie potasu w celach leczniczych, sepsa, wielohormonalna niedoczynność przysadki, hemoliza <i>in vitro</i> , hiperaldosteronizm, niedożywienie, hiperinsulinizm, zasadowica metaboliczna, zaburzenia żołądkowo-jelitowe.
Sód:	Odwodnienie, moczówka prosta, utrata hipotonicznych płynów żołądkowo-jelitowych, zatrucie solami, selektywne obniżenie uczucia pragnienia, ubytki tkanki skórnej, oparzenia, potliwość, hiperaldosteronizm, choroby ośrodkowego układu nerwowego, hiponatremia związana z rozcieńczeniem lub niedoborem sodu oraz hiponatremia z zaburzeniami urojeniowymi, a także zaburzenia wydzielania hormonu ADH.
Całkowity ditlenek węgla:	Pierwotna zasadowica i kwasica metaboliczna oraz pierwotna zasadowica i kwasica oddechowa.
Azot mocznikowy we krwi (BUN):	Choroby nerek i zaburzenia metaboliczne.

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

3. Zasada procedury

Białko C-reaktywne (CRP)

Pierwsze oznaczenia ilościowe białka CRP były przeznaczone przede wszystkim do celów badawczych i opierały się na metodologii ELISA.¹ Później stosowano w tym celu metody immunonefelometryczne ze wzmocnieniem lateksem.² Wymagają one jednak zastosowania nefelometru w celu pomiaru rozproszenia światła. W ostatnich latach opracowano kilka

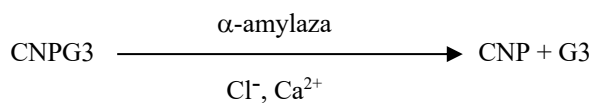
zautomatyzowanych oznaczeń immunoturbidymetrycznych i immunoluminometrycznych, które można przeprowadzać za pomocą standardowych klinicznych analizatorów biochemicznych.³

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

cząstki przeciwciała anti-CRP/lateks + CRP $\longrightarrow$ zaglutynowane białka CRP z cząstkami przeciwciała anti-CRP/lateks

Chlorki (CL⁻)

Metoda opiera się na określeniu zależnego od chlorków pobudzenia aktywności α -amylazy. Nieaktywna α -amylaza jest uaktywniana poprzez dodanie jonów chlorkowych, umożliwiających ponowne przyłączenie się jonów wapnia do tego enzymu. Pobudzenie aktywności α -amylazy jest proporcjonalne do stężenia jonów chlorkowych w próbce. Uaktywniona α -amylaza konwertuje substrat, 2-chloro-4-nitrofenylo- α -D-maltotriozyd (CNP3) do 2-chloro-4-nitrofenolu (CNP), w wyniku czego następuje zmiana barwy oraz powstaje α -maltotrioza (G3). Dla reakcji przeprowadza się pomiar bichromatyczny. Wzrost absorbancji jest wprost proporcjonalny do pobudzonej aktywności α -amylazy oraz stężenia jonów chlorkowych w próbce.⁴

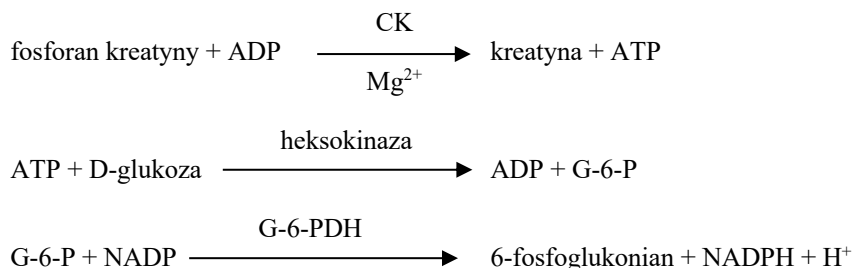


Kinaza kreatynowa (CK)

Kinaza kreatynowa katalizuje odwracalną fosforylację kreatyny przez adenosynotrifosforan (ATP). Reakcji fosforylacji sprzyja środowisko zasadowe (optymalna wartość pH wynosi 9,0), a reakcji defosforylacji sprzyja środowisko kwasowe (w temperaturze 37°C optymalna wartość pH wynosi 6,5). Wczesne metody oznaczania związku CK oparte były na „reakcji jednokierunkowej”, której produktami jest fosforan kreatyny i adenosynodifosforan (ADP).^{5,6,7} Czułość tych testów była niska z powodu problemów z zakłóceniami. Wybrana procedura wykorzystuje „reakcję odwrotną” sprzężoną z reakcją, w której powstaje związek NADPH, którego ilość jest bezpośrednio związana ze stężeniem CK.^{8,9,10}

Procedura oznaczenia CK zastosowana przez firmę Abaxis to modyfikowana wersja metody zalecanej przez organizację International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej).¹¹ Kluczowe modyfikacje dotyczą ułamka objętościowego próbki, buforu i temperatury. W celu ponownego uaktywnienia związku CK dodano N-acetylocysteinę (NAC).¹² Jako dopełnienia dla związku CK i heksokinazy użyto magnezu. Jako stabilizator dla związku NAC oraz w celu usunięcia różnych kationów, takich jak wapń i żelazo, będących inhibitorami związku CK dodano EDTA. Dodano także P¹, P⁵-di (adenozyno-5')pentaosforan oraz adenosynomonofosforan (AMP) w celu inhibicji kinazy adenylanowej, innego enzymu występującego w mięśniach szkieletowych i erytrocytach, reagującego z substratami używanymi w oznaczeniu związku CK.

