Ogólne oznaczenia biochemiczne Piccolo® 6

Obsługa klienta i pomoc techniczna: 800-822-2947
W innych krajach obsługę klienta zapewnia lokalny przedstawiciel firmy Abaxis

Dotyczy tylko klientów w USA
Laboratoria niepodlegające kontroli CLIA: należy używać tylko heparynizowanej krwi pełnej
Laboratoria przeprowadzające oznaczenia o średniej złożoności: należy używać tylko heparynizowanej krwi pełnej lub heparynizowanego osocza albo surowicy

Luty 2014
PN: 400-7083 Rev: Q
© 1997, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Przeznaczenie

Dysk z odczynnikami do ogólnych oznaczeń biochemicznych Piccolo® 6 stosowany w połączeniu z biochemicznym analizatorem krwi Piccolo lub analizatorem biochemicznym Piccolo xpress™ służy do ilościowego oznaczania *in vitro* aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), kreatyniny, gamma-glutamylotransferazy (GGT), glukozy oraz azotu mocznikowego we krwi (BUN) w heparynizowanej krwi pełnej, heparynizowanym osoczu lub surowicy w laboratoriach klinicznych lub podczas badań przyłóżkowych.

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 krwi pełnej pobranej z użyciem heparynianu litu. 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 komisją Commission on Laboratory Accreditation, COLA (Komisją ds. akredytacji laboratoriów) pod numerem 1-800-981-9883.

2. Podsumowanie i objaśnienie testów

Dysk z odczynnikami do biochemii ogólnej Piccolo 6 oraz analizator biochemiczny krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo xpress stanowią system do diagnostyki *in vitro* ułatwiający lekarzowi diagnozowanie następujących chorób:

Aminotransferaza alaninowa (ALT):	Choroby wątroby, w tym wirusowe zapalenie oraz marskość wątroby.
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	Choroby wątroby, w tym zapalenie oraz żółtaczka wirusowa, wstrząs.
Kreatynina:	Choroby nerek oraz monitorowanie dializy nerek.
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	Choroby wątroby, w tym marskość alkoholowa oraz pierwotne i wtórne guzy wątroby.
Glukoza:	Zaburzenia metabolizmu węglowodanów, w tym cukrzycy oraz hipoglikemii u osób dorosłych i dzieci.
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. Zasady testu

Aminotransferaza alaninowa (ALT)
Aminotransferazę alaninową (ALT) oznaczono trzema metodami. Dwie z tych metod — metoda kolorymetryczna z reakcją sprzężoną z udziałem dinitrofenylohydrazyny[1,2] oraz oznaczenie enzymatyczne z wykorzystaniem fluorescencji — są rzadko używane.[3] Metoda enzymatyczna oparta na opracowaniach Wróblewskiego i LaDue[4] jest najczęściej stosowaną techniką oznaczania stężeń aminotransferazy alaninowej (ALT) w surowicy. Modyfikowaną procedurę Wróblewskiego i LaDue

zaproponowano jako zalecaną przez organizację International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej).[5]

Metoda stosowana w analizatorach Piccolo jest modyfikacją procedury zalecanej przez federację IFCC. W tej reakcji związek ALT katalizuje przeniesienie grupy aminowej od L-alaniny do α-ketoglutaranu w celu utworzenia L-glutaminianu i pirogronianu. Dehydrogenaza mleczanowa katalizuje konwersję pirogronianu do mleczanu. Jednocześnie cząsteczka NADH utlenia się do cząsteczki NAD^+, co przedstawiono w poniższym schemacie reakcji.

$$\text{L-alanina} + \alpha\text{-ketoglutaran} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-glutaminian} + \text{pirogronian}$$

$$\text{pirogronian} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{mleczan} + NAD^+$$

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 związku ALT w próbce.

