

Konelab 30i (Dasit): valutazione ed impatto in un Laboratorio Ospedaliero di medie dimensioni

Ernesta Cavalcanti¹, Isabella Bruno¹, Antonella Chieffalo¹, Orlando Figoni¹, Bruno Dente¹, Nazario Bevilacqua²

¹Laboratorio di Patologia Clinica, P.O. San Paolo - ASL 1, Napoli - 80125

²Laboratorio di Patologia Clinica, A.O.R.N. A.Cardarelli - Napoli - 80131

ABSTRACT

The reliability of Konelab 30i and its practicability in the daily laboratory routine has been assessed

We validated the analytical instrument according to the main guidelines of the European Committee for Clinical Laboratory Standard. Within-run and between-run imprecision was determined with two control materials and a pool of fresh human sera. The accuracy was evaluated comparing the Konelab 30i results with the expected values from two reference materials and with the results obtained on three in-house instruments (Olympus 600, Integra 700 and Image) and calculating the regression parameters with the Passing and Bablok method. Konelab 30i showed a good within-run and between-run precision, a satisfactory accuracy and a close correlation for all biochemical parameters examined with the reference instruments. To assess the system is practicability a questionnaire with questions covering all important aspects of an analytical system was used (according to Stockman protocol). High gradings were especially given to the sections training/operation, sample processing and calibration. The practicability and the good accordance with the conventional analytical methods make the Konelab 30i a qualified instrument for routine and emergency laboratories.

RIASSUNTO

Sono state valutate le prestazioni di un analizzatore discreto, random access, selettivo per Chimica Clinica: il Konelab 30i (Dasit). Nelle prove dello strumento sono stati seguiti alcuni punti del protocollo ECCLS selezionando 13 analiti rappresentativi di metodologie differenti. L'imprecisione nella serie e tra le serie è stata valutata analizzando due sieri di controllo ed un pool di sieri provenienti da pazienti. L'inaccuratezza è stata valutata come bias % rispetto ai valori dichiarati sui sieri di controllo nonché come parametri della regressione (sec. Passing e Bablok) verso i risultati ottenuti, su sieri di pazienti, con sistemi di confronto. E' stata inoltre valutata la "praticabilità" di tale analizzatore nel nostro laboratorio, seguendo il protocollo proposto da Stockman. I risultati ottenuti hanno messo in luce una buona affidabilità del sistema analitico che pertanto può considerarsi idoneo per l'uso in laboratori di medie dimensioni ed in urgenza.

INTRODUZIONE

Al Laboratorio di Patologia Clinica dell'Ospedale S.Paolo, (NA) pervengono giornalmente circa 350 campioni con richieste di prestazioni di biochimica. Di tali campioni circa il 72%, provenienti da ricoverati e pazienti ambulatoriali, rientrano nell'attività di routine; i restanti 28% provengono da pazienti critici e vengono avviati al Settore Urgenze.

Scopo del presente studio è stato quello di valutare l'idoneità di un analizzatore discreto, random access, selettivo, caratterizzato da buona flessibilità e versatilità operativa, a soddisfare le esigenze del settore di biochimica del nostro Laboratorio sia in routine che in urgenza.

Le prove sono state eseguite, in accordo con quanto consigliato dalle linee guida del protocollo ECCLS (1) particolarmente per quanto concerne imprecisione ed inaccuratezza, determinando sia la concentrazione di substrati e proteine specifiche che l'attività di alcuni enzimi.

Si è inoltre valutata la *praticabilità* dell'analizzatore nel nostro Laboratorio, utilizzando il protocollo proposto da Stockman (2).

MATERIALI E METODI

Sistema in valutazione

Le prove sono state condotte su un analizzatore Konelab 30i (Dasit) la cui cadenza analitica è pari a 300 esami/ora (480 esami/ora se si includono le prestazioni del modulo ISE in potenziometria diretta di cui era fornito il sistema analitico da noi valutato).

Lo strumento è in grado di ospitare simultaneamente un massimo di 84 campioni (più 6 in posizione di *stat*) con flusso di lavoro walk-away, permettendo quindi caricamento e analisi in continuo dei campioni senza necessità di arresti per caricarne di nuovi.

Un vano refrigerato a +4-8 C° consente di ospitare fino a 45 reagenti differenti, in pezzature da 10, 20 e 60 ml. L'identificazione dei reattivi avviene automaticamente all'atto del loro caricamento mediante codici a barre.

