

i-STAT G Cartridge

Avsedd för användning med i-STAT 1 Analyzer (REF 04P75-01 och 03P75-06)

NAMN

i-STAT G Cartridge – REF 03P83-25



AVSEDD ANVÄNDNING

i-STAT-systemets glukostest är avsett för kvantifiering *in vitro* av glukos i arteriellt, venöst eller kapillärt helblod.

Glukosmätningar används vid diagnos, övervakning och behandling av störningar i kolhydratmetabolismen vid sjukdomar som diabetes mellitus, neonatal hypoglykemi, idiopatisk hypoglykemi och cellkarcinom i de Langerhanska öarna.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING/KLINISK SIGNIFIKANS

Uppmätt:

Glukos (Glu)

Glukos är en av kroppens primära energikällor och den enda näringskällan för hjärnvävnad. Mätningar för bestämning av glukosnivåer i blodet är viktiga vid diagnos och behandling av patienter som lider av diabetes och hypoglykemi. Några orsaker till höga glukosvärden är diabetes mellitus, pankreatit, endokrina sjukdomar (som Cushings syndrom), läkemedel (som steroider eller tyreotoxikos), kronisk njursvikt, stress eller intravenös glukosinfusion. Några orsaker till låga glukosvärden är insulinom, adrenokortikal insufficiens, hypopituitarism, allvarlig leversjukdom, etanolintag, reaktiv hypoglykemi och glykogenupplagringssjukdom.

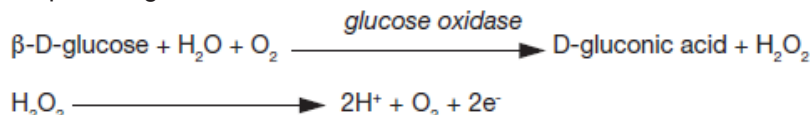
TESTPRINCIP

i-STAT-systemet använder direkta (utspädda) elektrokemiska metoder. Värden som erhålls med direkta metoder kan skilja sig från de som erhålls med indirekta (utspädda) metoder. ¹

Uppmätt:

Glukos (Glu)

Glukos mäts amperometriskt. Oxidation av glukos, som katalyseras av enzymet glukosoxidas, ger väteperoxid (H_2O_2). Frigjord H_2O_2 oxideras vid elektroden och producerar en ström som är proportionell mot provets glukoskoncentration.



Nedan visas information om faktorer som påverkar resultaten. Vissa ämnen, exempelvis läkemedel, kan påverka analytnivåerna *in vivo*. ² Om resultaten inte överensstämmer med den kliniska bedömningen ska patientprovet testas på nytt med en annan kassett.

REAGENS

Innehåll

Varje i-STAT-kassett innehåller en referenselektrod (när potentiometriska givare ingår i kassettkonfigurationen), givare för mätning av specifika analyter och en buffrad vattenlösning som innehåller kända koncentrationer av analyter och konserveringsmedel. Nedan visas en lista med reaktiva ingredienser för i-STAT G Cartridge:

Givare	Reaktiv ingrediens	Biologisk källa	Minsta kvantitet
Glu	Glukos	N/A	7 mmol/L
	Glukosoxidas	<i>Aspergillus niger</i>	0,002 IU

Varningar och försiktighetsåtgärder

- För *in vitro*-diagnostisk användning
- Kassetterna är endast avsedda för engångsbruk. Får ej återanvändas.
- Läs mer om varningar och försiktighetsåtgärder i handboken till systemet i-STAT 1.

Förvaringsförhållanden

- Förvaras i kylskåp vid 2–8 °C (35–46°F) till utgångsdatum.
- Rumstemperatur vid 18–30 °C (64–86°F). Se kassettförpackningen för hållbarhet.

INSTRUMENT

i-STAT G Cartridge är avsedd för användning med i-STAT 1 Analyzer REF 04P75-01 (modell 300-G) och REF 03P75-06 (modell 300W).

PROVTAGNING OCH -BEREDNING FÖR ANALYS

Provtyper

Arteriellt, venöst eller kapillärt helblod.

