

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

January 2023
PN: 51630400
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Intended Use

The VetScan[®] Kidney Profile Plus reagent rotor used with the VetScan VS2 Chemistry Analyzer utilizes dry and liquid reagents to provide veterinary *in vitro* quantitative determination of albumin (ALB), calcium (CA⁺⁺), chloride (CL⁻), creatinine (CRE), glucose (GLU), phosphorous (PHOS), potassium (K⁺), sodium (NA⁺), total carbon dioxide (tCO₂), and urea nitrogen (BUN) in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum.

2. Summary and Explanation of Tests

The VetScan Kidney Profile Plus Reagent Rotor and the VetScan VS2 Chemistry Analyzer comprise an *in vitro* diagnostic system that aids the veterinarian in diagnosing the following disorders:

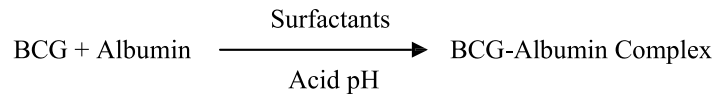
Albumin	Liver and kidney diseases.
Calcium	Parathyroid, bone and chronic renal disease; tetany.
Chloride	Chronic diarrhea, chronic vomiting, renal disease, parathyroid disease, chronic respiratory acidosis or alkalosis, hyperadrenocorticism, hypoadrenocorticism, and thiazide therapy.
Creatinine	Renal disease.
Glucose	Diabetes, hyperglycemia, hypoglycemia and liver disease.
Phosphorus	Kidney disease, hypoparathyroidism and nutritional disorders.
Potassium	Malnutrition and renal disease. This electrolyte is used to diagnose the causes of vomiting, diarrhea and cardiac symptoms.
Sodium	Dehydration, and diabetes. This electrolyte is used to diagnose the causes of vomiting, diarrhea and cardiac symptoms.
Total Carbon Dioxide	Primary metabolic alkalosis and acidosis, and primary respiratory alkalosis and acidosis.
Urea Nitrogen	Liver and kidney diseases.

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. Principle of Procedure

Albumin

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

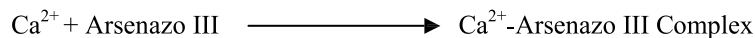


Bound albumin is proportional to the concentration of albumin in the sample. This is an endpoint reaction that is measured bichromatically at 630 nm and 405 nm.

Total Calcium

The reference method for calcium is atomic absorption spectroscopy; however, this method is not suited for routine use.² Spectrophotometric methods using either *o*-cresolphthalein complexone (CPC) or arsenazo III metallochromic indicators are most commonly used.^{3,4,5} Arsenazo III has a high affinity for calcium and is not as temperature dependent as CPC.

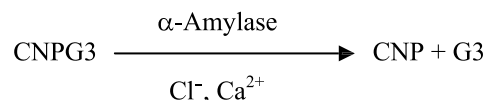
Calcium in the patient sample binds with arsenazo III to form a calcium-dye complex.



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.

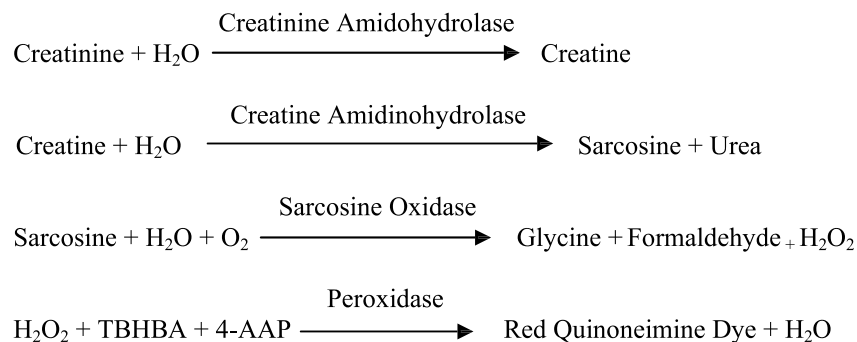
Chloride (Cl⁻)

The method is based on the determination of chloride-dependent activation of α -amylase activity. Deactivated α -amylase is reactivated by addition of the chloride ion, allowing the calcium to re-associate with the enzyme. The reactivation of α -amylase activity is proportional to the concentration of chloride ions in the sample. The reactivated α -amylase converts the substrate, 2-chloro-*p*-nitrophenyl- α -D-maltotriose (CNPG3) to 2-chloro-*p*-nitrophenol (CNP) producing color and α -maltotriose (G3). The reaction is measured bichromatically and the increase in absorbance is directly proportional to the reactivated α -amylase activity and the concentration of chloride ion in the sample.⁶



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.^{7, 8} Enzymatic methods have been developed that are more specific for creatinine than the various modifications of the Jaffe technique.^{9, 10, 11} Methods using the enzyme creatinine amidohydrolase eliminate the problem of ammonium ion interference found in techniques using creatinine iminohydrolase.¹²



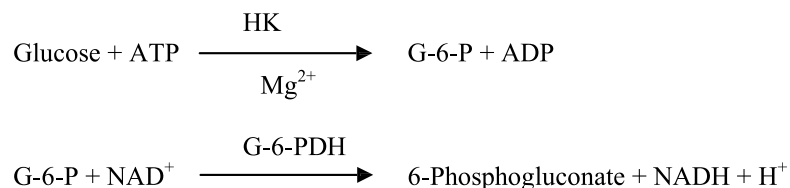
Two cuvettes are used to determine the concentration of creatinine in the sample. Endogenous creatine is measured in the blank cuvette, which is subtracted from the combined endogenous creatine and the creatine formed from the enzyme reactions in the test cuvette. Once the endogenous creatine is eliminated 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.

