

OXALATE

IVD

, DETERMINAZIONE QUANTITATIVA COLORIMETRICA METODO TRINDER dell'OSSALATO su URINE
con Analizzatore MINDRAY BS-300

Σ 80 tests (1 x 20 mL)

REF NAOX8850

DESTINAZIONE D'USO

L'ossalato nell'urina è di elevato interesse perchè potrebbe originare ossalato di calcio poco solubile; questo potrebbe causare la formazione di cristalli di calcio (cristalluria) e portare alla formazione di calcoli nell'apparato urinario, che è considerato il fattore più importante nell' urolitiasi. L'ossalato nell'urina può aumentare come prodotto finale del metabolismo intermedio od introducendolo con la dieta. Una diminuzione dell'escrezione nell'urina è associata all'iperglicemia e all' iperglicosuria.

Un incremento della escrezione potrebbe essere causata da una aumentata ingestione di cibi ricchi in ossalato o precursori di ossalato, ma anche da difetti del metabolismo o all'assorbimento di ossalato in diversi disturbi gastrointestinali, il che porta ad un significativo malassorbimento dei grassi.

PRINCIPIO

L'ossalato è ossidato a biossido di carbonio e perossido di idrogeno da un enzima molto specifico, la ossalato ossidasi.

Il perossido di idrogeno reagisce in presenza di perossidasi (POD) con MBTH (3-metil-2-benzotiazolinone idrazone) e DMAB (acido 3-dimetilamino benzoico) formando un composto chinonico blu. L'intensità del colore è proporzionale alla concentrazione di OSSALATO nel campione e si legge a 590 nm.

Usando lo standard contenuto nel kit è possibile preparare una curva di calibrazione a cui fare riferimento. Riportando sulla medesima i valori di assorbanza e le concentrazioni dei singoli punti, si possono determinare le concentrazioni dei singoli campioni.

PRECAUZIONI D'USO

1. Questo prodotto è stato formulato per uso diagnostico in vitro.
2. Una variazione proporzionale dei volumi di reazione non modifica il risultato.
3. NON miscelare tra loro Reagenti da diversi lotti di produzione.
4. Per concentrazioni di Ossalato ≥ 2.00 mmol/L, diluire il campione 1:2 con acqua distillata, ritestare e moltiplicare il risultato x 2.
5. Oltre alle eventuali indicazioni di rischio, il Reagente contiene conservanti (sodio azide o altri), la cui concentrazione totale è inferiore ai limiti riportati nelle Dir. 67/548/CEE e 88/379/CEE e relative modifiche per la classificazione, etichettatura ed imballaggio di preparati pericolosi (Reagenti). Tuttavia si raccomanda di manipolare i reagenti con cautela, evitandone l'ingestione ed il contatto con gli occhi, la pelle e le mucose; di seguire quindi le norme di buona pratica di laboratorio nell'utilizzo di questi materiali. Nelle schede di sicurezza vengono descritte le procedure operative per la manipolazione di questo prodotto. Le schede di sicurezza vengono fornite su richiesta.

ATTENZIONE!

A) Le applicazioni su analizzatori di routine possono essere totalmente diverse da quanto sviluppato come determinazione manuale; inoltre le procedure sono specifiche per ciascun

analizzatore.

B) Elevata attenzione deve essere data alle sostanze interferenti: alcuni farmaci ed altre sostanze potrebbero influenzare i livelli od il dosaggio di Ossalato (cfr Bibliografia 2).

C) Il Reagente deve essere impiegato SOLO per l'uso indicato, da personale esperto e addestrato, seguendo le norme della buona pratica di laboratorio.

D) La diagnosi clinica non può essere fatta correttamente usando il risultato di un solo test, ma deve essere fatta integrando criticamente i risultati di diversi test di laboratorio con differenti dati clinici.