Provvolum: 65 µL

Insamlingsalternativ och tidfönster (tiden från insamling till påfyllning av kassetten)

Analyt	Sprutor	Tidfönster	Vakuumsrör	Tidfönster	Kapillär rör	Tidfönster
Glukos	Utan antikoagulant	3 minuter	Utan antikoagulant	3 minuter	Med balanserat heparin som antikoagulant eller litiumheparin om det är märkt för mätning av elektrolyter	3 minuter
	Med balanserat heparin eller litiumheparin som antikoagulant (sprutan måste fyllas enligt tillverkarens rekommendationer) Blanda ordentligt innan du fyller på kassetten.	30 minuter	Med litiumheparin som antikoagulant (rören måste fyllas på enligt tillverkarens rekommendationer) Blanda noggrant innan du fyller på kassetten.	30 minuter		

PROCEDUR FÖR KASSETTESTNING

Varje kassett är förseglad i en folieförpackning som skyddar under förvaringen – använd inte om det har gått hål i påsen.

- Kassetten får inte tas ut ur skyddsförpackningen förrän den håller rumstemperatur (18-30 °C eller 64-86 °F). För bästa resultat ska både kassetten och analysatorn hålla rumstemperatur.
- Eftersom kondens på en kall kassett kan förhindra ordentlig kontakt med analysatorn ska du låta kylda kassetter nå rumstemperatur innan du använder dem, 5 minuter för en enda kassett och 1 timme för en hel låda.
- Använd kassetten omedelbart efter att du tagit ut den ur skyddsförpackningen. Långvarig exponering kan göra att en kassett inte klarar kvalitetskontrollen.
- Lägg inte tillbaka öppnade, tidigare kylda kassetter i kylan.
- Du kan förvara kassetter i rumstemperatur så länge som det står på förpackningen.

Fylla och försegla kassetten (när kassettsens temperatur har stabiliserats och blodprovet har tagits)

1. Placera kassetten på en plan yta.
2. Blanda provet noggrant. Vänd upp och ned på blodprovsvör med litiumheparin minst 10 gånger. Om provet togs med en spruta ska du vända sprutan upp och ned i 5 sekunder och sedan rulla sprutan mellan handflatorna (händerna parallella med marken) i 5 sekunder, för att sedan vända och rulla i ytterligare 5 sekunder. Blodet i sprutans nav blandas inte, så tryck ut 2 droppar innan du fyller på kassetten. Observera att det kan vara svårt att blanda prover ordentligt i en spruta på 1,0 mL.
3. Fyll på kassetten omedelbart efter blandningen. Rikta sprutans nav eller spetsen på överföringsenheten (kapillärrör, pipett eller dispenseringspets) mot kassettsens provbrunn.
4. Dispensera provet långsamt i provbrunnen tills provet når påfyllningsmärket på kassetten. Kassetten är korrekt fylld när provet når märket "fill to" (fyll hit) och en liten mängd prov finns i provbrunnen. Provet ska vara kontinuerligt, inga bubblor eller mellanrum (mer information finns i handboken till systemet).
5. Vik snäpplocket över provbrunnen.

Utföra patientanalys

1. Tryck på strömknappen för att starta handenheten.
2. Tryck på 2 för *i-STAT Cartridge*.
3. Följ instruktionerna på handenheten.
4. Skanna partinumret på kassettförpackningen.
5. Fortsätt med normala rutiner för att förbereda provet, fylla på och sedan försegla kassetten.
6. Tryck in den förseglade kassetten i handenhetens port tills den klickar på plats. Vänta tills testet är färdigt.
7. Granska resultaten.

Mer information om kassettestning finns i handboken till systemet i-STAT 1 på adressen www.pointofcare.abbott.

Analystid

Cirka 130–200 sekunder

Kvalitetskontroll

Kvalitetskontrollprogrammet i-STAT består av fyra delar, och systemet är utformat för att minska risken för fel:

1. En serie automatiska kvalitetsmätningar online som övervakar givare, flödesteknik och instrument varje gång ett test utförs.
2. En serie automatiska procedurkontroller online som övervakar användaren varje gång ett test utförs.