Glucose (GLU)

Measurements of glucose concentration were first performed using copper-reduction methods (such as Folin-Wu¹³ and Somogyi-Nelson^{14, 15}). The lack of specificity in copper-reduction techniques led to the development of quantitative procedures using the

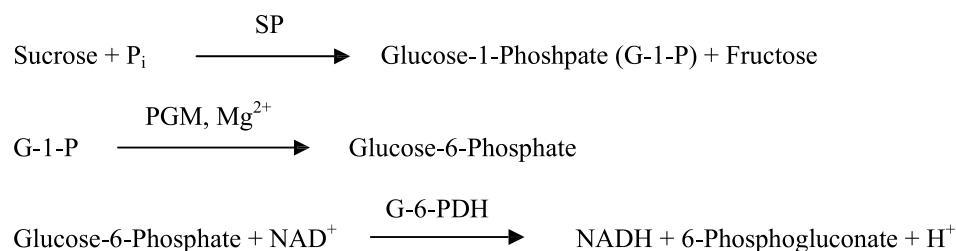
enzymes hexokinase and glucose oxidase. The Abaxis glucose is a modified version of the hexokinase method, which has been proposed as the basis of the glucose reference method.¹⁶

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.



Phosphorus

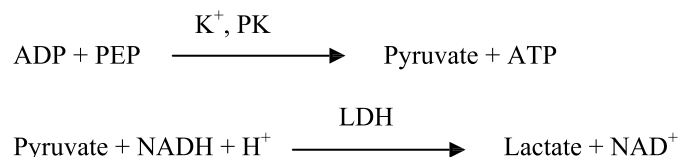
The Abaxis phosphorus method uses sucrose phosphorylase (SP) coupled with the phosphoglucomutase (PGM) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) reactions.^{17,18} Using the enzymatic system, for each mole of inorganic phosphorus present in the sample, one mole of NADH is formed. The amount of NADH formed is measured as an endpoint at 340 nm.



Potassium (K^+)

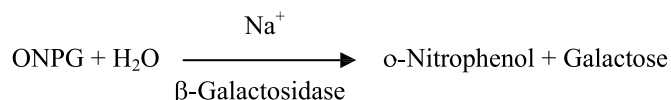
Spectrophotometric methods have been developed that allow the measurement of potassium concentration on standard clinical chemistry instrumentation. The Abaxis enzymatic method is based on the activation of pyruvate kinase with potassium shows excellent linearity and negligible susceptibility to endogenous substances.^{19, 20, 21} Interference from sodium and ammonium ion are minimized with the addition of Kryptofix and glutamate dehydrogenase respectively.¹⁹

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 between 340 nm and 405 nm is due to the conversion of NADH to NAD^+ , which is directly proportional to the amount of potassium in the sample.



Sodium (Na^+)

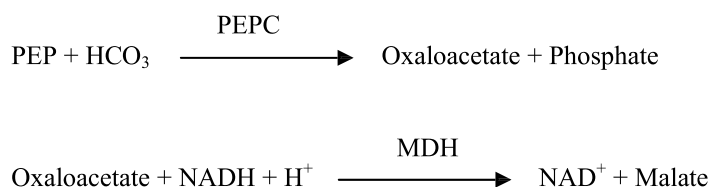
Colorimetric and enzymatic methods have been developed that allow the measurement of sodium concentration on standard clinical chemistry instrumentation.^{22, 23, 24} In the Abaxis enzymatic reaction, β -galactosidase is activated by the sodium in the sample. The activated enzyme catalyzes the reaction of o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG) to o-nitrophenol and galactose. The reaction rate between 405 nm and 500 nm is proportional to sodium concentration.



Total Carbon Dioxide (tCO₂)

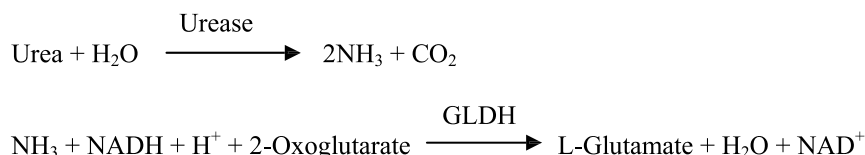
Total carbon dioxide in serum or plasma exists as dissolved carbon dioxide, carbamino derivatives of proteins, bicarbonate and carbonate ions and carbonic acid. Total carbon dioxide can be measured by pH indicator, CO₂ electrode and spectrophotometric enzymatic methods, which all produce accurate and precise results.^{25, 26} 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.



Urea Nitrogen (BUN)

A coupled-enzymatic reaction is used by the Abaxis system. In this reaction, urease hydrolyzes urea into ammonia and carbon dioxide.²⁷ 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.