La dispensazione di campioni e reagenti viene eseguita con microsiringhe di precisione (Hamilton). Il volume di campione erogabile varia da 1 a 120 µl mentre per i reagenti è compreso fra 2 e 250 µl.

L'ago dispensatore è dotato di un sensore di livello per rilevare la mancanza di campione e/o di reattivi e viene lavato sia internamente che esternamente prima di ogni erogazione.

Le cuvette di reazione (multiple) sono in materiale acrilico monouso. Il sistema ottico di lettura (340-700 nm) consente di eseguire misure di assorbimento e di torbidità.

Il Konelab 30i è controllato da una procedura di gestione sviluppata in ambiente Windows NT. Tale procedura consente di programmare il lavoro dell'analizzatore sia per singolo campione che per esame (in *batch*). E' inoltre possibile attivare la modalità *query host* qualora esista un collegamento *on-line* con il Sistema Informatico di Laboratorio ed i campioni siano identificati positivamente mediante codici a barre.

Metodiche Utilizzate

Le prove di valutazione sono state eseguite utilizzando le seguenti metodiche:

- Substrati: Bilirubina Totale, Bilirubina Diretta, Ferro, Colesterolo, Colesterolo HDL, Colesterolo LDL, Trigliceridi.

- Attività Enzimatiche: AST, ALT, GGT

- Proteine Specifiche: Proteina C Reattiva, Trasferrina

In Tabella I sono riportate in dettaglio le metodologie analitiche utilizzate.

Sistemi di confronto

Per la valutazione dell'inaccuratezza su sieri da paziente è stato utilizzato l'AU 600 (Olympus); per la Bilirubina Totale e Diretta il confronto è stato effettuato anche

con i risultati ottenuti su Integra 700 (Roche).

Per PCR e Trasferrina i risultati sono stati correlati con quelli ottenuti in nefelometria su un analizzatore Image (Beckman).

Per tutti gli strumenti sono stati utilizzati reagenti e calibratori secondo quanto consigliato dalle Ditte produttrici.

Calibratori e Controlli

Per le calibrazioni del Konelab 30i sono stati utilizzati i seguenti materiali: Cal 1 (cod. B36275010), Cal 2 (cod. B36275020), HDL/LDL (cod. B3658657), set di calibrazione per PCR (cod. B46481674) e Specical (cod. B46209970) per la Trasferrina.

Su AU 600 ed Integra 700 sono stati utilizzati i rispettivi multicalibratori: Olympus System calibrator (cod.66300) e Calibrator for automated system Roche (cod.759350) allestiti secondo le istruzioni delle ditte produttrici.

Su Image sono stati utilizzati per Trasferrina il Cal 1 (cod. 449560) e per PCR il Cal 5 plus (cod. 469975), Beckman.

Per la valutazione dell'imprecisione e della inaccuratezza sono stati utilizzati i seguenti sieri di controllo: Nor-trol (Konelab - cod. B36981043), CRP control (Konelab - cod. 981251), Lyphochek Lev 1 (Biorad - cod. 4030), Lyphochek Lev 2 (Biorad - cod. 4030). Tali prove sono state eseguite anche con un Pool allestito in Laboratorio da sieri freschi di pazienti.

Metodo di valutazione

Il protocollo sperimentale comprendeva tre fasi:

- Familiarizzazione

Tabella 1

Caratteristiche delle metodologie analitiche utilizzate per la valutazione e metodiche utilizzate sugli analizzatori di confronto

Analita	Metodo	Tipo di Reazione	Lettura (nm)	Volume Campione (µl)	Volume Finale Reazione (µl)	Metodo di confronto
Substrati						
Ferro	Ferene	Endpoint	600	20	170	Ferene
Bilirubina totale	DBD	Endpoint	540	6	216	DPD
Bilirubina diretta	Solfanilico	Endpoint	575	10	180	DPD
Colesterolo	CHOD PAP	Endpoint	510	2	242	CHOD-PAP
Colesterolo-HDL	Diretto	Endpoint	600	2	250	Diretto
Colesterolo-LDL	Diretto	Endpoint	600	2	250	Calcolo
Trigliceridi	Trinder	Endpoint	510	2	242	GPO-PAP
Enzimi						
Alanina amino transferasi	IFCC senza piridossalfosfato	Cinetica	340	15	140	IFCC senza piridossalfosfato
Aspartato amino transferasi	IFCC senza piridossalfosfato	Cinetica	340	15	140	IFCC senza piridossalfosfato
Gamma Glutamilttransferasi	SCE	Cinetica	405	12	132	IFCC-GSCC
Proteine						
Trasferrina	Immunoturbidimetria	Endpoint	340	3	158	Nefelometria
PCR	Immunoturbidimetria	Endpoint	340	30	188	Nefelometria

