

For Veterinary use only
Customer and Technical Service 1-800-822-2947

January 2023
PN: 51523401
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Intended Use

The VetScan[®] Equine Profile Plus reagent rotor used with the VetScan Classic and VetScan VS2 Electrolytes, Immunoassay and blood gas Chemistry Analyzer utilizes dry and liquid reagents to provide *in vitro* quantitative determinations of albumin (ALB), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), total calcium (CA⁺⁺), creatine kinase (CK), creatinine (CRE), gamma glutamyl transferase (GGT), glucose (GLU), total bilirubin (TBIL), total protein (TP), potassium (K⁺), sodium (Na⁺), and total carbon dioxide (tCO₂) in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum. Certain analytes have been optimized for equine only.

2. Summary and Explanation of Tests

The VetScan Equine Profile reagent rotor and the VetScan Classic and VetScan VS2 Electrolytes, Immunoassay and blood gas Chemistry Analyzer comprise an *in vitro* diagnostic system that aids the veterinarian in diagnosing the following disorders:

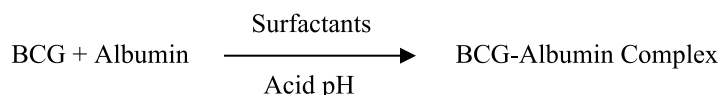
Albumin (ALB)	Liver and kidney disease.
Aspartate Aminotransferase (AST)	Liver disease including hepatitis and viral jaundice; shock; and muscle damage. Used in conjunction with CK to assess muscle damage.
Blood Urea Nitrogen (BUN)	Liver and kidney diseases.
Calcium (CA⁺⁺)	Parathyroid, bone and chronic renal disease; tetany.
Creatine Kinase (CK)	Muscle damage, convulsions, heart disease; hypothyroidism; severe exercise, physical inactivity, decreased muscle mass.
Creatinine (CRE)	Renal disease.
Gamma glutamyl transferase (GGT)	Liver disease, primary and secondary liver tumors.
Glucose (GLU)	Diabetes, hyperglycemia, hypoglycemia, and liver disease.
Total Bilirubin (TBIL)	Hepatic disorders.
Total Protein (TP)	Dehydration; liver and kidney disease, metabolic and nutritional disorders.
Potassium (K⁺)	Renal glomerular or tubular disease, adrenocortical insufficiency, diabetic ketacidosis, excessive intravenous potassium therapy, sepsis, panhypopituitarism, in vitro hemolysis, hyperaldosteronism, malnutrition, hyperinsulinism, metabolic alkalosis and gastrointestinal loss.
Sodium (Na⁺)	Dehydration, diabetes insipidus, loss of hypotonic gastrointestinal fluids, salt poisoning, selective depression of sense of thirst, skin losses, burns, sweating, hyperaldosteronism, CNS disorders, dilutional, depletion and delusional hyponatremia and syndrome of inappropriate ADH secretion.
Total Carbon Dioxide (tCO₂)	Primary metabolic alkalosis and acidosis and primary respiratory alkalosis and acidosis.

As with any diagnostic test procedure, all other test procedures including the clinical status of the patient should be considered prior to final diagnosis.

3. Principles of Procedure

Albumin (ALB)

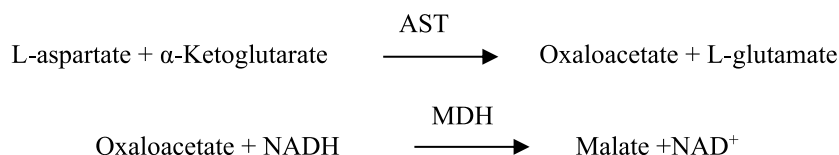
Dye binding techniques are the most frequently used methods for measuring albumin. Bromocresol green (BCG) is the most commonly used of the dye binding methods.¹



Bound albumin is proportional to the concentration of albumin in the sample. This is an endpoint reaction that is measured bichromatically at 630 nm and 405 nm.

Aspartate Aminotransferase (AST)

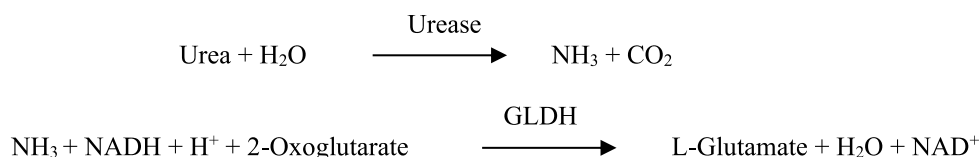
The Abaxis AST method is a modification of the IFCC reference method.^{2,3} This method catalyzes the reaction of L-aspartate and α -ketoglutarate into oxaloacetate and L-glutamate. Oxaloacetate is converted to malate and NADH is oxidized to NAD^+ by the enzyme malate dehydrogenase (MDH).



The rate of absorbance change caused by the conversion of NADH to NAD^+ is determined bichromatically at 340 nm and 405 nm. This rate is directly proportional to the amount of AST present in the sample.

Blood Urea Nitrogen (BUN)

A coupled-enzymatic reaction is used by the Abaxis system. In this reaction, urease hydrolyzes urea into ammonia and carbon dioxide.⁴ Upon combining ammonia with 2-oxoglutarate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), the enzyme glutamate dehydrogenase (GLDH) oxidizes NADH to NAD^+ .

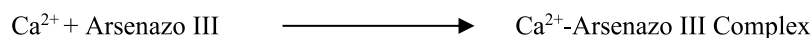


The rate of change of the absorbance difference between 340 nm and 405 nm is caused by the conversion of NADH to NAD^+ and is directly proportional to the amount of urea present in the sample.

Total Calcium (Ca^{++})

The reference method for calcium is atomic absorption spectroscopy; however, this method is not suited for routine use.⁵ Spectrophotometric methods using either *o*-cresolphthalein complexone (CPC) or arsenazo III metallochromic indicators are most commonly used.⁶⁻⁸ Arsenazo III has a high affinity for calcium and is not as temperature dependent as CPC.

Calcium in the patient sample binds with arsenazo III to form a calcium-dye complex.



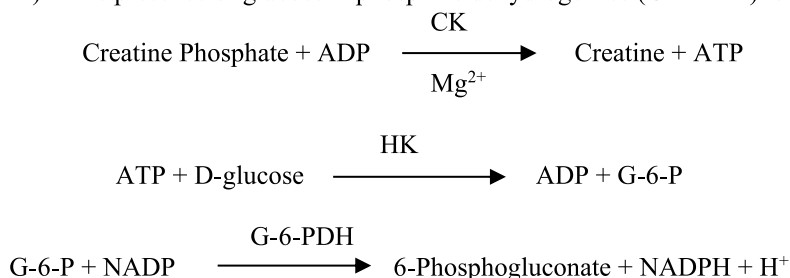
The endpoint reaction is monitored at 405 nm, 467 nm and 600 nm. The amount of calcium in the sample is proportional to the absorbance.

Creatine Kinase (CK)

Creatine kinase catalyzes the reversible phosphorylation of creatine by adenosine triphosphate (ATP). The phosphorylation reaction is favored by alkaline conditions (optimum at 9.0) and the dephosphorylation reaction is favored by acidic conditions (optimum at pH 6.5 at 37° C). Early CK measurement methods were based on the “forward reaction” with creatine phosphate and adenosine diphosphate (ADP) as the products.⁹⁻¹¹ The sensitivity of these tests was shown to be low due to problems with interferences. The procedure of choice utilizes the “reverse reaction” coupled with a reaction to produce NADPH, which is directly related to CK levels.¹²⁻¹⁴

The CK measurement procedure used by Abaxis is a modified version of the International Federation of Clinical Chemistry method (IFCC).¹⁵ Key modifications are sample volume fraction, buffer and temperature. N-acetyl cysteine (NAC) has been added to reactivate the CK.¹⁶ Magnesium is used as a cofactor for both CK and hexokinase. EDTA has been added as a stabilizer for NAC and for the removal of various cations, such as calcium and iron that inhibit CK. P¹, P⁵-di (adenosine-5') penta phosphate and adenosine monophosphate (AMP) have also been added to inhibit adenylate kinase, another skeletal muscle and erythrocyte enzyme that reacts with the substrates used to measure CK.

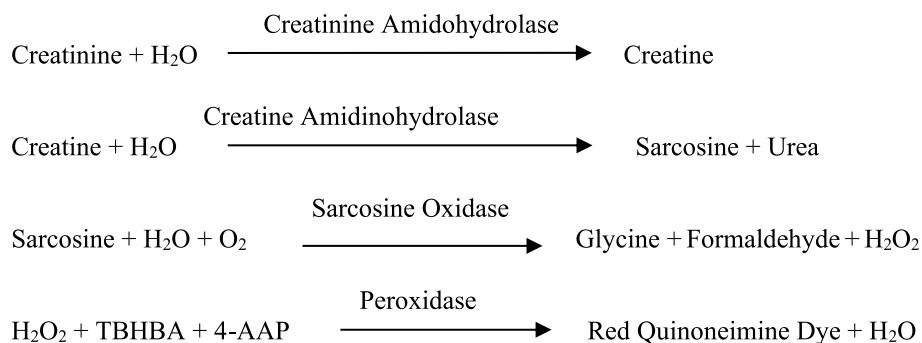
Creatine kinase catalyzes the formation of creatine and ATP from creatine phosphate and ADP at pH 6.7. With hexokinase (HK) as a catalyst, ATP reacts with D-glucose to form ADP and D-glucose-6-phosphate (G-6-P), which is reacted with nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) in the presence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) to produce G-6-P and NADPH.



The formation of NADPH is measured as a change in absorbance at 340 nm relative to 405 nm. This absorbance change is directly proportional to creatine kinase activity in the sample.

Creatinine (CRE)

The Jaffe method, first introduced in 1886, is still a commonly used method of determining creatinine levels in blood. The current reference method combines the use of Fuller's earth (floridin) with the Jaffe technique to increase the specificity of the reaction.^{17,18} Enzymatic methods have been developed that are more specific for creatinine than the various modifications of the Jaffe technique.^{19, 20,21} Methods using the enzyme creatinine amidohydrolase eliminate the problem of ammonium ion interference found in techniques using creatinine iminohydrolase.²²

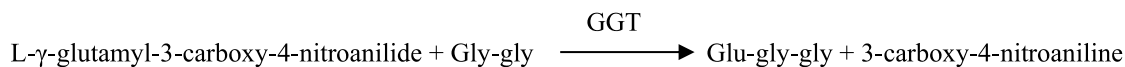


Two cuvettes are used to determine the concentration of creatinine in the sample. Endogenous creatine is measured in the blank cuvette, which is subtracted from the combined endogenous creatine and the creatine formed from the enzyme reactions in the test cuvette. Once the endogenous creatine is eliminated from the calculations, the concentration of creatinine is proportional to the intensity of the red color produced. The endpoint reaction is measured as the difference in absorbance between 550 nm and 600 nm.

Gamma Glutamyl Transferase (GGT)

The first quantitative methods developed to measure gamma glutamyl transferase (GGT) involved a second reaction to form an azo dye that combined with a chromophore.^{23,24} The change to L-γ-glutamyl-*p*-nitroanilide as the substrate in the reaction eliminated the dye-formation step.²⁵ Due to the poor solubility and stability of L-γ-glutamyl-*p*-nitroanilide, this procedure was modified to use the substrate L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide.²⁶ The International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommended GGT method is based on the latter substrate, with glycylglycine as the other substrate.²⁷

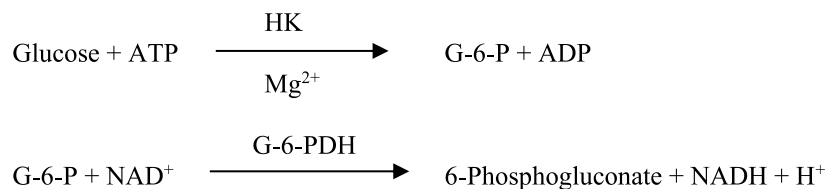
Abaxis has modified the IFCC method to react at 37° C. The addition of sample containing gamma glutamyl transferase to the substrates L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide and glycylglycine (gly-gly) causes the formation of L-γ-glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) and 3-carboxy-4-nitroaniline.



The absorbance of this rate reaction is measured at 405 nm. The production of 3-carboxy-4-nitroaniline is directly proportional to the GGT activity in the sample.

Glucose (GLU)

Measurements of glucose concentration were first performed using copper-reduction methods (such as Folin-Wu and Somogyi-Nelson).^{28, 29, 30} The lack of specificity in copper-reduction techniques led to the development of quantitative procedures using the enzymes hexokinase and glucose oxidase. The Abaxis glucose is a modified version of the hexokinase method, which has been proposed as the basis of the glucose reference method.³¹ The reaction of glucose with adenosine triphosphate (ATP), catalyzed by hexokinase (HK), produces glucose-6-phosphate (G-6-P) and adenosine diphosphate (ADP). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) catalyzes the reaction of G-6-P into 6-phosphogluconate and the reduction of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) to NADH.



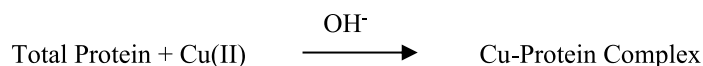
Total Bilirubin (TBIL)

Total bilirubin levels have typically been measured by tests employing diaotized sulfanilic acid^{32, 33} or the enzyme bilirubin oxidase.³⁴⁻³⁶ The total bilirubin test method used in this rotor makes use of a direct trichromatic photometric measurement of diluted sample to determine the total bilirubin concentration. The primary wavelength used to directly measure total bilirubin is 467 nm. Additional measurements at 340 and 405 nm are used to correct the bilirubin absorbance for absorbances from other possible endogenous substances in the sample. The resulting absorbance value at 467 nm is directly proportional to the total bilirubin concentration based on calibration of bilirubin in horse serum.

Total Protein (TP)

The total protein method is a modification of the biuret reaction, noted for its precision, accuracy, and specificity.³⁷ It was originally developed by Riegler and modified by Weichselbaum, Doumas, et al. The biuret reaction is a candidate total protein reference method.³⁸⁻⁴⁰

In the biuret reaction, the protein solution is treated with cupric [Cu(II)] ions in a strong alkaline medium. Sodium potassium tartrate and potassium iodide are added to prevent the precipitation of copper hydroxide and the auto-reduction of copper, respectively.³⁷ The Cu(II) ions react with peptide bonds between the carbonyl oxygen and amide nitrogen atoms to form a colored Cu-Protein complex.

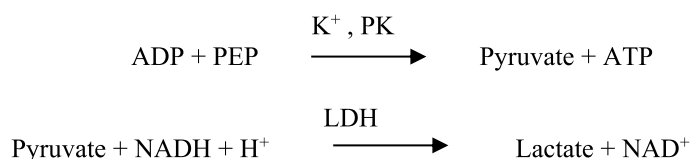


The amount of total protein present in the sample is directly proportional to the absorbance of the Cu-protein complex. The total protein test is an endpoint reaction and the absorbance is measured as the difference in absorbance between 550 nm and 850 nm.

Potassium (K⁺)

Spectrophotometric methods have been developed that allow the measurement of potassium concentration on standard clinical chemistry instrumentation. An enzymatic method based on the activation of pyruvate kinase with potassium show excellent linearity and negligible susceptibility to endogenous substances.^{51, 52, 53} Interference from sodium and ammonium ion are minimized with the addition of Kryptofix and glutamine synthetase, respectively.²⁰

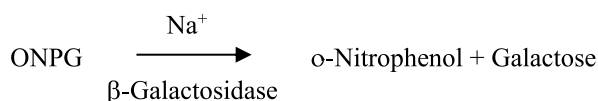
In the coupled-enzyme reaction, pyruvate kinase (PK) dephosphorylates phosphoenolpyruvate (PEP) to form pyruvate. Lactate dehydrogenase (LDH) catalyzes conversion of pyruvate to lactate. Concomitantly, NADH is oxidized to NAD⁺.



The rate of change in absorbance difference between 340 nm and 405 nm is due to the conversion of NADH to NAD⁺ and is directly proportional to the amount of potassium in the sample.

Sodium (Na⁺)

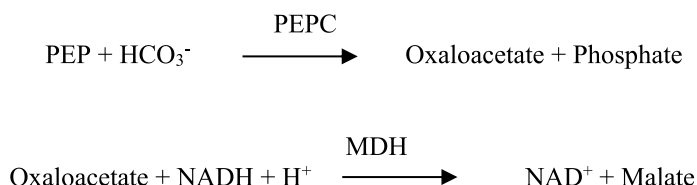
Colorimetric and enzymatic methods have been developed that allow the measurement of sodium concentration on standard clinical chemistry instrumentation.^{54, 55, 56} In the Abaxis enzymatic reaction, β-galactosidase is activated by the sodium in the sample. The activated enzyme catalyzes the reaction of o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG) to o-nitrophenol and galactose.



Total Carbon Dioxide (tCO₂)

Total carbon dioxide in serum or plasma exists as dissolved carbon dioxide, carbamino derivatives of proteins, bicarbonate and carbonate ions and carbonic acid. Total carbon dioxide can be measured by pH indicator, CO₂ electrode and spectrophotometric enzymatic methods, which all produce accurate and precise results.^{57, 58} The enzymatic method is well suited for use on a routine blood chemistry analyzer without adding complexity.

In the enzymatic method, the specimen is first made alkaline to convert all forms of carbon dioxide (CO₂) toward bicarbonate (HCO₃⁻). Phosphoenolpyruvate (PEP) and HCO₃⁻ then react to form oxaloacetate and phosphate in the presence of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC). Malate dehydrogenase (MDH) catalyzes the reaction of oxaloacetate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) to NAD⁺ and malate. The rate of change in absorbance due to the conversion of NADH to NAD⁺ is directly proportional to the amount of tCO₂ in the sample.



4. Principle of Operation

See the VetScan Chemistry Analyzer Operator's Manual and/ or the VetScan VS2 Operator's manual, for the Principles and Limitations of the Procedure.

5. Description of Reagents

Each VetScan Equine Profile reagent rotor contains dry test specific reagent beads. A dry sample blank reagent (comprised of buffer, surfactants, excipients and preservatives) is included in each reagent rotor for use in calculating concentrations of albumin, aspartate aminotransferase, blood urea nitrogen, calcium, creatine kinase, creatinine, gamma glutamyl transferase, glucose, total bilirubin, and total protein. Dedicated sample blanks are included in the rotor to calculate the concentration of creatinine, total bilirubin and total protein levels. Each reagent rotor also contains a diluent consisting of surfactants and preservatives.

Warnings and Precautions

- For Veterinary *In vitro* Diagnostic Use
- The diluent container in the reagent rotor is automatically opened when the analyzer drawer closes. A rotor with an opened diluent container cannot be re-used. Ensure that the sample or control has been placed into the rotor before closing the drawer.
- Reagent beads may contain acids or caustic substances. The operator does not come into contact with the reagent beads when following the recommended procedures. In the event that the beads are handled (e.g. cleaning up after dropping and cracking a reagent rotor), avoid ingestion, skin contact, or inhalation of the reagent beads.
- Some reagent beads contain sodium azide, which may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Reagents will not come into contact with lead and copper plumbing when following recommended procedures. However, if the reagents do come into contact with such plumbing, flush with a large volume of water to prevent azide buildup.

Instructions for Reagent Handling

Reagent rotors may be used directly from the refrigerator without warming. Open the sealed foil pouch and remove the rotor being careful not to touch the bar code ring located on the top of the reagent rotor. Use according to the instructions provided in the VetScan Operator's Manual. A rotor not used within 20 minutes of opening the pouch should be discarded. Rotors in opened pouches cannot be placed back in the refrigerator for use at a later time.

Storage

Store reagent rotors in their sealed pouches at 2-8°C (36-46°F). Do not expose opened or unopened rotors to direct sunlight or temperatures above 32°C (90°F). Do not allow the rotors sealed in their foil pouches to remain at room temperature longer than 48 hours prior to use. Open the pouch and remove the rotor just prior to use.