E) Una serie di fattori, quali la temperatura ambientale, la temperatura dei reagenti di lavoro, l'accuratezza dei lavaggi e il tipo di spettrofotometro, possono influire sulle prestazioni del test.

F) La curva di calibrazione deve essere sempre ripetuta ad ogni cambio di lotto del Reagente e/o del calibratore.

G) Per la manipolazione dei Reagenti devono essere osservate le precauzioni normalmente adottate in laboratorio.

REAGENTI

Composizione del kit:

R1 - BUFFER

(PRONTO ALL'USO)

Tampone pH 3.1 ± 0.1 > 20 mmol/L

R2 - OXOX, POD

Ossalato Ossidasi (Orzo) > 2 KU/L

POD > 1000 U/L

MBTH > 0.2 mmol/L

DMAB > 0.9 mmol/L

Attivatori, Stabilizzatori

R3 - PURIFIER

PURIFICATORE DI CAMPIONI

R4 - DIL

DILUENTE CONCENTRATO PER CAMPIONI

R5 - CAL

(PRONTO ALL'USO)

Soluzione di Acido ossalico (4.5 mg/dL = 45 mg/L = 0.5 mmol/L)

NaN₃ < 0.1%

STABILITÀ: i Reagenti chiusi sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle etichette, se conservati nel loro contenitore primario integro, a 2-8°C se non esposti a fonti termiche e/o variazioni di pressione. In caso di danneggiamento del contenitore primario provvedere allo smaltimento.

REAGENTI AUSILIARI PER IL CONTROLLO QUALITÀ

Per garantire l'adeguata prestazione del test utilizzare i seguenti kit (vedere le relative informazioni d'uso (IFU)):

- CI+OX CALIBRATOR liquid

- OXALATE LOW CONTROL Iyo

- OXALATE HGH CONTROL Iyo

- OXALATE URINE PURIFIER

REF OXACAL

REF OG6627

REF OG6502

REF NAOXA75

La curva di calibrazione deve essere sempre ripetuta ad ogni cambio di lotto del Reagente e/o del calibratore.



OXALATE

IVD

PREPARAZIONE DEL REAGENTE STARTER

Dissolvere un vial di **R2 - OXOX, POD** con 2 mL di ACQUA DISTILLATA, mescolare gentilmente fino a dissoluzione. Portare i Reagenti alla temperatura di lavoro prima dell'uso. Chiudere immediatamente dopo l'impiego. I prodotti vanno manipolati in modo adeguato, tale da evitare ogni contaminazione. L'uso non competente ci solleva da ogni responsabilità.

STABILITA' DEL REAGENTE STARTER

Il REAGENTE STARTER è stabile 30 giorni a 2-8°C.

PREPARAZIONE DEL DILUENTE PER CAMPIONI

Aggiungere 80 mL di ACQUA DISTILLATA a **R4 - DIL.** Miscelare gentilmente fino a completa dissoluzione. Portare i Reagenti alla temperatura di lavoro prima dell'uso. Chiudere immediatamente dopo l'impiego. I prodotti vanno manipolati in modo adeguato, tale da evitare ogni contaminazione.

L'uso non competente ci solleva da ogni responsabilità.

STABILITA' DEL DILUENTE PER CAMPIONI

Il DILUENTE PER CAMPIONI è stabile 3 mesi a 2-8°C.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Normale attrezzatura da laboratorio.

Micropipette in grado di erogare da 3 a 1000 µL.

Puntali monouso per micropipette.

Provette in vetro trasparente per la diluizione dei campioni.

Acqua distillata, Controlli.

Spettrofotometro od analizzatore automatico di chimica clinica.

CAMPIONI

• Urina fresca non emolizzata, con un quantitativo di vitamina C minore di 16 mmol/L, concentrazione che può influenzare i risultati dei test.

E' consigliabile che i pazienti si astengano dal prendere un'eccessiva quantità di vitamina C o di cibi ricchi di vitamina C per almeno 48-72 ore prima della raccolta delle urine.