Aminotransferaza asparaginianowa (AST)

Test aminotransferazy asparaginianowej (AST) opiera się na metodzie opracowanej przez Karmena[6] zmodyfikowanej przez Bergmeyera.[7] Aktualna metoda referencyjna według organizacji International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej) wykorzystuje technikę Karmen/Bergmeyera polegającą na sprzęganiu dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) i formy zredukowanej dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) podczas wykrywania związku AST w surowicy.[7,8] Na potrzeby reakcji dodawana jest dehydrogenaza mleczanowa (LDH), aby zmniejszyć zakłócenia powodowane przez endogenny 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.

$$\text{L-asparaginian} + \alpha\text{-ketoglutaran} \xrightarrow{\text{AST}} \text{szczawiooctan} + \text{L-glutaminian}$$

$$\text{szczawiooctan} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{jabłczan} + NAD^+$$

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.

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.[9,10] Opracowano też metody enzymatyczne, które są bardziej specyficzne dla kreatyniny od różnych modyfikacji techniki Jaffe'a.[11,12,13] W metodach wykorzystujących enzym — amidohydrolazę kreatyniny — zlikwidowano problem związany z zakłóceniami ze strony jonów amonowych, występujący w przypadku technik z zastosowaniem iminohydrolazy kreatyniny.[14]

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

$$\text{kreatynina} + H_2O \xrightarrow{\text{amidohydrolaza kreatyniny}} \text{kreatyna}$$

$$\text{kreatyna} + H_2O \xrightarrow{\text{amidynohydrolaza kreatynowa}} \text{sarkozyna} + \text{mocznik}$$

$$\text{sarkozyna} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{oksydaza sarkozynowa}} \text{glicyna} + \text{formaldehyd} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{TBHBA} + \text{4-AAP} \xrightarrow{\text{peroksydaza}} \text{czerwony barwnik (chinonoimina)} + H_2O$$

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 630 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, NKDEP) zdecydowanie zaleca się, 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.

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

Gamma-glutamylotransferaza (GGT)

Pierwsze opracowane metody oznaczania ilościowego gamma-glutamylotransferazy (GGT) zawierały drugą reakcję, w której powstawał barwnik azowy łączący się z chromoforem.[15,16] Zmiana polegająca na zastosowaniu L-γ-glutamylo-*p*-nitroanilidu jako substratu reakcji wyeliminowała etap formowania barwnika.[17] Z powodu słabej rozpuszczalności i niewielkiej stabilności L-γ-glutamylo-*p*-nitroanilidu procedurę tę modyfikowano, stosując w zamian jako substrat L-γ-glutamylo-3-karboksy-4-nitroanilid.[18] Metoda oznaczania GGT zalecana przez organizację International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej) wykorzystuje ten substrat, natomiast drugim substratem jest glicyloglicyna.[19]

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

$$\text{L-}\gamma\text{-glutamylo-3-karboksy 4-nitroanilid} + \text{gly-gly} \xrightarrow{\text{GGT}} \text{glu-gly-gly} + \text{3-karboksy-4-nitroanilina}$$

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

Glukoza (GLU)

Oznaczanie stężenia glukozy początkowo przeprowadzano, używając metod polegających na redukcji miedzi (np. metody Folin-Wu[20] i Somogyi-Nelson[21,22]). 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 do ogólnych oznaczeń biochemicznych Piccolo 6 to modyfikowana wersja metody wykorzystującej heksokinazę, którą zaproponowano jako podstawę referencyjnej metody oznaczania glukozy.[23]

W wyniku reakcji glukozy z adenozynotrifosforanem (ATP), katalizowanej przez heksokinazę (HK), powstaje glukozo-6-fosforan (G-6-P) oraz adenozynodifosforan (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.

$$\text{glukoza} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{heksokinaza}} \text{glukozo-6-fosforan} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + NAD^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-fosfoglukonian} + \text{NADH}$$

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.

Azot mocznikowy we krwi (BUN)
Mocznik można oznaczać metodą bezpośrednią lub pośrednią. Reakcja z udziałem monooksymu diacetylu (jedyna bezpośrednia metoda oznaczania mocznika) jest często stosowana, jednak wymaga użycia niebezpiecznych odczynników.[24] Metody pośrednie polegają na oznaczaniu amoniaku powstałego z mocznika. Zastosowanie w nich enzymu — ureazy — zwiększyło specyficzność tych testów.[25] Amoniak jest oznaczany ilościowo różnymi metodami, w tym za pomocą nessleryzacji (miareczkowania acydymetrycznego), metodą Berthelota[26,27] oraz z wykorzystaniem sprzężonych reakcji enzymatycznych.[28,29] Podczas oznaczania amoniaku za pomocą procedur Berthelota z użyciem katalizatora uzyskuje się jednak błędne wyniki.[30] Sprzężone reakcje enzymatyczne są szybkie, charakteryzują się dużą specyficznością dla amoniaku i są często używane. Jedną z takich reakcji zaproponowano jako potencjalną metodę referencyjną.[31]