Indications of Reagent Rotor Instability or Deterioration

- All reagents contained in the reagent rotor, when stored as described above, are stable until the expiration date printed on the rotor pouch. Do **not** use a rotor after the expiration date. The expiration date is also encoded in the bar code printed on the bar code ring. An error message will appear on the VetScan Chemistry Analyzer display if the reagents have expired.
- A torn or otherwise damaged pouch may allow moisture to reach the unused rotor and adversely affect reagent performance. Do not use a rotor from a damaged pouch.

6. Instrument

See the VetScan Operator's Manual for complete information on using the analyzer.

7. Sample Collection and Preparation

The minimum required sample size is ~100 µL of heparinized whole blood, heparinized plasma, serum or control. The reagent rotor sample chamber can contain up to 120 µL of sample.

- Specimens collected in a heparinized micropipette should be dispensed into the reagent rotor **immediately** following sample collection.
- Use only lithium heparin (green stopper) evacuated specimen collection tubes for whole blood or plasma samples. Use no additive (red stopper) evacuated specimen collection tubes or serum separator tubes (red or red/black stopper) for serum samples.
- Whole blood samples obtained by venipuncture must be homogenous before transferring a sample to the reagent rotor. Gently invert the collection tubes several times just prior to sample transfer. Do **not** shake the collection tube. Shaking may cause hemolysis.
- The test must be started within 10 minutes of transferring the sample into the reagent rotor.
- Whole blood venipuncture samples should be run within 60 minutes of collection; if this is not possible, separate the sample and transfer it into a clean test tube.⁴¹ Run the separated plasma or serum sample within 5 hours of centrifugation. If this is not possible, refrigerate the sample in a stoppered test tube at 2-8°C (36-46°F) for no longer than 48 hours. A plasma or serum sample can be stored at -10°C (14°F) for up to 5 weeks in a freezer that does not have a self-defrost cycle.
- **Glucose** concentrations decrease approximately 5-12 mg/dL in 1 hour in uncentrifuged samples stored at room temperature.⁴²
- Refrigerating whole blood samples can cause significant changes in concentrations of **glucose** and **creatinine**.⁴³
- **Total bilirubin** results may be adversely affected by photodegradation.⁴⁴ Whole blood samples not run immediately should be stored in the dark for no longer than 60 minutes. If the sample can not be analyzed within that period, it should be separated into plasma or serum and stored in a capped sample tube in the dark at low temperatures.⁴⁵

- The concentration of total carbon dioxide is most accurately determined when the assay is done immediately after opening the tube and as promptly as possible after collection and processing of the blood in the unopened tube. Ambient air contains far less carbon dioxide than does plasma, and gaseous dissolved carbon dioxide will escape from the specimen into the air, with a consequent decrease in carbon dioxide value of up to 6 mmol/L in the course of 1 hour.⁵⁹
- Falsely elevated **CK** values may be reported due to aspiration of tissue fluid from subcutaneous muscles in proximity to the jugular vein. In these cases, careful venipuncture technique of an adequately restrained patient with attachment of the collection tube only after collection needle is well within the lumen of the vessel will reduce incidence of falsely elevated CK values due to difficult venipuncture.

Known Interfering Substances

- The only anticoagulant recommended for use with the VetScan Chemistry Analyzer is lithium heparin. Abaxis has performed studies demonstrating that EDTA, fluoride, oxalate, and any anticoagulant containing ammonium ions will interfere with at least one chemistry in the VetScan Equine Profile reagent rotor.
- Physical interferents (hemolysis, icterus, and lipemia) may cause changes in the reported concentrations of some analytes. The sample indices are printed on the bottom of each result card to inform the operator about the levels of interferents present in each sample. The VetScan Whole Blood Analyzer suppresses any results that are affected by significant interference from hemolysis, lipemia, or icterus. “HEM”, “LIP”, “ICT” is printed on the result card in place of the result.
- Bilirubin may interfere with the peroxidase used in the **creatinine** reaction.⁴⁶ Creatinine results are lowered when bilirubin levels are > 10 mg/dL.
- **Glucose** concentrations are affected by the length of time since the patient has eaten and by the type of sample collected from the patient. To accurately interpret glucose results, samples should be obtained from a patient that has been fasted for at least 12 hours.⁴⁷
- Interference may be seen in the total protein test when analyzing samples with a 3 + lipemic index.⁴⁵ Samples with a triglyceride concentration >400 mg/dL may show an increased total protein level. The VetScan Chemistry Analyzer suppresses any results that are affected by significant interference from lipemia. “LIP” is printed on the result card in place of the result.
- Creatine kinase is inactivated both by bright daylight and by increasing specimen pH owing to loss of carbon dioxide; accordingly, specimens should be stored in the dark in tightly closed tubes.⁴⁸
- The potassium assay in the VetScan system is a coupled pyruvate kinase (PK) / lactate dehydrogenase (LDH) assay. Therefore, in cases of extreme muscle trauma or highly elevated levels of creatine kinase (CK), the VetScan may recover a falsely elevated potassium (K⁺) value. In such cases, unexpected high potassium recoveries need to be confirmed utilizing a different methodology

8. Procedure

Materials provided

- One VetScan Equine Profile Plus Reagent Rotor PN: 500 – 1043 (a box of 12 discs PN: 500-0043-12)

Materials required but not provided

- VetScan Chemistry Analyzer

Test parameters

The VetScan System operates at ambient temperatures between 15°C and 32°C (59-90°F). The analysis time for each VetScan Equine Profile Reagent Rotor is less than 14 minutes. The analyzer maintains the reagent rotor at a temperature of 37°C (98.6°F) over the measurement interval.

Test procedure

The complete sample collection and step-by-step operating procedures are detailed in the VetScan Operator’s Manual.

Calibration

The VetScan Chemistry Analyzer is calibrated by the manufacturer before shipment. The barcode printed on the barcode ring provides the analyzer with rotor-specific calibration data. Please see the VetScan Operator’s Manual.

Quality control

Controls may be run periodically on the VetScan Chemistry Analyzer to verify the accuracy of the analyzer. Abaxis recommends that a serum-based commercially available control be run. Run controls on the reagent rotor in the same manner as for patient samples. See the VetScan Operator’s Manual to run controls.

9. Results

The VetScan Chemistry Analyzer automatically calculates and prints the analyte concentrations in the sample. Details of the endpoint and rate reaction calculations are found in the VetScan Operator's Manual.

10. Limitations of Procedure

General procedural limitations are discussed in the VetScan Systems Operator's Manual.

- **If a result for a particular test exceeds the assay range, the sample should be analyzed by another approved test method or sent to a referral laboratory.**
- Samples with hematocrits in excess of 60% packed red cell volume may give inaccurate results. Samples with high hematocrits may be reported as hemolyzed. These samples may be spun down and the plasma then re-run in a new reagent rotor.

Warning: Extensive testing of the VetScan Chemistry Analyzer has shown that in very rare instances, sample dispensed into the reagent rotor may not flow smoothly into the sample chamber. Due to the uneven flow, an inadequate quantity of sample may be analyzed and several results may fall outside your established reference ranges. The sample may be re-run using a new reagent rotor.

11. Performance Characteristics (Linearity)

The chemistry for each analyte is linear over the dynamic range listed below when the VetScan System is operated according to the recommended procedure (see the VetScan Operator's Manual). The Dynamic Range table referenced below represents the spectrum that the VetScan System can detect. **The intervals below do not represent normal ranges.**

Table 1: VetScan Dynamic Ranges

Analyte	Dynamic Ranges	SI Units
	Common Units	
ALB	1-6.5 g/dL	10-65 g/L
AST	5-2000 U/L	5-2000 U/L
BUN	2-180mg/dL	0.7-64.3 mmol urea/L
CA ⁺⁺	4 -16 mg/dL	1.0-4.0 mmol/L
CRE	0.2-20 mg/dL	18-1768µmol/L
CK	5-14,000 U/L	5-14,000 U/L
GGT	5-3000 U/L	5-3000 U/L
GLU	10-700 mg/dL	0.6- 38.9mmol/dL
TBIL	0.1-30 mg/dL	1.7-513 µmol/L
TP	2-14 g/dL	20-140 g/L
K ⁺	1.5-8.5 mmol/L	1.5-8.5 mmol/L
Na ⁺	110-170 mmol/L	110-170 mmol/L
TCO2	5-40 mmol/L	5-40mmol/L

12. Bibliography

1. Webster D, Bignell AHC, Atwood EC. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
2. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-99.
3. Bergmeyer HU, et al. 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: 720-1.
4. 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.
5. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Cooper GR, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977; Vol 8: 3-8.
6. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
7. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-8.
8. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112
9. Kuby SA, Noda L, Lardy HA, Adenosinetriphosphate-Creatine Transphosphorylase. *J. Biol Chem* 1954; 209: 191 - 201.
10. Tanzer MI, Gilvarg C, Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem* 1959; 01 - 3204.
11. Nuttall FQ, Wedin DS, Simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med* 1966; 24 - 332.
12. Oliver IT, A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem* 1955; J 61: 116 - 122.
13. Rosalki SB, An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination, *J Lab Clin Med* 1967; 69: 696 - 705.
14. Szasz G, Gruber W, Bernt E, Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem* 1976; 22: 650 - 656.
15. Expert panel on enzymes, committee of standards (IFCC). Approval recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes, Part 1. General considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC sections 1979; 98: 163 - 174.
16. Committee on enzymes of the Scandinavian society for clinical chemistry and clinical physiology. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976; 36: 711-723.
17. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8:582-587.
18. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
19. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM, Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-1426.
20. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
21. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
22. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
23. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
24. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* . 1960; 91: 61-70.
25. Orlowski M and Meister A. 1. γ -glutamyl-*p*-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of k-and d- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
26. Persijn JP, can der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl- transferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
27. Shaw LM et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
29. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 850-856.
31. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119: 481-90.

33. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Faulkner WR, Meites S, eds. Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982; 9:119-24.
34. Murao S and Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
35. Osaki S and Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971. (Abstract)
36. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
37. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds., Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
38. Reigler E. Eine kolorimetrische bestimmungsmethods des eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-5.
39. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood, serum, and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-9.
40. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27:1642-50.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
42. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34: 2111-14.
44. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 1009-1015.
45. Henry RJ, Canon DC and Winkelman. *Clinical chemistry principles and technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21; 127-8.
46. Witte DL, Brown LF, Williams RL. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
47. Melnik J, Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982; 48: 543-5.
48. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 804.
49. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
50. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
51. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
52. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
53. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
54. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
55. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. *In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
56. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

Nur für den veterinärmedizinischen Einsatz

Kundenservice und technischer Support: 1-800-822-2947

Januar 2023

PN: 51523401

© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 USA

1. Verwendungszweck

Die VetScan®-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk für das VetScan Classic-Analysesystem und das VetScan VS2-Elektrolyt-Immunoassay- und Blutgas-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Albumin (ALB), Aspartat-Aminotransferase (AST), Harnstoffstickstoff (BUN), Gesamtcalcium (CA⁺⁺), Creatin-Kinase (CK), Creatinin (CRE), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Glucose (GLU), Gesamtbilirubin (TBIL), Gesamtprotein (TP), Kalium (K⁺), Natrium (Na⁺) und Gesamtkohlendioxid (tCO₂) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

Die VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk und das VetScan-Classic-Analysesystem sowie das VetScan VS2-Elektrolyt-Immunoassay- und Blutgas-Analysesystem ergeben ein *In-vitro*-Diagnostiksystem, das den Veterinär bei der Diagnose der folgenden Störungen unterstützt:

Albumin (ALB)	Leber- und Nierenerkrankungen.
Aspartat-Aminotransferase (AST)	Lebererkrankungen, einschließlich Hepatitis und Virusgelbsucht; Schock; Muskelschädigung. Wird in Verbindung mit CK zur Beurteilung von Muskelschädigungen herangezogen.
Harnstoffstickstoff (BUN)	Leber- und Nierenerkrankungen.
Calcium (CA⁺⁺)	Nebenschilddrüsen-, Knochen- und chronische Nierenerkrankungen; Tetanie
Creatin-Kinase (CK)	Muskelschädigung, Krampfanfälle, Herzkrankheiten; Hypothyroidismus; schwere Anstrengungen, körperliche Untätigkeit, reduzierte Muskelmasse.
Creatinin (CRE)	Nierenerkrankungen.
Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	Lebererkrankungen, primäre und sekundäre Lebertumoren.
Glucose (GLU)	Diabetes, Hyperglykämie, Hypoglykämie, und Lebererkrankungen.
Gesamtbilirubin (TBIL)	Leberfunktionsstörungen.
Gesamtprotein (TP)	Dehydratation, Leber- und Nierenerkrankungen, Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen.
Kalium (K⁺)	Glomeruläre oder tubuläre Nierenerkrankungen, Nebennierenrindeninsuffizienz, diabetische Ketoazidose, übermäßige intravenöse Kaliumtherapie, Sepsis, Panhypopituitarismus, <i>In-vitro</i> -Hämolyse, Hyperaldosteronismus, Mangelernährung, Hyperinsulinismus, metabolische Alkalose und gastrointestinale Verluste.

Natrium (Na⁺)

Dehydratation, *Diabetes insipidus*, Verlust hypotoner Magen-Darm-Flüssigkeiten, Salzvergiftung, selektive Unterdrückung des Durstgefühls, Hautverluste, Verbrennungen, Schweißausbrüche, Hyperaldosteronismus, ZNS-Störungen, Verdünnungshyponatriämie, Verlusthyponatriämie und Wahnhyponatriämie sowie Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion.

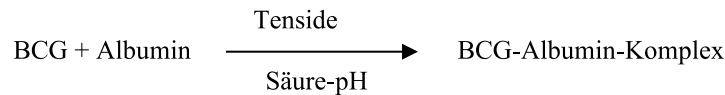
Gesamtkohlendioxid (tCO₂)

Primäre metabolische Alkalose und Azidose sowie primäre respiratorische Alkalose und Azidose.

Wie bei allen diagnostischen Testverfahren sind vor der abschließenden Diagnose alle anderen Testverfahren, einschließlich des klinischen Status des Patienten, in Betracht zu ziehen.

3. Verfahrensprinzip**Albumin (ALB)**

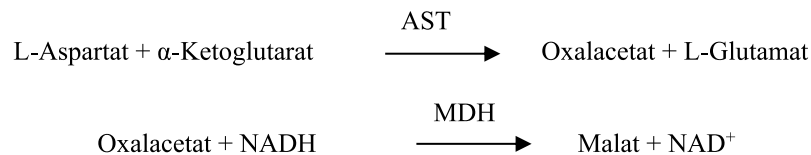
Farbstoffbindungstechniken sind die am häufigsten gebrauchten Methoden zur Bestimmung von Albumin. Unter den Farbstoffbindungsmethoden ist Bromkresolgrün (BCG) die am häufigsten eingesetzte.¹



Gebundenes Albumin verhält sich proportional zur Albuminkonzentration in der Probe. Es handelt sich hierbei um eine Endpunktreaktion mit bichromatischer Bestimmung bei 630 nm und 405 nm.

Aspartat-Aminotransferase (AST)

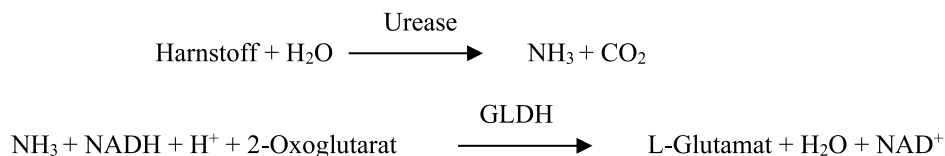
Die AST-Methode von Abaxis ist eine Abwandlung der IFCC-Referenzmethode.^{2,3} Bei dieser Methode wird die Reaktion von L-Aspartat und α-Ketoglutarat zu Oxalacetat und L-Glutamat katalysiert. Oxalacetat wird in Malat umgewandelt, und NADH wird durch das Enzym Malat-Dehydrogenase (MDH) zu NAD⁺ oxidiert.



Die durch die Umwandlung von NADH in NAD⁺ bewirkte Extinktionsänderungsgeschwindigkeit wird bei 340 nm und 405 nm bichromatisch bestimmt. Die Geschwindigkeit ist direkt proportional zu der in der Probe vorhandenen Menge an AST.

Harnstoffstickstoff (BUN)

Das Abaxis-System verwendet eine gekoppelte Enzymreaktion. Bei dieser Reaktion wird Harnstoff durch Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert.⁴ Nach der Kopplung von Ammoniak mit 2-Oxoglutarat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) oxidiert das Enzym Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) NADH zu NAD⁺.

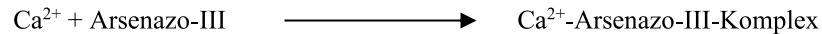


Die Änderungsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD⁺ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Harnstoffs.

Gesamtcalcium (CA⁺⁺)

Die Atomabsorptionsspektroskopie als Referenzmethode für Calcium ist für die Routine nicht geeignet.⁵ Spektralphotometrische Methoden, welche entweder o-Kresolphthalein-Complexon (CPC) oder Arsenazo-III-Metallochrom-Indikatoren verwenden, sind am weitesten verbreitet.⁶⁻⁸ Arsenazo III besitzt eine höhere Affinität für Calcium und ist weniger temperaturabhängig als CPC.

Das Calcium in der Patientenprobe bindet an Arsenazo-III und bildet einen Calcium-Farbstoffkomplex.



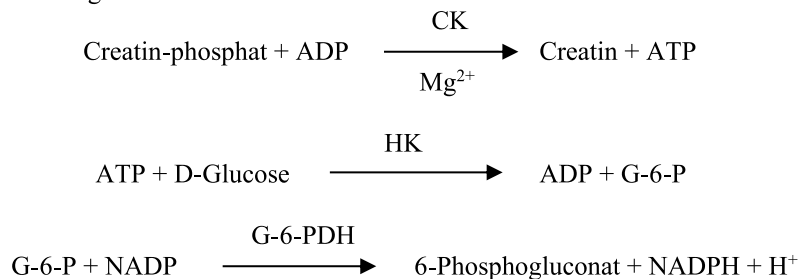
Die Endpunktreaktion wird bei 405 nm, 467 nm und 600 nm überwacht. Die Calciummenge in der Probe ist proportional zur Extinktion.

Creatin-Kinase (CK)

Creatin-Kinase katalysiert die reversible Phosphorylierung von Creatin durch Adenosin-triphosphat (ATP). Die Phosphorylierungsreaktion wird durch alkalische Bedingungen (optimaler pH-Wert: 9,0) begünstigt, die Dephosphorylierungsreaktion durch saure Bedingungen (optimaler pH-Wert: 6,5 bei 37 °C). Frühe Methoden zur CK-Bestimmung beruhten auf der „Hinreaktion“, bei der sich die Produkte Creatin-phosphat und Adenosin-diphosphat (ADP) ergaben.⁹⁻¹¹ Die Empfindlichkeit dieser Tests erwies sich auf Grund von Problemen mit Störfaktoren als niedrig. Das Verfahren der Wahl nutzt die „Umkehrreaktion“ in Verbindung mit einer NADPH produzierenden Reaktion, die in direktem Bezug zu den CK-Konzentrationen steht.¹²⁻¹⁴

Das von Abaxis angewandte Verfahren zur CK-Bestimmung ist eine Abwandlung der Methode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).¹⁵ Wichtige Änderungen stellen Probenvolumenfraktion, Puffer und Temperatur dar. Zur Reaktivierung der CK wurde N-Acetylcystein (NAC) zugesetzt.¹⁶ Magnesium dient als Co-Faktor für sowohl CK als auch Hexokinase. EDTA wurde als Stabilisator für NAC und zum Entfernen verschiedener CK-hemmender Kationen (wie bspw. Calcium und Eisen) zugesetzt. Außerdem wurden P^1 , P^5 -Di-(adenosin-5')-pentaphosphat und Adenosin-monophosphat (AMP) zugesetzt, um Adenylat-Kinase zu hemmen, ein weiteres Skelettmuskulatur- und Erythrozyten-Enzym, das mit den zur CK-Bestimmung eingesetzten Substraten reagiert.