Raccolta dei campioni in accordo con CLSI (NCCLS)

(cfr Bibliografia 3): un campione di urina delle 24-ore è raccolto in una bottiglia di plastica o di vetro contenente 10 ml di acido cloridrico. Registrare il volume in litri.

PRETRATTAMENTO DEI CAMPIONI/CONTROLLI

1. Preparare il **DILUENTE PER CAMPIONI** come menzionato prima.

2. Preparare tubi etichettati per i campioni di urina e i controlli.

3. Pipettare 5 mL (o qualsiasi volume disponibile) di campioni di urina e controlli nei tubi etichettati

4. Aggiungere 2.5 mL di **DILUENTE PER CAMPIONI** e 2.5 mL di acqua distillata in ogni tubo (o qualsiasi volume disponibile, nel medesimo rapporto) e mescolare.

5. Controllare il pH: deve essere tra 5.0 e 7.0.

Se così non fosse, aggiustare il pH con HCl 1N o NaOH 1N.

6. Preparare una serie di tubi di **PURIFICATORE DI CAMPIONE (R3 - PURIFIER)** per campioni di urina e i controlli.

7. Pipettare 4 mL per ogni campione di urina e controlli diluiti (vedi punto 4. e 5.) nel tubo etichettato come **PURIFICATORI DI CAMPIONE** (vedi punto 6.) e mescolare per circa 5 minuti in modo intermittente.

Si suggerisce un mixer roteante per mescolare.

8. Centrifugare i tubi per 10/15 minuti a 3500 rpm (2600 x g) o filtrare su carta da filtro da laboratorio.

9. Determinare la concentrazione di ossalato nel surnatante.

10. Lo standard ossalato (**R5 - CAL**) NON RICHIEDE LA PROCEDURA DELLA PREPARAZIONE DEL CAMPIONE; è pronto all'uso, seguire la PROCEDURA ANALITICA.

SMALTIMENTO DEI MATERIALI

Per lo smaltimento dei rifiuti attenersi alle regolamentazioni locali vigenti.

PROCEDURA ANALITICA su SPETTROFOTOMETRO MANUALE

- Lunghezza d'onda: 590 nm (570-620 nm)
- Cammino ottico: 1 cm
- Lettura: contro aria o acqua distillata
- Temperatura: 37°C
- Metodo: end-point
- Reazione: 5 minuti
- Rapporto campione/reagente: 1/20/2

Portare i reagenti alla temperatura di lavoro prima dell'uso.

Pipettare nelle provette o nelle cuvette così etichettate

R/B: Bianco reagente; S: Campione e/o Controlli, ST: Standard

	R/B	ST	S
R1 - BUFFER	2000 µL	2000 µL	2000 µL
Acqua distillata	100 µL	----	----
R5 - CAL (tal quale)	----	100 µL	----
Campione/Controllo (pretrattato)	----	----	100 µL

Miscelare gentilmente e incubare a 37°C per 5 minuti. Dopo aggiungere

REAGENTE STARTER	200 µL	200 µL	200 µL
-------------------------	--------	--------	--------

Miscelare gentilmente e incubare a 37°C per 5 minuti, aspettare la fine della reazione. Leggere l'assorbanza dello standard (Ast) e del campione (As) contro il bianco reagente.

Il colore è stabile per almeno 60 minuti.

ATTENZIONE!

Il kit è sperimentato per spettrofotometro manuale e per sistemi HITACHI, COBAS e MINDRAY.

Le applicazioni su analizzatori automatici possono essere totalmente diverse da quanto sviluppato come determinazione manuale.

VALORI DI RIFERIMENTO (cfr Bibliografia 1)

Valori normali Ossalato:

Adulti MASCHI 20 - 60 mg/24 h (0.228 - 0.685 mmol/24 h)

Adulti FEMMINE 20 - 55 mg/24h (0.228 - 0.627 mmol/24 h)

Poiché i valori normali dipendono dall'età, dal sesso, dalla dieta, dall'area geografica e da altri fattori, ogni laboratorio deve stabilire i propri valori normali per questa procedura.