- Valutazione delle prestazioni analitiche
- Valutazione dei criteri di praticabilità

Familiarizzazione: effettuata in un breve periodo successivo all'installazione dello strumento sul quale sono state svolte prove preliminari di imprecisione ed accuratezza.

Valutazione delle prestazioni analitiche:

Imprecisione nella serie: valutata come Coefficiente di Variazione % delle medie (CV%) su tre serie di 20 determinazioni per ogni analita, effettuate in tre giorni consecutivi su due sieri di controllo e sul pool di sieri da paziente.

Imprecisione tra le serie: valutata come CV% delle medie su 15 giorni analizzando giornalmente in duplicato i due sieri di controllo ed utilizzando per il calcolo solo i risultati della seconda determinazione.

Inaccuratezza: valutata come bias % rispetto ai valori target dei sieri di controllo nonché come parametri della regressione (secondo Passing e Bablok) verso i risultati ottenuti sui sistemi di confronto.

La stabilità del materiale di controllo (Nortrol) è stata verificata creando 20 aliquote di cui metà conservate a -20° e metà a +4°C. I risultati ottenuti quotidianamente per 10 giorni consecutivi sono stati confrontati con quelli ottenuti sul materiale di controllo fresco.

Valutazione dei criteri di praticabilità:

È stata effettuata, secondo quanto suggerito da Stockman, attribuendo un punteggio da 0 a 10 a ciascuna delle 14 caratteristiche che compongono i 4 aspetti principali della praticabilità: Installazione, Organizzazione del lavoro, Qualità e Miscellanea.

RISULTATI

I risultati della imprecisione nella serie sono riportati in Tabella II. Per ciascun analita è riportata la media delle concentrazioni e dei CV% ottenuti, in tre giorni consecutivi, su due sieri di controllo liofilati commerciali e sul pool di sieri da paziente. Per la PCR l'imprecisione nella serie si è

potuta calcolare soltanto sul pool di sieri allestito in Laboratorio e, ad una concentrazione di PCR pari a 2.5 mg/dl, ha mostrato un CV medio di 2.1%. In tutti i casi analizzati il CV% si è mantenuto al di sotto del 3% con la sola eccezione della GGT nel controllo Nortrol (4%).

In Tabella III sono riportati i risultati dell'imprecisione tra le serie ottenuti analizzando due sieri di controllo liofilati commerciali per 15 giorni consecutivi. I CV% si sono mantenuti al di sotto del 5% con la sola eccezione del Colesterolo LDL in cui si è misurata, con il Nortrol, una imprecisione pari al 6%.

Le medie delle concentrazioni ottenute, per ciascun analita, durante le prove di inaccuratezza sono state confrontate con il valore assegnato ai materiali di controllo. I dati sono riassunti in Tabella IV. Per la PCR ad un valore di 3.2 mg/dl del PCR control, lo scostamento era del -8%.

Per la verifica dell'inaccuratezza su sieri da paziente sono stati analizzati, in 10 giorni lavorativi, circa 80 sieri da paziente per tutti gli analiti. Per ciascun test venivano scelte concentrazioni sieriche che coprivano tutto l'intervallo analitico.

In Tabella V sono riportati i valori di regressione fra i dati di concentrazione ottenuti su Konelab 30i e sugli analizzatori di confronto per tutti gli analiti studiati. L'analisi dei dati ha messo in evidenza una deviazione dalla linearità statisticamente significativa fra Konelab 30i e strumenti di controllo per PCR, Transferrina, ALT, GGT e Bilirubina Diretta.

In Figura 1 sono state riportate graficamente le rette di regressioni secondo Passing e Bablok per Bilirubina Diretta (confronto dei dati ottenuti su Konelab 30i verso quelli ottenuti sia su Olympus 600 che su Integra 700), AST e PCR.

I risultati ottenuti valutando la praticabilità sono riportati in Tabella VI. La valutazione della praticabilità è stata più che soddisfacente per tutti i punti. Particolarmente elevato è stato il punteggio attribuito al primo gruppo di caratteristiche inerenti l'installazione dello strumento.