Kinaza kreatynowa katalizuje powstawanie kreatyny i ATP w reakcji fosforanu kreatyny i ADP w środowisku o odczynie pH 6,7. W wyniku katalizowanej przez heksokinazę reakcji ATP z D-glukozą powstaje ADP oraz D-glukoza-6-fosforan (G-6-P), który reaguje z fosforanem dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADP) w obecności dehydrogenazy glukoza-6-fosforanowej (G-6-PDH). W wyniku tej reakcji powstają związki G-6-P i NADPH.



Ilość powstałego związku NADPH oznacza się na podstawie zmiany absorbancji przy długości fal świetlnych wynoszącej 340 nm względem długości fal świetlnych wynoszącej 405 nm. Ta zmiana absorbancji jest wprost proporcjonalna do aktywności kinazy kreatynowej w próbce.

Kreatynina (CRE)

Metoda Jaffe'a, zastosowana po raz pierwszy w roku 1886, nadal jest powszechnie stosowana w celu oznaczania poziomów kreatyniny we krwi. Aktualna metoda referencyjna łączy wykorzystanie ziemi fulerskiej (ziemi bielącej) w połączeniu z techniką Jaffe'a w celu zwiększenia specyficzności reakcji.^{13,14} Opracowano też metody enzymatyczne, które są bardziej specyficzne dla kreatyniny od różnych modyfikacji techniki Jaffe'a.^{15,16,17} W metodach wykorzystujących enzym — amidohydrolazę kreatyniny — zlikwidowano problem związany z zakłóceniami ze strony jonów amonowych, występujący w przypadku technik z zastosowaniem iminohydrolazy kreatyniny.¹⁸



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

Wartość eGFR (obliczona)

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

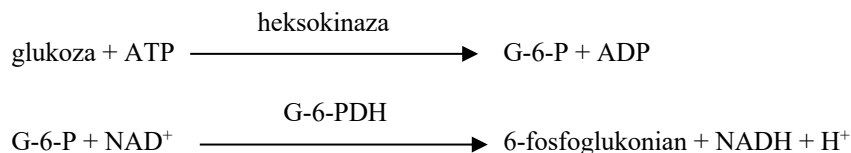
Obliczenia wartości eGFR w systemie Piccolo przeprowadza się, uwzględniając wiek, płeć i pochodzenie etniczne pacjenta. Metoda oznaczania kreatyniny w systemie Piccolo jest monitorowana względem metody referencyjnej IDMS dla kreatyniny, dlatego w celu obliczenia wartości eGFR można użyć poniższego równania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

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

Glukoza (GLU)

Oznaczanie stężenia glukozy początkowo przeprowadzano, używając metod polegających na redukcji miedzi (np. metody Folin-Wu¹⁹ i Somogyi-Nelson^{20,21}). 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 MetLyte Plus CRP to modyfikowana wersja metody wykorzystującej heksokinazę, którą zaproponowano jako podstawę referencyjnej metody oznaczania glukozy.²²

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

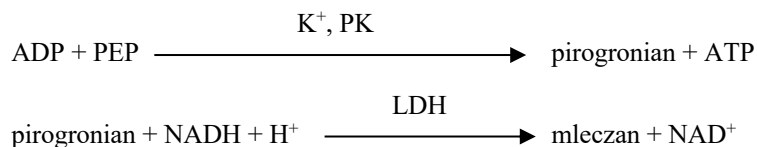


Potas (K⁺)

Metody spektrofotometryczne opracowano w celu zapewnienia możliwości oznaczania stężenia potasu za pomocą standardowych klinicznych urządzeń do analizy biochemicznej. Metoda enzymatyczna opracowana przez firmę Abaxis opiera się na aktywacji kinazy pirogronianowej przy udziale potasu. Charakteryzuje ją doskonała liniowość i nieistotna podatność na substancje endogenne.^{23,24,25} Zakłócenia powodowane przez jony sodowe i amonowe zminimalizowano poprzez dodanie odpowiednio odczynnika Kryptofix oraz syntetazy glutaminowej.²³

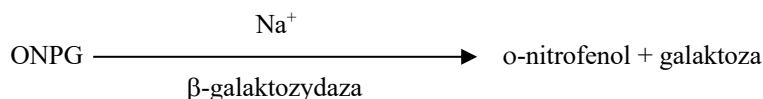
W sprzężonej reakcji enzymatycznej kinaza pirogronianowa (PK) defosforyluje fosfoenolpirogronian (PEP), w wyniku czego powstaje pirogronian. Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) katalizuje konwersję pirogronianu do mleczanu. Jednocześnie

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



Sód (Na⁺)

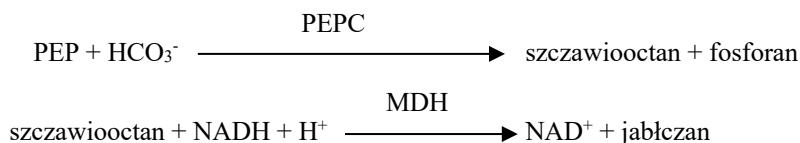
Opracowano metody kolorymetryczne i enzymatyczne, umożliwiające oznaczanie stężenia sodu za pomocą standardowych klinicznych urządzeń do analizy biochemicznej.^{26,27,28} W reakcji enzymatycznej stosowanej przez firmę Abaxis sód znajdujący się w próbce aktywuje β-galaktozydazę. Uaktywniony enzym katalizuje reakcję rozkładu o-nitrofenylo-β-D-galaktopiranozydu (ONPG) na o-nitrofenol i galaktozę.