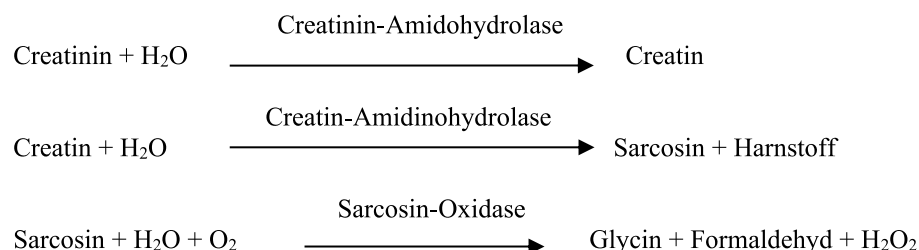
Creatin-Kinase katalysiert die Bildung von Creatin und ATP aus Creatin-phosphat und ADP bei einem pH-Wert von 6,7. Mit Hexokinase (HK) als Katalysator reagiert ATP mit D-Glucose unter Bildung von ADP und D-Glucose-6-phosphat (G-6-P), das bei Vorliegen von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) mit Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) unter Bildung von G-6-P und NADPH reagiert.

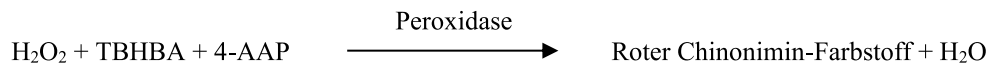


Die Bildung von NADPH wird als Extinktionsänderung bei 340 nm im Verhältnis zu 405 nm bestimmt. Diese Extinktionsänderung verhält sich direkt proportional zur Creatin-Kinase-Aktivität in der Probe.

Creatinin (CRE)

Die 1886 eingeführte Jaffe-Methode wird noch immer weithin zur Bestimmung der Creatinin-Spiegel im Blut eingesetzt. Die heutige Referenzmethode kombiniert den Einsatz von Fullererde (Floridin) mit der Jaffe-Technik, um eine Verbesserung der Reaktionsspezifität zu bewirken.^{17,18} Es wurden enzymatische Methoden entwickelt, die eine bessere Creatinin-Spezifität aufwiesen, als die verschiedenen Abwandlungen der Jaffe-Technik.^{19,20,21} Methoden mit dem Enzym Creatinin-Amidohydrolase eliminieren das Problem der Störungen durch Ammoniumionen, welches bei Verfahren mit Creatinin-Iminohydrolase auftritt.²²



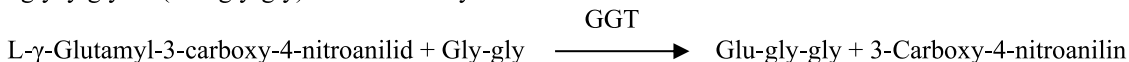


Die Creatinin-Konzentration in der Probe wird mit zwei Küvetten bestimmt. Das endogene Creatin wird in der Blindprobenküvette gemessen und von der Gesamtsumme aus endogenem Creatin und durch Enzymreaktionen in der Testküvette gebildetem Creatin subtrahiert. Wenn das endogene Creatin aus den Berechnungen entfernt ist, ist die Creatinin-Konzentration proportional zur Intensität der produzierten roten Farbe. Die Endpunktreaktion wird als die Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 600 nm gemessen.

Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

Die ersten zur Bestimmung von Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) entwickelten quantitativen Methoden umfassten eine zweite Reaktion zur Bildung eines mit einem Chromophor kombinierten Azofarbstoffs.^{23,24} Der Wechsel zu L-γ-Glutamyl-*p*-nitroanilid als Substrat bei der Reaktion machte den Farbstoffbildungsschritt überflüssig.²⁵ Auf Grund der schlechten Löslichkeit und Stabilität von L-γ-Glutamyl-*p*-nitroanilid wurde dieses Verfahren abgewandelt, so dass L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid als Substrat verwendet wird.²⁶ Die von der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) empfohlene GGT-Methode basiert auf letzterem Substrat, wobei Glycylglycin das andere Substrat darstellt.²⁷

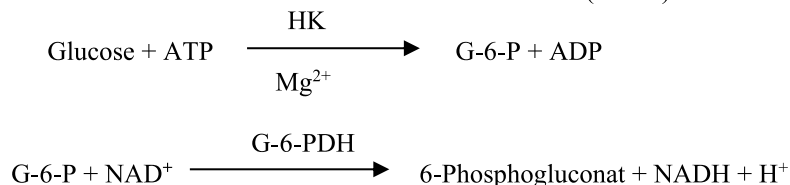
Abaxis hat die IFCC-Methode so abgewandelt, dass die Reaktion bei 37 °C erfolgt. Die Zugabe einer Probe mit Gamma-Glutamyl-Transferase-Gehalt zu den Substraten L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid und Glycylglycin (Gly-gly) führt zur Bildung von L-γ-Glutamyl-glycylglycin (Glu-gly-gly) und 3-Carboxy-4-nitroanilin.



Die Extinktion dieser kinetischen Reaktion wird bei 405 nm gemessen. Die Produktion von 3-Carboxy-4-nitroanilin ist direkt proportional zur GGT-Aktivität in der Probe.

Glucose (GLU)

Die ersten Bestimmungen des Glucose-Spiegels wurden mit Kupferreduktionsmethoden (bspw. nach Folin-Wu und Somogyi-Nelson) durchgeführt.^{28,29,30} Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glucose-Oxidase. Bei dem Glucose-Test von Abaxis handelt es sich um eine Abwandlung der Hexokinase-Methode, die als Basis für die Glucose-Referenzmethode vorgeschlagen wurde.³¹ Die durch Hexokinase (HK) katalysierte Reaktion von Glucose mit Adenosin-triphosphat (ATP) ergibt Glucose-6-phosphat (G-6-P) und Adenosin-diphosphat (ADP). Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) katalysiert die Umsetzung von G-6-P zu 6-Phosphogluconat und die Reduktion von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD⁺) zu NADH.



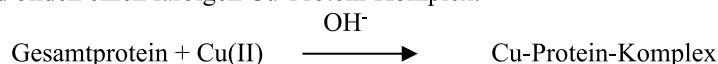
Gesamtbilirubin (TBIL)

Zur Bestimmung der Gesamtbilirubin-Konzentrationen wurden bisher meistens Tests eingesetzt, die diazotierte Sulfanilsäure^{32, 33} oder das Enzym Bilirubinoxidase³⁴⁻³⁶ verwendeten. Die in dieser Disk zum Einsatz kommende Gesamtbilirubin-Testmethode nutzt eine direkte trichromatische photometrische Bestimmung der verdünnten Probe zur Ermittlung der Gesamtbilirubin-Konzentration. Die Primärwellenlänge für die Direktbestimmung von Gesamtbilirubin ist 467 nm. Zusätzliche Messungen bei 340 und 405 nm dienen zum Kompensieren von Extinktionen durch sonstige mögliche endogene Substanzen in der Probe. Der sich ergebende Extinktionswert bei 467 nm verhält sich direkt proportional zur Gesamtbilirubin-Konzentration auf der Grundlage der Kalibrierung von Bilirubin in Pferdeserum.

Gesamtprotein (TP)

Die Gesamtprotein-Methode ist eine Abwandlung der für ihre Präzision, Genauigkeit und Spezifität geschätzten Biuret-Reaktion.³⁷ Sie wurde ursprünglich von Riegler entwickelt und dann von Weichselbaum, Dumas *et al.* modifiziert. Die Biuret-Reaktion wird als mögliche Gesamtprotein-Referenzmethode erwägt.³⁸⁻⁴⁰

Bei der Biuret-Reaktion wird die Proteinlösung mit Kupfer(II)-Ionen in einem stark basischen Medium behandelt. Natriumkaliumtartrat und Kaliumiodid werden zugesetzt, um das Ausfällen von Kupferhydroxid bzw. eine Autoreduktion von Kupfer zu verhindern.³⁷ Die Cu(II)-Ionen reagieren mit Peptidbindungen zwischen den Carbonylsauerstoff- und Amidstickstoffatomen und bilden einen farbigen Cu-Protein-Komplex.

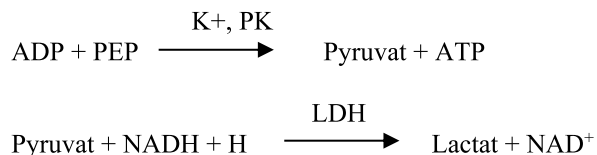


Die in der Probe vorhandene Menge an Gesamtprotein ist direkt proportional zur Extinktion des Cu-Protein-Komplexes. Der Gesamtprotein-Test ist eine Endpunktreaktion, wobei die Extinktion als Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 850 nm gemessen wird.

Kalium (K⁺)

Es wurden spektralphotometrische Methoden entwickelt, die die Messung der Kaliumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen. Eine auf der Aktivierung von Pyruvat-Kinase durch Kalium beruhende enzymatische Methode zeigt eine hervorragende Linearität und vernachlässigbare Anfälligkeit gegen endogene Substanzen.^{51,52,53} Störungen durch Natrium- und Ammoniumionen werden durch Zugabe von Kryptofix bzw. Glutamin-Synthetase minimiert.²⁰

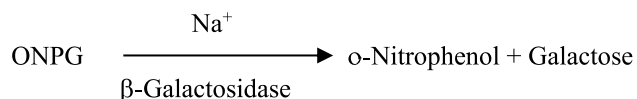
Bei der Reaktion mit gekoppelten Enzymen wird Phospho-enolpyruvat (PEP) durch Pyruvat-Kinase (PK) zu Pyruvat dephosphoryliert. Lactatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Umwandlung von Pyruvat in Lactat. Damit einhergehend wird NADH zu NAD⁺ oxidiert.



Die Änderungsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD⁺ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Kaliums.

Natrium (Na⁺)

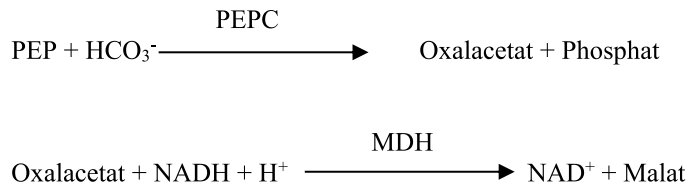
Es wurden kolorimetrische und enzymatische Methoden entwickelt, die die Bestimmung der Natrium-Konzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen.^{54, 55, 56} Bei der Enzymreaktion von Abaxis wird β-Galactosidase durch das Natrium in der Probe aktiviert. Das aktivierte Enzym katalysiert die Umsetzung von o-Nitrophenyl-β-D-galactopyranosid (ONPG) zu o-Nitrophenol und Galactose.



Gesamtkohlendioxid (tCO₂)

Das Gesamtkohlendioxid im Serum oder Plasma ist als gelöstes Kohlendioxid, Carbaminoderivate von Proteinen, Bicarbonat und Carbonationen sowie Kohlensäure vorhanden. Gesamtkohlendioxid kann mit Hilfe von pH-Indikatoren, CO₂-Elektroden- und spektralphotometrischen enzymatischen Methoden bestimmt werden, die ohne Ausnahme Ergebnisse hoher Genauigkeit und Präzision liefern.^{57 58} Die enzymatische Methode eignet sich gut für den routinemäßigen Einsatz an einem Blutchemieanalysegerät, ohne das Verfahren komplizierter zu machen.

Bei der enzymatischen Methode wird die Probe zunächst alkalisch gestellt, um alle Formen von Kohlendioxid (CO₂) in Bicarbonat (HCO₃⁻) umzuwandeln. Phosphoenolpyruvat (PEP) und HCO₃⁻ reagieren dann miteinander und bilden in Gegenwart von Phosphoenolpyruvatcarboxylase (PEPC) Oxalacetat und Phosphat. Malat-Dehydrogenase (MDH) katalysiert die Umsetzung von Oxalacetat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) zu NAD⁺ und Malat. Die Geschwindigkeit der Extinktionsänderung durch Umwandlung von NADH zu NAD⁺ ist direkt proportional zur Menge von tCO₂ in der Probe.



4. Funktionsprinzip

Grundsätze und Grenzen des Verfahrens sind im Bedienungshandbuch für das VetScan-Analysesystem und/oder das VetScan VS2-System aufgeführt.

5. Beschreibung der Reagenzien

Jede VetScan-Pferdeprofil Plus reagenzdisk enthält trockene testspezifische Reagenzien-Beads. Jede Reagenzdisk enthält ein trockenes Blindprobenreagenz (bestehend aus Puffer, Tensiden, Hilfsstoffen und Konservierungsmitteln) für die Berechnung der Konzentrationen an Albumin, Aspartat-Aminotransferase, Harnstoffstickstoff, Calcium, Creatin-Kinase, Creatinin, Gamma-Glutamyl-Transferase, Glucose, Gesamtbilirubin und Gesamtprotein. Die Disk enthält spezifische Blindproben für die Berechnung der Creatinin-, Gesamtbilirubin- und Gesamtprotein-Konzentrationen. Jede Reagenzdisk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für die veterinärmedizinische *In-vitro*-Diagnostik.
- Der Verdünnungsmittelbehälter in der Reagenzdisk wird beim Schließen des Schubfachs des Analysesystems automatisch geöffnet. Disks mit geöffneten Verdünnungsmittelbehältern können nicht wieder verwendet werden. Vor dem Schließen des Schubfachs prüfen, ob die Probe bzw. Kontrolle in die Disk eingesetzt wurde.
- Reagenzien-Beads können Säuren oder Basen enthalten. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommt der Bediener nicht mit den Reagenzien-Beads in Berührung. Beim Umgang mit Beads (z. B. Bei Reinigungsmaßnahmen nach dem Fallenlassen und Zerschlagen einer Reagenzdisk) Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen der Reagenzien-Beads vermeiden.
- Manche Reagenzien-Beads enthalten Natriumazid, das mit Abflussleitungen aus Blei und Kupfer reagieren und hochexplosive Metallazide bilden kann. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommen die Reagenzien nicht mit Abflussleitungen aus Blei und Kupfer in Kontakt. Sollten die Reagenzien jedoch mit derartigen Abflussleitungen in Kontakt kommen, mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidansammlungen zu vermeiden.

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

Reagenzdisks sind ohne Erwärmen sofort aus dem Kühlschrank heraus verwendbar. Den verschweißten Folienbeutel öffnen und die Disk herausnehmen. Dabei darauf achten, den Barcode-Ring auf der Oberseite der Reagenzdisk nicht zu berühren. Gemäß den Anweisungen des Bedienungshandbuchs für das VetScan-System verwenden. Nicht innerhalb von 20 Minuten nach Öffnen des Beutels verwendete Disks sind zu entsorgen. Disks in geöffneten Beuteln dürfen nicht zur späteren Verwendung wieder in den Kühlschrank gelegt werden.

Lagerung

Die in ihren Beuteln eingeschweißten Reagenzdisks bei 2–8 °C (36–46 °F) lagern. Geöffnete oder ungeöffnete Disks vor direkter Sonneneinstrahlung und Temperaturen über 32 °C (90 °F) schützen. Die in ihren Folienbeuteln verschlossenen Disks vor Gebrauch maximal 48 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahren. Erst unmittelbar vor Gebrauch den Beutel öffnen und die Disk entnehmen.

Anzeichen für instabile oder zerfallene Reagenzdisks

- Alle in der Reagenzdisk enthaltenen Reagenzien bleiben bei den oben beschriebenen Lagerbedingungen bis zu dem auf dem Diskbeutel aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Die Disks nach dem Verfallsdatum **nicht** mehr verwenden. Das Verfallsdatum ist auch in dem auf dem Barcode-Ring aufgedruckten Barcode enthalten. Bei Überschreitung des Verfallsdatums der Reagenzien erscheint auf der Anzeige des VetScan-Analysesystems eine Fehlermeldung.
- Bei einem aufgerissenen oder anderweitig beschädigten Folienbeutel kann Feuchtigkeit zur unbenutzten Disk vordringen und die Leistung der Reagenzien beeinträchtigen. Niemals Disks aus beschädigten Beuteln verwenden.

6. Gerät

Vollständige Angaben zum Gebrauch des Analysesystems enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan-System.

7. Probennahme und -vorbereitung

Das erforderliche Mindestprobenvolumen ist ~100 µl heparinisiertes Vollblut, heparinisiertes Plasma, Serum oder Kontrollmaterial. Die Probenkammer der Reagenzdisk kann eine Probenmenge von bis zu 120 µl aufnehmen.

- In heparinisierten Mikropipetten gesammelte Proben sind nach der Probennahme **sofort** in die Reagenzdisk einzubringen.
- Für Vollblut- oder Plasmaproben nur evakuierte Probensammelröhrchen mit Lithiumheparin (grüner Stopfen) verwenden. Für Serumproben nur evakuierte Probensammelröhrchen ohne Zusatz (roter Stopfen) oder Serumentrennröhrchen (roter oder rot/schwarzer Stopfen) verwenden.

- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor die Probe in die Reagenzdisk transferiert wird. Die Sammelröhrchen vor dem Probentransfer mehrmals vorsichtig überkopfdrehen. Das Sammelröhrchen **nicht** schütteln. Schütteln kann zu Hämolyse führen.
- Der Test muss innerhalb von 10 Minuten nach dem Probentransfer in die Reagenzdisk beginnen.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sind innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme zu analysieren. Sollte dies nicht möglich sein, die Probe trennen und in ein sauberes Teströhrchen transferieren.⁴¹ Die getrennte Plasma- oder Serumprobe innerhalb von 5 Stunden nach der Zentrifugation analysieren. Sollte dies nicht möglich sein, die Probe in einem verschlossenen Teströhrchen maximal 48 Stunden lang bei 2–8 °C (36–46 °F) im Kühlschrank lagern. In Gefrierschränken ohne Selbstabtaufungsfunktion können Plasma- oder Serumproben bei -10 °C (14 °F) bis zu 5 Wochen lang gelagert werden.
- Die **Glucose**-Konzentration nimmt in nicht zentrifugierten, bei Raumtemperatur gelagerten Proben um etwa 5–12 mg/dl pro Stunde ab.⁴²
- Das Kühlen von Vollblutproben kann zu erheblichen Veränderungen der **Glucose**- und **Creatinin**-Spiegel führen.⁴³
- **Gesamtbilirubin**-Ergebnisse können durch fotochemischen Abbau negativ beeinflusst werden.⁴⁴ Nicht sofort analysierte Vollblutproben maximal 60 Minuten lang im Dunkeln lagern. Kann die Probe innerhalb dieses Zeitraums nicht analysiert werden, ist sie in Plasma oder Serum aufzutrennen und in einem verschlossenen Probenröhrchen bei niedrigen Temperaturen im Dunkeln aufzubewahren.⁴⁵
- Die Konzentration an Gesamtkohlendioxid lässt sich am genauesten bestimmen, wenn der Assay unmittelbar nach dem Öffnen des Röhrchens und so schnell wie möglich nach der Entnahme und Bearbeitung des Blutes im ungeöffneten Röhrchen erfolgt. Die Umgebungsluft enthält weit weniger Kohlendioxid als Plasma, und gasförmiges gelöstes Kohlendioxid entweicht aus der Probe in die Luft, wodurch sich der Kohlendioxidwert binnen einer Stunde um bis zu 6 mmol/l verringert.⁵⁹

Bekannte Störsubstanzen

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoagulantien mindestens eine der Methoden der VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk stören.
- Physiologische Störungen (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) können zu Veränderungen der berichteten Konzentrationen einiger Analyten führen. Die Probenindizes werden unten auf jeder Ergebniskarte ausgedruckt, damit der Bediener weiß, welche Konzentration an Störsubstanzen in den einzelnen Proben vorliegen. Das VetScan-Vollblut-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die durch signifikante Interferenzen auf Grund von Hämolyse, Lipämie oder Ikterus beeinflusst sind. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „HEM“ (Hämolyse), „LIP“ (Lipämie) oder „ICT“ (Ikterus) ausgedruckt.
- Bilirubin kann die für die **Creatinin**-Reaktion verwendete Peroxidase beeinträchtigen.⁴⁶ Bei Bilirubin-Spiegeln von > 10 mg/dl sind die Creatinin-Ergebnisse niedriger.
- Die **Glucose**-Spiegel werden beeinflusst von der Zeitspanne seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie vom entnommenen Probenotyp. Zur genauen Interpretation der Glucose-Ergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung aufgenommen hat.⁴⁷
- Beim Gesamtprotein-Test kann es zu Störungen kommen, wenn die analysierten Proben einen Lipämie-Index von 3 + aufweisen.⁴⁵ Proben mit Triglycerid-Konzentrationen von >400 mg/dl können erhöhte Gesamtprotein-Konzentrationen aufweisen. Das VetScan-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die auf Grund von Lipämie Störungen von mehr als 10 % aufweisen. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „LIP“ (Lipämie) ausgedruckt.
- Creatin-Kinase wird sowohl durch helles Tageslicht als auch durch Erhöhung des Proben-pH-Werts auf Grund von Kohlendioxidverlusten inaktiviert; daher sind die Proben in fest verschlossenen Röhrchen im Dunkeln zu lagern.⁴⁸
- Der Kalium-Assay des VetScan-Systems ist ein gekoppelter Pyruvatkinase- (PK) / Laktatdehydrogenase- (LDH) Assay. Bei extremem Muskeltrauma oder stark erhöhten Creatinkinasewerten (CK) kann VetScan daher fälschlich erhöhte Kaliumwerte (K+) messen. In diesen Fällen sind unerwartet hohe Kaliumwerte mit einer anderen Methode zu bestätigen.