4. Principle of Operation

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

5. Description of Reagents

Reagents

Each VetScan Kidney Profile Plus Reagent Rotor contains dry test-specific reagent beads (described below). 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 (ALB), calcium (CA⁺⁺), chloride (CL⁻), glucose (GLU), phosphorus (PHOS), potassium (K⁺), sodium (NA⁺), total carbon dioxide (tCO₂), and urea nitrogen (BUN). Dedicated sample blanks are included in the rotor to calculate the concentration of creatinine (CRE). 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 VS2 Operator's Manual. A rotor not used within 20 minutes of opening the pouch should be discarded. Rotors in opened pouches can not 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/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 VS2 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 VS2 Chemistry Analyzer Operator's Manual for complete information on use of 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 homogeneous before transferring a sample to the reagent rotor. Gently invert the collection tube 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.²⁸ 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 concentration decreases approximately 5-12 mg/dL in 1 hour in uncentrifuged samples stored at room temperature.²⁹
- Refrigerating whole blood samples can cause significant changes in concentrations of **creatinine** and **glucose**.³⁰
- Samples with amylase concentrations >4000 U/L will give falsely high chloride readings.
- 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.³¹

Known Interfering Substances

- The only anticoagulant recommended for use with the VetScan VS2 Chemistry Analyzer is lithium heparin. Sodium heparin must not be used when collecting blood samples for use with this panel. 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 Kidney Profile Plus 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 VS2 Chemistry 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.
- Hemolysis may cause erroneously high results in potassium assays. This problem may go undetected when analyzing whole blood (release of potassium from as few as 0.5% of the erythrocytes can increase the potassium serum level by 0.5 mmol/L). In particular, even unhemolyzed specimens that are not promptly processed may have increased potassium levels due to intracellular potassium leakage.³²
- 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.³³
- The potassium assay in the VetScan VS2 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 Kidney Profile Plus Reagent Rotor

Materials Required but not Provided

- VetScan VS2 Chemistry Analyzer

Test Parameters

The VetScan VS2 Chemistry Analyzer operates at ambient temperatures between 15°C and 32°C (59-90°F). The analysis time for each VetScan Kidney Profile Plus 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 VS2 Chemistry Analyzer Operator's Manual.

Calibration

The VetScan VS2 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 VS2 Chemistry Analyzer Operator's Manual.

Quality Control

Controls may be run periodically on the VetScan VS2 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 VS2 Operator's Manual to run controls.

9. Results

The VetScan VS2 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 VS2 Chemistry Analyzer Operator's Manual.

10. Limitations of Procedure

General procedural limitations are discussed in the VetScan VS2 Chemistry Analyzer 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 to get plasma then re-run in a new reagent rotor.

Warning: Extensive testing of the VetScan VS2 Chemistry System 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 the 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 VS2 System is operated according to the recommended procedure (see the VetScan VS2 Operator's Manual). The Dynamic Range table referenced below represents the spectrum that the VetScan VS2 System can detect. **The intervals below do not represent normal ranges.**

Table 2: VetScan Dynamic Ranges

Analyte	Common Units	SI Units
Albumin	1 – 6.5 g/dL	10 – 65 g/L
Calcium	4 – 16 mg/dL	1.0 – 4.0 mmol/L
Chloride	80 – 135 mmol/L	80 – 135 mmol/L
Glucose	10 – 700 mg/dL	0.6 – 38.9 mmol/L
Creatinine	0.2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
Phosphorous	0 – 20 mg/dL	0 – 6.46 mmol/L
Potassium	1.5 – 8.5 mmol/L	1.5 – 8.5 mmol/L
Sodium	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
Total Carbon Dioxide	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L
Urea Nitrogen	2 – 180 mg/dL	0.7 – 64.3 mmol/urea/L

12. Bibliography

1. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-8.
2. Cali JP, Bowers GN, Young DS, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., *Selected methods of Clinical Chemistry*. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977;8:3-8.
3. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
4. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
5. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem*. 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem*. 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
13. Folin O, and Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem*. 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem*. 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol*. 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
17. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
18. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
19. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-20.
20. 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.
21. 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: 1528-31.
22. Helgersen RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-50.
23. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-12.
24. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-98.
25. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
26. 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.
27. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 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.
28. 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.
29. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
30. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
31. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.

12. Bibliography (continued)

32. Scott MG, Electrolytes and Blood Gases. *In*: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999:617-721.
33. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.

Nur für den veterinärmedizinischen Einsatz
Kundenservice und technischer Support: 1-800-822-2947

Januar 2023
PN: 51630400
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Verwendungszweck

Die VetScan[®]-Nierenprofil-Plus-Reagenzdisk für das VetScan VS2-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die veterinärmedizinische quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Albumin (ALB), Kalzium (CA⁺⁺), Chlorid (CL⁻), Kreatinin (CRE), Glucose (GLU), Phosphor (PHOS), Kalium (K⁺), Natrium (Na⁺), Gesamtkohlendioxid (tCO₂) und Harnstoffstickstoff (BUN) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

Die VetScan-Nierenprofil-Plus-Reagenzdisk und das VetScan VS2-Analysesystem ergeben ein *In-vitro*-Diagnostiksystem, das den Veterinär bei der Diagnose der folgenden Erkrankungen unterstützt:

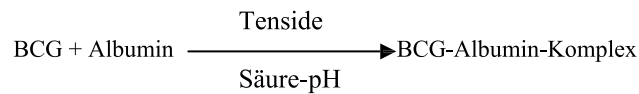
Albumin	Leber- und Nierenerkrankungen.
Kalzium	Nebenschilddrüsen-, Knochen- und chronische Nierenerkrankungen; Tetanie.
Chlorid	Chronische Diarrhö, chronisches Erbrechen, Nierenerkrankungen, Nebenschilddrüsenenerkrankungen, chronische respiratorische Azidose oder Alkalose, Hyperkortizismus, Hypokortizismus und Thiazidtherapie.
Kreatinin	Nierenerkrankungen.
Glucose	Diabetes, Hyperglykämie, Hypoglykämie, und Lebererkrankungen.
Phosphor	Nierenerkrankungen, Hypoparathyroidismus und Ernährungsstörungen.
Kalium	Mangelernährung und Nierenerkrankungen. Dieses Elektrolyt wird zur Diagnose der Ursachen für Erbrechen, Diarrhoe und kardiologische Symptome verwendet.
Natrium	Dehydration und Diabetes. Dieses Elektrolyt wird zur Diagnose der Ursachen für Erbrechen, Diarrhoe und kardiologische Symptome verwendet.
Gesamtkohlendioxid	Primäre Stoffwechselalkalose und -azidose sowie primäre respiratorische Alkalose und Azidose.
Harnstoffstickstoff	Nieren- und Stoffwechselerkrankungen.

Wie bei allen diagnostischen Testverfahren sind vor der endgültigen Diagnose sämtliche anderen Testergebnisse sowie der klinische Zustand des Patienten zu berücksichtigen.

3. Verfahrensprinzip

Albumin

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

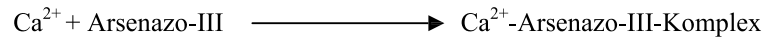


Gebundenes Albumin verhält sich proportional zur Albuminkonzentration in der Probe. Es handelt sich hierbei um eine Endpunktreaktion mit bichromatischer Bestimmung bei 630 nm und 405 nm.

Gesamtkalzium

Die Atomabsorptionsspektroskopie als Referenzmethode für Kalzium ist für die Routine nicht geeignet.² Spektralphotometrische Methoden, welche entweder o-Kresolphthalein-Complexon (CPC) oder Arsenazo-III-Metallochrom-Indikatoren verwenden, sind am weitesten verbreitet.^{3, 4, 5} Arsenazo III besitzt eine höhere Affinität für Kalzium und ist weniger temperaturabhängig als CPC.

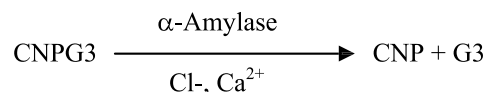
Das Kalzium in der Patientenprobe verbindet sich mit Arsenazo-III unter Bildung eines Kalzium-Farbstoffkomplexes.



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

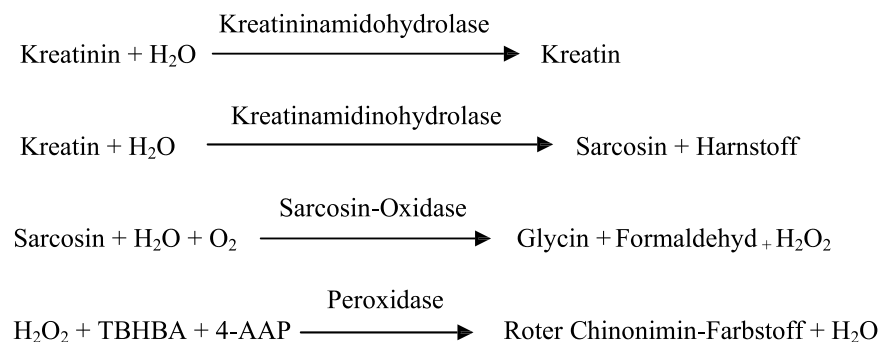
Chlorid (Cl⁻)

Die Methode beruht auf der Bestimmung der chloridabhängigen Aktivierung von α -Amylase. Deaktivierte α -Amylase wird durch Zugabe des Chloridions reaktiviert und ermöglicht eine Reassoziierung von Kalzium und Enzym. Die Reaktivierung von α -Amylaseaktivität ist proportional zur Konzentration der Chloridionen in der Probe. Die reaktivierte α -Amylase wandelt das Substrat, 2-Chlor-p-nitrophenyl- α -D-maltotriosid (CNPG3) in 2-Chlor-p-nitrophenol (CNP) um und produziert dabei Farbe sowie α -Maltotriose (G3). Die Reaktion wird bichromatisch gemessen, und der Extinktionsanstieg ist direkt proportional zur reaktivierten α -Amylaseaktivität und der Chloridionen-Konzentration der Probe.⁶



Kreatinin (CRE)

Die 1886 eingeführte Jaffe-Methode wird noch immer weithin zur Bestimmung der Kreatinin-Spiegel im Blut eingesetzt. Die aktuelle Referenzmethode kombiniert die Verwendung von Fullererde (Floridin) mit der Jaffe-Technik, um die Spezifität der Reaktion zu erhöhen.^{7, 8} Es wurden außerdem enzymatische Methoden entwickelt, die spezifischer für Kreatinin sind als die verschiedenen Abwandlungen des Jaffe-Verfahrens.^{9, 10, 11} Verfahren, die das Enzym Kreatininamidohydrolase verwenden, beseitigen das Problem der Interferenz von Ammoniumionen, das in Techniken unter Verwendung von Kreatininiminohydrolase auftritt.¹²