W sprzężonej reakcji enzymatycznej ureaza hydrolizuje mocznik do amoniaku i ditlenku węgla. Po połączeniu amoniaku z 2-oksoglutaranem i zredukowaną formą dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH), enzym — dehydrogenaza glutaminianowa (GLDH) — utlenia formę NADH do NAD^+.

$$\text{mocznik} + H_2O \xrightarrow{\text{ureaza}} NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \text{2-oksoglutaran} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-glutaminian} + H_2O + NAD^+$$

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. Zasady procedury

Zasady i ograniczenia procedury opisano w podręczniku biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo xpress.

5. Opis odczynników

Odczynniki
Każdy dysk z odczynnikami do ogólnych oznaczeń biochemicznych Piccolo 6 zawiera suche kulki odczynnikowe specyficzne dla określonego testu (opisane poniżej). W każdym dysku znajduje się suchy odczynnik do próby zerowej próbki (zawierający bufor, środki powierzchniowo czynne, substancje pomocnicze i środki konserwujące) przeznaczony do zastosowania podczas obliczania stężeń aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), gamma-glutamylotransferazy (GGT), glukozy (GLU) oraz azotu mocznikowego we krwi (BUN). W dysku znajduje się specjalny odczynnik do oznaczenia zerowego kreatyniny (CRE). Każdy dysk z odczynnikami zawiera także rozcieńczalnik, w którego skład wchodzą środki powierzchniowo czynne, substancje pomocnicze i środki konserwujące.

Tabela 1: Odczynniki

Składnik	Ilość/dysk	
Adenozyno-5´-difosforan	4	µg
Adenozyno-5´-trifosforan	11	µg
L-alanina	874	µg
Chlorowodorek 4-aminoantypiryny	14	µg
Oksydaza askorbinowa (*Cucurbita spp.*)	0,4	U
Kwas L-asparaginowy	426	µg
Amidynohydrolaza kreatynowa (*Actinobacillus spp.*)	2	U
Amidohydrolaza kreatyniny (*Pseudomonas spp.*)	1	U
Dehydrogenaza glukozo-6-fosforanowa (drożdże)	0,05	U
Dehydrogenaza kwasu L-glutaminowego (wątroba wołowa)	0,01	U
Kwas L-glutaminowy γ-(3-karboksy-4-nitroanilid), sól amonowa	30	µg
Glicyloglicyna	317	µg
Heksokinaza (drożdże)	0,1	U
α-ketoglutaran, sól dwusodowa	28	

Kwas α-ketoglutarowy	72	µg
Dehydrogenaza mleczanowa (serce kurze)	0,002	U
Dehydrogenaza mleczanowa (LDH) (bakteryjna)	0,03	U

Tabela 1: Odczynniki (cd.)

Składnik	Ilość/dysk	
Dehydrogenaza mleczanowa (Staphylococcus epidermidis)	0,1	U
Octan magnezu	7	µg
Dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) (serce wieprzowe)	0,01	U
Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD+)	20	µg
Zredukowana forma dinukleotydu β-nikotynoamidoadeninowego (NADH)	18	µg
Peroksydaza (chrzanowa)	0,6	U
Sześciocyjanożelazian (II) potasu	0,4	µg
Oksydaza sarkozynowa (drobnoustroje)	0,6	U
Kwas 2,4,6-tribromo-3-hydroksybenzoesowy	188	µg
Ureaza (kanawalia mieczokształtna)	0,05	U
Bufor, 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.[32] 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. Przed użyciem dysków nie należy pozostawiać w temperaturze pokojowej przez czas dłuższy niż 48 godzin. Należy otworzyć szczelnie zamknięty woreczek foliowy i wyjąć dysk, uważając, aby nie dotknąć opaski z kodem paskowym znajdującej się u góry dysku. Z dysku należy korzystać zgodnie z instrukcjami podanymi w podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub 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 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 rotora oraz spowodować negatywny wpływ na działanie odczynników. Nie należy używać rotora z uszkodzonego woreczka.