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk, Art.-Nr.: 500-1043 (ein Karton mit 12 Disks, Art.-Nr.: 500-0043-12)

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- VetScan-Analysesystem

Testparameter

Für den Betrieb des VetScan-Systems sind Umgebungstemperaturen zwischen 15 und 32 °C (59 und 90 °F) erforderlich. Die Analysedauer für jede VetScan-Pferdeprofil-Plus-Reagenzdisk beträgt weniger als 14 Minuten. Das Analysesystem hält die Reagenzdisk während des Messintervalls auf einer Temperatur von 37 °C (98,6 °F).

Testverfahren

Das komplette Probennahmeverfahren sowie schrittweise Bedienungsanweisungen sind im Bedienungshandbuch für das VetScan-System ausführlich beschrieben.

Kalibrierung

Das VetScan-Analysesystem wird vor dem Versand vom Hersteller kalibriert. Der auf dem Barcode-Ring aufgedruckte Barcode enthält die diskspezifischen Kalibrierungsdaten für das Analysesystem. Hierzu bitte das Bedienungshandbuch für das VetScan-System einsehen.

Qualitätskontrolle

Zur Überprüfung der Genauigkeit des Analysesystems können am VetScan-Analysesystem in regelmäßigen Abständen Kontrollen analysiert werden. Abaxis empfiehlt die Analyse einer handelsüblichen Kontrolle auf Serumbasis. Die Kontrollen in der gleichen Weise auf der Reagenzdisk analysieren wie Patientenproben. Angaben zur Analyse von Kontrollen enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan-System.

9. Ergebnisse

Das VetScan-Analysesystem berechnet und druckt die Analytkonzentrationen der Probe automatisch aus. Einzelheiten zu den Endpunkt- und Reaktionsgeschwindigkeitsberechnungen sind im Bedienungshandbuch für das VetScan-Analysesystem enthalten.

10. Verfahrensgrenzen

Die allgemeinen Verfahrensgrenzen werden im Bedienungshandbuch für das VetScan-System behandelt.

- **Ein den Assaybereich überschreitendes Ergebnis für einen bestimmten Test sollte mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden.**
- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von über 60 % umfasst, können ungenaue Ergebnisse erbringen. Solche Proben mit hohen Hämatokritwerten können als hämolysiert berichtet werden. Diese Proben können dann zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenzdisk erneut getestet werden.

Achtung: Umfassende Prüfungen des VetScan-Analysesystems haben ergeben, dass in sehr seltenen Fällen eine in die Reagenzdisk gegebene Probe nicht problemlos in die Probenkammer rinnt. Infolge des ungleichmäßigen Flusses kann eine unzureichende Probenmenge analysiert werden, und mehrere Ergebnisse können außerhalb des jeweils ermittelten Referenzbereichs liegen. Die Probe kann mit einer neuen Reagenzdisk erneut analysiert werden.

11. Leistungsmerkmale (Linearität)

Die Methodenkurve der einzelnen Analyten verläuft in dem hier präsentierten dynamischen Bereich linear, wenn das VetScan-System empfehlungsgemäß betrieben wird (siehe das Bedienungshandbuch für das VetScan-System). Die folgende Tabelle der dynamischen Bereiche repräsentiert das Nachweisspektrum des VetScan-Systems. **Die im Folgenden aufgeführten Bereiche stellen keine Normalbereiche dar.**

Tabelle 1: Dynamische Bereiche des VetScan-Systems

Analyt	Dynamische Bereiche Gebräuchliche Einheiten	SI-Einheiten
ALB	1–6,5 g/dl	10–65 g/l
AST	5–2000 E/l	5–2000 E/l
BUN	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol Harnstoff/l
CA ⁺⁺	4–16 mg/dl	1,0–4,0 mmol/l
CRE	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
CK	5–14.000 E/l	5–14.000 E/l
GGT	5–3000 E/l	5–3000 E/l
GLU	10–700 mg/dl	0,6–39 mg/dl
TBIL	0,1–30 mg/dl	1,7–513 µmol/l

TP	2–14 g/dl	20–140 g/l
K⁺	1,5–8,5 mmol/l	1,5–8,5 mmol/l
Na⁺	110–170 mmol/l	110–170 mmol/l
TCO₂	5–40 mmol/l	5–40 mmol/l

12. Literaturverzeichnis

1. Webster D, Bignell AHC, Atwood EC. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
2. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-99.
3. Bergmeyer HU, et al. 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: 720-1.
4. 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.
5. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Cooper GR, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977; Vol 8: 3-8.
6. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
7. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-8.
8. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112
9. Kuby SA, Noda L, Lardy HA, Adenosinetriphosphate-Creatine Transphosphorylase. *J. Biol Chem* 1954; 209: 191 - 201.
10. Tanzer MI, Gilvarg C, Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem* 1959; 01 - 3204.
11. Nuttall FQ, Wedin DS, Simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med* 1966; 24 - 332.
12. Oliver IT, A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem* 1955; J 61: 116 - 122.
13. Rosalki SB, An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination, *J Lab Clin Med* 1967; 69: 696 - 705.
14. Szasz G, Gruber W, Bernt E, Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem* 1976; 22: 650 - 656.
15. Expert panel on enzymes, committee of standards (IFCC). Approval recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes, Part 1. General considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC sections 1979; 98: 163 - 174.
16. Committee on enzymes of the Scandinavian society for clinical chemistry and clinical physiology. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976; 36: 711-723.
17. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8:582-587.
18. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
19. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM, Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-1426.
20. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
21. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
22. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
23. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
24. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* . 1960; 91: 61-70.
25. Orlowski M and Meister A. 1. γ -glutamyl-*p*-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of k-and d- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
26. Persijn JP, can der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl- transferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
27. Shaw LM et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
29. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 850-856.
31. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119: 481-90.

33. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Faulkner WR, Meites S, eds. Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982; 9:119-24.
34. Murao S and Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
35. Osaki S and Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971. (Abstract)
36. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
37. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds., Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
38. Reigler E. Eine kolorimetrische bestimmungsmethods des eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-5.
39. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood, serum, and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-9.
40. Dumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27:1642-50.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
42. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34: 2111-14.
44. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 1009-1015.
45. Henry RJ, Canon DC and Winkelman. *Clinical chemistry principles and technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21; 127-8.
46. Witte DL, Brown LF, Williams RL. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
47. Melnik J, Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982; 48: 543-5.
48. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 804.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
51. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
52. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
53. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
54. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
55. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
56. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
57. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. *In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
58. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

Pour usage vétérinaire seulement
Service à la clientèle et technique 1-800-822-2947

Janvier 2023
PN: 51523401
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 États-Unis

1. Usage prévu

Le rotor de réactif Profil équin VetScan® Plus utilisé avec l'analyseur chimique VetScan Classic et VetScan VS2 Electrolytes, Immunoassay and Blood Gas utilise des réactifs secs et liquides pour fournir des déterminations quantitatives *in vitro* d'albumine (ALB), d'aspartate aminotransférase (AST), d'azote uréique du sang (BUN), calcium total (CA^{++}), de créatine kinase (CK), de créatinine (CRE), de gamma-glutamyl-transférase (GGT), de glucose (GLU), de bilirubine totale (TBIL), de protéine totale (TP), de potassium (K^+), de sodium (Na^+) et de dioxyde de carbone total (tCO_2) dans le sang total hépariné, le sérum ou le plasma hépariné.

2. Résumé et explication des tests

Le rotor de réactif Profil équin VetScan et l'analyseur chimique VetScan Classic et VetScan VS2 Electrolytes, Immunoassay and Blood Gas sont dotés d'un système de diagnostic *in vitro* qui aide le vétérinaire à diagnostiquer les troubles suivants :

Albumine (ALB)	Pathologie hépatique et néphropathie.
Aspartate aminotransférase (AST)	Pathologie hépatique, y compris l'hépatite et la jaunisse virale ; l'état de choc et des lésions musculaires. Utilisée conjointement avec la CK pour évaluer les lésions musculaires.
Azote uréique du sang (BUN)	Pathologies hépatiques et insuffisances rénales
Calcium (CA^{++})	Pathologies parathyroïdiennes, osseuses et rénales chroniques ; tétanie.
Créatine kinase (CK)	Lésions musculaires, convulsions, cardiopathie; hypothyroïdie; efforts intenses, inactivité physique, masse musculaire réduite.
Créatinine (CRE)	Insuffisance rénale
Gamma-glutamyl-transférase (GGT)	Maladie du foie, tumeurs hépatiques primaire et secondaire
Glucose (GLU)	Diabète, hyperglycémie, hypoglycémie et pathologie hépatique.
Bilirubine totale (TBIL)	Troubles hépatiques.
Protéine totale (TP)	Déshydratation ; pathologie hépatique et néphropathie, troubles métaboliques et nutritionnels.
Potassium (K^+)	Néphrite glomérulaire ou tubulaire, insuffisance corticosurrénale, acidocétose diabétique, kalithérapie excessive par injection intraveineuse, sepsis, panhypopituitarisme, hémolyse <i>in vitro</i> , hyperaldostérionisme, malnutrition, hyperinsulinie, alcalose métabolique et perte gastro-intestinale.
Sodium (Na^+)	Déshydratation, diabète insipide, pertes de liquides gastro-intestinaux hypotoniques, intoxication au sel, réduction sélective du sens de la soif, pertes cutanées, brûlures, hypersudation, hyperaldostérionisme, troubles du SNC, hyponatrémie par dilution, par déplétion et intoxication par l'eau et syndrome de sécrétion inappropriée d'ADH

Dioxyde de carbone total (tCO₂)

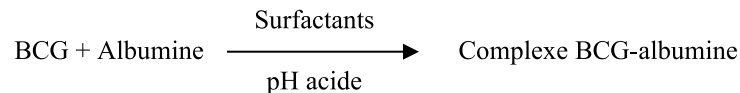
Alcalose et acidose métaboliques primaires et alcalose et acidose respiratoires primaires.

Comme c'est le cas pour toute procédure de test de diagnostic, toutes les autres procédures de test, y compris l'état clinique du patient, doivent être prises en considération avant d'établir un diagnostic définitif.

3. Principes de la procédure

Albumine (ALB)

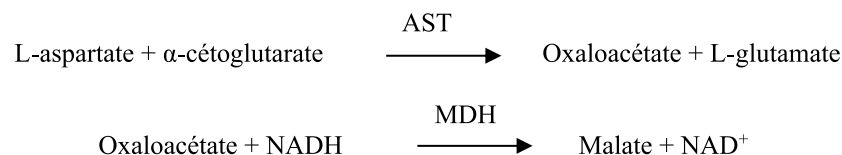
Les techniques de fixation de colorant sont les méthodes les plus utilisées pour mesurer l'albumine. Le vert de bromocrésol (BCG) est la méthode de fixation de colorant la plus utilisée.¹



L'albumine liée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon. Il s'agit d'une réaction au point final qui est mesurée bichromatiquement à 630 nm et 405 nm.

Aspartate aminotransférase (AST)

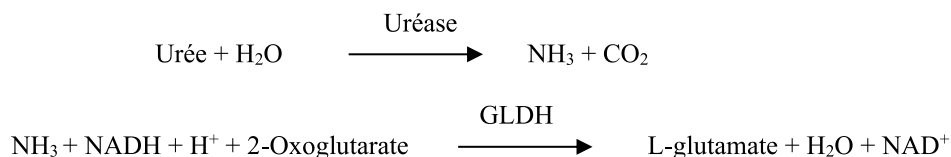
La méthode AST d'Abaxis est une modification de la méthode de référence de la FICC.^{2,3} Cette méthode catalyse la réaction de L-aspartate et d' α -cétooglutarate en oxaloacétate et L-glutamate. L'oxaloacétate est converti en malate et le NADH est oxydé en NAD⁺ par le catalyste MDH.



La modification du taux d'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ est déterminée bichromatiquement à 340 nm et 405 nm. Ce taux est directement proportionnel à la quantité d'AST présente dans l'échantillon.

Azote uréique du sang (BUN)

Le système Abaxis utilise une réaction enzymatique couplée. Dans cette réaction, l'uréase hydrolyse l'urée dans de l'ammoniaque et du dioxyde de carbone.⁴ Lors de la combinaison d'ammoniaque avec du 2-oxoglutarate et du nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH), l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH) oxyde le NADH en NAD⁺.

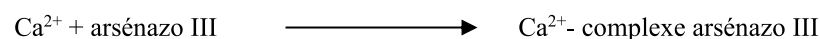


Le taux de variation de la différence d'absorbance entre 340 nm et 405 nm est causé par la conversion de NADH en NAD⁺ et est directement proportionnel à la quantité d'urée présente dans l'échantillon.

Calcium total (CA⁺⁺)

La méthode de référence pour le calcium est la spectroscopie d'absorption atomique. Toutefois, cette méthode ne convient pas pour les utilisations courantes.⁵ Les méthodes spectrophotométriques qui utilisent soit l'*o*-crésolphthaléine complexon (CPC), soit les indicateurs métallochromes d'arsénazo III sont les plus courantes.⁶⁻⁸ L'arsénazo III a une haute affinité pour le calcium et ne dépend pas de la température comme c'est le cas pour le CPC.

Le calcium dans l'échantillon du patient se lie à l'arsénazo III afin de former un complexe de calcium et de colorant.



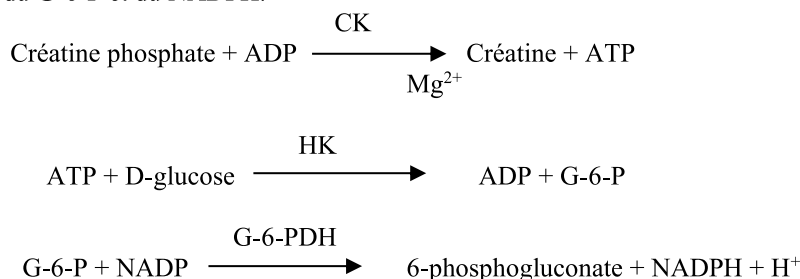
La réaction à point final est contrôlée à 405 nm, 467 nm et 600 nm. La quantité de calcium dans l'échantillon est proportionnelle à l'absorbance.

Créatine kinase (CK)

La créatine kinase catalyse la phosphorylation réversible de la créatine par l'adénosine triphosphate (ATP). La réaction de phosphorylation est favorisée par des conditions alcalines (optimales à un pH de 9,0) et la réaction de déphosphorylation est favorisée par des conditions acides (optimales à un pH de 6,5 à 37 °C). Les premières méthodes de mesure de la CK étaient basées sur la « réaction à terme » avec la créatine phosphate et l'adénosine diphosphate (ADP) comme produits.⁹⁻¹¹ La sensibilité de ces tests s'est avérée faible à cause de problèmes d'interférence. La procédure de choix utilise la « réaction arrière » couplée à une réaction afin de générer du NADPH, qui est directement lié aux niveaux de CK.¹²⁻¹⁴

La procédure de mesure de la CK utilisée par Abaxis est une version modifiée de celle employée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC).¹⁵ Les modifications clés sont la fraction de volume des échantillons, le tampon et la température. La N-acétyl cystéine (NAC) a été ajoutée pour redonner de l'activité à la CK.¹⁶ Le magnésium est utilisé comme cofacteur pour la CK et l'hexokinase. L'EDTA a été ajouté pour stabiliser la NAC et pour le retrait de plusieurs cations, tels que le calcium et le fer, qui inhibent la CK. P¹, P⁵-di (adénosine-5') pentaphosphate et adénosine monophosphate (AMP) ont également été ajoutés afin d'inhiber l'adenylate kinase, un autre enzyme érythrocyte et du muscle squelettique qui réagit avec les substrats utilisés pour mesurer la CK.

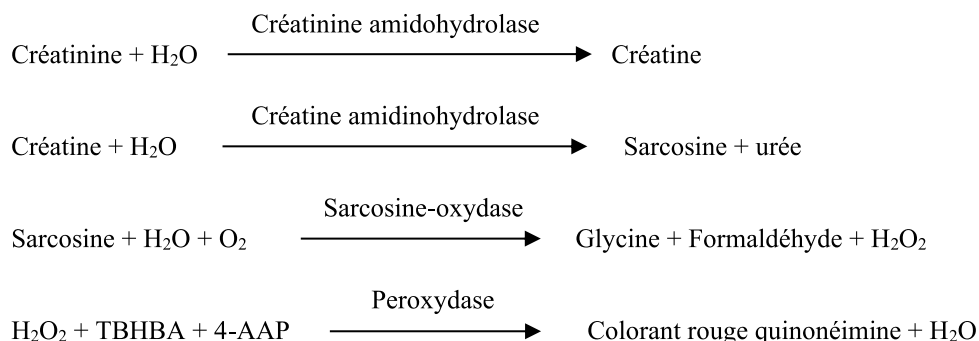
La créatine kinase catalyse la formation de créatine et d'ATP à partir de créatine phosphate et d'ADP à un pH de 6,7. Avec l'hexokinase (HK) comme catalyse, l'ATP réagit avec le D-glucose afin de former de l'ADP et du D-glucose-6-phosphate (G-6-P), qui réagit au nicotinamide-adenine-dinucléotide-phosphate (NADP) en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) afin de produire du G-6-P et du NADPH.



La formation de NADPH est mesurée en fonction de la différence d'absorbance à 340 nm par rapport à 405 nm. Cette différence d'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de la créatine kinase dans l'échantillon.