Tabella 2

Imprecisione nella serie. Medie dei valori ottenuti in tre giorni consecutivi

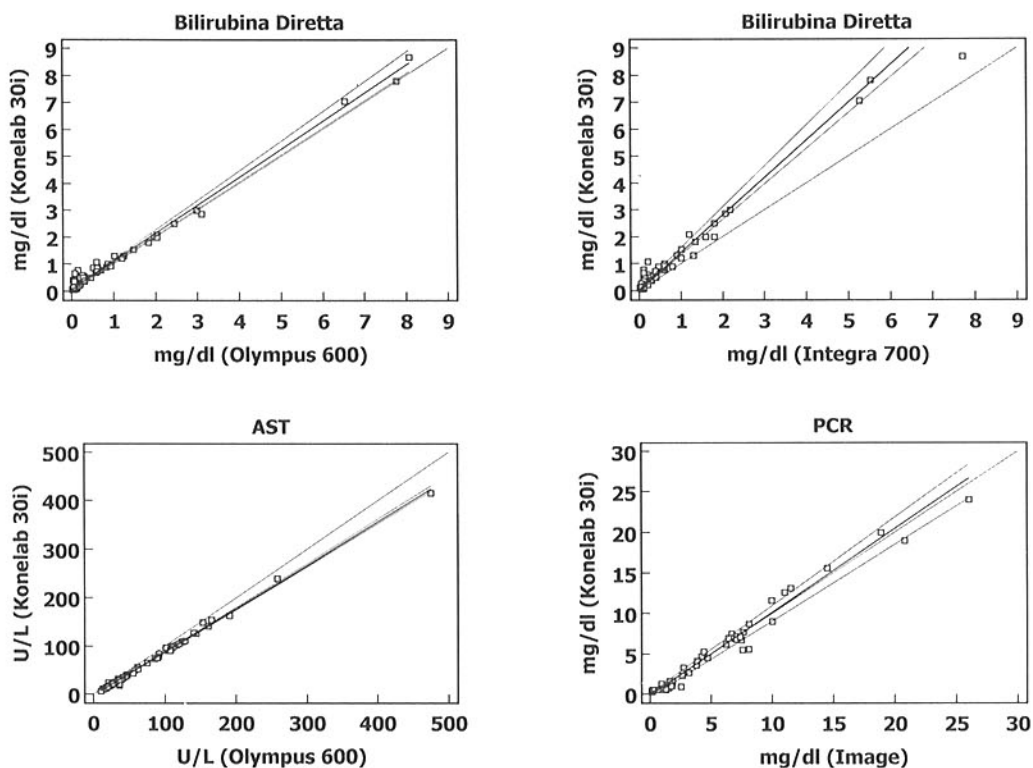
	Nortrol		Lyphocheck Lev 2		Pool di Sieri	
	Media	CV%	Media	CV%	Media	CV%
Ferro (mg/dl)	104	1.3	70	2.5	81	1.1
Trasferrina (mg/dl)	238	1.9	173	2.4	255	2.3
Bilirubina totale (mg/dl)	0.66	2.4	4.48	1.4	0.87	1.7
Bilirubina diretta (mg/dl)	0.29	3.0	1.46	1.5	0.34	1.1
Colesterolo (mg/dl)	159	1.7	127	1.8	192	1.5
Colesterolo HDL (mg/dl)	24	2.9	31	2.4	44	1.6
Colesterolo LDL (mg/dl)	91	2.7	81	1.6	103	2.3
Trigliceridi (mg/dl)	89	1.6	94	1.5	127	1.8
GGT (U/L)	37	4.0	178	2.5	62	1.9
ALT (U/L)	33	2.6	90	1.3	28	2.0
AST (U/L)	36	3.0	169	1.4	33	2.0
PCR (mg/dl)	*	*	*	*	2.5	2.1