Całkowity ditlenek węgla (tCO₂)

Całkowity ditlenek węgla występuje w surowicy lub osoczu w postaci rozpuszczonego ditlenku węgla, karbaminianów będących pochodnymi białek, kwaśnego węglanu oraz jonów węglanowych i kwasu węglowego. Całkowity ditlenek węgla można oznaczyć za pomocą wskaźnika pH, elektrody CO₂ i metod enzymatycznych z pomiarem spektrofotometrycznym. Wszystkie te techniki pozwalają uzyskać dokładne i precyzyjne wyniki.^{29,30} Metoda enzymatyczna jest odpowiednia do stosowania w standardowych biochemicznych analizatorach krwi i nie wymaga skomplikowanych czynności.

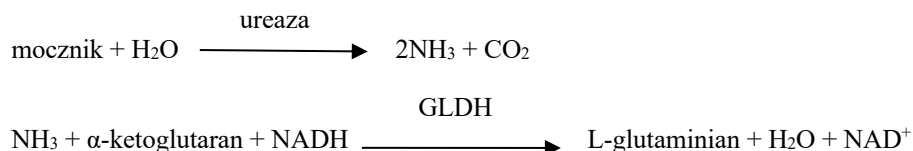
W metodzie enzymatycznej najpierw podwyższa się odczyn pH do zasadowego, aby konwertować wszystkie formy ditlenku węgla (CO₂) na kwaśny węglan (HCO₃⁻). Następnie fosfoenolopirogronian (PEP) i HCO₃⁻ reagują w obecności karboksylazy fosfoenolopirogronianowej (PEPC). W wyniku tej reakcji powstaje szczawiooctan i fosforan. Dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) katalizuje reakcję szczawiooctanu i zredukowanej formy dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH), w wyniku której powstaje forma NAD⁺ i jabłczan. Zmiana absorbancji spowodowana konwersją formy NADH do NAD⁺ jest wprost proporcjonalna do ilości tCO₂ w próbce.



Azot mocznikowy we krwi (BUN)

Mocznik można oznaczać metodą bezpośrednią lub pośrednią. Reakcja z udziałem monoooksymu diacetylu (jedyna bezpośrednia metoda oznaczania mocznika) jest często stosowana, jednak wymaga użycia niebezpiecznych odczynników.³¹ Metody pośrednie polegają na oznaczaniu amoniaku powstałego z mocznika. Zastosowanie w nich enzymu — ureazy — zwiększyło specyficzność tych testów.³² Amoniak jest oznaczany ilościowo różnymi metodami, w tym za pomocą nessleryzacji (miareczkowania acydymetrycznego), metodą Berthelota^{33,34} oraz z wykorzystaniem sprzężonych reakcji enzymatycznych.^{35,36} Podczas oznaczania amoniaku za pomocą procedur Berthelota z użyciem katalizatora uzyskuje się jednak błędne wyniki.³⁷ Sprzężone reakcje enzymatyczne są szybkie, charakteryzują się dużą specyficznością dla amoniaku i są często używane. Jedną z takich reakcji zaproponowano jako potencjalną metodę referencyjną.³⁸

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



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

4. Zasada działania

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

5. Opis odczynników

Odczynniki

Każdy dysk z odczynnikami Piccolo MetLyte Plus CRP 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 białka C-reaktywnego (CRP), chlorków (CL⁻), kinazy kreatynowej (CK), glukozy (GLU), potasu (K⁺), sodu (Na⁺), całkowitego ditlenku węgla (tCO₂) oraz azotu mocznikowego we krwi (BUN). W dysku znajduje się specjalny odczynnik do oznaczenia zerowego, umożliwiający obliczenie stężenia kreatyniny (CRE). Każdy dysk zawiera także rozcieńczalnik, w którego skład wchodzi środki powierzchniowo czynne i środki konserwujące.¹

Tabela 1: Odczynniki

Składnik	Ilość/dysk
Kwas 2, 4, 6-tribromo-3-hydroksybenzoesowy (TBHBA)	188 µg
2-chloro-4-nitrofenylo- α -D-maltotriozyd (CNP3G)	52,5 µg
4,7,13,16,21-pentaoksa-1,10-diazabicyklo[8.8.5]trikozaan (Kryptofix 221)	84 µg
Chlorowodorek 4-aminoantypiryny	13 µg
Adenozyno-5'-difosforan	38 µg
Adenozyno-5'-monofosforan	33 µg
Adenozyno-5'-trifosforan	11 µg
Amylaza	0,0357 U
Lateks powleczony przeciwciałami przeciw ludzkiemu białku CRP (mysimi)	67,2 µg
Przeciwciała przeciw ludzkiemu białku CRP (kozy)	0,3 µg
Oksydaza askorbinowa (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3 U
Octan wapnia	25,2 µg
Kwas cytrynowy, sól trisodowa	567 µg
Amidohydrolaza kreatynowa (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3 U
Fosforan kreatyny	122 µg
Amidohydrolaza kreatyniny (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1 U
Kwas etylenoglikolo-bis(β -aminoetyloetero)-N,N,N',N' tetraoctowy (EGTA)	4 µg
Kwas etylenodwuaminoczeroctowy (EDTA)	191,1 µg
Glukoza	58 µg
Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (G6PDH) (drożdże)	0,1 U
Dehydrogenaza glutaminianowa	0,1 U
Syntetaza glutaminowa	0,2 U
Heksokinaza (drożdże)	0,2 U
Imidazol	26 µg
Dehydrogenaza mleczanowa (serce kurze)	0,3 U
Octan magnezu	60 µg
Siarczan magnezu	29 µg
Dehydrogenaza jabłczanowa (serce wieprzowe)	0,1 U
N-acetylocysteina	60 µg
<i>o</i> -nitrofenylo- β -D-galaktopiranozyd (ONPG)	22 µg
P1, P5di(adenozyno-5')pentaosforan	0,2 µg
Peroksydaza (chrzanowa)	1 U
Fosfoenolopirogronian	23 µg
Karboksylaza fosfoenolopirogronianowa	0,001 U
Sześciocyjanożelazian potasu	0,4 µg
Kinaza pirogronianowa	0,01 U
Oksydaza sarkozynowa (drobnoustroje)	1 U
Dinukleotyd β -nikotynoamidoadeninowy (NAD)	20 µg