6. Urządzenie

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

- 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.

- Próbki krwi pełnej pobranej przez nakłucie żyły powinny być jednorodne przed ich przeniesieniem do dysku z odczynnikami. Tuż przed ich przeniesieniem należy kilkakrotnie delikatnie odwrócić probówkę z próbką. Nie należy wytrząsać probówki z próbką, gdyż może to spowodować hemolizę.

- Próbki krwi pełnej pobranej poprzez nakłucie żyły należy przeanalizować w ciągu 60 minut od pobrania.[33] 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.[34]

- Schłodzenie w lodówce próbek krwi pełnej może spowodować znaczne zmiany stężeń **aminotransferazy asparaginianowej**, **kreatyniny** i **glukozy**.[35] 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 czerwoną lub czerwono-czarną zatyczką).

- Test należy rozpocząć w ciągu 10 minut od przeniesienia próbki do dysku z odczynnikami.

8. Procedura

Dostarczane materiały

- Jeden dysk z odczynnikami do ogólnych oznaczeń biochemicznych Piccolo 6, PN: 400-1006 (pudełko dysków, PN: 400-0006)

Materiały wymagane, ale niedostarczane z produktem

- Biochemiczny analizator krwi Piccolo lub analizator biochemiczny Piccolo xpress
- Pipety do przenoszenia próbek (o stałej objętości wynoszącej ok. 100 µl) i ich 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 do ogólnych oznaczeń biochemicznych Piccolo 6 wynosi mniej niż 14 minut. Dysk z odczynnikami na czas trwania oznaczenia jest utrzymywany przez analizator w temperaturze 37°C (98,6°F).

Procedura testu
Kompletną procedurę pobierania próbek oraz procedury obsługi krok po kroku opisano w podręczniku operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo 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 Piccolo xpress. Działanie biochemicznego analizatora krwi Piccolo lub analizatora biochemicznego Piccolo xpress można zweryfikować, analizując materiały kontrolne. Listę zatwierdzonym materiałów do kontroli jakość wraz z dopuszczalnymi zakresami wartość 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 dołączonej 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 wykreślania 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 odczynników (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 oblicza i drukuje stężenia analitu w próbce. Szczegółowe informacje dotyczące obliczeń dla reakcji, dla których przeprowadza się pomiary w punkcie końcowym i pomiary kinetyczne, zawiera podręcznik operatora biochemicznego analizatora krwi Piccolo 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.

- 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 do ogólnych oznaczeń biochemicznych Piccolo 6.

- Wyniki dla próbek z hematokrytem przekraczającym 62–65% objętości skoagulowanych krwinek czerwonych (ułamek objętościowy wynoszący 0,62–0,65) mogą być nieprawidłowe. Próbki o wysokim hematokrycie mogą być zgłaszane jako zhemolizowane. Próbki te można odwirować w celu oddzielenia osocza, a następnie ponownie przeanalizować w nowym dysku z odczynnikami.

- **Każdy uzyskany w określonym teście wynik przekraczający zakres dopuszczalny dla oznaczenia należy przeanalizować za pomocą innej zatwierdzonej metody lub wysłać do innego laboratorium. Nie należy rozcieńczać próbki i analizować jej ponownie za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo 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 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 NCCLS EP7-P.[36]

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.