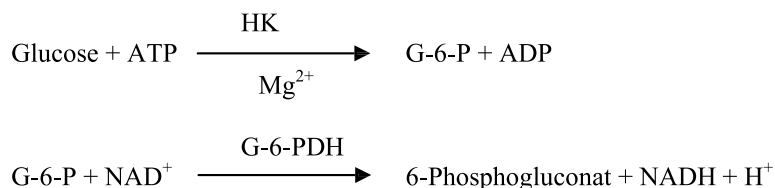
Die Kreatininkonzentration in der Probe wird mit zwei Küvetten bestimmt. Das endogene Kreatin wird in der Blindwertküvette gemessen und von der Gesamtsumme aus endogenem Kreatin und durch Enzymreaktionen in der Testküvette gebildetem Kreatin subtrahiert. Wenn das endogene Kreatin aus den Berechnungen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

Glucose (GLU)

Die ersten Bestimmungen des Glucose-Spiegels wurden mit Kupferreduktionsmethoden (bspw. nach Folin-Wu¹³ und Somogyi-Nelson^{14, 15}) durchgeführt. Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer

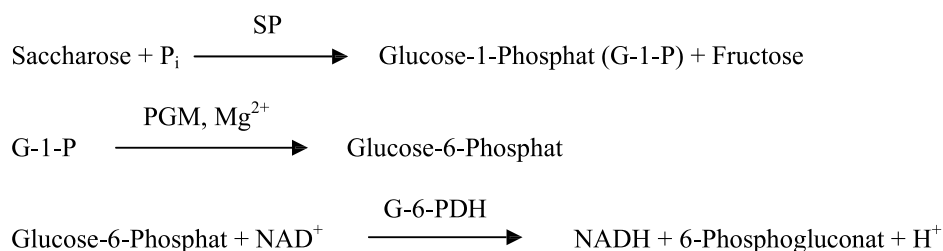
Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glucose-Oxidase. Die Abaxis-Glucose ist eine modifizierte Version der Hexokinase-Methode, welche als Grundlage für die Glucose-Referenzmethode vorgeschlagen wird.¹⁶

Die durch Hexokinase (HK) katalysierte Reaktion von Glucose mit Adenosintriphosphat (ATP) ergibt Glucose-6-Phosphat (G-6-P) und Adenosindiphosphat (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.



Phosphor

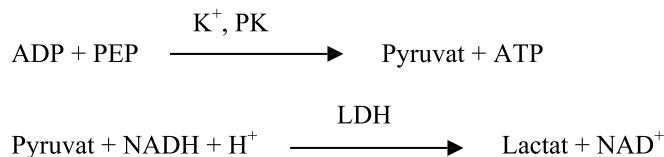
Die Abaxis-Phosphormethode verwendet mit Reaktionen von Phosphoglucomutase (PGM) und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) gekoppelte Saccharose-Phosphorylase (SP).^{17, 18} Das enzymatische System formt für je 1 Mol anorganischen Phosphors aus der Probe 1 Mol NADH. Die Menge an gebildetem NADH wird als Endpunkt bei 340 nm gemessen.



Kalium (K^+)

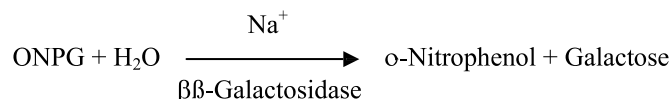
Es wurden spektralphotometrische Methoden entwickelt, die die Messung der Kaliumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen. Die enzymatische Methode von Abaxis beruht auf der Aktivierung von Pyruvatkinase mit Kalium und zeigt eine hervorragende Linearität und vernachlässigbare Anfälligkeit gegen endogene Substanzen.^{19, 20, 21} Interferenzen durch Natrium- und Ammoniumionen werden durch Zugabe von Kryptofix bzw. Glutamatdehydrogenase minimiert.¹⁹

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 Extinktion 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.^{22, 23, 24} 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. Die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen 405 nm und 500 nm ist proportional zur Natriumkonzentration.

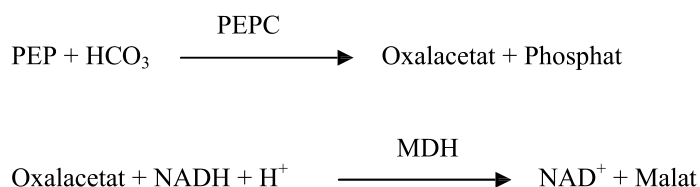


Gesamtkohlendioxid (tCO₂)

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.^{25 26} Die enzymatische Methode eignet sich gut für den routinemäßigen Einsatz an einem Blutchemieanalysegerät, ohne das Verfahren komplizierter zu machen.

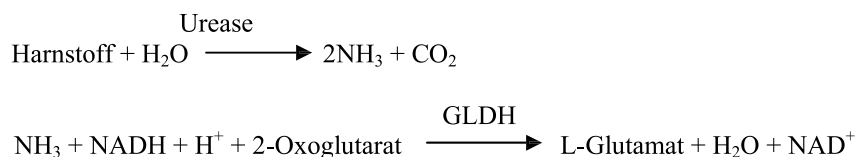
Bei der enzymatischen Methode wird die Probe zunächst alkalisch gestellt, um alle Formen von Kohlendioxid (CO₂) in Bicarbonat (HCO₃⁻) umzuwandeln. Phosphoenolpyruvat (PEP) und HCO₃⁻ reagieren dann miteinander und bilden in Gegenwart von

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.



Harnstoffstickstoff (BUN)

Das Abaxis-System verwendet eine gekoppelte Enzymreaktion. Bei dieser Reaktion wird Harnstoff durch Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert.²⁷ 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.