CALCOLO

Usare questa formula generale per calcolare la concentrazione:

Ossalato in mmol/L =

$[As / Astd] \times 0,50$ (Standard conc.) $\times 2$ (fattore di diluizione)]



OXALATE

IVD

oppure

Riportare ogni valore trovato sulla curva di calibrazione
La curva di calibrazione deve essere ripetuta sempre per ogni nuovo lotto di reagenti.

Ossalato escreto durante 24-ore in mmol/24 h =
Ossalato in mmol/L x volume di urina raccolta in 24-h (in litri)
Ossalato escreto durante 24-ore in mg/24 h =
Ossalato in mmol/24 h x 90 (PM)

PRESTAZIONI ANALITICHE (validate su MINDRAY BS300)

Le prestazioni del Reagente **OXALATE** sono state sperimentate con un analizzatore MINDRAY BS300. I dati, pur rappresentando le caratteristiche del prodotto, potrebbero variare per ogni singolo laboratorio e per i diversi analizzatori.

Limitazioni del metodo: non sono conosciute limitazioni.

Linearità del metodo: il test è lineare fino a 2.00 mmol/L.

Per concentrazioni ≥ 2.00 mmol/L, diluire il campione 1:2 con acqua distillata, ripetere la determinazione e moltiplicare il risultato x 2.

Sensibilità del metodo (LoD) : il limite di sensibilità, ovvero la concentrazione minima che può essere distinta dallo zero è 0.007 mmol/L.

Interferenze: cfr Bibliografia punto 2.

Criterio delle prove di interferenza: recupero $\pm 10\%$ del valore iniziale. Non si sono osservate interferenze su campioni con:

- bilirubina totale fino a 40 mg/dL;
- emoglobina fino a 600 mg/dL;
- acido ascorbico fino a 50 mg/dL.

Precisione nella serie: determinata su 20 replicati di due campioni. I risultati ottenuti sono i seguenti:

Campione	Media (mmol/L) $\pm 2s$	CV%
Umano 1	0.233 \square 0.004	0.7
Umano 2	0.943 \square 0.010	0.5

Precisione tra le serie: determinata per 5 giorni su 20 replicati al giorno per due campioni.

I risultati ottenuti sono i seguenti:

Campione	Media (mmol/L) $\pm 2s$	CV%
Umano 1	0.231 \square 0.005	1.0
Umano 2	0.940 \square 0.013	0.7

Accuratezza: un gruppo di 20 sieri è stato testato con questa procedura ed usando un reagente simile disponibile in commercio. Il confronto ha dato i seguenti risultati:

Regressione lineare $y = 0.9972x + 0.002$
Coefficiente di correlazione $r = 0.9997$ n = 20

BIBLIOGRAFIA

1. Textbook of Clinical Chemistry, Ed. by N.W. Tietz, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1999).
2. Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).
3. Tietz of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, W.B Saunders Co., Philadelphia (2012), (119;154; 581).

CODICE RAMO CND W01010223



OXALATE

IVD

OXALATE QUANTITATIVE COLORIMETRIC TRINDER METHOD ASSAY on URINE
with MINDRAY BS-300 Analyzer

80 tests (1 x 20 mL)



NAOX8850

INTENDED USE

Oxalate in urine is of elevated interest because it could originate from sparingly soluble calcium oxalate; this one could give calcium oxalate crystalluria and the stone formation in the urinary tract, who is considered the most important factor in urolithiasis. Oxalate in urine may increase as an end-product of intermediary metabolism or from dietary sources. A decreased excretion in the urine is associated to hyperglycemia and hyperglycosuria.