- System biochemiczny do analizy 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 egzogennych i terapeutycznych
- Na podstawie zaleceń Younga[37] wybrano trzydzieści pięć substancji egzogennych i terapeutycznych potencjalnie zakłócających metody testowe firmy Abaxis. 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 egzogenne i terapeutyczne

	Zakres fizjologiczny lub terapeutyczny[36-41] (mg/dl)	**Najwyższe zbadane stężenie (mg/dl)**
Acetaminofen	1–2	100
Acetylooctan	0,05–3,60	102
Kwas acetylosalicylowy	2–10	50
Ampicylina	0,5	30
Kwas askorbinowy	0,8–1,2	20
Kofeina	0,3–1,5	10
Chlorek wapnia	—	20
Cefalotyna (Keflin)	10	400
Chloramfenikol	1–2,5	100
Cymetydyna	0,1–1	16
Lewodopa	—	5
Dopamina	—	19
Epinefryna	—	1
Erytromycyna	0,2–2,0	10
Glutation	—	30
Ibuprofen	0,5–4,2	50
Izoniazyd	0,1–0,7	4
α-ketoglutaran	—	5
Ketoprofen	—	50
Metycylina	—	100
Metotreksat	0,1	0,5

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

	Zakres fizjologiczny lub terapeutyczny[36-41] (mg/dl)	Najwyższe zbadane stężenie (mg/dl)
Metyldopa	0,1–0,5	0,5
Metronidazol	0,1	5
Nafcylina	—	1
Nitrofurantoina	0,2	20
Oksacylina	—	1
Szczawiooctan	—	132
Fenytoina	1–2	3
Prolina	—	4
Pirogronian	0,3–0,9	44
Rifampicyna	0,4–3	1,5
Kwas salicylowy	15–30	25
Sulfasalazyna	2–4	10
Sulfanilamid	10–15	50
Teofilina	1–2	20

- Dla poniższych substancji wykazano zakłócenia przekraczające 10%. 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 3: Substancje powodujące znaczące zakłócenia (>10%)

	Zakres fizjologiczny/ terapeutyczny[36-41] (mg/dl)	Stężenie, przy którym występuje zakłócenie > 10% (mg/dl)	Zakłócenie (%)
Aminotransferaza alaninowa (ALT)			
Kwas askorbinowy	0,8–1,2	20	11% wzr.*
Szczawiooctan	—	132	843% wzr.
Kreatynina (CRE)			
Kwas askorbinowy	0,8–1,2	20	11% spd.
Dopamina	—	19	80% spd.
Lewodopa	—	5	71% spd.
Epinefryna	—	1	45% spd.
Glutation	—	30	13% spd.
Glukoza (GLU)			
Szczawiooctan	—	132	11% spd.
Pirogronian	0,3–0,9	44	13% spd.

* spd. = spadek; wzr. = wzrost.

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

11. Oczekiwane wartości

W celu określenia zakresów referencyjnych dla substancji: ALT, kreatyniny, glukozy i BUN użyto łącznie 193 próbek pobranych od dorosłych mężczyzn i kobiet, które przeanalizowano za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo. W celu określenia zakresu referencyjnego dla związku AST użyto łącznie 186 próbek pobranych od dorosłych mężczyzn i kobiet. W celu określenia zakresu referencyjnego dla związku GGT użyto łącznie 131 próbek pobranych od dorosłych

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

Tabela 4: Zakresy referencyjne dla systemu Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Aminotransferaza alaninowa (ALT)	10–47 U/l	10–47 U/l
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	11–38 U/l	11–38 U/l
Kreatynina (CRE)	0,6–1,2 mg/dl	53–106 µmol/l
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	5–65 U/l	5–65 U/l
Glukoza (GLU)	73–118 mg/dl	4,05–6,55 mmol/l
Azot mocznikowy we krwi (BUN)	7–22 mg/dl	2,5–7,9 mmol/l mocznika

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 odpowiedniego analizatora).

Tabela 5: Zakresy dynamiczne w systemie Piccolo

Analit	Jednostki tradycyjne	Jednostki układu SI
Aminotransferaza alaninowa (ALT)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	5–2000 U/l	5–2000 U/l
Kreatynina (CRE)	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
Gamma-glutamylotransferaza (GGT)	5–3000 U/l	5–3000 U/l
Glukoza (GLU)	10–700 mg/dl	0,56–38,9 mmol/l
Azot mocznikowy we krwi (BUN)	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol/l mocznika

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. ALT >2000* U/l. Jeśli jest ono niższe od zakresu dynamicznego, wydrukowany zostanie znak „<” oraz gwiazdka, np. ALT <5* U/l. W przypadku wartości znacznie przekraczających zakres pomiarowy (systemowy), zamiast wyniku wydrukowany zostanie znak „~~~”. Za każdym razem gdy na wydrukowanej 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 klienta firmy Abaxis.