4. Funktionsprinzip

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

5. Beschreibung der Reagenzien

Reagenzien

Jede VetScan-Nierenprofil-Plus-Reagenzdisk umfasst trockene, testspezifische Reagenzien-Beads (Beschreibung folgt). Jede Reagenzdisk enthält ein trockenes Blindprobenreagenz (bestehend aus Puffern, Tensiden, Hilfsstoffen und Konservierungsmitteln) für die Berechnung der Konzentrationen an Albumin (ALB), Kalzium (CA⁺⁺), Chlorid (CL⁻), Glucose (GLU), Phosphor (PHOS), Kalium (K⁺), Natrium (NA⁺), Gesamtkohlendioxid (tCO₂) und Harnstoffstickstoff (BUN). Die Disk enthält spezifische Blindproben für die Berechnung der Kreatininkonzentrationen (CRE). 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. Rotoren 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 VS2-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 Reagenzdisks in ihren verschlossenen Beuteln bei 2–8 °C (36–46 °F) lagern. Geöffnete oder ungeöffnete Disks vor direkter Sonneneinstrahlung oder 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 VS2-Analysesystems eine Fehlermeldung.
- Bei einem aufgerissenen oder anderweitig beschädigten Folienbeutel kann Feuchtigkeit zur unbenutzten Disk vordringen und die Leistung der Reagenzien beeinträchtigen. Keine Disks aus beschädigten Beuteln verwenden.

6. Gerät

Vollständige Angaben zum Gebrauch des Analysesystems enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan VS2-Analysesystem für klinische Chemie.

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 gewonnene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor die Probe in den Reagenzrotor übertragen wird. Das Sammelröhrchen unmittelbar vor dem Probentransfer mehrere Male vorsichtig über Kopf drehen. Das Sammelröhrchen nicht schütteln, da es sonst zur Hämolyse kommen kann.
- 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.²⁸ 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 Selbstabtauungsfunktion können Plasma- oder Serumproben bei -10 °C (14 °F) bis zu 5 Wochen lang gelagert werden.
- Die Glucosekonzentration sinkt in nicht zentrifugierten, bei Raumtemperatur gelagerten Proben um etwa 5 bis 12 mg/dl in 1 Stunde.²⁹

- Das Einfrieren von Vollblutproben kann zu erheblichen Veränderungen der **Kreatinin-** und **Glucose-Spiegel** führen.³⁰
- Proben mit Amylase-Konzentrationen von > 4000 E/l ergeben fälschlicherweise erhöhte Chlorid-Messwerte.
- 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. Atemluft enthält weit weniger Kohlenstoffdioxid als Plasma und gasförmiges Kohlenstoffdioxid wird aus der Probe entweichen. Als Größenordnung sind 6 mmol/l pro Stunde anzunehmen.³¹

Bekannte Störsubstanzen

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan VS2-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin. Bei der Entnahme von Blutproben für den Gebrauch mit diesem Profil darf kein Natriumheparin verwendet werden. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoagulantien mindestens eine der Methoden der VetScan-Nierenprofil-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, in welcher Konzentration die Störsubstanzen in den einzelnen Proben auftreten. 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.
- Hämolyse kann bei Kalium-Assays zu fälschlicherweise erhöhten Ergebnissen führen. Bei der Analyse von Vollblutproben wird dieses Problem möglicherweise nicht erkannt (die Freisetzung von Kalium aus lediglich 0,5 % der Erythrozyten kann zur Erhöhung des Kalium-Serumspiegels um 0,5 mmol/l führen). Besonders nicht hämolysierte Proben, die nicht unverzüglich bearbeitet werden, können aufgrund von intrazellulärem Kaliumauslauf erhöhte Kaliumkonzentrationen aufweisen.³²
- Die Glucose-Spiegel werden durch die Zeitdauer seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie auch durch den entnommenen Probenotyp beeinflusst. Zur genauen Interpretation der Glucose-Ergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung aufgenommen hat.³³
- Der Kalium-Assay im VetScan VS2-System ist ein gekoppelter Pyruvatkinase- (PK)/Laktatdehydrogenase- (LDH) Assay. Bei extremem Muskeltrauma oder stark erhöhten Kreatin-Kinase-Werten (CK) kann das VetScan-System daher fälschlich erhöhte Kaliumwerte (K⁺) messen. In diesen Fällen sind unerwartet hohe Kaliumwerte mit einer anderen Methode zu bestätigen.

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine VetScan-Nierenprofil-Plus-Reagenzdisk

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- VetScan VS2-Analysesystem für klinische Chemie

Testparameter

Für den Betrieb des VetScan VS2-Analysesystems sind Umgebungstemperaturen zwischen 15 und 32 °C (59-90 °F) erforderlich. Die Analysedauer für jede VetScan-Nierenprofil-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 VS2-Analysesystem für klinische Chemie ausführlich beschrieben.

Kalibration

Das VetScan VS2-Analysesystem wird vor dem Versand vom Hersteller kalibriert. Der auf dem Barcode-Ring aufgedruckte Barcode enthält die diskspezifischen Kalibrierungsdaten für das Analysesystem. Siehe Bedienhandbuch zum VetScan VS2-Analysesystem für klinische Chemie.

Qualitätskontrolle

Zur Überprüfung der Genauigkeit des Analysesystems können am VetScan VS2-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 VS2-System.

9. Ergebnisse

Das VetScan VS2-Analysesystem berechnet und druckt die Analytkonzentrationen der Probe automatisch aus. Einzelheiten zu den Berechnungen für die Endpunkt- und kinetischen Reaktionen sind im Bedienhandbuch für das VetScan VS2-Analysesystem für klinische Chemie enthalten.