Créatinine (CRE)

La méthode de Jaffé, introduite pour la première fois en 1886, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les taux de créatinine dans le sang. La méthode de référence actuelle combine l'utilisation de la terre à foulon (Floridine) et la technique de Jaffé afin d'accroître la spécificité de la réaction.^{17,18} Il existe des méthodes enzymatiques plus spécifiques pour la créatinine que les diverses modifications de la technique de Jaffé.^{19, 20,21} Les méthodes utilisant l'enzyme créatinine amidohydrolase éliminent le problème de l'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatinine iminohydrolase.²²

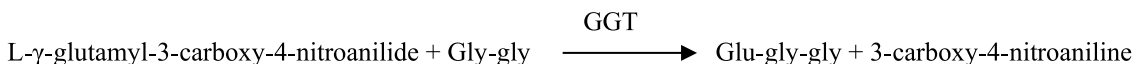


Deux cuvettes sont utilisées pour déterminer la concentration de créatinine dans l'échantillon. La créatine endogène est mesurée dans la cuvette de blanc, qui est soustraite de la combinaison de la créatine endogène et de la créatine formée à partir des réactions enzymatiques dans la cuvette d'essai. Lorsque la créatine endogène est éliminée des calculs, la concentration de créatinine est proportionnelle à l'intensité de la couleur rouge produite. La réaction à point final est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550 nm et 600 nm.

Gamma-glutamyl-transférase (GGT)

Les premières méthodes quantitatives développées pour mesurer la gamma-glutamyl-transférase (GGT) utilisaient une deuxième réaction dans le but de former un colorant azoïque qui se combinait avec un chromophore.^{23,24} Le fait d'utiliser le substrat L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide dans la réaction éliminait l'étape de formation du colorant.²⁵ Du fait des faibles solubilité et stabilité du L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide, cette procédure a été modifiée afin d'utiliser le substrat L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide.²⁶ La méthode GGT, recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (FICC), se base sur ce dernier substrat, l'autre substrat étant la glycylglycine.²⁶ La Fédération internationale de chimie clinique (FICC) a recommandé de baser la méthode GGT sur ce dernier substrat, avec la glycylglycine comme autre substrat.²⁷

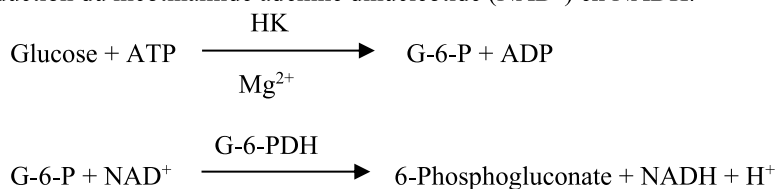
Abaxis a modifié la méthode de la FICC pour réagir à 37° C. L'ajout d'un échantillon comprenant de la gamma-glutamyl-transférase aux substrats L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide et glycylglycine (gly-gly) entraîne la formation de L- γ -glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) et de 3-carboxy-4-nitroaniline.



L'absorbance de la réaction de ce taux est mesurée à 405 nm. La production de 3-carboxy-4-nitroaniline est directement proportionnelle à l'activité de la GGT dans l'échantillon.

Glucose (GLU)

Les mesures de la concentration de glucose ont été effectuées dans un premier temps à l'aide des méthodes de réduction du cuivre (par exemple Folin-Wu et Somogyi-Nelson).^{28, 29, 30} Le manque de spécificité de ces techniques a conduit au développement de procédures quantitatives utilisant les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le glucose Abaxis est une version modifiée de la méthode hexokinase, qui a été proposée comme base de la méthode de référence au glucose.³¹ La réaction du glucose avec l'adénosine triphosphate (ATP), catalysée par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de conversion de G-6-P en 6-phosphogluconate et la réduction du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) en NADH.



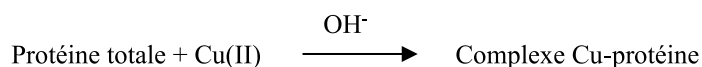
Bilirubine totale (TBIL)

Les niveaux de bilirubine totale sont généralement été mesurés via des tests employant de l'acide sulfanilique diazoté^{32,33} ou l'enzyme oxydase bilirubine.³⁴⁻³⁶ La méthode de test de la bilirubine totale utilisée sur ce rotor a recours à une mesure photométrique trichromatique d'échantillon dilué afin de déterminer la concentration de bilirubine totale. La longueur d'ondes principale utilisée pour mesurer directement la bilirubine totale est 467 nm. Des mesures supplémentaires à 340 et 405 nm sont utilisées pour corriger l'absorbance de la bilirubine pour des absorbances d'autres substances endogènes possibles dans l'échantillon. La valeur d'absorbance résultante à 467 nm est directement proportionnelle à la concentration de bilirubine totale basée sur l'étalonnage de bilirubine dans le sérum équin.

Protéine totale (TP)

La méthode de protéine totale est une modification de la réaction du biuret, remarquée pour sa précision, son exactitude et sa spécificité.³⁷ À l'origine, elle a été développée par Riegler et modifiée par Weichselbaum, Doumas, et al. La réaction du biuret est une méthode de référence admissible de la protéine totale.³⁸⁻⁴⁰

Dans la réaction au biuret, la solution de protéine est traitée avec des ions cupriques [Cu(II)] dans un milieu fortement alcalin. Le tartrate de sodium et de potassium et l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto-réduction du cuivre.³⁷ Les ions Cu (II) réagissent avec les chaînes peptidiques entre les atomes d'oxygène de carbonyle et d'azote amide afin de former un complexe Cu-protéine coloré.

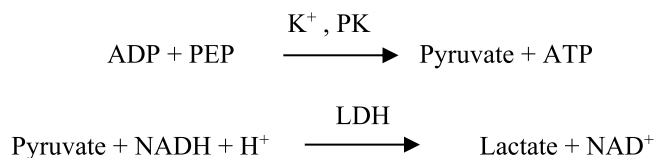


La quantité de protéines totales présente dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du complexe Cu-protéines. Le dosage des protéines totales est une réaction à point final et l'absorbance est mesurée comme la différence d'absorbance entre 550 nm et 850 nm.

Potassium (K⁺)

Des méthodes spectrophotométriques permettant de mesurer la concentration de potassium avec des instruments de chimie clinique standard ont été développées. Une méthode enzymatique basée sur l'activation du pyruvate kinase avec du potassium donne une excellente linéarité ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes.^{51, 52, 53} L'interférence provenant du sodium et de l'ion ammonium est minimisée par l'ajout de Kryptofix et de glutamine synthétase, respectivement.²⁰

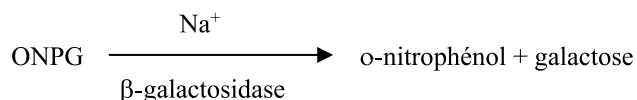
Dans la réaction enzymatique couplée, le pyruvate kinase (PK) déphosphore le phosphénolpyruvate (PEP) afin de former du pyruvate. Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, le NADH est oxydé en NAD⁺.



Le taux de variation de l'absorbance entre 340 nm et 405 nm est causé par la conversion de la NADH en NAD⁺ et est directement proportionnel à la quantité de potassium dans l'échantillon.

Sodium (Na⁺)

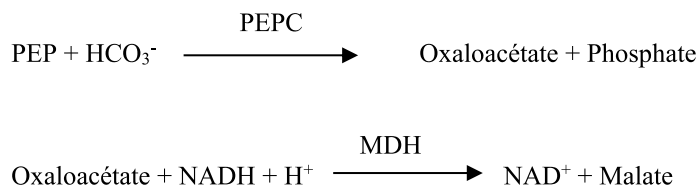
Des méthodes colorimétriques et enzymatiques permettant de mesurer la concentration de sodium sur les instruments de chimie clinique standard ont été développées.^{54, 55, 56} Dans la réaction enzymatique Abaxis, la β-galactosidase est activée par le sodium dans l'échantillon. L'enzyme activée catalyse la réaction du o-nitrophényl-o-D-galactopyranoside (ONPG) en o-nitrophénol et galactose.



Dioxyde de carbone total (tCO₂)

Le dioxyde de carbone total dans le sérum ou le plasma existe sous forme de dioxyde de carbone dissout, de dérivés carbamino-protéiques, d'ions bicarbonates et carbonates et d'acide carbonique. Le dioxyde de carbone total peut être mesuré par des méthodes enzymatiques spectrophotométriques, aux électrodes de CO₂ et jaugeur de pH qui donnent toutes des résultats précis et corrects.^{57,58} La méthode enzymatique s'adapte bien à l'utilisation sur un analyseur biochimique courant sans y apporter de complexités.

Dans la méthode enzymatique, l'échantillon est d'abord rendu alcalin afin de convertir toutes les formes de dioxyde de carbone (CO₂) en bicarbonate (HCO₃⁻). Le phosphoenolpyruvate (PEP) et le HCO₃⁻ réagissent ensuite pour former de l'oxaloacétate et du phosphate en présence de phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC). La malate déshydrogénase (MDH) catalyse la réaction d'oxaloacétate et de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) en NAD⁺ et en malate. La cinétique de variation de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ est directement proportionnelle à la quantité de tCO₂ dans l'échantillon.



4. Principe d'exécution

Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan et ou au manuel de l'utilisateur du VetScan VS2 pour en savoir plus sur les principes et les limitations de la procédure.

5. Description des réactifs

Chaque rotor de réactif Profil équin VetScan contient des billes de réactifs spécifiques aux essais à sec. Un réactif à blanc d'échantillon sec (composés de tampon, surfactants, excipients et conservateurs) est inclus dans chaque rotor de réactif pour être utilisé dans le calcul des concentrations d'albumine, d'aspartate aminotransférase, d'azote uréique du sang, de calcium, de créatine kinase, de créatinine, de gamma-glutamyl-transférase, de glucose, de bilirubine totale et de protéine totale. Des échantillons à blanc dédiés sont inclus dans le rotor pour la concentration des niveaux de créatinine, de bilirubine totale et de protéine totale. Chaque rotor de réactif contient également un diluant composé de surfactants et d'agents conservateurs.

Avertissements et précautions

- Destiné aux diagnostics vétérinaires *in vitro*
- Le récipient de diluant dans le rotor de réactif s'ouvre automatiquement lorsque le tiroir de l'analyseur se ferme. Un rotor dont le récipient à diluant est ouvert ne peut pas être réutilisé. Vérifier que l'échantillon ou le témoin a bien été placé dans le rotor avant de fermer le tiroir.
- Les billes de réactif peuvent contenir des acides ou des substances caustiques. L'utilisateur n'entre pas en contact avec les billes de réactif lorsqu'il respecte les procédures recommandées. Au cas où les billes seraient manipulées (par exemple, lors du nettoyage, après avoir laissé tomber un rotor de réactif qui s'est cassé), éviter l'ingestion, tout contact avec la peau ou l'inhalation des billes de réactif.
- Certaines billes de réactif contiennent de l'azide de sodium qui pourrait réagir avec les tuyaux en cuivre et en plomb et former des azotures extrêmement explosifs. Les réactifs n'entrent pas en contact avec les canalisations de plomb et de cuivre lorsque l'utilisateur respecte les procédures recommandées. Toutefois, au cas où les réactifs entreraient en contact avec les canalisations, rincer à grande eau afin d'éviter l'accumulation d'azides.

Manipulation des réactifs

Les rotors de réactif peuvent être utilisés dès leur sortie du réfrigérateur sans devoir être réchauffés. Ouvrir le sachet en aluminium scellé et en retirer le rotor en prenant soin de ne pas toucher l'anneau du code-barres qui se trouve sur le dessus du rotor. Utiliser conformément aux instructions du manuel de l'utilisateur du système VetScan. Tout rotor qui n'a pas été utilisé dans les 20 minutes suivant l'ouverture du sachet doit être jeté. En aucun cas les rotors dont le sachet est ouvert ne peuvent être replacés dans le réfrigérateur en vue de leur utilisation ultérieurement.

Conservation

Conserver les rotors de réactif dans leur sachet scellé à une température comprise entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F). Ne pas exposer des rotors ouverts ou fermés à la lumière directe du soleil ou à des températures supérieures à 32 °C (90 °F). Ne pas laisser les rotors scellés dans leur sachet en aluminium à température ambiante pendant plus de 48 heures avant emploi. Ouvrir le sachet et retirer le rotor juste avant son utilisation.

Indications d'instabilité/de détérioration du rotor de réactif

- Tous les réactifs contenus dans le rotor, lorsqu'ils sont conservés comme décrit ci-dessus, sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet du rotor. **Ne pas** utiliser un rotor au-delà de la date de péremption. La date de péremption est également encodée dans le code-barres imprimé sur l'anneau du code-barres. Un message d'erreur s'affichera sur l'écran de l'analyseur de réaction chimique VetScan si les réactifs sont périmés.
- Un sachet déchiré ou détérioré risque de laisser pénétrer l'humidité, qui atteindra le rotor inutilisé et aura un effet défavorable sur la performance du réactif. Ne pas utiliser un rotor provenant d'un sachet détérioré.

6. Instrument

Se reporter au manuel de l'utilisateur du système VetScan pour des informations complètes sur l'utilisation de l'analyseur.

7. Prélèvement et préparation des échantillons

La quantité minimale requise pour un échantillon est de ~100 µL de sang total hépariné, de plasma hépariné, de sérum ou de témoin. La chambre à échantillon du rotor de réactif peut contenir jusqu'à 120 µL d'échantillon.

- Les échantillons prélevés dans une micropipette héparinée doivent être distribués dans le rotor de réactif **immédiatement** après leur prélèvement.
- N'utiliser que des tubes de prélèvement sous vide à héparine de lithium (bouchon vert) pour les échantillons de sang entier ou de plasma. Utiliser des tubes de prélèvement sous vide (bouchon rouge) sans adjuvants ou des tubes de séparation de sérum (bouchon rouge ou rouge et noir) pour les échantillons de sérum.

- Les échantillons de sang entier obtenus par ponction veineuse doivent être homogènes avant de transférer un échantillon au rotor de réactif. Retourner doucement le tube de prélèvement à plusieurs reprises juste avant de transférer les échantillons. **Ne pas** agiter le tube de prélèvement. L'utilisateur évitera ainsi tout risque d'hémolyse.
- Le test doit être commencé dans les 10 minutes suivant le transfert de l'échantillon dans le rotor de réactif.
- Les échantillons de sang entier prélevés par ponction veineuse devraient être traités dans les 60 minutes suivant le prélèvement. Si ça n'est pas possible, séparer l'échantillon et le transférer dans un tube à essai propre.⁴¹ Traiter l'échantillon de sérum ou de plasma séparé dans un délai de 5 heures après la centrifugation. Si cela n'est pas possible, réfrigérer l'échantillon dans un tube à essai muni d'un bouchon à une température comprise entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F), pendant 48 heures au maximum. Un échantillon de plasma ou de sérum peut être conservé à -10° C (14° F) pendant 5 semaines au maximum dans un congélateur non doté d'un cycle de dégivrage automatique.
- Les concentrations de **glucose** diminuent d'environ 5 à 12 mg/dL en 1 heure dans des échantillons non centrifugés conservés à température ambiante.⁴²
- La réfrigération d'échantillons de sang total peut entraîner des modifications importantes des concentrations de **glucose** et de **créatinine**.⁴³
- La photodégradation peut avoir un effet négatif sur les résultats de **bilirubine totale**.⁴⁴ Tout échantillon de sang total qui n'est pas traité immédiatement doit être conservé dans l'obscurité pendant 60 minutes au maximum. Si l'échantillon ne peut être analysé dans ce délai, il doit être séparé en plasma ou sérum et conservé dans un tube à essai muni d'un bouchon dans l'obscurité et à des températures peu élevées.⁴⁵
- La concentration en dioxyde de carbone total est déterminée le plus précisément lorsque le dosage est effectué immédiatement après l'ouverture du tube et aussitôt que possible après le prélèvement et le traitement du sang dans le tube non ouvert. L'air ambiant contient nettement moins de dioxyde de carbone que le plasma, et du dioxyde de carbone gazeux dissout s'échappera du spécimen dans l'air, ce qui entraînera une réduction de la valeur du dioxyde de carbone atteignant jusqu'à 6 mmol/L en 1 heure.⁵⁹

Substances interférentes connues

- L'héparine de lithium est l'unique anticoagulant dont l'utilisation est recommandée avec l'analyseur de réaction chimique VetScan. Abaxis a mené des études démontrant que l'EDTA, le fluorure, l'oxalate et tout anticoagulant contenant des ions d'ammonium interfèrent avec au moins une solution chimique contenue dans le rotor de réactif Profil équin VetScan.
- Les substances physiologiques interférentes (hémolyse, ictère et lipémie) peuvent entraîner des variations des concentrations telles que relevées dans certains analytes. Les indices des échantillons sont imprimés au bas de chaque fiche de résultats afin d'informer l'utilisateur des taux des substances interférentes présentes dans chaque échantillon. L'analyseur de sang total VetScan supprime tout résultat affecté par une interférence significative due à une hémolyse, une lipémie ou un ictère. Le symbole « HEM », « LIP » ou « ICT » respectivement sera imprimé sur la fiche de résultats à la place du résultat.
- La bilirubine peut interférer avec la peroxydase utilisée dans la réaction de **créatinine**.⁴⁶ Les résultats de créatinine sont moins élevés quand les niveaux de bilirubine sont >10 mg/dL.
- Les concentrations de **glucose** sont affectées par le temps écoulé depuis le dernier repas du patient et par le type d'échantillon prélevé sur ce patient. Pour obtenir une interprétation précise des résultats de glucose, les échantillons doivent être prélevés lorsque le patient est à jeun depuis au moins 12 heures.⁴⁷
- L'interférence peut être vue dans le test de la protéine totale lors de l'analyse des échantillons ayant un indice lipémique de 3 +.⁴⁵ Les échantillons dont la concentration en triglycérides est >400 mg/dL peuvent présenter un niveau accru de protéine totale. L'analyseur de réaction chimique VetScan supprime tout résultat affecté par une interférence >10 % due à une lipémie. Le symbole « LIP » est imprimé sur la fiche de résultats à la place du résultat.
- La créatine kinase est inactivée par la lumière du soleil et par un pH accru du prélèvement dû à une perte de dioxyde de carbone. Par conséquent, les échantillons doivent être stockés dans l'obscurité dans des tubes soigneusement fermés.⁴⁸
- Le dosage du potassium dans le système VetScan est un dosage associant la pyruvate kinase (PK) et la lactate déshydrogénase (LDH). Par conséquent, en cas de traumatisme musculaire très étendu ou en présence d'un taux de créatine kinase (CK) extrêmement élevé, le système VetScan peut recouvrer une valeur de potassium (K+) faussement élevée. En pareils cas, l'obtention d'un taux de potassium élevé de façon inattendue doit être confirmée par une autre méthode de dosage.

8. Procédure

Matériel fourni

- Un rotor de réactif Profil équin VetScan Plus réf. No : 5001043 (Réf. d'une boîte de 12 rotors : 500-0043-12)

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur de réaction chimique VetScan

Paramètres de test

Le système VetScan fonctionne à des températures ambiantes comprises entre 15° C et 32° C (59° F et 90° F). Le temps d'analyse pour chaque rotor de réactif Profil équin VetScan est inférieur à 14 minutes. L'analyseur maintient le rotor de réactif à une température de 37 °C (98,6 °F) pendant la durée de la mesure.

Procédure de test

Les procédures de prélèvement d'échantillons et d'utilisation complètes sont expliquées en détail dans le manuel de l'utilisateur du système VetScan.

Étalonnage

L'analyseur de réaction chimique VetScan est étalonné en usine par le fabricant avant son expédition. Le code-barres imprimé sur l'anneau du code-barres indique à l'analyseur les données d'étalonnage spécifiques au rotor. Se reporter au manuel de l'utilisateur VetScan.

Contrôle qualité

Des témoins peuvent être régulièrement analysés sur l'analyseur de réaction chimique VetScan afin de vérifier son exactitude. Abaxis recommande l'exécution d'un témoin à base de sérum disponible dans le commerce. Analyser les témoins sur le rotor de réactif de la même manière que les échantillons prélevés sur les patients. Se reporter au manuel de l'utilisateur du système VetScan pour plus d'informations sur l'analyse de témoins.