Czułość (limity wykrywania)
Dolne limity zgłaszanego (dynamicznego) zakresu poszczególnych analitów: aminotransferaza alaninowa — 5 U/l; aminotransferaza asparaginianowa — 5 U/l; kreatynina — 0,2 mg/dl (18 µmol/l); gamma-glutamylotransferaza — 5 U/l; glukoza — 10 mg/dl (0,56 mmol/l); azot mocznikowy we krwi — 2,0 mg/dl (0,7 mmol/l mocznika).

Precyzja
Badania precyzji przeprowadzono według wytycznych NCCLS EP5-T2.[42] Wyniki dla precyzji w obrębie serii i całkowitej uzyskano, testując dwa poziomy materiału kontrolnego. Próbki kontrolne analizowano dwukrotnie, dwa razy każdego dnia, przez 20 dni w okresie czterech tygodni. Wyniki badań precyzji przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6: Precyzja (N = 80)

Analit	W obrębie serii	Całkowita
Aminotransferaza alaninowa (U/l)		
Poziom 1 materiału kontrolnego		
Średnia	21	21
SD	2,76	2,79
%CV	13,4	13,5
Poziom 2 materiału kontrolnego		
Średnia	52	52

SD	2,70	3,25
%CV	5,2	6,2

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

Analit	**W obrębie serii**	**Całkowita**
Aminotransferaza asparaginianowa (U/l)		
Poziom 1 materiału kontrolnego		
Średnia	47	49
SD	0,98	0,92
%CV	2,1	1,9
Poziom 2 materiału kontrolnego		
Średnia	145	147
SD	1,83	1,70
%CV	1,3	1,2
Kreatynina (mg/dl)		
Poziom 1 materiału kontrolnego		
Średnia	1,1	1,1
SD	0,14	0,14
%CV	12,5	13,1
Poziom 2 materiału kontrolnego		
Średnia	5,2	5,2
SD	0,23	0,27
%CV	4,4	5,2
Gamma-glutamylotransferaza (U/l)		
Poziom 1 materiału kontrolnego		
Średnia	25	25
SD	0,59	0,74
%CV	2,34	2,94
Poziom 2 materiału kontrolnego		
Średnia	106	106
SD	1,52	2,29
%CV	1,43	2,15
Glukoza (mg/dl)		
Poziom 1 materiału kontrolnego		
Średnia	66	66
SD	0,76	1,03
%CV	1,1	1,6
Poziom 2 materiału kontrolnego		
Średnia	278	278
SD	2,47	3,84
%CV	0,9	1,4
Azot mocznikowy we krwi (mg/dl)		
Poziom 1 materiału kontrolnego		
Średnia	19	19
SD	0,35	0,40
%CV	1,9	2,1
Poziom 2 materiału kontrolnego		
Średnia	65	65
SD	1,06	1,18
%CV	1,6	1,8

Korelacja

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

przypadki te oznaczono odpowiednio w tabeli. W niektórych przypadkach użyto próbek suplementowanych na wysokim i niskim poziomie, aby uwzględnić cały zakres dynamiczny. Wszystkie próbki przeanalizowano jednokrotnie tego samego dnia. Reprezentatywne dane statystyczne dotyczące korelacji przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7: Korelacja analizy za pomocą biochemicznego analizatora krwi Piccolo z metodami porównawczymi

	Współ-czynnik korelacji	Nachy-lenie	Punkt przecięcia	SEE (Std. błąd oszacowania)	N	Zakres próbki	Metoda Porów-nawcza
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™
Kreatynina (mg/dl)	0,993 0,987	0,926 0,866	0,0 0,1	0,15 0,16	260 107	0,4–14,7 0,4–7,5	Paramax Beckman
Gamma-glutamy-lotransferaza (U/l)	1,0 1,0*	0,98 1,60	-0,4 3,1	3,29 18,57	135 49	5–312 27–1848	Paramax Beckman
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
Azot mocznikowy (mg/dl)	0,964 0,983	0,923 0,946	0,5 0,0	1,08 0,66	251 92	6–52 6–38	Paramax Beckman

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

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 ślepymi próbkami z randomizacją. Próbki składały się z pul surowicy przygotowanych w taki sposób, aby uzyskać trzy poziomy każdego z sześciu analitów: ALT, AST, kreatynina, GGT, glukoza i BUN. 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 przestawiono podsumowanie skuteczności testu dla każdego analitu.