Tabela 1: Odczynniki (cd.)

Składnik	Ilość/dysk
Zredukowana forma dinukleotydu β -nikotynoamidoadeninowego (NADH)	28 μg
Fosforan dinukleotydu β -nikotynoamidoadeninowego (NADP)	101 μg
Ureaza (kanawalia mieczokształtna)	0,05 U
Kwas α -ketoglutarynowy	19 μg
β -galaktozydaza	0,005 U
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.³⁹ Instrukcje dotyczące czyszczenia rozlanych płynów niebezpiecznych biologicznie zawiera podręcznik operatora analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.
- Kulki odczynnikowe mogą zawierać kwasy lub substancje żrące. W przypadku przestrzegania zalecanych procedur operator nie ma styczności z tymi kulkami. W sytuacji wymagającej manipulowania kulkami (np. przy czyszczeniu po upuszczeniu i pęknięciu dysku z odczynnikami) należy unikać połykania, kontaktu ze skórą oraz wdychania kulek odczynnikowych.

Instrukcje dotyczące postępowania z odczynnikami

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

Przechowywanie

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

Oznaki niestabilności/pogorszenia właściwości dysku z odczynnikami

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

6. Urządzenie

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

7. Pobieranie i przygotowywanie próbek

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

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

- Hemoliza może zawyżać wyniki oznaczeń **potasu**. Problem ten może pozostać niewykryty w przypadku analizy krwi pełnej (uwolnienie potasu z zaledwie 0,5% erytrocytów może zwiększyć poziom potasu w surowicy o 0,5 mmol/l). Ponadto nawet niezhemolizowane próbki, które nie zostaną szybko przetworzone, mogą zawierać podwyższone poziomy potasu z powodu wewnątrzkomórkowego wycieku potasu.⁴⁰
- Probki krwi pełnej pobranej poprzez nakłucie żyły należy przeanalizować w ciągu 60 minut od pobrania.⁴¹ 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.⁴²
- Schłodzenie w lodówce próbek krwi pełnej może spowodować znaczne zmiany stężenia **kreatyniny** i **glukozy**.⁴³ 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).
- Z próbkami krwi pełnej lub osocza należy używać wyłącznie próżniowych probówek do pobierania próbek z heparynianem litu (z zieloną zatyczką). Z próbkami surowicy należy używać próżniowych próbek bez antykoagulantu (z czerwoną zatyczką) lub probówek do separacji surowicy (z czerwono-czarną zatyczką).
- Stężenie **całkowitego ditlenku węgla** można najdokładniej oznaczyć, przeprowadzając oznaczenie natychmiast po otwarciu probówki i możliwie jak najszybciej po pobraniu i przetworzeniu krwi w zamkniętej probówce. Otaczające powietrze zawiera dużo mniej ditlenku węgla niż osocze. Dlatego gazowy rozpuszczony ditlenek węgla przechodzi z próbki do powietrza. W wyniku tego jego stężenie w próbce zmniejsza się w ciągu 1 godziny nawet o 6 mmol/l.⁴⁴
- Test należy rozpocząć w ciągu 10 minut od przeniesienia próbki do dysku z odczynnikami.

8. Procedura

Dostarczane materiały

- Jeden dysk z odczynnikami Piccolo MetLyte Plus CRP, PN: 400-1034 (pudełko dysków, PN 400-0034)

Materiały wymagane, ale niedostarczane z produktem

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

Parametry testu

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

Procedura testu

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

Kalibracja

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

Kontrola jakości

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

9. Wyniki

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

W podręczniku operatora opisano także interpretację wyników. Wyniki są drukowane na 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 analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.