9. Résultats

L'analyseur de réaction chimique VetScan calcule et imprime automatiquement les concentrations des analytes dans l'échantillon. Les calculs des réactions à point final et de la cinétique sont expliqués en détail dans le manuel de l'utilisateur du système VetScan.

10. Limitations de la procédure

Les limitations générales de la procédure sont indiquées dans le manuel de l'utilisateur du système VetScan.

- **Si le résultat d'un test spécifique dépasse la plage de dosage, l'échantillon doit être analysé à l'aide d'une autre méthode de test approuvée ou il doit être envoyé à un laboratoire de référence.**
- Les échantillons dont les hémocrites dépassent 60 % du volume globulaire total risquent de donner des résultats inexacts. Les échantillons dont les hémocrites sont élevés peuvent être décrits comme étant hémolysés. La rotation de ces échantillons peut être décélérée et le plasma réanalysé dans un nouveau rotor de réactif.

Attention : Des tests étendus de l'analyseur de réaction chimique VetScan ont montré qu'en certains cas très rares, l'échantillon distribué dans le rotor de réactif ne s'écoule pas facilement dans la chambre d'échantillon. Suite à cet écoulement irrégulier, il se peut qu'une quantité inadéquate d'échantillon soit analysée et plusieurs résultats risquent de se trouver hors des plages de référence. L'échantillon peut être réanalysé en utilisant un nouveau rotor de réactif.

11. Caractéristiques de performance (linéarité)

Les réactions chimiques pour chaque analyte sont linéaires dans la plage dynamique indiquée ci-dessous quand le système VetScan est utilisé conformément à la procédure recommandée (se reporter au manuel de l'utilisateur du système VetScan). Le tableau des plages dynamiques ci-dessous représente le spectre que le système VetScan est capable de détecter. **Les intervalles indiqués ci-dessous ne représentent pas les plages normales.**

Tableau 1 : Plages dynamiques VetScan

Analyte	Plages dynamiques Unités communes	Unités SI
ALB	1 – 6,5 g/dL	10 – 65 g/dL
AST	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
BUN	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol urée/L
CA++	4 – 16 mg/dL	1,0 – 4,0 mmol/L
CRE	0,2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
CK	5 – 14 000 U/L	5 – 14 000 U/L
GGT	5 – 3000 U/L	5 – 3000 U/L
GLU	10 – 700 mg/dL	0,6 – 39 mg/dL
TBIL	0,1 – 30 mg/dL	1,7 – 513 µmol/L
TP	2 – 14 g/dL	20 – 140 g/dL
K⁺	1,5 – 8,5 mmol/L	1,5 – 8,5 mmol/L
Na⁺	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
TCO2	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L

12. Bibliographie

1. Webster D, Bignell AHC, Atwood EC. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
2. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-99.
3. Bergmeyer HU, et al. 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: 720-1.
4. 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.
5. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Cooper GR, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977; Vol 8: 3-8.
6. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
7. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-8.
8. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112
9. Kuby SA, Noda L, Lardy HA, Adenosinetriphosphate-Creatine Transphosphorylase. *J. Biol Chem* 1954; 209: 191 - 201.
10. Tanzer MI, Gilvarg C, Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem* 1959; 01 - 3204.
11. Nuttall FQ, Wedin DS, Simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med* 1966; 24 - 332.
12. Oliver IT, A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem* 1955; J 61: 116 - 122.
13. Rosalki SB, An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination, *J Lab Clin Med* 1967; 69: 696 - 705.
14. Szasz G, Gruber W, Bernt E, Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem* 1976; 22: 650 - 656.
15. Expert panel on enzymes, committee of standards (IFCC). Approval recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes, Part 1. General considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC sections 1979; 98: 163 - 174.
16. Committee on enzymes of the Scandinavian society for clinical chemistry and clinical physiology. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976; 36: 711-723.
17. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8:582-587.
18. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
19. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM, Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-1426.
20. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
21. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
22. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
23. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
24. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* . 1960; 91: 61-70.
25. Orlowski M and Meister A. 1. γ -glutamyl-*p*-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of k-and d- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
26. Persijn JP, can der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl- transferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
27. Shaw LM et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
29. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 850-856.
31. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119: 481-90.

33. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Faulkner WR, Meites S, eds. Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982; 9:119-24.
34. Murao S and Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
35. Osaki S and Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971. (Abstract)
36. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
37. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds., Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
38. Reigler E. Eine kolorimetrische bestimmungsmethods des eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-5.
39. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood, serum, and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-9.
40. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27:1642-50.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
42. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34: 2111-14.
44. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 1009-1015.
45. Henry RJ, Canon DC and Winkelman. *Clinical chemistry principles and technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21; 127-8.
46. Witte DL, Brown LF, Williams RL. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
47. Melnik J, Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982; 48: 543-5.
48. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 804.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
51. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
52. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
53. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
54. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
55. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
56. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
57. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. *In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
58. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

Exclusivamente para uso veterinario

Servicio técnico y Servicio al cliente 1-800-822-2947

Enero 2023

PN: 51523401

© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo de perfil equino VetScan® Plus, utilizado con el analizador químico de electrolitos, inmunoensayos y gas en sangre VetScan Classic y VetScan VS2, utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de albúmina (ALB), aspartato aminotransferasa (AST), nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), calcio total (CA⁺⁺), creatina quinasa (CK), creatinina (CRE), gammaglutamil transferasa (GGT), glucosa (GLU), bilirrubina total (TBIL), proteína total (TP), potasio (K⁺), sodio (Na⁺) y dióxido de carbono total (tCO₂) en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El rotor reactivo de perfil equino VetScan y el analizador químico de electrolitos, inmunoensayos y gas en sangre VetScan Classic y VetScan VS2 comprenden un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al veterinario en el diagnóstico de los trastornos siguientes:

Albúmina (ALB)	Enfermedades del hígado y del riñón.
Aspartato aminotransferasa (AST)	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral; shock y daños musculares. Se utiliza junto con la CK para evaluar daños musculares.
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)	Enfermedades del hígado y del riñón.
Calcio (CA⁺⁺)	Enfermedades de la glándula paratiroides, óseas y nefropatías crónicas; tetania.
Creatina quinasa (CK)	Daño muscular, convulsiones, enfermedad cardíaca; hipotiroidismo; ejercicio severo, inactividad física, disminución de la masa muscular.
Creatinina (CRE)	Enfermedad renal.
Gammaglutamil transferasa (GGT)	Enfermedad del hígado, tumores hepáticos primarios y secundarios.
Glucosa (GLU)	Diabetes, hiperglucemia, hipoglucemia y enfermedad del hígado.
Bilirrubina total (TBIL)	Trastornos hepáticos.
Proteína total (TP)	Deshidratación, enfermedad del hígado y del riñón, enfermedades metabólicas y nutricionales.
Potasio (K⁺)	Enfermedad glomerular o tubular renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento excesivo con potasio endovenoso, sepsis, panhipopituitarismo, hemólisis <i>in vitro</i> , hiperaldosteronismo, malnutrición, hiperinsulinismo, alcalosis metabólica y pérdida gastrointestinal.
Sodio (Na⁺)	Deshidratación, diabetes insípida, pérdida de líquidos gastrointestinales hipotónicos, intoxicación por sal, disminución selectiva de la sensación de sed, pérdidas cutáneas, quemaduras, sudoración, hiperaldosteronismo, alteraciones del SNC, hiponatremia por dilución, por depleción y por delirio, y síndrome de secreción inadecuada de HAD.

Dióxido de carbono total (tCO₂)

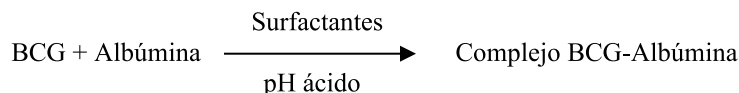
Alcalosis y acidosis metabólica primarias, y alcalosis y acidosis respiratoria primarias.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principios del procedimiento

Albúmina (ALB)

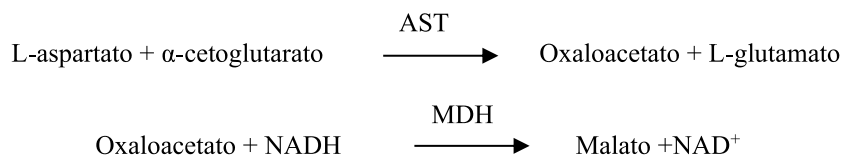
Los métodos usados con mayor frecuencia para la determinación de la albúmina son las técnicas de unión a colorantes. El bromocresol verde (BDG) es el más usado de los métodos de tinción¹.



La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción final que se mide bicromáticamente a 630 nm y 405 nm.

Aspartato aminotransferasa (AST)

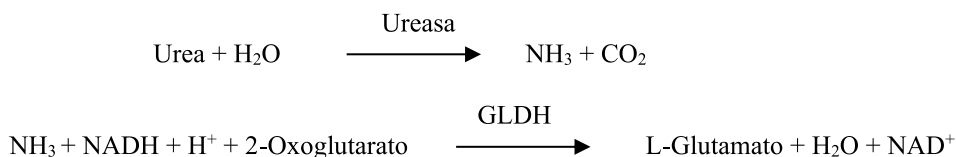
El método AST de Abaxis es una modificación del método de referencia de la IFCC^{2,3}. Este método cataliza la reacción de L-aspartato y α -cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato se convierte en malato y NADH se oxida a NAD⁺ por la enzima malato deshidrogenasa (MDH).



El cambio en el índice de absorbancia causado por la conversión de NADH a NAD⁺ se determina bicromáticamente a 340 nm y 405 nm. Este índice es directamente proporcional a la cantidad de AST presente en la muestra.

Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)

El sistema Abaxis utiliza una reacción enzimática acoplada. En esta reacción, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono⁴. Al combinarse el amoníaco con 2-oxoglutarato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD⁺.

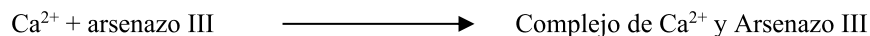


El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de urea en la muestra. Principios de la operación

Calcio total (CA⁺⁺)

El método de referencia para el calcio es la espectroscopia por absorción atómica; sin embargo no se adapta al uso de rutina⁵. Los métodos espectrofotométricos que usan indicadores como *o*-cresoltaleína complexona (CPC) o arsenazo III metalocrómico son los usados con mayor frecuencia⁶⁻⁸. El arsenazo III tiene gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio.



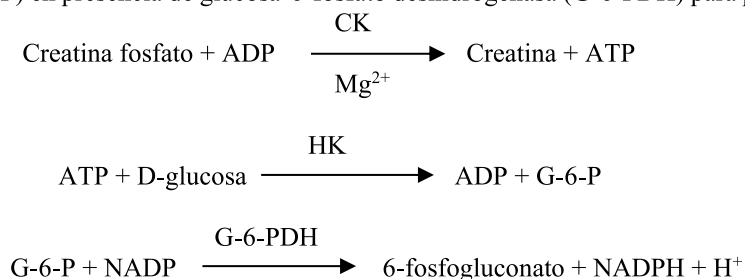
El criterio de valoración de la reacción final se controla a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio en la muestra es proporcional a la absorbancia.

Creatina quinasa (CK)

La creatina quinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina por la adenosina trifosfato (ATP). La reacción de fosforilación se favorece por las condiciones alcalinas (óptimo a 9,0) y la reacción de desfosforilación es favorecida por las condiciones ácidas (óptimo a pH 6,5 a 37° C). Los primeros métodos de medición de la CK se basaron en la "reacción anterógrada" con creatina fosfato y adenosina difosfato (ADP) como los productos⁹⁻¹¹. La sensibilidad de estas pruebas se demostró que era baja debido a problemas con interferencias. El procedimiento de elección utiliza la "reacción inversa" juntamente con una reacción que produce NADPH, que se relaciona de manera directa con los niveles de CK¹²⁻¹⁴.

El procedimiento de medición CK usado por Abaxis es una versión modificada del método de la Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC)¹⁵. Las modificaciones principales son la fracción de volumen de la muestra, el amortiguador y la temperatura. Se agregó n-acetilo cisteína (NAC) para reactivar la CK.¹⁶ Se usó magnesio como cofactor para la CK y la hexoquinasa. Se agregó EDTA como estabilizador NAC y para la eliminación de varios cationes, como el calcio y el hierro, que inhiben a la CK. También se agregaron P¹, P⁵-di (adenosina-5') penta fosfato y adenosina monofosfato (AMP) para inhibir la adenilato quinasa, otra enzima de músculo esquelético y eritrocitos que reacciona con los sustratos utilizados para medir la CK.

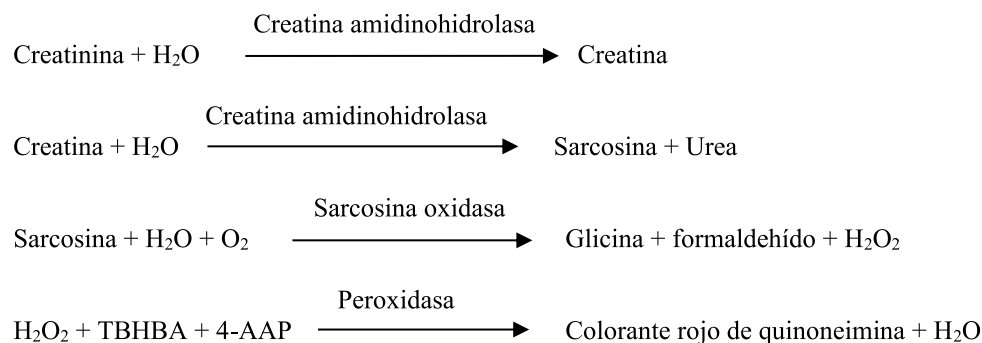
La creatina quinasa cataliza la formación de creatina y ATP a partir de creatina fosfato y ADP a pH 6,7. Con hexoquinasa (HK) como catalizador, ATP reacciona con D-glucosa para formar ADP y d-glucosa-6-fosfato (G-6-P), que reacciona con nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) para producir G-6-P y NADPH.



La formación de NADPH se mide como cambio en la absorbancia a 340 nm en relación con 405 nm. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la creatina quinasa en la muestra.

Creatinina (CRE)

El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método de referencia actual combina el uso de tierra de fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción^{17,18}. Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe^{19,20,21}. Los métodos que utilizan la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan los problemas de la interferencia del ión amoníaco que se encuentra en las técnicas que usan la creatinina iminohidrolasa²².

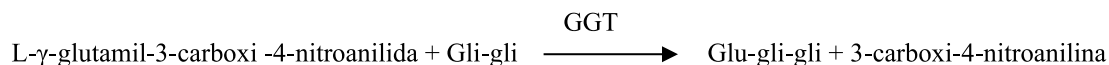


Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina endógena de los cálculos, la concentración de creatinina es proporcional a la intensidad del color rojo producido. El criterio de valoración del fin de la reacción se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 600 nm.

Gammaglutamil transferasa (GGT)

Los primeros métodos cuantitativos desarrollados para medir la gammaglutamil transferasa (GGT) implicaban una segunda reacción para formar un colorante azoico que se combinaba con un cromóforo^{23,24}. El cambio a L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilida como sustrato en la reacción eliminó el paso de formación del colorante²⁵. Debido a la pobre solubilidad y estabilidad de L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilida, este procedimiento fue modificado para usar el sustrato L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida²⁶. El método GGT recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) se basaba en el último sustrato, con glicilcicina como el otro sustrato²⁷.

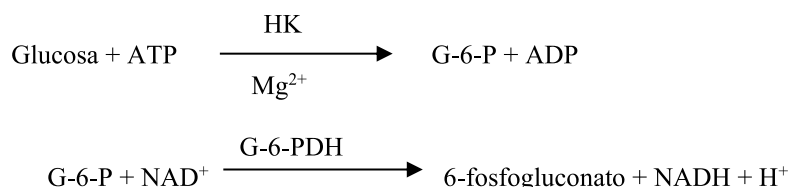
Abaxis modificó el método IFCC para que reaccione a 37° C. El agregado de una muestra con gammaglutamil transferasa a los sustratos L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida y glicilglicina (gli-gli) causa la formación de L- γ -glutamyl-glicilglicina (glu-gli-gli) y 3-carboxi-4-nitroanilina.



La absorbancia de este índice de reacción se mide a 405 nm. La producción de 3-carboxi-4-nitroanilina es directamente proporcional a la actividad de GGT en la muestra.

Glucosa (GLU)

Las mediciones de la concentración de glucosa fueron introducidas por primera vez mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu y Somogyi-Nelson)^{28, 29, 30}. La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa de Abaxis es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa³¹. La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por hexoquinasa (HK), resulta en glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a NADH.



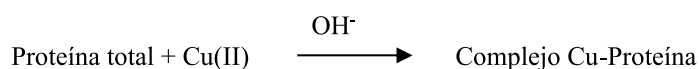
Bilirrubina total (TBIL)

Típicamente, los niveles de bilirrubina total fueron medidos por pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotizado^{32, 33} o la enzima bilirrubina oxidasa³⁴⁻³⁶. El método de prueba de la bilirrubina total utilizado en este rotor utiliza la medición fotométrica tricromática directa de la muestra diluida para determinar la concentración de la bilirrubina total. La longitud de onda primaria utilizada para medir directamente la bilirrubina total es de 467 nm. Se utilizan mediciones adicionales a 340 y 405 nm para corregir la absorbancia de bilirrubina para absorbancias provenientes de otras posibles sustancias endógenas en la muestra. El valor resultante de absorbancia a 467 nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina total basada en la calibración de la bilirrubina en suero equino.

Proteína total (TP)

El método de proteínas totales es una modificación de la reacción de biuret, reconocida por su precisión, exactitud y especificidad³⁷. Originariamente desarrollada por Riegler y modificada por Weichselbaum, Doumas, y otros. La reacción de biuret es un posible método de referencia para la proteína total³⁸⁻⁴⁰.

En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio e ioduro de potasio para impedir la precipitación del hidróxido de cobre y la auto-reducción del cobre, respectivamente³⁷. Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre el oxígeno del carbonilo y el nitrógeno de la amida para formar un complejo Cu-Proteína coloreado.

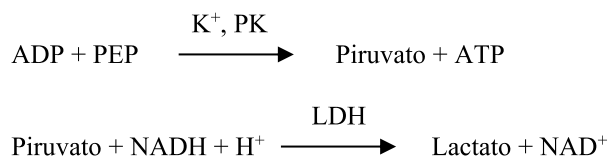


La cantidad de proteínas totales en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de proteína total es una reacción de valoración final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

Potasio (K⁺)

Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. Un método enzimático basado en la activación de piruvato quinasa con potasio muestra excelente linealidad y susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas^{51, 52, 53}. La interferencia del sodio y del ión amoníaco se minimiza al agregar Kriptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente²⁰.

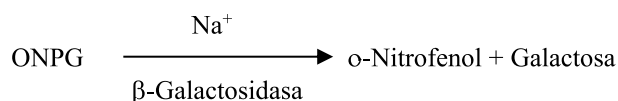
En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvato quinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactatodeshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD⁺.



El rango de cambio en la diferencia de absorbancia entre 340 y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.

Sodio (Na⁺)

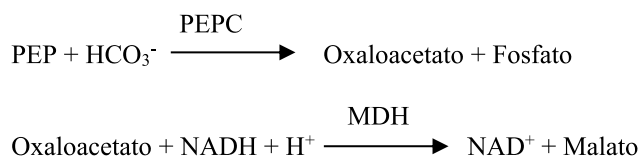
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración del sodio con instrumentación estándar de química clínica^{54, 55, 56}. En la reacción enzimática Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-o-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.