3. Det finns flytande material för att verifiera prestandan hos ett parti kassetter när de först tas emot eller när förvaringsförhållandena är tveksamma. Att utföra den här proceduren är inte en systeminstruktion från tillverkaren.
4. Traditionella kvalitetskontrollmätningar som verifierar instrumentet med hjälp av en oberoende enhet som simulerar de elektrokemiska givarnas egenskaper på ett sätt som betonar instrumentets prestandaegenskaper.

Mer information om kvalitetskontroll finns i handboken till systemet i-STAT 1 på adressen www.pointofcare.abbott.

Kalibreringsverifiering

Kalibreringsverifiering är en procedur som är avsedd att verifiera resultatens noggrannhet över hela mätområdet för ett test. Att utföra den här proceduren är inte en systeminstruktion från tillverkaren. Däremot kan det krävas av tillsynsmyndigheter eller godkännandeorgan. Satsen för kalibreringsverifiering innehåller fem nivåer, du kan verifiera mätområdet med den lägsta, högsta och den medelhöga nivån.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

TEST	ENHETER *	RAPPORTERBART INTERVALL	REFERENS- INTERVALL ³	
			(arteriellt)	(venöst)
UPPMÄTT				
Glu	mmol/L	1,1–38,9	3,9–5,8	
	mg/dL	20–700	70–105	
	g/L	0,20–7,00	0,70–1,05	

* i-STAT-systemet kan konfigureras med önskade enheter. (Se Enhetsomvandling nedan.)

Enhetsomvandling:

- o **Glukos (Glu):** Om du vill omvandla mg/dL till mmol/L multiplicerar du mg/dL-värdet med 0,055.

i-STAT-referensintervallen för helblod som anges ovan liknar referensintervallen som härleds från serum- eller plasmamätningar med vanliga laboratoriemetoder.

Referensområdena ovan som programmerats i analysatorn är avsedda att användas som riktlinjer när resultaten ska tolkas. Eftersom referensområdena kan variera beroende på demografiska faktorer som ålder, kön och arv bör referensområden fastställas för den testade populationen.

METROLOGISK SPÅRBARHET

Den uppmätta analyten i i-STAT G Cartridge kan spåras till följande referensmaterial eller metoder. i-STAT-systemets kontroller och material för kalibreringsverifiering är enbart validerade för användning med i-STAT-systemet och de tilldelade värdena kanske inte är kommutativa med andra metoder.

Glukos (Glu)

i-STAT-systemets test för glukos mäter glukoskoncentrationen i plasmafraktionen av arteriellt, venöst eller kapillärt helblod (dimension mmol L⁻¹) för *in vitro*-diagnostisk användning. De glukosvärden som tilldelats i-STAT-systemets kontroller och material för kalibreringsverifiering kan spåras till U.S. National Institute of Standards and Technology (NIST) standardreferensmaterial SRM965.

Mer information om metrologisk spårbarhet finns hos Abbott Point of Care Inc.

PRESTANDAEGENSKAPER

De typiska prestandadata som sammanfattas nedan samlades in på vårdinrättningar av sjukvårdspersonal som utbildats i användningen av i-STAT-systemet och jämförelsemetoderna.

Noggrannhet

Noggrannhetsdata har samlats in på flera platser och testats enligt följande: Dubbletter av varje kontrollvätska testades på morgonen och på eftermiddagen i fem dagar vilket gav totalt 20 replikat. Den genomsnittliga statistiken visas nedan.

Test	Enheter	Vattenbaserad kontroll	Medelvärde	SD (standardavvikelse)	CV (%) [variationskoefficient (%)]
Glu	mg/dL	Nivå 1	41,8	0,68	1,6
		Nivå 3	289	2,4	0,8

Metodjämförelse

Metodjämförelsedata samlades in enligt CLSI-riktlinjen EP9-A.⁴

Demingregressionsanalys⁵ utfördes på det första replikatet i varje provuppsättning. I metodjämförelsetabellen är n antalet prover i datauppsättningen, Sxx och Syy avser feluppskattningar baserat på dubbletterna i jämförelsemetoden respektive i-STAT-metoden, Sy.x är standardfelet för uppskattningen och r är korrelationskoefficienten.*

Metodjämförelser varierar mellan olika platser på grund av skillnader i provhanteringen, kalibreringen av jämförelsemetoden och andra platsberoende variabler.