- Jedynym antykoagulantem **zalecanym do stosowania** z analizatorem biochemicznym 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 Piccolo MetLyte Plus CRP.
- Wyniki dla próbek z hematokrytem przekraczającym 62–65% objętości skoagulowanych krwinek czerwonych (ułamek objętościowy wynoszący 0,62–0,65) mogą być nieprawidłowe. Próbkę o wysokim hematokrycie mogą być zgłaszane jako zhemolizowane. Próbkę tę można odwirować w celu oddzielenia osocza, a następnie ponownie przeanalizować w nowym dysku z odczynnikami.
- CRP to białko „fazy ostrej” powstające w sposób niespecyficzny w reakcji na stan zapalny. Różnice stężeń białka C-reaktywnego u poszczególnych osób są znaczne (od 30 do 60%). Należy to uwzględnić podczas interpretacji wyników.¹ W celu oceny faktycznej wartości średniej białka C-reaktywnego u określonej osoby mogą być wymagane seryjne oznaczenia tego związku.
- Przeciwciała HAMA (ludzkie przeciwciała przeciwko antygenom mysim) w stężeniu do 115 ng/ml nie zakłócają oznaczenia. Próbkę od pacjentów przyjmujących preparaty z mysimi monoklonalnymi przeciwciałami w celach diagnostycznych lub terapeutycznych mogą zawierać przeciwciała HAMA.
- Czynniki reumatoidalne w stężeniu do 644 U/ml nie zakłóca oznaczenia.
- W oznaczeniu tym nie zaobserwowano efektu wysokiej dawki (efektu haka) przy stężeniach białka CRP wynoszących do 1000 mg/l.
- **Każdy uzyskany w określonym teście wynik przekraczający zakres dopuszczalny dla oznaczenia należy przeanalizować za pomocą innej zatwierdzonej metody lub wysłać do innego laboratorium. Nie należy rozcieńczać próbki i analizować jej ponownie za pomocą analizatora biochemicznego Piccolo Xpress.**

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

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.⁴⁵

Wpływ substancji endogennych

- Fizjologiczne stany zakłócające (hemoliza, żółtaczka 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.
- Analizator biochemiczny 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”.
- Znacznie podwyższone poziomy amylazy (> 9000 U/l) będą znacząco wpływać (wzrost o > 10%) na wyniki oznaczeń chlorków. W systemie Piccolo stężenie amylazy nie jest określane dla każdej próbki.
- W przypadku metody oznaczania białka CRP poziomy substancji endogennych powodujących pominięcie wyników i wygenerowanie oznaczeń HEM, LIP lub ICT to: 750 mg/dl dla hemoglobiny, 750 mg/dl dla lipoprotein oraz 35 mg/dl dla bilirubiny.
- Oznaczenie potasu w systemie Piccolo wykorzystuje sprzężoną reakcję kinazy pirogronianowej (PK)/dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Dlatego w przypadku znacznych urazów mięśni lub znacznie podwyższonych poziomów kinazy kreatynowej (CK), wyniki oznaczenia potasu (K⁺) w systemie Piccolo mogą być zawyżone. W takich przypadkach niespodziewanie wysokie wyniki oznaczenia potasu należy potwierdzić za pomocą innej metody.
- Aby uzyskać informacje na temat maksymalnych poziomów substancji endogennych, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Abaxis.

Wpływ substancji egzogennych i terapeutycznych

Na podstawie zaleceń Younga wybrano trzydzieści pięć substancji egzogennych i terapeutycznych potencjalnie zakłócających metody testowe firmy Abaxis.⁴⁶ Znaczne zakłócenia zdefiniowano jako przesunięcie wyniku większe niż $\pm 10\%$ dla próbki w prawidłowym zakresie. Do pul surowicy ludzkiej dodano znane stężenia leków lub substancji chemicznych, a następnie przeanalizowano uzyskane w ten sposób próbki. Listę ocenianych substancji egzogennych i terapeutycznych przedstawiono w tabeli 2. Listę analizów, dla których zaobserwowano zakłócenia, przedstawiono w TABELI 3.

Tabela 2: Oceniane substancje egzogenne i terapeutyczne

Potencjalna substancja zakłócająca	Najwyższe zbadane stężenie (mg/dl, chyba że podano inaczej)
Acetaminofen	100
Acetylooctan	102
Kwas acetylosalicylowy	50
Ampicylina	30
Kwas askorbinowy	20
Kofeina	10
Chlorek wapnia	20
Cefalotyna (Keflin)	400
Chloramfenikol	100
Cymetydyna	16
Dopamina	19
Epinefryna	1
Erytromycyna	10
Glutation	30
Hydrochlorotiazyd	7,5
Ibuprofen	50
Izoniazyd	4
α -Ketoglutaran	5
Ketoprofen	50
Lewodopa	5
Lidokaina	1
Mleczan litu	84
Metocylicyna	100
Metotreksat	0,5
Metronidazol	5
Nafcylicyna	1
Nitrofurantoina	20
Oksacylicyna	1
Szczawiooctan	132
Penicylicyna G	100
Fenytoina (5,5-difenylohydantoina)	3
Prolina	4
Pirogronian	44
Rifampicylicyna	0,5
Kwas salicylowy	50
Sulfadiazyna	150
Sulfanilamid	50
Teofilina	20

Tabela 3: Dla poniższych substancji wystąpiło przesunięcie wyniku przekraczające $\pm 10\%$ dla próbek w prawidłowym zakresie.