An increased excretion could be due to increased ingestion of oxalate rich food or oxalate precursors; an increased one could be also due to metabolic defects or to the absorption of oxalate in several gastrointestinal disorders who give important fat malabsorption.

PRINCIPLE

Oxalate is oxidized to carbon dioxide and hydrogen peroxide by a very specific enzyme, oxalate oxidase.

Hydrogen peroxide reacts in presence of peroxidase (POD) with MBTH (3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone) and DMAB (3-dimethylamino benzoic acid) forming a blue quinone compound. The intensity of colour is proportional to the concentration of OXALATE in the sample and it is read at 590 nm.

Using the standard contained in the kit it is possible to prepare a Calibration Curve to refer.

Plotting on the Calibration Curve absorbance values and concentration for each single sample, may be determined the concentration of each sample.

PRECAUTIONS FOR USE

1. This product has been formulated for in vitro diagnostic use.
2. A proportional variation of the reaction volumes does not change the result.
3. DO NOT mix Reagents from different Production lots.
4. For concentration of Oxalate ≥ 2.00 mmol/L, dilute the sample 1:2 with **distilled water**, repeat the determination and multiply the result by 2.
5. In addition to the possible risk indications, the Reagent can contain preservatives (as sodium azide or others), which total concentration is lower than the limits mentioned in Dir. 67/548/CEE e 88/379/CEE and following modifications regarding classification, labelling and packaging of dangerous preparations (Reagents). However it is recommended to handle the reagents carefully, avoiding ingestion and contact with eyes, mucous membranes and

skin; to use reagents according to good laboratory practice. On the material safety data sheet are detailed the operating procedures for the manipulation of this product. Material safety data sheet should be supplied on request.

ATTENTION!

- A) Applications on routine analyzers may be totally different from what developed as manual determination; in addition the procedures are specific for each analyzer.
- B) Very deep attention must be given to interfering substances: certain drugs and other substances are able to influence levels of Oxalate (see References 2).

C) The reagent must be used ONLY for the intended destinations, by expert and trained people and in according to good laboratory practice.

D) The clinical diagnosis cannot be done correctly using the result of only one test, but have to be done integrating critically the results of different laboratory tests and clinical data.

E) A lot of factors, as ambient temperature, the working reagent temperature, wash accuracy and the type of spectrophotometer, may affect the tests performances.

F) The calibration curve has to be always repeated at each change of the lot of the Reagent and/or calibrator.

G) All the precautions normally used in the laboratory must be respected for reagents handling.

REAGENTS

Components of the kit:

R1 - BUFFER

(READY TO USE)

Buffer pH 3.1 ± 0.1

> 20 mmol/L

R2 - OXOX, POD

Oxalate Oxidase (Barley)

> 2 KU/L

POD

> 1000 U/L

MBTH

> 0.2 mmol/L

DMAB

> 0.9 mmol/L

Activators, Stabilizers

R3 - PURIFIER

SAMPLE PURIFIER

20 tubes

R4 - DIL

SAMPLE DILUENT CONCENTRATED

1 x 20 mL

R5 - CAL

(READY TO USE)

1 x 5 mL

REF NAOX8850

1 x 20 mL

1 x 2 mL

20 tubes

1 x 20 mL

1 x 5 mL



OXALATE



Oxalic Acid Solution (4.5 mg/dL = 45 mg/L = 0.5 mmol/L)
 NaN₃ < 0.1%

STABILITY: the Reagents are stable up to the expiry date mentioned on the labels, stored at 2-8°C, if closed and kept in their intact primary container; if not exposed to heat sources and/or pressure variations.

In case of damaging of the primary container organize the waste disposal.

AUXILIARY REAGENTS FOR QUALITY CONTROL

To grant the right performances use following kits (see the relative information for use (IFU)):

- CI+OX CALIBRATOR liquid
- OXALATE LOW CONTROL Iyo
- OXALATE HGH CONTROL Iyo
- OXALATE URINE PURIFIER

- REF** OXACAL
- REF** OG6627
- REF** OG6502
- REF** NAOXA75

The calibration curve has to be always repeated at each change of the lot of the Reagent and/or calibrator.