* Här sammanfattas den vanliga varningen som rör användning av regressionsanalys som en påminnelse. För alla analyter gäller följande: "Om data samlas in över ett smalt intervall är uppskattningen av regressionsparametrarna relativt oprecis och kan vara partisk. Därför kan förutsägelser som görs från dessa uppskattningar vara ogiltiga."⁵ Korrelationskoefficienten, r, kan användas som vägledning för att bedöma hur lämpligt intervallet i jämförelsemetoden är för att motverka det här problemet. En riktlinje är att dataintervallet kan anses vara lämpligt om $r > 0,975$.

Glukos/Glu (mg/dL)		Beckman Coulter LX20®	Bayer 860	Dade Dimension RxL-Xpand
Venösa blodprover samlades in i Vacutainer®-rör med litiumheparin och analyserades med dubbelprover med i-STAT-systemet. En del av provet centrifugerades och plasmadelen analyserades med dubbelprover i jämförelsemetoder inom 20 minuter efter provtagningen.	n	35	40	32
	Sxx	2,21	4,71	0,98
	Syy	0,69	0,96	0,59
	Lutning	1,03	0,99	1,01
	Intercept	-3,39	-1,67	-0,85
	Sy.x	0,91	0,70	1,57
	Xmin	45	58	48
	Xmax	297	167	257
	r	0,999	0,993	0,998

FAKTORER SOM PÅVERKAR RESULTATET

Följande ämnen utvärderades i plasma för analyten glukos vid de testkoncentrationer som rekommenderas i CLSI-riktlinjen EP7-A2 ⁶ om inget annat anges. För de ämnen som identifierades som interfererande beskrivs störningen.

Ämne	Testkoncentration (mmol/L)	Analyt	Interferens (Ja/Nej)	Kommentar
Acetaldehyd	0,045 ⁷	Glu	Nej	
Paracetamol	1,32	Glu	Ja	Ökade resultatet
Paracetamol (terapeutisk)	0,132 ⁷	Glu	Nej	
Acetoacetat	2,0	Glu	Nej	
Acetylcystein	10,2	Glu	Ja	Minskade resultatet
Acetylcystein (terapeutisk)	0,3 ^{8 9}	Glu	Nej	
Askorbat	0,34	Glu	Nej	
Bromid	37,5	Glu	Ja	Minskade resultatet Använd en annan metod.
Bromid (terapeutisk)	2,5 ^{10 11 12}	Glu	Ja	Minskade resultatet
β-hydroxibutyrat	6,0 ¹³	Glu	Nej	
Dopamin	0,006	Glu	Nej	
Formaldehyd	0,133 ⁷	Glu	Nej	
Hydroxiurea	0,92	Glu	Ja	Ökade resultatet. Använd en annan metod.
Laktat	6,6	Glu	Nej	
Maltos	13,3	Glu	Nej	
Natriumtiosulfat	16,7 ¹⁴	Glu	Ja	Minskade resultatet
Pyruvat	0,31	Glu	Nej	
Salicylat	4,34	Glu	Nej	
Tiocyanat	6,9	Glu	Ja	Minskade resultatet
Tiocyanat (terapeutisk)	0,5 ⁷	Glu	Nej	
Urinsyra	1,4	Glu	Nej	

Graden av interferens kan vara oförutsägbar vid andra koncentrationer än de rapporterade. Det är möjligt att det förekommer andra interfererande ämnen än de som testats.

Nedan ges relevanta kommentarer angående interferens av paracetamol, acetylcystein, bromid, hydroxiurea och natriumtiosulfat:

- Paracetamol har visat sig interferera med glukosresultat i i-STAT G Cartridge vid en koncentration som föreskrivs i CLSI-riktlinjen, 1,32 mmol/L, som representerar en giftig koncentration av paracetamol. Paracetamol vid 0,132 mmol/L, som representerar den övre änden av det terapeutiska koncentrationsintervallet, har inte visat sig interferera avsevärt med glukosresultat för i-STAT G Cartridge.
- Acetylcystein har testats på två nivåer: den rekommenderade nivån enligt CLSI och en koncentration på 0,30 mmol/L. Den senare är 3 gånger den högsta terapeutiska plasmakoncentrationen i samband med behandling av paracetamolförgiftning. APOC har inte identifierat något terapeutiskt tillstånd som skulle leda till nivåer som överensstämmer med den rekommenderade nivån enligt CLSI. Acetylcystein vid en koncentration på 10,2 mmol/L minskade glukosresultatet från i-STAT medan acetylcystein vid en koncentration på 0,3 mmol/L inte interfererade signifikant med glukosresultatet från i-STAT.
- Bromid har testats på två nivåer: den rekommenderade nivån enligt CLSI och en terapeutisk plasmakoncentration på 2,5 mmol/L. Den senare är den högsta plasmakoncentrationen som associeras med halotananestesi där bromid frigörs. APOC har inte identifierat något terapeutiskt tillstånd som skulle leda till nivåer som överensstämmer med den rekommenderade nivån enligt CLSI. Bromid som testades vid koncentrationer på 2,5 och 37,5 mmol/L minskade glukosresultatet från i-STAT.

- Hydroxiurea är en DNA-synteshämmare som används vid behandling av olika former av cancer, sickelcellanemi och HIV-infektion. Det här läkemedlet används till att behandla maligniteter som melanom, metastatisk äggstockscancer och kronisk myeloisk leukemi. Ämnet används också vid behandling av polycytemia vera, trombocytemi och psoriasis. Vid typiska doser från 500 mg till 2 g/dag kan koncentrationer av hydroxiurea i patientens blod bibehållas vid cirka 100 till 500 µmol/L. Högre koncentrationer kan observeras strax efter dosering eller vid högre terapeutiska doser.
- Natriumtiosulfat är indicerat för behandling av akut cyanidförgiftning. Journalartikeln med rubriken "Falsely increased chloride and missed anion gap elevation during treatment with sodium thiosulfate" (Felaktig ökning av klorid och missat förhöjt anjongap vid behandling med natriumtiosulfat) indikerade att natriumtiosulfat kan användas vid behandling av kalcifylax, och man kom exempelvis fram till följande: "the highest concentration likely to be seen in plasma [is] after infusion of a 12.5 g dose of sodium thiosulfate pentahydrate. Assuming that the 12.5 g dose of sodium thiosulfate pentahydrate is distributed in a typical blood volume of 5 L with a hematocrit of 40%, the peak sodium thiosulfate plasma concentration expected is 16.7 mmol/L." (den högsta koncentrationen som förmodligen ses i plasma är efter infusion av en dos på 12,5 g natriumtiosulfat pentahydrat. Förutsatt att dosen på 12,5 g natriumtiosulfat pentahydrat är fördelad i en typisk blodvolym på 5 L med en hematokrit på 40 % så är den förväntade högsta plasmakoncentrationen av natriumtiosulfat 16,7 mmol/L.)¹⁴

ANDRA FAKTORER SOM PÅVERKAR RESULTATET

Faktor	Analyt	Effekt
Låta blodet stå	Glu	Glukosvärdena minskar över tid i helblodsprover. Glukosvärdena i venöst blod kan vara så mycket som 7 mg/dL lägre än glukosvärdena i kapillärblod på grund av vävnadsanvändningen. ¹⁵
pH-beroende	Glu	Glukosresultat från i-STAT är beroende av pH-värdet enligt följande: Värden under 7,4 vid 37 °C minskar resultaten med cirka 0,9 mg/dL (0,05 mmol/L) per 0,1 pH-enheter. Värden över 7,4 vid 37 °C ökar resultaten med cirka 0,8 mg/dL (0,04 mmol/L) per 0,1 pH-enheter.
PO ₂ -beroende	Glu	Glukosresultat från i-STAT är beroende av PO ₂ -värdet enligt följande: Syrgasnivåer på mindre än 20 mmHg (2,66 kPa) vid 37 °C kan minska resultatet.