	Stężenie, przy którym wystąpiło zakłócenie $> 10\%$	Zaobserwowane zakłócenie (%)^A
Białko C-reaktywne		
Glutation	30	13% spd.
Izoniazyd	4	16% spd.
Lewodopa	5	28% spd.
Szczawiooctan	132	57% spd.
Kinaza kreatynowa		
Cefalotyna	400	43% spd.
Dopamina	15	46% spd.
Lewodopa	5	13% spd.
Metotreksat	0,5	16% spd.
Nitrofurantoina	20	18% spd.
Kreatynina		
Kwas askorbinowy	20	11% spd.
Dopamina	19	80% spd.
Lewodopa	5	71% spd.
Epinefryna	1	45% spd.
Glutation	30	13% spd.
Głukoza		
Szczawiooctan	132	11% spd.
Pirogronian	44	13% spd.
Potas		
Penicylina G	100	17% wzr.
Sulfadiazyna	150	12% spd.
Sód		
Cefalotyna	400	12% wzr.
Metotreksat	0,5	11% wzr.
Penicylina G	100	10% wzr.
Całkowity ditlenek węgla		
Acetaminofen	100	11% wzr.
Kwas askorbinowy	20	12% spd.
Cefalotyna	400	13% wzr.
Cymetydyna	16	19% spd.
Erytromycyna	10	21% spd.
Lidokaina	1	23% wzr.
Metotreksat	0,5	80% spd.
Nitrofurantoina	20	13% wzr.
Kwas salicylowy	50	17% spd.
Sulfadiazyna	150	25% spd.

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

- Na wyniki oznaczenia chlorków znaczący wpływ (wzrost $> 10\%$) mogą mieć bromki w toksycznych stężeniach (≥ 15 mmol/l). Jodki w bardzo wysokich stężeniach (najwyższe badane stężenie to 30 mmol/l) nie mają wpływu. Prawidłowe fizjologiczne poziomy bromków i jodków nie zakłócają działania systemu oznaczania chlorków Piccolo.

11. Oczekiwane wartości

Aby określić zakresy referencyjne dla elektrolitów, przetestowano próbki od 125–150 dorosłych mężczyzn i kobiet, korzystając z biochemicznego analizatora krwi Piccolo. W celu określenia zakresu referencyjnego dla białka CRP zbadano próbki od 69 dorosłych mężczyzn i kobiet za pomocą analizatora biochemicznego Piccolo Xpress. Zakresy dla elektrolitów obliczono w oparciu o 95% przedział referencyjny oszacowany na podstawie łączonych (wszystkich) wartości uzyskanych dla osób badanych. Zakres dla białka CRP oparto na możliwości przeniesienia zakresów ustalonych dla metody Beckmana.⁴⁷ Zakresy te mają jedynie charakter poglądowy. Zaleca się ustalenie w placówce zakresów prawidłowych dla określonej populacji pacjentów.

Tabela 4: Zakresy referencyjne dla systemu Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Białko C-reaktywne	< 7,5 mg/l	< 7,5 mg/l
Chlorki	98–108 mmol/l	98–108 mmol/l
Kinaza kreatynowa (kobiety)	30–190 U/l	30–190 U/l
Kinaza kreatynowa (mężczyźni)	39–380 U/l	39–380 U/l
Kreatynina	0,6–1,2 mg/dl	53–106 µmol/l
Glukoza	73–118 mg/dl	4,1–6,6 mmol/l
Potas	3,6–5,1 mmol/l	3,6–5,1 mmol/l
Sód	128–145 mmol/l	128–145 mmol/l
Całkowity ditlenek węgla	18–33 mmol/l	18–33 mmol/l
Azot mocznikowy we krwi (BUN)	7–22 mg/dl	2,5–7,9 mmol/l

12. Charakterystyka robocza

Liniowość

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

Tabela 5: Zakresy dynamiczne w systemie Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Białko C-reaktywne	5,0–200,0 mg/l	5,0–200,0 mg/l
Chlorki	80–135 mmol/l	80–135 mmol/l
Kinaza kreatynowa	5–5000 U/l	5–5000 U/l
Kreatynina	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
Glukoza	10–700 mg/dl	0,6–38,9 mmol/l
Potas	1,5–8,5 mmol/l	1,5–8,5 mmol/l
Sód	110–170 mmol/l	110–170 mmol/l
Całkowity ditlenek węgla	5–40 mmol/l	5–40 mmol/l
Azot mocznikowy we krwi (BUN)	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol/l

Jeśli stężenie analitu przekracza zakres pomiarowy (dynamiczny), ale jest mniejsze od limitu zakresu systemowego, na taśmie z danymi przy górnym limicie pojawi się znak „>” oraz gwiazdka po liczbie, np. GLU > 700* U/l. Jeśli jest ono niższe od zakresu dynamicznego, wydrukowany zostanie znak „<” oraz gwiazdka, np. GLU < 10* U/l. W przypadku wartości znacznie przekraczających zakres pomiarowy (systemowy), zamiast wyniku wydrukowany zostanie znak „~~~~”. Za każdym razem gdy na taśmie z danymi 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 analitów: białko C-reaktywne — 5,0 mg/l; chlorki — 80 mmol/l; kinaza kreatynowa — 5 U/l; kreatynina — 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glukoza — 10 mg/dl (0,6 mmol/l); potas — 1,5 mmol/l; sód — 110 mmol/l; całkowity ditlenek węgla — 5 mmol/l; azot mocznikowy we krwi — 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l).