Dióxido de carbono total (tCO₂)

El dióxido de carbono total en suero o en plasma existe como dióxido de carbono disuelto, derivados carbaminos de las proteínas, iones de bicarbonato y carbonato, y ácido carbónico. El dióxido de carbono total puede ser medido por el indicador pH, electrodo CO₂ y métodos enzimáticos espectrofotométricos, los cuales producen resultados exactos y precisos^{57, 58}. El método enzimático está bien adaptado para usar con un analizador químico sanguíneo de rutina sin agregar complejidad al proceso.

En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO₂) a bicarbonato (HCO₃⁻). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO₃⁻ reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC). La malato deshidrogenasa (MDH) cataliza la reacción de oxaloacetato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH) a NAD⁺ y malato. La velocidad del cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de tCO₂ en la muestra.



4. Principios de la operación

Consulte el Manual del usuario del analizador químico VetScan y/o el Manual del usuario del analizador químico VetScan VS2 para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Cada rotor reactivo de perfil equino VetScan contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas. Un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes) se incluye en cada rotor reactivo para utilizar en el cálculo de las concentraciones de albúmina, aspartato aminotransferasa, nitrógeno ureico sanguíneo, calcio, creatina quinasa, creatinina, gammaglutamil transferasa, glucosa, bilirrubina total y proteína total. Se incluyen muestras de referencia dedicadas en el rotor para calcular la concentración de creatinina, y los niveles de bilirrubina total y de proteína total. Cada rotor reactivo contiene también un diluyente que consiste en surfactantes y conservantes.

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico veterinario *in vitro*.
- El envase del diluyente del rotor reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un rotor con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el rotor antes de cerrar el cajón.
- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un rotor reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.
- Algunos reactivos en soporte sólido contienen azida sódica, que puede reaccionar con plomo y cobre para formar azidas metálicas muy explosivas. Los reactivos no entrarán en contacto con el plomo y cobre si se siguen los procedimientos recomendados. Sin embargo, si los reactivos entran en contacto con los metales, se debe lavar abundantemente con agua para prevenir la acumulación de azida.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los rotores reactivos pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. Abra la bolsa de cierre hermético y saque el rotor, teniendo cuidado de no tocar el anillo del código de barras situado en la parte superior del rotor reactivo. Utilice de acuerdo con las instrucciones provistas en el Manual del usuario de VetScan. Deseche los rotores no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa. Los rotores dentro de bolsas abiertas no pueden volver a colocarse en el refrigerador para uso en otro momento.

Almacenamiento

Almacene los rotores reactivos en sus bolsas selladas a 2-8° C (36-46° F). No exponga los rotores abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32° C (90° F). No permita que los rotores sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa y retire el rotor inmediatamente antes de usarlo.

Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo

- Todos los reactivos contenidos en el rotor reactivo, cuando se almacena tal como se describe más arriba, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa del rotor. **No** utilice un rotor después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico VetScan.
- Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin uso entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar el rendimiento del reactivo de manera negativa. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario de VetScan para recibir información completa sobre el uso del analizador.

7. Obtención y preparación de las muestras

El tamaño mínimo necesario para la muestra es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o control. La cámara de muestra del rotor reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- La muestra recogida en una micropipeta heparinizada debe dispensarse en el rotor reactivo **inmediatamente** después de la recolección de la muestra.
- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina lito (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente los tubos para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. **No** agite el tubo de recolección. La agitación puede causar hemólisis.
- La prueba debe comenzarse en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en los 60 minutos de la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfírala a un tubo de ensayo limpio⁴¹. Analice la muestra separada de plasma o suero en las 5 horas siguientes a la centrifugación. Si esto no es posible, refrigere la muestra en un tubo de ensayo tapado a 2-8° C (36-46° F) durante no más de 48 horas. Una muestra de plasma o suero puede almacenarse a -10° C (14° F) durante un máximo de 5 semanas en un congelador que no tiene un ciclo de autodescongelación.
- Las concentraciones de **glucosa** disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente⁴².
- Las muestras de sangre entera refrigerada pueden causar cambios significativos en las concentraciones de **glucosa** y **creatinina**⁴³.
- Los resultados de la **bilirrubina total** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación⁴⁴. Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato se deben almacenar en la oscuridad por periodos que no excedan los 60 minutos. Si la muestra no puede ser analizada dentro de dicho período, se la puede separar en plasma o suero, y almacenar en un tubo de muestra con tapa en la oscuridad a baja temperatura⁴⁵.
- La concentración de dióxido de carbono total es determinada con mayor precisión cuando la prueba se lleva a cabo inmediatamente después de abrir el tubo y lo más pronto posible después de la obtención y procesamiento de la sangre en el tubo cerrado. El aire contiene mucho menos dióxido de carbono que el plasma, y el dióxido de carbono gaseoso disuelto escapará de la muestra al aire, con la reducción resultante en el valor del dióxido de carbono de hasta 6 mmol/l en el curso de 1 hora⁵⁹.

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador químico VetScan es heparina de litio. Abaxis realizó estudios que demuestran que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante con iones de amoníaco interferirán con por lo menos un producto químico del rotor reactivo de perfil equino VetScan.
- Los interferentes físicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) pueden causar cambios en las concentraciones informadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El analizador de sangre entera VetScan suprime cualquier resultado que se vea afectado por una interferencia significativa por hemólisis, lipemia o ictericia. “HEM”, “LIP” o “ICT” se imprime en la tarjeta de resultado en vez del resultado.
- La bilirrubina puede interferir con la peroxisidasa utilizada en la reacción de la **creatinina**⁴⁶. Los resultados de la creatinina disminuyen cuando los niveles de bilirrubina son superiores a 10 mg/dl.
- Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el plazo transcurrido entre el momento en el que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida del paciente. Para interpretar con precisión los resultados de la glucosa, se deben obtener las muestras de un paciente que haya estado en ayunas durante un mínimo de 12 horas⁴⁷.
- Cuando se analizan muestras con un índice lipídico 3+ se puede ver interferencia en la prueba de proteína total.⁴⁵ Las muestras con una concentración de triglicéridos superior a 400 mg/dl pueden mostrar un nivel mayor de proteína total. El analizador químico VetScan elimina todos los resultados que sufren una interferencia por parte de la lipidemia superior al 10%. En lugar del resultado, en la tarjeta de resultados se imprime “LIP”.
- La creatina quinasa es inactivada tanto por la luz diurna brillante como por el aumento del pH de la muestra debido a una pérdida de dióxido de carbono; por esta razón, las muestras deben almacenarse a oscuras en tubos herméticamente cerrados⁴⁸.
- La prueba de potasio del sistema VetScan es un ensayo de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH) acoplados. Por tanto, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el VetScan puede recuperar un valor de potasio (K+) falsamente elevado. En casos como éste, los valores de recuperación de potasio inesperadamente altos deben confirmarse con otra metodología.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo de perfil equino VetScan Plus PN: 500 – 1043 (una caja de 12 discos, PN: 500-0043-12)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico VetScan

Parámetros de prueba

El sistema VetScan opera a temperaturas ambientes entre 15° C y 32° C (59-90° F). El tiempo de análisis para cada rotor reactivo de perfil equino VetScan es de menos de 14 minutos. El analizador mantiene el rotor reactivo a una temperatura de 37° C (98,6° F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba

La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el Manual del usuario de VetScan.

Calibrado

El analizador químico VetScan es calibrado por el fabricante antes de ser enviado. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del rotor. Consulte el Manual del usuario de VetScan.

Control de calidad

Pueden analizarse controles periódicamente en el analizador químico VetScan para verificar la exactitud del analizador. Abaxis recomienda analizar un control comercialmente disponible, basado en suero. Los controles deben analizarse en el rotor reactivo de la misma manera que las muestras de pacientes. Consulte el Manual del usuario de VetScan para aprender cómo analizar los controles.

9. Resultados

El analizador químico VetScan calcula automáticamente e imprime las concentraciones de analitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario de VetScan.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del usuario del sistema VetScan.

- **Si un resultado para una prueba particular supera los valores del análisis, la muestra deberá analizarse por otro método de prueba homologada o enviarse a un laboratorio de referencia.**
- Las muestras con hematocritos que excedan del 60% de volumen corpuscular de eritrocitos darán resultados inexactos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas y luego volver a analizar el plasma con un nuevo rotor reactivo.

Advertencia: Pruebas exhaustivas del analizador químico VetScan han demostrado que, en casos muy raros, la muestra aplicada al rotor reactivo podría no fluir con facilidad a la cámara de la muestra. Debido al flujo irregular, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y varios resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia establecidos. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo rotor reactivo.

11. Características de rendimiento (linealidad)

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el sistema VetScan se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario de VetScan). La tabla de intervalos dinámicos que aparece a continuación representa el espectro que puede detectar el sistema VetScan. **Los intervalos que aparecen a continuación no representan intervalos normales.**

Tabla 1: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Intervalos dinámicos Unidades comunes	Unidades SI
ALB	1 – 6,5 g/dl	10 – 65 g/l
AST	5 – 2000 U/l	5 – 2000 U/l
BUN	2 – 180mg/dl	0,7 – 64,3 mmol urea/l
CA++	4 – 16 mg/dl	1,0 – 4,0 mmol/l
CRE	0,2 – 20 mg/dl	18 – 1768µmol/l
CK	5 – 14,000 U/l	5 – 14,000 U/l
GGT	5 – 3000 U/l	5 – 3000 U/l
GLU	10 – 700 mg/dl	0,6 – 39mg/dl
TBIL	0,1 – 30 mg/dl	1,7 – 513 µmol/l
TP	2 – 14 g/dl	20 – 140 g/l
K+	1,5 – 8,5 mmol/l	1,5 – 8,5 mmol/l
Na+	110 – 170 mmol/l	110 – 170 mmol/l
TCO2	5 – 40 mmol/l	5 – 40mmol/l

12. Bibliografia

1. Webster D, Bignell AHC, Atwood EC. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
2. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-99.
3. Bergmeyer HU, et al. 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: 720-1.
4. 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.
5. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In: Cooper GR, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977; Vol 8: 3-8.
6. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
7. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-8.
8. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112
9. Kuby SA, Noda L, Lardy HA, Adenosinetriphosphate-Creatine Transphosphorylase. *J. Biol Chem* 1954; 209: 191 - 201.
10. Tanzer MI, Gilvarg C, Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem* 1959; 01 - 3204.
11. Nuttall FQ, Wedin DS, Simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med* 1966; 24 - 332.
12. Oliver IT, A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem* 1955; J 61: 116 - 122.
13. Rosalki SB, An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination, *J Lab Clin Med* 1967; 69: 696 - 705.
14. Szasz G, Gruber W, Bernt E, Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem* 1976; 22: 650 - 656.
15. Expert panel on enzymes, committee of standards (IFCC). Approval recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes, Part 1. General considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC sections 1979; 98: 163 - 174.
16. Committee on enzymes of the Scandinavian society for clinical chemistry and clinical physiology. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976; 36: 711-723.
17. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8:582-587.
18. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
19. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM, Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-1426.
20. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
21. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
22. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. *In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
23. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
24. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* . 1960; 91: 61-70.
25. Orlowski M and Meister A. 1. γ -glutamyl-*p*-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of k-and d- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
26. Persijn JP, can der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl- transferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
27. Shaw LM et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
29. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 850-856.
31. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119: 481-90.

33. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In: Faulkner WR, Meites S, eds. Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982; 9:119-24.
34. Murao S and Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
35. Osaki S and Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971. (Abstract)
36. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
37. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds., Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
38. Reigler E. Eine kolorimetrische bestimmungsmethods des eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-5.
39. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood, serum, and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-9.
40. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27:1642-50.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
42. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34: 2111-14.
44. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. *In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 1009-1015.
45. Henry RJ, Canon DC and Winkelman. *Clinical chemistry principles and technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21; 127-8.
46. Witte DL, Brown LF, Williams RL. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
47. Melnik J, Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982; 48: 543-5.
48. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. *In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 804.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
51. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
52. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
53. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
54. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
55. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
56. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
57. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. *In: Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
58. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. *In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

Esclusivamente per uso veterinario

Servizio clienti e assistenza tecnica +1-800-822-2947

Gennaio 2023

PN: 51523401

© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

The VetScan® Il rotore reagente Profilo equino VetScan Plus usato con gli strumenti di chimica diagnostica di gasanalisi, immunodosaggi ed elettroliti VetScan Classic e VetScan VS2, impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* di albumina (ALB), aspartato aminotransferasi (AST), azoto ureico ematico (BUN), calcio totale (CA⁺⁺), creatina chinasi (CK), creatinina (CRE), gamma glutamil transferasi (GGT), glucosio (GLU), bilirubina totale (TBIL) e anidride carbonica totale (tCO₂) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.

2. Sommario e spiegazione dei test

Il rotore reagente Profilo equino VetScan e gli strumenti di chimica diagnostica di gasanalisi, immunodosaggi ed elettroliti VetScan Classic e VetScan VS2 costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il veterinario nella diagnosi delle seguenti patologie:

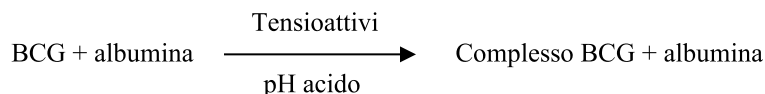
Albumina (ALB)	Malattia epatica e renale.
Aspartato aminotransferasi (AST)	Malattie epatiche, quali epatite e ittero virale; shock e danno muscolare. Usato in combinazione con CK per valutare il danno muscolare.
Azoto ureico ematico (BUN)	Malattie epatiche e renali.
Calcio (CA⁺⁺)	Malattie paratiroidee, ossee e renali croniche; tetanie.
Creatina chinasi (CK)	Danno muscolare, convulsioni, cardiopatia; ipotiroidismo; attività fisica intensa, inattività fisica e massa muscolare ridotta.
Creatinina (CRE)	Malattia renale.
Gamma glutamil transferasi (GGT)	Malattia epatica, tumori epatici primari e secondari.
Glucosio (GLU)	Diabete, iperglicemia, ipoglicemia e malattia epatica.
Bilirubina totale (TBIL)	Disturbi epatici.
Proteine totali (TP)	Disidratazione, malattia renale ed epatica, disturbi metabolici e nutrizionali.
Potassio (K⁺)	Malattia renale glomerulare o tubolare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi <i>in vitro</i> , iperaldosteronismo, denutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.
Sodio (Na⁺)	Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sali, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, ustioni, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia da diluizione, deplezione e psichica e sindrome da inappropriata secrezione di ADH
Anidride carbonica totale (tCO₂)	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.

Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principi della procedura

Albumina (ALB)

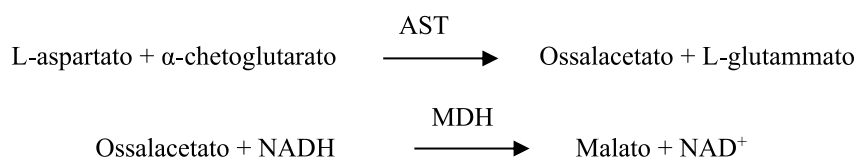
Le tecniche colorimetriche sono i metodi più frequentemente usati per misurare l'albumina. Il verde bromocresolo (BCG) è l'agente più comunemente usato per i metodi colorimetrici.¹



L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint che viene misurata bicromaticamente a 630 nm e 405 nm.

Aspartato aminotransferasi (AST)

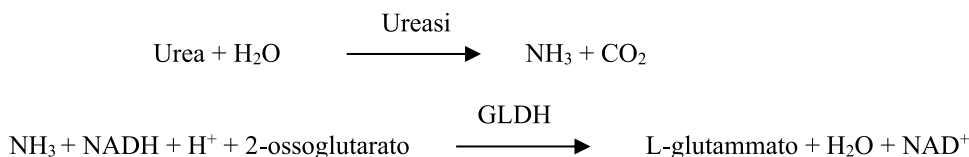
Il metodo Abaxis AST è una modificazione del metodo di riferimento IFCC.^{2,3} Questo metodo catalizza la reazione di L-aspartato e α -chetoglutarato in ossalacetato ed L-glutammato. L'ossalacetato è convertito in malato e l' NADH viene ossidato in NAD^+ dall'enzima malato deidrogenasi (MDH).



La velocità di variazione nell'assorbanza causata dalla conversione di NADH in NAD^+ è determinata bicromaticamente a 340 nm e 405 nm. Questa velocità è direttamente proporzionale alla quantità di AST presente nel campione.

Azoto ureico ematico (BUN)

Il sistema Abaxis impiega una reazione enzimatica accoppiata, in cui l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica.⁴ Combinando l'ammoniaca con 2-ossoglutarato e nicotinammide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida l' NADH in NAD^+ .

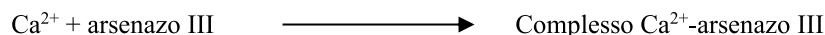


La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di urea presente nel campione.

Calcio totale (Ca^{++})

Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico, che è però inadatta ad analisi di routine.¹⁵ I metodi spettrofotometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresoftaleina complexone (CPC) o arsenazo III sono quelli più comunemente usati.⁶⁻⁸ L'arsenazo III presenta un'elevata affinità per il calcio e non è temperatura-dipendente come il CPC.

Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.



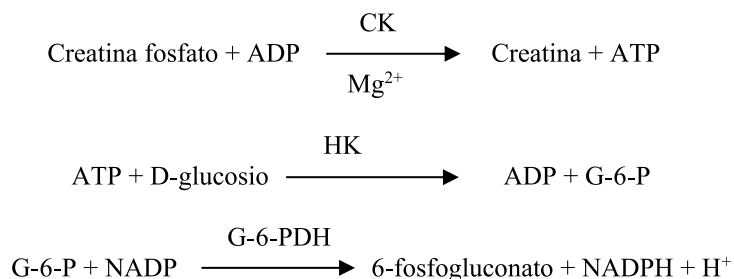
La reazione di endpoint viene controllata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio nel campione è proporzionale all'assorbanza.

Creatina chinasi (CK)

La creatina chinasi catalizza la fosforilazione reversibile della creatina da parte dell'adenosina trifosfato (ATP). Le reazioni di fosforilazione e defosforilazione sono rispettivamente favorite da condizioni alcaline (ottimali a 9,0) e condizioni acide (ottimali a pH 6,5, a 37 °C). I primi metodi di misurazione della CK si basavano sulla "reazione *forward*" con creatina fosfato e adenosina difosfato (ADP) come prodotti.⁹⁻¹¹ La sensibilità di questi test è risultata inferiore a causa di problemi con fattori interferenti. La procedura di scelta utilizza invece una "reazione inversa" abbinata a una reazione per produrre NADPH, che è direttamente correlato ai livelli di CK.¹²⁻¹⁴

La procedura di misurazione di CK adottata da Abaxis è una variante del metodo International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).¹⁵ Le modificazioni chiave sono frazione di volume del campione, tampone e temperatura. È stata aggiunta N-acetil cisteina (NAC) per riattivare CK.¹⁶ Il magnesio è usato come cofattore sia per CK che per esochinasi. È stato aggiunto EDTA come stabilizzatore per NAC e per la rimozione di vari cationi, quali calcio e ferro, che inibiscono CK. Sono stati inoltre aggiunti P¹, P⁵-di (adenosina-5')pentaosfato e adenosina monofosfato (AMP) per inibire l'adenilato chinasi, un altro enzima eritrocitario e muscoloscheletrico che reagisce con i substrati usati per misurare CK.