PREPARATION OF THE WORKING STARTER

Dissolve a vial of **R2 - OXOX, POD** with 2 mL of DISTILLED WATER, mix gently until dissolution.

Let the reagent reach the room temperature before use.

Close immediately after handling.

The Reagents have to be used correctly, to avoid contamination.

An incompetent handling relieves us from any responsibility.

STABILITY OF THE WORKING STARTER

The WORKING STARTER is stable 30 days at 2-8°C.

PREPARATION OF THE SAMPLE DILUENT

Add 80 mL of DISTILLED WATER to **R4 - DIL**. Mix gently until complete mixing.

Let the reagent reach the room temperature before use.

Close immediately after handling.

The Reagents have to be used correctly, to avoid contamination.

An incompetent handling relieves us from any responsibility.

STABILITY OF THE SAMPLE DILUENT

The SAMPLE DILUENT is stable 3 months at 2-8°C.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Normal laboratory equipment.

Micropipettes to deliver from 3 to 1000 µL.

Disposable micropipettes tips .

Transparent glass tubes for sample dilution.

Distilled water, Controls.

Spectrophotometer or automatic analyzer for Clinical Chemistry.

SAMPLES

• No haemolyzed fresh urine, with amount of vitamin C lower than 16 mmol/L, concentration who may affect the test results.

It is recommended that patients refrain from taking excessive amounts of vitamin C or vitamin C-rich-food for at least 48-72 hours prior the urine collection.

Samples collection in compliance with CLSI (NCCLS)

(see References 3): A 24-hour urine sample is collected in a glass or plastic bottle containing 10 mL of conc. Hydrochloric acid. Record the volume in litres.

SAMPLES PRETREATMENT

1. Prepare **SAMPLE DILUENT** as mentioned before.
2. Set up a series of labelled tubes for urine samples and Controls.
3. Pipet 5 mL (or any available volume) of urine samples and Controls into proper labelled tube.
4. Add 2.5 mL of diluted **SAMPLE DILUENT** and 2.5 mL of distilled water into each previous tubes, or any available volume in the same ratio , and mix.
5. Check the pH: it have to be between 5.0 and 7.0. If not, adjust the pH with HCl 1N or NaOH 1N.
6. Set up a series of SAMPLE PURIFIER tubes(**R3 - PURIFIER**) for urine Samples and Controls.
7. Pipet 4 mL each of DILUTED urine Sample and Controls (see point 4. and 5.) to proper labelled SAMPLE PURIFIER tubes (see point 6.) and mix for about 5 minutes by intermittent mixing. We suggest a rotator mixer for mixing.
8. Centrifuge the tubes for 10/15 minutes at 3500 rpm (2600 x g) or filter on laboratory filter paper.
9. Determine the Oxalate concentration picking up the sample in the middle of the supernatant, not from the surface.
10. The Oxalate Standard (**R5 - CAL**) DOES NOT REQUIRE the SAMPLE PREPARATION procedure; it is ready-to-use in the following ANALYTICAL PROCEDURE.

WASTE DISPOSAL

Observe all federal, state and local environmental regulations for waste disposal.

ANALYTICAL PROCEDURE ON MANUAL SPECTROPHOTOMETER

- Wavelength: 590 nm (570-620 nm)
- Pathlength: 1 cm
- Reading: against air or distilled water
- Temperature: 37°C
- Method: end-point
- Reaction: 5 minutes
- Sample/reagent: 1/20/2

Let reagents reach the working temperature before use.