10. Verfahrensgrenzen

Die allgemeinen Verfahrensgrenzen werden im Bedienungshandbuch für das VetScan VS2-Analysesystem 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. Derartige Proben können zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenzdisk erneut analysiert werden.

Achtung: Umfassende Prüfungen des VetScan VS2-Analysesystems haben ergeben, dass in sehr seltenen Fällen eine in die Reagenzdisk gegebene Probe nicht problemlos in die Probenkammer rinnt. Infolge irregulären Flusses kann eine unzureichende Probenmenge analysiert werden, und mehrere Ergebnisse können außerhalb des Referenzbereichs fallen. 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 VS2-System empfehlungsgemäß betrieben wird (siehe das Bedienungshandbuch für das VetScan VS2-System). Die folgende Tabelle der dynamischen Bereiche repräsentiert das Nachweisspektrum des VetScan VS2-Systems. **Die im Folgenden aufgeführten Bereiche stellen keine Normalbereiche dar.**

Tabelle 2: Dynamische Bereiche des VetScan-Systems

Analyt	Konventionelle Einheiten	SI-Einheiten
Albumin	1 – 6,5 g/dl	10 – 65 g/l
Kalzium	4 – 16 mg/dl	1,0 – 4,0 mmol/l
Chlorid	80 – 135 mmol/l	80 – 135 mmol/l
Glucose	10 – 700 mg/dl	0,56 – 38,9 mmol/l
Kreatinin	0,2 – 20 mg/dl	18 – 1768 µmol/l
Phosphor	0 – 20 mg/dl	0 – 6,46 mmol/l
Kalium	1,5 – 8,5 mmol/l	1,5 – 8,5 mmol/l
Natrium	110 – 170 mmol/l	110 – 170 mmol/l
Gesamtkohlendioxid	5 – 40 mmol/l	5 – 40 mmol
Harnstoffstickstoff	2 – 180 mg/dl	0,7 – 64,3 mmol/Harnstoff/l

12. Literaturverzeichnis

1. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-8.
2. Cali JP, Bowers GN, Young DS, et al. A reference method for the determination of total kalzium in serum. In: GR Cooper, ed., Selected methods of Clinical Chemistry. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977;8:3-8.
3. Kessler G, Wolfman M. An Automated procedure for the simultaneous determination of kalzium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
4. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
5. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized kalzium . Ann NY Acad Sci 1978;307:86-112.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. Clin Chem 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. Clin Chem 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. Clin Chem 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In:CA Burtis and ER Ashwood, Eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
13. Folin O, and Wu H. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In:LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
17. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination Anal Biochem 1967;19:300-14.
18. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. Clin Chem 1992;38:512-5.
19. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989; 35: 817-20.
20. 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.
21. 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: 1528-31.

12. Literaturverzeichnis (Fortsetzung)

22. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989; 111: 6339-50.
23. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988; 34: 1709-12.
24. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988; 34: 2295-98.
25. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. Am J. Clin Pathol 1960; 33: 181-185.
26. 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.
27. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem 1980;26: 816-826.
28. 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.
29. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972;39:35-40.
30. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988;34:2111-14.
31. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
32. Scott MG, Electrolytes and Blood Gases. In: Burtis CA, Ashwood ER, Herausgeber Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999:617-721.
33. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. Am J Med Tech 1982;48:543-5.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, 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.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP5-A2. Wayne, PA: CLSI, 2004.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP18-A2. Wayne, PA: CLSI, 2009.

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

Janvier 2023
Réf. : 51630400
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Usage prévu

Le rotor de réactif VetScan[®] Kidney Profile Plus utilisé avec l'analyseur chimique VetScan VS2 utilise des réactifs secs et liquides pour fournir une détermination quantitative vétérinaire *in vitro* d'albumine (ALB), de calcium (CA⁺⁺), de chlorure (CL⁻), de créatinine (CRE), de glucose (GLU), de phosphore (PHOS), de potassium (K⁺), de sodium (NA⁺), de dioxyde de carbone total (tCO₂) et d'azote uréique (BUN) dans le sang total hépariné, le plasma hépariné ou le sérum.

2. Résumé et explication des tests

Le rotor de réactif VetScan Kidney Profile Plus et l'analyseur chimique VetScan VS2 sont dotés d'un système de diagnostic *in vitro* qui aide le vétérinaire à diagnostiquer les troubles suivants :

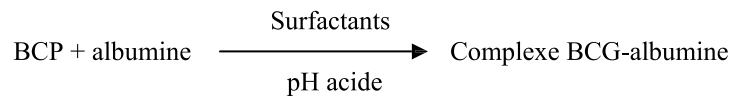
Albumine	Pathologies hépatiques et néphropathies.
Calcium	Pathologies parathyroïdiennes, osseuses et rénales chroniques ; tétanie.
Chlorure	Diarrhée chronique, vomissements chroniques, néphropathie, pathologie parathyroïdienne, acidose ou alcalose respiratoire chronique, hyperadrénocorticisme, hypoadrénocorticisme et traitement thiazidique.
Créatinine	Néphropathie.
Glucose	Diabète, hyperglycémie, hypoglycémie et pathologie hépatique.
Phosphore	Néphropathie, hypoparathyroïdie et troubles nutritionnels.
Potassium	Malnutrition et néphropathie. Cet électrolyte permet de diagnostiquer les causes de vomissements et de diarrhée, ainsi que les symptômes de troubles cardiaques.
Sodium	Déshydratation et diabète. Cet électrolyte permet de diagnostiquer les causes de vomissements et de diarrhée, ainsi que les symptômes de troubles cardiaques.
Dioxyde de carbone total	Alcalose et acidose métaboliques primaires et alcalose et acidose respiratoires primaires.
Azote uréique	Pathologies hépatiques et néphropathies.