*Valori non disponibili

Tabella 3

Imprecisione tra le Serie. Medie dei valori ottenuti in 15 giorni consecutivi

	Nortrol		Lyphocheck Lev 2	
	Media	CV%	Media	CV%
Ferro (mg/dl)	103	1.2	224	1.2
Trasferrina (mg/dl)	233	2.2	235	2.8
Bilirubina totale (mg/dl)	0.67	4.1	0.95	2.1
Bilirubina diretta (mg/dl)	0.29	5.0	0.47	4.7
Colesterolo (mg/dl)	158	2.4	277	1.2
Colesterolo HDL (mg/dl)	24	4.6	44	1.5
Colesterolo LDL (mg/dl)	91	6.0	146	4.0
Trigliceridi (mg/dl)	89	3.0	213	1.5
GGT (U/L)	36	4.7	64	3.0
ALT (U/L)	33	4.2	33	2.5
AST (U/L)	36	3.6	28	3.5

**Figura 1**

Regressione sec. Passing-Bablok fra i risultati ottenuti su Konelab 30i e analizzatori di confronto relativamente a Bilirubina Diretta (1a = Konelab 30i vs. Olympus 600; 1b = Konelab 30i vs. Integra 700), AST (1c = Konelab 30i vs. Olympus 600) e PCR (1d = Konelab 30i vs. Image)

La verifica della stabilità del siero Nortrol mantenuto a -20°C ed a 4°C per 10 giorni consecutivi ha confermato che le concentrazioni di tutti gli analiti presi in considerazione si mantengono sostanzialmente immutate in entrambe le condizioni di conservazione con un buon recupero rispetto al valore atteso (dati non riportati).

DISCUSSIONE

Buona la riproducibilità del sistema: i CV% ottenuti dalla valutazione dell'imprecisione nella serie su tutti gli analiti valutati, non superavano mai il 3% con la sola eccezione della GGT che, solo sul siero di controllo Nortrol, era del 4%. Tale risultato, non essendo confermato dai valori ottenuti sull'altro siero di controllo e sul pool di

Tabella 4

Inaccuratezza, espressa come percentuale di scostamento (Bias%) rispetto ai valori di concentrazione dichiarati per i sieri di controllo

	Nortrol		Lyphocheck Lev 1	
	Valore Assegnato	Bias%	Valore Assegnato	Bias%
Ferro (mg/dl)	103	+1.0	240	-6.6
Trasferrina (mg/dl)	223	+4.5	236	-0.4
Bilirubina totale (mg/dl)	0.70	-4.3	0.8	+18
Bilirubina diretta (mg/dl)	*	*	0.41	+14
Colesterolo (mg/dl)	151	+4.6	263	+5.0
Colesterolo HDL (mg/dl)	*	*	*	*
Colesterolo LDL (mg/dl)	*	*	*	*
Trigliceridi (mg/dl)	89	0.0	219	+2.7
GGT (U/L)	35	+2.9	63	+1.3
ALT (U/L)	34	-2.9	37	-10.7
AST (U/L)	37	-2.7	33	-15.0
PCR (mg/dl)	3.2	-8.0	*	*

*Valori non dichiarati

Tabella 5

Parametri della Regressione sec. Passing-Bablok fra i risultati forniti dal Konelab 30i e quelli misurati sugli analizzatori di controllo. Viene riportato, inoltre, se la regressione è lineare o se esistono scostamenti significativi dalla linearità (non lineare)

Analiti	n.	Parametri della retta	Regressione
PCR	48	$y = -0.1511 + 1.0293x$	Non lineare
Trasferrina (mg/dl)	72	$y = 7.8110 + 0.9867x$	Non lineare
Ferro	72	$y = 2.7065 + 1.0632x$	Lineare
Bilirubina totale	72	$y = 0.0876 + 0.9758x$	Lineare (Olympus 600)
Bilirubina totale	72	$y = 0.1500 + 1.0000x$	Lineare (Integra 700)
Bilirubina diretta	72	$y = 0.0606 + 1.0384x$	Non lineare (Olympus 600)
Bilirubina diretta	72	$y = 0.0367 + 1.3889x$	Non lineare (Integra 700)
Colesterolo	72	$y = 6.0366 + 1.0133x$	Lineare
Colesterolo HDL	72	$y = -8.4286 + 1.2381x$	Lineare
Colesterolo LDL	72	$y = -4.1093 + 0.9657x$	Lineare
Trigliceridi	72	$y = -4.2713 + 0.9910x$	Lineare
AST	72	$y = -2.3636 + 0.8977x$	Lineare
ALT	72	$y = -1.3571 + 0.9286x$	Non lineare
GGT	72	$y = 3.9112 + 1.0022x$	Non lineare

sieri umani, induce a ritenere comunque che il sistema possa garantire anche su GGT una buona riproducibilità.