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%

* 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 10 U/l do 47 U/l.

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%

Kreatynina (CRE)

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	62	62	62
Średnia	0,89	2,07	6,89
%CV	11,0	5,0	1,6
Obserwowany zakres	0,7–1,2	1,8–2,3	6,5–7,2
Procent wyników w zakresie ± 15,0%	93,6 58/62 95% CI: od 84,3% do 98,2%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%	100% 62/62 95% CI: od 94,2% do 100%

Gamma-glutamylotransferaza (GGT)

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	62	62	62
Średnia	35,0 U/l	86,2 U/l	131,3 U/l
%CV	2,8%	1,5%	1,5%
Obserwowany zakres	33–38	83–90	123–135
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%

Glukoza (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.

Azot mocznikowy we krwi (BUN)

	Poziom 1	Poziom 2	Poziom 3
N	62	62	62
Średnia	15,1	41,0	72,2
%CV	2,3	2,5	1,8
Obserwowany zakres	14–16	37–43	68–75
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%

13. Bibliografia

1. Tonhazy NE, NG White, WW Umbreit. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA,Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.

5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.

13. Bibliografia (cd.)

6. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955; 34: 131-133.
7. 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.
8. Bergmeyer HU, Hørder 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.
9. Knoll VE, Stamm D. Spezifische kreatininbest-immung im serum. Z Klin Chem Klin Biochem 1970; 8: 582-587.
10. Haeckel R. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 385-394.
11. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. Clin Chem 1975; 21: 1422-1426.
12. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. Clin Chem 1982; 28: 114-117.
13. Fossati P, Prencipe L, and Berti G. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem 1983; 29: 1494-1496.
14. Whelton A, Watson AJ, Rock RC. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 1513-1575.
15. Ball, EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ-glutamyl transpeptidase activity. J Biol Chem 1956; 221: 895-908.
16. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960; 91: 61-70.
17. Orlowski M, Meister A. γ-Glutamyl-p-nitroanilide: a new convenient substrate for determination and study of L- and D γ-glutamyltranspeptidase activities. Biochim Biophys Acta 1963; 73: 679-681.
18. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ-glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 421-427.
19. Shaw LM, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for γ-glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Biochem1983; 21: 633-646.
20. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
21. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937; 117: 771-776.
22. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol Chem 1944; 153: 375-380.
23. 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.
24. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
25. Van Slyke DD, Cullen GE. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem 1914; 19: 211-228.
26. Fawcett JK, Scott JE. A rapid and precise method for the determination of urea. J Clin Pathol 1960; 13: 156-159.
27. Chaney AL, Marbach EP. Urea and ammonia determinations. Clin Chem 1962; 8: 130-132.
28. Talke H, Schubert GE. Enzymatische Harnstoffbest-immung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch 1965; 43: 174-175.
29. Hallett CJ, Cook JGH. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta 1971; 35: 33-37.
30. Patton CJ, Crouch SR. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem 1977; 49: 464-469.
31. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980; 26: 816-826.
32. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines; tentative guideline – second edition. NCCLS Document POL1-T2 Wayne, PA: NCCLS, 1992.
33. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline – second edition. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
34. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972; 39: 35-40.
35. 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.

36. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Publication EP7-P. Wayne, PA: NCCLS, 1986.
37 Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press. 1990.

13. Bibliografia (cd.)

38. Benet LZ, Williams RL. Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th ed. Gilman AG, et al, eds. New York: McGraw-Hill, Inc. 1990: 1650-1735.
39. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests. 1991 supplement to the third edition. Washington, DC: AACC Press. 1991.
40. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 735-896.
41. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Appendix. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 2161-2217.
42. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; tentative guideline – second edition. NCCLS Document EP5-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.