SYMBOLFÖRKLARINGAR

Symbol	Definition/användning
14	14 dagars förvaring i rumstemperatur vid 18–30 °C.
	Använd före eller utgångsdatum. Utgångsdatumet, uttryckt som ÅÅÅÅ-MM-DD, anger den sista dagen som produkten kan användas.
LOT	Tillverkarens partinummer eller batchkod. Partinumret eller batchkoden visas bredvid den här symbolen.
	Tillräckligt för <n> tester.
EC REP	Auktoriserad representant för regel- och tillsynsfrågor i EU.
	Temperaturgränser. Du hittar de övre och nedre temperaturgränserna vid förvaring bredvid de övre och nedre armarna.
REF	Katalognummer, listnummer eller referens.
	Får ej återanvändas.
	Tillverkare.
	Läs mer i bruksanvisningen eller systemhandboken.
IVD	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik.
CE	Uppfyller EU-direktivet för <i>in vitro</i> -diagnostiska produkter (98/79/EG).
Rx ONLY	Endast på förskrivning.

Ytterligare information: Om du vill ha mer produktinformation och teknisk support kan du besöka företagets webbplats på adressen www.pointofcare.abbott.

Referenser

1. Tietz NW, Pruden EL, Siggaard-Andersen O. Electrolytes. In: C.A. Burtis and E.R. Ashwood, ed. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Second Edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994.
2. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. 3rd ed. ed. Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry; 1990.
3. Painter PC, Cope JY, Smith JL. Reference Ranges, Table 41–20. In: C.A. Burtis and E.R. Ashwood, ed. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Second Edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994.
4. CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. *CLSI document EP9-A*. 1995.
5. Cornbleet PJ, Gochman N. Incorrect least-squares regression coefficients in method-comparison analysis. *Clinical Chemistry*. 1979;25(3).
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition. *CLSI document EP7-A2*. 2005.
7. Wu AHB. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*: Elsevier Health Sciences; 2006.
8. Whillier S, Raftos JE, Chapman B, Kuchel PW. Role of N-acetylcysteine and cystine in glutathione synthesis in human erythrocytes. *Redox Report*. 2009;14(3):115-121.
9. Ventura P, Panini R, Pasini MC, Scarpetta G, Salvioli G. N-acetyl-cysteine reduces homocysteine plasma levels after single intravenous administration by increasing thiols urinary excretion. *Pharmacological Research*. 1999;40(4):345-350.
10. Hankins DC, Kharasch ED. Determination of the halothane metabolites trifluoroacetic acid and bromide in plasma and urine by ion chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*. May 1997;692(2):413-418.
11. Kharasch ED, Hankins D, Mautz D, Thummel KE. Identification of the enzyme responsible for oxidative halothane metabolism: Implications for prevention of halothane hepatitis. *Lancet*. May 1996;347(9012):1367-1371.
12. Morrison JE, Friesen RH. Elevated serum bromide concentrations following repeated halothane anaesthesia in a child. *Canadian Journal of Anaesthesia*. October 1990;37(7):801-803.
13. Charles RA, Bee YM, Eng PHK, Goh SY. Point-of-care blood ketone testing: Screening for diabetic ketoacidosis at the emergency department. *Singapore Medical Journal*. November 2007;48(11):986-989.
14. Wendroth SM, Heady TN, Haverstick DM, et al. Falsely increased chloride and missed anion gap elevation during treatment with sodium thiosulfate. *Clinica Chimica Acta*. April 2014;431:77-79.
15. Young DS, Bermes EW. Influence of Site Collection on Blood Gases and pH. In: C.A. Burtis and E.R. Ashwood, ed. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Second Edition ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994.

i-STAT is a trademark of the Abbott Group of companies.

Diprivan is a registered trademark of the AstraZeneca group of companies.

Pentothal Sodium is a registered trademark of Abbott Labs., USA.

Nesdonal Sodium is a registered trademark of Specia, France.

Intraval Sodium is a registered trademark of May and Baker, Ltd., England.

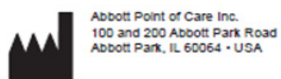
Trapanal is a registered trademark of Chemische Fabrik Promonta, Germany.

BGE is a registered trademark of Instrumentation Laboratory, Lexington, MA USA.

ICA 1 and ABL are trademark of Radiometer Medical A/S, Copenhagen, Denmark.

Stat Profile is a registered trademark of Nova Biomedical, Waltham, MA USA.

Bayer 845 is manufactured by Bayer Diagnostics (Siemens), Tarrytown, NY USA.



EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands



©2019 Abbott Point of Care Inc. All rights reserved. Printed in USA.