I dati della imprecisione fra le serie sono tutti soddisfacenti. Il CV% ottenuto per il Colesterolo HDL sul siero di controllo Nortrol è risultato comunque di poco superiore al traguardo analitico calcolato sulla base della variabilità biologica (3).

Gli scostamenti dei valori ottenuti sui due sieri di controllo, rispetto ai valori assegnati, indicano in generale, una buona accuratezza del sistema. Il Bias dell'8% ottenuti per la PCR sul siero Nortrol si può attribuire alla qualità del siero in esame non dedicato all'analisi delle proteine specifiche.

Ottime le correlazioni ottenute per tutti gli analiti con i sistemi di confronto. La distribuzione dei dati per Colesterolo HDL non omogenea intorno alla retta di regressione,

indica, probabilmente, la necessità di una maggiore frequenza di calibrazione rispetto a quanto indicato alla casa produttrice.

La discreta correlazione dei risultati ottenuti sul Konelab e su Olympus 600 per la Bilirubina Diretta non è stata confermata da quelli ottenuti su Konelab ed Integra 700. La sottostima di quest'ultimo sistema risultava evidente anche dalle analisi di sieri di controllo con valori assegnati di Bilirubina Diretta (dati non riportati).

Per quanto concerne la valutazione della praticabilità dello strumento, l'alto punteggio attribuito al primo gruppo di criteri era motivato dalla facilità di inserimento dell'analizzatore in laboratorio, dalla sua totale assenza di rumore, dal ridotto consumo idrico, dalle ridotte dimensioni e dal suo intuitivo utilizzo. Pertanto l'inserimento dello strumento nella routine di Chimica Clinica è stato con entusiasmo

Tabella 6
Valutazione della Praticabilità con la tecnica di Stockman

Aspetto	Caratteristica	Punteggio
Installazione	Installazione	10
	Arrangiamento spaziale	10
	Training	10
Organizzazione del Lavoro	Accensione/Spengimento	10
	Analisi dei Campioni	9
	Maneggevolezza dei Reagenti	8
	Flusso di Lavoro	10
Qualità	Tempistica	10
	Monitoraggio	9
	Calibrazione	9
Miscellanea	Controllo di Qualità	10
	Elaborazione dei Risultati	10
	Versatilità	10
	Manutenzione	9

accettato dagli operatori di tale Settore. Inoltre, l'utilizzo di cuvette di reazione monouso, oltre a ridurre i tempi previsti per le procedure di fine lavoro garantisce l'assenza di carry-over.

Anche al secondo gruppo di caratteristiche è stata attribuita un'ottima valutazione. Per quanto riguarda i reagenti essi sono per la maggior parte liquidi e pronti all'uso, ben adattabili ad un settore di routine. Prevedendo l'uso

dell'analizzatore anche in urgenza, sarebbe invece auspicabile disporre dell'intera gamma dei reagenti pronti all'uso.

Per tutti i test sono risultate ottime le stabilità delle calibrazioni e semplici le procedure di esecuzione.

L'utilizzo di un sistema turbidimetrico, anche se comporta una frequenza di calibrazioni per le proteine specifiche superiore a quella richiesta dai sistemi nefelometrici, tuttavia consente di accentrare gran parte del lavoro afferente al Settore su un unico sistema analitico.

In conclusione il sistema ha dimostrato buona affidabilità analitica nonché facilità e flessibilità di utilizzo, qualità che lo rendono idoneo ad un Laboratorio di medie dimensioni o in urgenza.

Inoltre, essendo Konelab 30i un sistema aperto è possibile caricare metodiche speciali e pertanto prevedere un suo utilizzo anche a scopo di ricerca.

BIBLIOGRAFIA

1. European committee for Clinical laboratory standard: Guidelines for the evaluation of analyzers in Clinical Chemistry. 3rd draft Berlin Beuth Verlag GmbH, ECCLS document. 1986. Vol 3, n.2.
2. Stockman W, Bablok W, Poppe W, Bayer PM, Keller F, Schweiger CR. Criteria of practicability. In: Haeckel R, editor. Evaluation Methods in Laboratory Medicine. VCH Verlagsgesellschaft 1993; 185-201.
3. Brambilla S, Pagani A, Luraschi P, Infusino I, Franzini C. Variabilità Biologica intra ed inter individuale: aggiornamento. *Biochim Clin* 2000; 24: 167-174