Precyzja

Badania precyzji przeprowadzono na podstawie wytycznych CLSI EP5-A.⁴⁸ Modyfikacje oparto na dokumencie CLSI EP18-A⁴⁹ dla urządzeń do wykorzystania modułowego. Precyzję w obrębie serii i całkowitą określono, używając dostępnych na rynku materiałów kontrolnych o dwóch poziomach, a w przypadku potasu dwóch poziomów pul osocza. Badania przeprowadzono z użyciem wielu analizatorów. W przypadku oznaczenia elektrolitów użyto dwóch serii dysków z odczytnikami, a w przypadku oznaczenia białka C-reaktywnego — jednej serii. Testy kinazy kreatynowej, kreatyniny, glukozy, sodu i azotu mocznikowego przeprowadzono w jednej placówce. Testy potasu i całkowitego ditlenku węgla przeprowadzono w dwóch placówkach w ciągu 20 dni. Testy białka C-reaktywnego (1 surowica, poziom 1 materiału kontrolnego, poziom 2 materiału kontrolnego) i chlorków przeprowadzono w dwóch placówkach w okresie pięciu dni. Surowice 2 i 3 oraz osocza 1 i 2 przebadano pod kątem białka C-reaktywnego w jednej placówce w ciągu pięciu dni. Badanie potasu przeprowadzono w ośrodku zwolnionym z obowiązku CLIA, wykorzystując trzy analizatory, jedną serię krążków z odczytnikami i dwóch operatorów w ciągu pięciu dni.

Wyniki badań precyzji przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6: Precyzja

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Białko C-reaktywne (mg/l)			
<u>Surowica 1</u>	N = 80		
Średnia		8,3	8,3
SD		0,70	0,81
%CV		8,4	9,8
<u>Surowica 2</u>	N = 40		
Średnia		8,1	8,1
SD		0,49	0,51
%CV		6,1	6,3
<u>Surowica 3</u>	N = 40		
Średnia		8,8	8,8
SD		0,54	0,54
%CV		6,2	6,2
<u>Osocze 1</u>	N = 40		
Średnia		34,5	34,5
SD		1,04	1,09
%CV		3,0	3,2
<u>Osocze 2</u>	N = 40		
Średnia		105,5	105,5
SD		2,06	2,30
%CV		1,9	2,2
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		33,0	33,0
SD		1,21	2,12
%CV		3,7	6,4
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 80		
Średnia		108,0	108,0
SD		1,88	3,14
%CV		1,7	2,9
Chlorki (mmol/l)	N = 160		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		97,8	97,8
SD		1,63	1,74
%CV		1,7	1,7
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		113,6	113,6
SD		1,97	2,22
%CV		1,7	2,0

Tabela 6: Precyzja (cd.)

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Kinaza kreatynowa (U/l)	N = 120		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		134	134
SD		2,7	2,7
%CV		2,0	2,0
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		526	526
SD		7,7	7,7
%CV		1,5	1,5
Kreatynina (mg/dl)	N = 80		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		1,1	1,1
SD		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		5,2	5,2
SD		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
Glukoza (mg/dl)	N = 80		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		66	66
SD		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		278	278
SD		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4
Potas (mmol/l)	N = 150		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		3.2	3.2
SD		0.09	0.11
%CV		2.8	3.3
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>	N = 149		
Średnia		6.2	6.2
SD		0.09	0.10
%CV		1.4	1.7
Puła Osocza 1	N= 150		
Średnia		3.2	3.2
SD		0.07	0.09
CV		2.3	2.9
Puła Osocza 2	N= 150		
Średnia		5.4	5.4
SD		0.09	0.10
CV		1.6	1.9
Sód (mmol/l)	N = 80		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		143,5	143,5
SD		2,28	2,28
%CV		1,6	1,6
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		120,0	120,0
SD		2,13	2,13
%CV		1,8	1,8

Tabela 6: Precyzja (cd.)

Analit	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Całkowity ditlenek węgla (mmol/l)			
	N = 120		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		21,4	21,4
SD		2,29	2,29
%CV		10,7	10,7
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		10,5	10,5
SD		0,90	0,90
%CV		8,6	8,6
Azot mocznikowy we krwi (mg/dl)			
	N = 80		
<u>Poz. 1 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		19	19
SD		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
<u>Poz. 2 mat. kontrolnego</u>			
Średnia		65	65
SD		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8

Precyzja dla potasu we krwi pełnej

Testy precyzji dla krwi pełnej przeprowadzono w ośrodku zwolnionym z obowiązku CLIA przez dwóch operatorów zwolnionych z obowiązku CLIA. W badaniu wykorzystano cztery analizatory Piccolo Xpress z 16 replikami na próbkę dla czterech (4) świeżych próbek krwi pełnej z heparyną litową.

Table 7: Precyzja dla potasu we krwi pełnej

Potas (mmol/l)	Wielkość próbki	W obrębie serii	Całkowita
Krew pełna 1			
	N = 16		
Średnia		3,9	3,9
SD		0,06	0,11
CV		1,6	2,8
Krew pełna 2			
	N = 16		
Średnia		4,0	4,0
SD		0,11	0,14
CV		2,9	3,4
Krew pełna 3			
	N = 16		
Średnia		4,0	4,0
SD		0,11	0,15
CV		2,8	3,9
Krew pełna 4			
	N = 16		
Średnia		4,0	4,0
SD		0,11	0,13
CV		2,7	3,4

Pobrano próbki heparynizowanej krwi pełnej i surowicy, które oznaczono następnie za pomocą biochemicznego analizatora krwi oraz metod porównawczych pod kątem stężenia chlorków, kinazy kreatynowej, kreatyniny, glukozy, potasu, sodu, całkowitego ditlenku węgla i azotu mocznikowego. Próbkę krwi pełnej przeanalizowano za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo w placówkach w terenie, a próbki surowicy przeanalizowano za pomocą tego analizatora oraz metod porównawczych. W niektórych przypadkach użyto próbek suplementowanych na wysokim i niskim poziomie, aby uwzględnić cały zakres dynamiczny. W przypadku oznaczenia CRP próbki heparynizowanego osocza zbadano za pomocą analizatora biochemicznego Piccolo Xpress i metody porównawczej.

Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące korelacji przedstawiono w tabeli 7.

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

	Współczynnik korelacji	Nachylenie	Punkt przecięcia	SEE (Std. błąd oszacowania)	N	Zakres próbek	Metoda porównawcza
Białko C-reaktywne (mg/l)	0,998	0,990	-0,4	4,6	113	5,4–198,6	Beckman
Chlorki (mmol/l)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71–118	Vitros 950
Kinaza kreatynowa (U/l)	0,967	1,194	-25	9,05	47	6–813	Cobas Fara®
Kreatynina (mg/dl)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4–14,7	Paramax®
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4–7,5	Beckman
Glukoza (mg/dl)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72–422	Paramax®
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56–646	Beckman
Potas (mmol/l) Krew pełna (laboratorium zwolnione)	0,984	0,99	0,13	0,14	130	1,3–9,5	Siemens VISTA Osocze
Potas (mmol/l) Krew pełna (umiarkowanie złożone laboratorium)	0,984	0,98	0,12	0,18	178	1,5–8,6	Siemens VISTA Osocze
Potas (mmol/l) Serum (umiarkowanie złożone laboratorium)	0,990	0,98	0,06	0,14	178	1,4–8,5	Siemens VISTA Surowica
Sód (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116–154	Radiometr KNA™ 2
Całkowity ditlenek węgla (mmol/l)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6–39	Cobas Fara
Azot mocznikowy we krwi (mg/dl)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6–52	Paramax®
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6–38	Beckman

Należy zauważyć, że z przyczyn fizjologicznych surowica daje zazwyczaj wyższe wyniki K⁺ niż krew pełna lub osocze. Różnica ta może wynosić od około 0,2 do 0,9 mmol/l i zależy od wielu czynników. Główny efekt zależy od liczby komórek krwi obecnych w próbce pobranej od pacjenta.⁸²

Tabela 8: Korelacja oznaczenia białka CRP uwzględniająca typ próbki

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

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

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

13. Symbolika



Termin ważności



Numer katalogowy



Kod partii



Urządzenie do diagnostyki in vitro



Zapoznać się z instrukcją obsługi



Producent



Nie wykorzystywać ponownie



Liczba urządzeń w zestawie testowym



Cykl produkcji



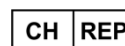
Numer seryjny



Uwaga



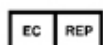
Ograniczenia w zakresie temperatury



Autoryzowany przedstawiciel w Szwajcarii

PN:

Numer części



Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej



Oznacza zgodność z określonymi dyrektywami europejskimi



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



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



Oddzielna zbiórka odpadów dla wskazanego urządzenia elektronicznego; Sprzęt wyprodukowany / wprowadzony do obrotu po 13 sierpnia 2005 r.; Wskazuje na zgodność z art. 14 ust. 4 dyrektywy 2012/19/UE (WEEE) dla Unii Europejskiej (UE).

14. Bibliografia

1. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. *Clin. Chem.* 1997; 43: 52-58.
2. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-2141.
3. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem.* 2001; 47: 418-425.
4. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem.* 1988; 34: 552-553.
5. Kuby SA, Noda, L and Lardy HA. Adenosinetriphosphate-creatine transphosphorylase. *J. Biol Chem.* 1954; 209: 191-201.
6. Tanzer MI And Gilvarg C. Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem.* 1959; 234: 3201-3204.
7. Nuttall FQ And Wedin DS. A simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med.* 1966; 68: 324-332.
8. Oliver IT. A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem J.* 1955; 61: 116-122.
9. Rosalki SB. An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination. *J Lab Clin Med.* 1967; 69: 696-705.
10. Szasz G, Gruber W and Bernt E. Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem.* 1976; 22: 650-656.
11. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). 1979 Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta.* IFCC Sections: 98: 163-174.
12. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. 1976. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest.* 36: 711-723.
13. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1970; 8: 582-587.
14. Haackel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
15. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem.* 1975; 21: 1422-1426.
16. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem.* 1982; 28: 114-117.
17. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem.* 1983; 29: 1494-1496.
18. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, and Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
19. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
20. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
21. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
22. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
23. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem.* 1989; 35: 817-820.
24. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem.* 1994; 40: 846-847.
25. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem.* 1994; 40: 1528-1531.
26. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc.* 1989; 111: 6339-6350.
27. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem.* 1988; 34: 1709-1712.
28. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem.* 1988; 34: 2295-2298.
29. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol.* 1960; 33: 181-185.
30. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989; 869-872.

14. Bibliografia (cd.)

31. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982; 365-373.
32. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem. 1914; 19: 211-228.
33. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol. 1960; 13: 156-159.
34. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem. 1962; 8: 130-132.
35. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensh. 1965; 43: 174-175.
36. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta. 1971; 35: 33-37.
37. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem. 1977; 49: 464-469.
38. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem. 1980; 26: 816-826.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. CLSI Document POL1-T2. Wayne, PA: CLSI, 1992.
40. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; 1058-1059.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
42. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta. 1972; 39: 35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem. 1988; 34:2111-4.
44. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; 1065-1066.
45. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
46. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
47. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
48. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.