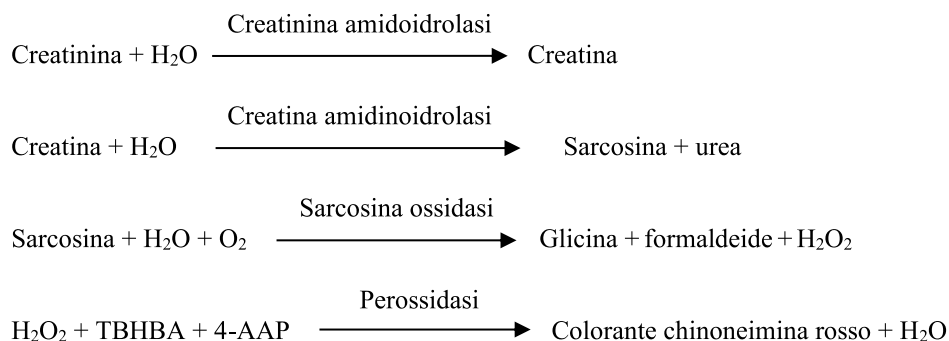
La creatina chinasi catalizza la formazione di creatina e ATP da creatina fosfato e ADP a pH 6,7. Con esochinasi (HK) come catalizzatore, l'ATP reagisce con il D-glucosio formando ADP e D-glucosio-6-fosfato (G-6-P), che a sua volta reagisce con nicotinammide adenin dinucleotide fosfato (NADP) in presenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) per produrre G-6-P e NADPH.



La formazione di NADPH è misurata come variazione nell'assorbanza a 340 nm rispetto a 405 nm. Questa variazione di assorbanza è direttamente proporzionale all'attività della creatina chinasi nel campione.

Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbinava l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{17,18} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{19,20,21} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.²²

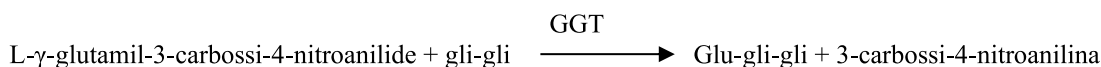


Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai calcoli la creatina endogena, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso sviluppato. La reazione di endpoint è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 600 nm.

Gamma glutamil transferasi (GGT)

I primi metodi quantitativi sviluppati per misurare la gamma glutamil transferasi (GGT) comportavano una seconda reazione per formare un colorante azoico che si combinava con un cromoforo.^{23,24} La sostituzione di L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide come substrato nella reazione ha eliminato la fase di formazione del colorante.²⁵ Date le scarse solubilità e stabilità di L- γ -glutamyl-*p*-nitroanilide, questa procedura è stata modificata al fine di usare il substrato L- γ -glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide.²⁶ Il metodo GGT raccomandato dall'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) si basa sul secondo substrato, con glicilglicina come altro substrato.²⁷

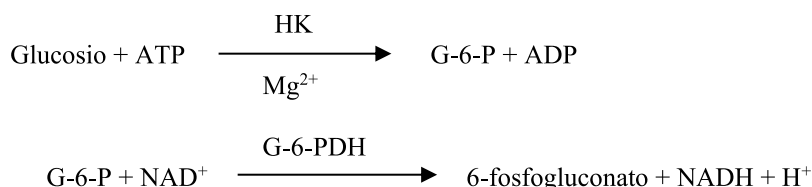
Abaxis ha modificato il metodo IFCC per la reazione a 37 °C. L'aggiunta di campione contenente gamma glutamil transferasi ai substrati L- γ -glutamyl-3-carbossi-4-nitroanilide e glicilglicina (gli-gli) causa la formazione di L- γ -glutamyl-glicilglicina (glu-gli-gli) e 3-carbossi-4-nitroanilina.



L'assorbanza di questa reazione di velocità viene misurata a 405 nm. La produzione di 3-carbossi-4-nitroanilina è direttamente proporzionale all'attività GGT nel campione.

Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu e Somogyi-Nelson).^{28, 29, 30} La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio Abaxis è una variante del metodo dell'esochinasi proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.³¹ La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dall'esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione del nicotinammide adenin dinucleotide (NAD⁺) in NADH.



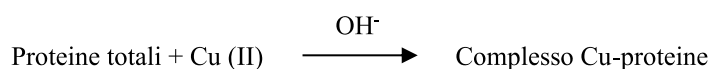
Bilirubina totale (TBIL)

I livelli di bilirubina totale sono stati generalmente misurati con test basati sull'impiego di acido solfanilico diazotato^{32, 33} o l'enzima bilirubina ossidasi.³⁴⁻³⁶ Il metodo di test della bilirubina totale usato in questo rotore, impiega una misurazione fotometrica tricromatica diretta del campione diluito per determinare la concentrazione di bilirubina totale. La lunghezza d'onda primaria usata per misurare direttamente la bilirubina totale è 467 nm. Le misurazioni aggiuntive a 340 e 405 nm sono usate per correggere l'assorbanza della bilirubina in funzione delle assorbanze da altre possibili sostanze endogene nel campione. Il conseguente valore di assorbanza a 467 nm è direttamente proporzionale alla concentrazione di bilirubina totale basato sulla calibrazione della bilirubina nel siero di cavallo.

Proteine totali (TP)

Il metodo delle proteine totali è una modifica della reazione del biureto, nota per la sua precisione, accuratezza e specificità,³⁷ che è stata originariamente sviluppata da Riegler e successivamente modificata da Weichselbaum, Doumas, et al. La reazione del biureto è un potenziale metodo di riferimento delle proteine totale.³⁸⁻⁴⁰

Nella reazione del biureto, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.³⁷ Gli ioni Cu(II) reagiscono con i legami peptidici tra gli atomi di ossigeno del gruppo carbonilico e di azoto del gruppo ammidico formando un complesso colorato Cu-proteine.



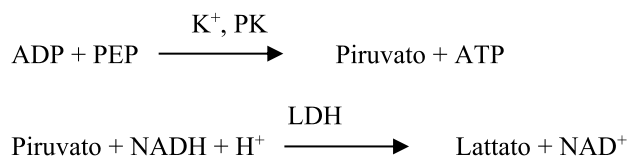
La quantità di proteine totali presenti nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del complesso Cu-proteine. Il test delle proteine totali è una reazione di endpoint e l'assorbanza è data dalla differenza in assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

Potassio (K⁺)

Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico basato sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio presenta linearità eccellente e

sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.^{51, 52, 53} L'interferenza dagli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e glutammino sintetasi.²⁰

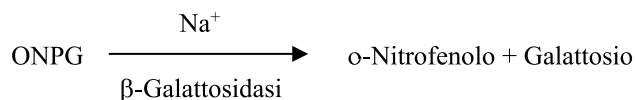
Nella reazione enzimatica accoppiata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ .



La velocità di cambiamento dell'assorbanza causata dalla trasformazione dell' NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.

Sodio (Na^+)

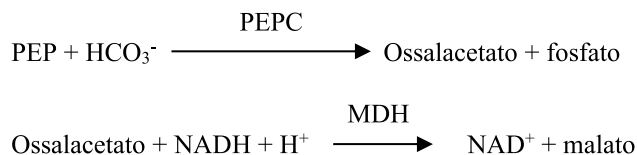
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{54, 55, 56} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β -galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione dell'o-nitrofenil--D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



Anidride carbonica totale (tCO_2)

L'anidride carbonica totale nel siero o nel plasma è presente sotto forma di anidride carbonica disciolta, derivati carbaminici delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata mediante indicatore di pH, elettrodo a CO_2 e metodi enzimatici spettrofotometrici, tutti con risultati accurati e precisi.^{57, 58} Il metodo enzimatico è ideale per l'uso con un analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, in quanto non comporta alcuna complessità.

Nel metodo enzimatico, il campione viene innanzitutto alcalinizzato per convertire tutte le forme di anidride carbonica (CO_2) in bicarbonato (HCO_3^-). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l' HCO_3^- reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malato deidrogenasi (MDH) catalizza la reazione di ossalacetato e nicotinammide adenin dinucleotide ridotta (NADH) in NAD^+ e malato. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell' NADH in NAD^+ è direttamente proporzionale alla quantità di tCO_2 nel campione.



4. Principio del test

Per i principi e i limiti della procedura, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan e/o il manuale d'uso di VetScan VS2.

5. Descrizione dei reagenti

Ogni rotore reagente Profilo equino VetScan contiene microsfere secche di reagente specifico per il test. Ogni rotore reagente comprende un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di albumina, aspartato aminotransferasi, azoto ureico ematico, calcio, creatina chinasi, creatinina, gamma glutil transferasi, glucosio, bilirubina totale e proteine totali. Il rotore comprende campioni bianchi dedicati per calcolare la concentrazione di creatinina, bilirubina totale e i livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Avvertenze e precauzioni

- Per uso diagnostico veterinario *in vitro*
- Il contenitore del diluente nel rotore reagente si apre automaticamente alla chiusura del cassetto dell'analizzatore. Non è possibile riutilizzare un rotore con contenitore del diluente aperto. Prima di chiudere il cassetto, assicurarsi che il campione o il controllo sia stato inserito nel rotore.
- Le microsfere di reagente possono contenere acidi o sostanze caustiche. Se rispetta le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione delle microsfere (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un rotore reagente), evitare ingestione, contatto cutaneo e inalazione.
- Alcune microsfere di reagente contengono sodio azide che può reagire con le tubature di piombo e rame formando azoturi altamente esplosivi. Se si rispettano le procedure raccomandate, i reagenti non vengono a contatto con le tubature in piombo e rame. Tuttavia, qualora i reagenti venissero a contatto con tali tubature, sciacquare con abbondanti quantità d'acqua per evitare l'accumulo di azide.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i rotori reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Aprire il sacchetto sigillato di foglio d'alluminio ed estrarre il rotore, prestando attenzione a non toccare l'anello con il codice a barre situato sulla parte superiore del rotore stesso. Per l'uso, seguire le istruzioni fornite nel manuale d'uso VetScan. Gettare il rotore se non lo si utilizza entro 20 minuti dall'apertura del sacchetto. I rotori in sacchetti aperti non possono essere riposti in frigorifero per essere utilizzati successivamente.

Conservazione

Conservare i rotori reagente nei sacchetti sigillati a 2–8 °C (36–46 °F). Non esporre i rotori, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90 °F). Non lasciare i rotori sigillati nei sacchetti di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire il sacchetto ed estrarre il rotore soltanto prima dell'uso.

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente

- Tutti i reagenti contenuti nell'apposito rotore, se conservati nel modo sopra descritto, sono stabili sino alla data di scadenza stampata sul sacchetto del rotore. **Non** utilizzare un rotore dopo la data di scadenza. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore chimico VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.
- In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare rotori prelevati da sacchetti danneggiati.

6. Strumento

Per informazioni complete sull'uso dell'analizzatore, vedere il manuale d'uso VetScan.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

La quantità minima di campione è di ~100 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o controllo. La camera del campione su rotore reagente può contenere fino a 120 µL di campione.

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.⁴¹ Analizzare il campione di siero o plasma separato entro 5 ore dalla centrifugazione. Qualora ciò non fosse possibile, refrigerare il campione in una provetta tappata a 2–8 °C (36–46 °F) per non più di 48 ore. Un campione di plasma o siero può essere conservato a -10 °C (14 °F) per un massimo di 5 settimane in un congelatore privo di ciclo di autoscongelo.
- Le concentrazioni di **glucosio** diminuiscono di circa 5–12 mg/dL in 1 ora in campioni non centrifugati conservati a temperatura ambiente.⁴²
- La refrigerazione di campioni di sangue intero può causare variazioni significative nelle concentrazioni di **glucosio** e **creatinina**.⁴³

- I risultati della **bilirubina totale** possono essere negativamente influenzati dalla fotodegradazione.⁴⁴ Conservare i campioni di sangue intero al buio per non più di 60 minuti. Se il campione non può essere analizzato entro tale periodo, separarlo in plasma o siero e conservarlo in una provetta tappata, al buio, a basse temperature.⁴⁵
- La concentrazione di anidride carbonica totale viene determinata con la massima accuratezza se si effettua l'analisi subito dopo l'apertura della provetta e quanto prima possibile dopo il prelievo e il trattamento del sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene una quantità di anidride carbonica decisamente inferiore rispetto al plasma e il conseguente rilascio di anidride carbonica disciolta in forma gassosa dal campione nell'aria farà diminuire il valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/L nell'arco di un'ora.⁵⁹

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore chimico VetScan è la litio eparina. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come EDTA, fluoruro, ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscano con almeno una delle sostanze chimiche contenute nel rotore reagente Profilo equino VetScan.
- Gli interferenti fisici (emolisi, ittero e lipemia) possono causare variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. L'analizzatore di sangue intero VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza significativa dovuta a emolisi, lipemia o ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- La bilirubina può interferire con la perossidasi usata nella reazione della **creatinina**.⁴⁶ I risultati della creatinina risultano inferiori quando i livelli di bilirubina sono > 10 mg/dL.
- Le concentrazioni di **glucosio** sono influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente e dal tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, prelevare i campioni da pazienti a digiuno da almeno 12 ore.⁴⁷
- Quando si analizzano campioni con un indice lipemico 3 +, è possibile osservare interferenze nel test delle proteine totali.⁴⁵ I campioni con una concentrazione di trigliceridi >400 mg/dL possono presentare un livello aumentato di proteine totali. L'analizzatore chimico VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a lipemia. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché il risultato viene stampata la dicitura "LIP" (lipemia).
- La creatina chinasi viene inattivata sia da luce solare intensa che dall'aumento del pH del campione a causa di perdita di anidride carbonica; conservare pertanto i campioni al buio in provette accuratamente tappate.⁴⁸
- Il dosaggio del potassio nel sistema VetScan è un test combinato di piruvato chinasi (PK) / lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema VetScan può pertanto recuperare un valore di potassio (K+) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello inteso di potassio elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo equino VetScan Plus, numero parte: 500 – 1043 (una confezione di 12 rotori, numero parte: 500-0043-12)

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan

Parametri del test

Il sistema VetScan funziona a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59-90 °F). Il tempo di analisi per ogni rotore reagente Profilo equino VetScan è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il rotore reagente a una temperatura di 37 °C (98,6 °F).

Procedura del test

Le procedure complete per la raccolta dei campioni e le istruzioni operative dettagliate sono riportate nel manuale d'uso VetScan.

Calibrazione

L'analizzatore chimico VetScan è calibrato dal fabbricante prima della spedizione. Il codice a barre stampato sull'apposito anello fornisce i dati di calibrazione specifici per i rotori. Vedere il manuale d'uso VetScan.

Controllo di qualità

Per verificare l'accuratezza dell'analizzatore chimico VetScan, è possibile analizzare periodicamente i controlli appositi. Abaxis raccomanda di analizzare un controllo a base di siero normalmente in commercio. Analizzare i controlli sul rotore reagente seguendo la stessa procedura adottata per i campioni dei pazienti. Per l'analisi dei controlli, vedere il manuale d'uso VetScan.

9. Risultati

L'analizzatore chimico VetScan calcola e stampa automaticamente le concentrazioni di analiti nel campione. I dettagli dei calcoli delle reazioni di endpoint e velocità sono riportati nel manuale d'uso VetScan.

10. Limiti della procedura

I limiti generici della procedura sono descritti nel manuale d'uso dei sistemi VetScan.

- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range del dosaggio, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento.**
- I campioni con ematocriti superiori al 60% del volume dei globuli rossi concentrati possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Questi campioni possono essere centrifugati e il plasma quindi rianalizzato in un nuovo rotore reagente.

Avvertenza: Test su larga scala dell'analizzatore chimico VetScan hanno dimostrato che in rarissimi casi il campione dispensato nel rotore reagente non riesce a fluire omogeneamente nell'apposita camera. A causa del flusso irregolare, è possibile che venga analizzata una quantità di campione inadeguata e che vari risultati non rientrino nei range di riferimento definiti. Il campione può essere rianalizzato usando un rotore reagente nuovo.

11. Caratteristiche prestazionali (linearità)

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se il sistema VetScan è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale d'uso VetScan). La tabella dei range dinamici di seguito fornita, rappresenta lo spettro rilevabile dal sistema VetScan. **Gli intervalli seguenti non rappresentano i range normali.**

Analita	Range dinamici Unità comuni	Unità SI
ALB	1 – 6,5 g/dL	10 – 65 g/L
AST	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
BUN	2 – 180mg/dL	0,7 – 64,3 mmol urea/L
CA++	4 – 16 mg/dL	1,0 – 4,0 mmol/L
CRE	0,2 – 20 mg/dL	18 – 1768µmol/L
CK	5 – 14.000 U/L	5 – 14.000 U/L
GGT	5 – 3000 U/L	5 – 3000 U/L
GLU	10 – 700 mg/dL	0,6 – 39mg/dL
TBIL	0,1 – 30 mg/dL	1,7 – 513 µmol/L
TP	2 – 14 g/dL	20 – 140 g/L
K+	1,5 – 8,5 mmol/L	1,5 – 8,5 mmol/L
Na+	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
TCO2	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L

12. Bibliografia

1. Webster D, Bignell AHC, Atwood EC. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
2. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-99.
3. Bergmeyer HU, et al. 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: 720-1.
4. 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.
5. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. *In*: Cooper GR, ed., *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977; Vol 8: 3-8.
6. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
7. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-8.
8. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112
9. Kuby SA, Noda L, Lardy HA, Adenosinetriphosphate-Creatine Transphosphorylase. *J. Biol Chem* 1954; 209: 191 - 201.
10. Tanzer MI, Gilvarg C, Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem* 1959; 01 - 3204.
11. Nuttall FQ, Wedin DS, Simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. *J Lab Clin Med* 1966; 24 - 332.
12. Oliver IT, A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem* 1955; J 61: 116 - 122.
13. Rosalki SB, An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination, *J Lab Clin Med* 1967; 69: 696 - 705.
14. Szasz G, Gruber W, Bernt E, Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. *Clin Chem* 1976; 22: 650 - 656.
15. Expert panel on enzymes, committee of standards (IFCC). Approval recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes, Part 1. General considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC sections 1979; 98: 163 - 174.
16. Committee on enzymes of the Scandinavian society for clinical chemistry and clinical physiology. Recommended method for the determination of creatine kinase in blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976; 36: 711-723.
17. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8:582-587.
18. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 385-394.
19. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM, Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21:1422-1426.
20. Jaynes PK, Feld RD, Johnson GF. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
21. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymatic creatinine assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
22. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. *In*: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
23. Ball EG, Revel JP, Cooper O. The quantitative measurement of γ -glutamyl transpeptidase activity. *J Biol Chem* 1956; 221: 895-908.
24. Goldbarg JA, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* . 1960; 91: 61-70.
25. Orłowski M and Meister A. 1. γ -glutamyl-*p*-nitroanilide: A new convenient substrate for determination and study of k-and d- γ -glutamyltranspeptidase activities. *Biochem Biophys Acta* 1963; 73: 679-681.
26. Persijn JP, van der Slik W. A new method for the determination of γ -glutamyl- transferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976; 14: 421-427.
27. Shaw LM et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 633-646.
28. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937; 117: 771-776.
29. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944; 153: 375-380.
30. Kaplan LA. Glucose. *In*: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 850-856.
31. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta.* 1972; 39: 35-40
32. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119: 481-90.
33. Meites S. Bilirubin, directing reacting and total, modified Mally-Evelyn method. *In*: Faulkner WR, Meites S, eds. *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1982; 9:119-24.

34. Murao S and Tanaka N. A new enzyme “bilirubin oxidase” produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-4.
35. Osaki S and Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1982; 30: 971. (Abstract)
36. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-32.
37. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds., *Clinical Chemistry: Theory, analysis, and correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
38. Reigler E. Eine kolorimetrische bestimmungsmethods des eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-5.
39. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood, serum, and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-9.
40. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27:1642-50.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
42. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycosis: A re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
43. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34: 2111-14.
44. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*, 2nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989; 1009-1015.
45. Henry RJ, Canon DC and Winkelman. *Clinical chemistry principles and technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row; 1974; 417-21; 127-8.
46. Witte DL, Brown LF, Williams RL. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
47. Melnik J, Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982; 48: 543-5.
48. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1994; 804.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
51. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
52. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
53. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
54. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
55. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
56. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
57. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
58. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.