Pipette in 3 test tubes or cuvettes so labelled :

R/B: Blank Reagent, S: Sample and/or Controls, ST: Standard

	R/B	ST	S
R1 - BUFFER	2000 <input type="checkbox"/>	2000 <input type="checkbox"/>	2000 <input type="checkbox"/>
Distilled water	100 <input type="checkbox"/>	----	----
R5 - CAL (do not dilute)	----	100 <input type="checkbox"/>	----
Sample/Control (pretreated)	----	----	100 <input type="checkbox"/>

Mix kindly and incubate at 37°C for 5 minutes. After this one, add:

WORKING STARTER	200 <input type="checkbox"/>	200 <input type="checkbox"/>	200 <input type="checkbox"/>
------------------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------

Mix carefully and incubate at 37°C for 5 minutes, waiting the end of the reaction. Read the absorbance of the standard (Ast) and of the sample (As) against the Reagent Blank.

The color is stable for at least 60 minutes.

ATTENTION!

The kit is tested for a manual spectrophotometer and for

OXALATE

IVD

HITACHI, COBAS and MINDRAY systems. The applications on automatic analyzers could be completely different by what has been developed as manual determination.

REFERENCE VALUES (see References 1)

Normal Values Oxalate:

Adults MALES 20 - 60 mg/24 h (0.228 – 0.685 mmol/24 h)
 Adults FEMALES 20 - 55 mg/24h (0.228 – 0.627 mmol/24 h)

Since the normal values depend on age, sex, diet, geographic area and other factors, each laboratory should establish its own normal values for this procedure.

CALCULATION

Use this general formula to calculate the concentration:

Oxalate in mmol/L =

$[As / Astd] \times 0.50$ (Standard conc.) $\times 2$ (dilution factor)]

The Calibration Curve has to be always repeated for each new lot of Reagent.

Oxalate excreted during 24-hour in mmol/24 h =

Oxalate in mmol/L \times Volume of Urine voided in 24-h (in liters)

Oxalate excreted during 24-hour in mg/24 h =

Oxalate in mmol/24 h \times 90 (MW)

ANALYTICAL PERFORMANCES

(validate on MINDRAY BS300)

The performances of the Reagent **OXALATE** have been tested with a MINDRAY BS300 analyzer. The data, while representing the characteristics of the product, could be different for each laboratory and for different analyzers.

Method Limitations: are not know limitations.

Method Linearity: the test is linear up to 2.00 mmol/L.

For concentrations ≥ 2.00 mmol/L, it is recommended to dilute the sample 1:2 with distilled water, test again and multiply the result $\times 2$.

Method Sensitivity (LoD): the sensitivity limit, that is the minimum concentration that can be distinguished by zero, is 0.007 mmol/L.

Interferences: see References 2.

Interference test criterion: recovery $\pm 10\%$ of initial value. No interference found on samples with:

- total bilirubin up to 10 mg/dL;
- haemoglobin up to 600 mg/dL,
- ascorbic acid up to 50 mg/dL.

Within-run Precision: determined on 20 replications of 2 samples.

The results obtained are following:

Sample	Mean (mmol/L) $\pm 2s$	CV %
Human 1	0.233 \pm 0.004	0.7
Human 2	0.943 \pm 0.010	0.5

Run-to-run Precision: determined for 5 days with 20 replications for each days, for two samples.

The results obtained are the following:

Sample	Mean (mmol/L) $\pm 2s$	CV %
Human 1	0.231 \pm 0.005	1.0

Human 2	0.940 \pm 0.013	0.7
---------	-------------------	-----

Accuracy: a group of 20 sera has been tested using this procedure and using a similar reagent available on the market. The comparison gave these results:

Linear regression equation $y = 0.9972x + 0.002$
 Correlation coefficient $r = 0.9997$ $n = 20$

REFERENCES

1. Textbook of Clinical Chemistry, Ed. by N.W. Tietz, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1999).
2. Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).
3. Titz of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, W.B Saunders Co., Philadelphia (2012), (119;154; 581).

EDMA (EDMS) CODE 11 02 01 23 00