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

3. Principe de la procédure

Albumine

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

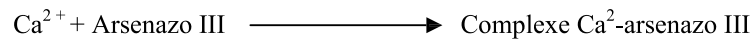


L'albumine liée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon. Il s'agit d'une réaction au point final qui est mesurée bichromatiquement à 630 nm et 405 nm.

Calcium total

La méthode de référence pour le calcium est la spectroscopie d'absorption atomique. Toutefois, cette méthode ne convient pas pour les utilisations courantes.² Les méthodes spectrophotométriques qui utilisent l'*o*-crésolphtaléine complexon (CPC) ou les indicateurs métallochromes d'arsenazo III sont les plus courantes.^{3,4,5} L'arsenazo III a une haute affinité pour le calcium et ne dépend pas de la température, contrairement au CPC.

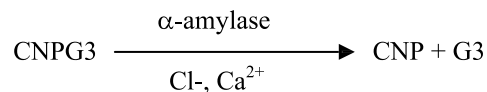
Le calcium dans l'échantillon du patient se lie à l'arsenazo III afin de former un complexe de calcium et de colorant.



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.

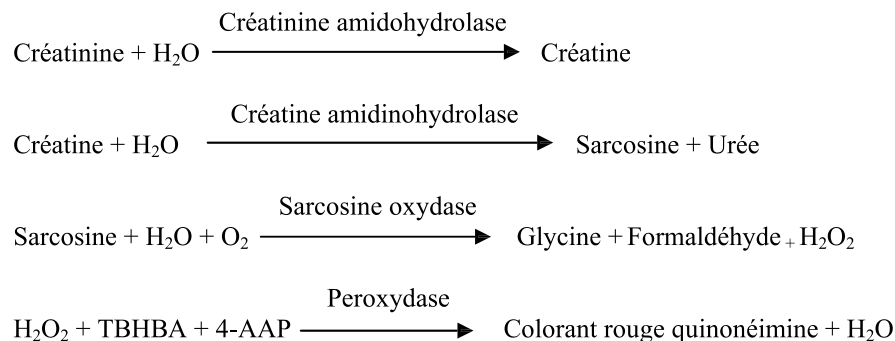
Chlorure (Cl⁻)

La méthode se base sur la détermination d'une activation à l'aide de chlorures d'une activité de l' α -amylase. Une α -amylase désactivée est réactivée en ajoutant l'ion chlorure, ce qui permet au calcium de se réassocier à l'enzyme. La réactivation de l'activité de l' α -amylase est proportionnelle à la concentration des ions chlorure dans l'échantillon. L' α -amylase réactivée convertit le substrat, 2-chloro-*p*-nitrophényl- α -D-maltotrioside (CNPG3) en 2-chloro-*p*-nitrophénol (CNP) produisant une coloration et de l' α -maltotriose (G3). La réaction est mesurée en bichromatique et l'augmentation de l'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de l' α -amylase réactivée et à la concentration de l'ion chlorure dans l'échantillon.⁶



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 foulons (floridine) et la technique de Jaffé afin d'accroître la spécificité de la réaction.^{7, 8} Il existe des méthodes enzymatiques qui sont plus spécifiques pour la créatine que les diverses modifications de la technique de Jaffé.^{9, 10, 11} Les méthodes qui utilisent l'enzyme créatinine amidohydrolase éliminent le problème de l'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatinine iminohydrolase.¹²

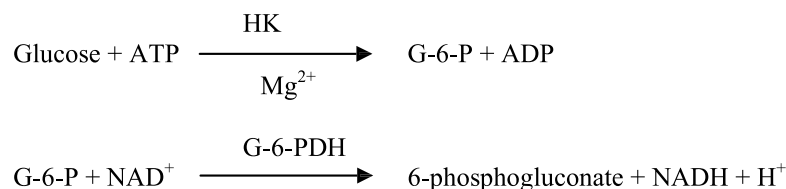


Deux cuvettes sont utilisées pour déterminer la concentration de créatinine dans l'échantillon. La créatine endogène est mesurée dans la cuvette de blanc, qui est soustraite de la combinaison de la créatine endogène et de la créatine formée à partir des réactions enzymatiques dans la cuvette d'essai. 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.

Glucose (GLU)

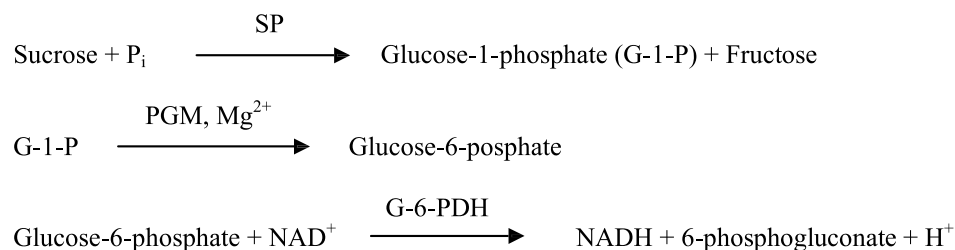
Les premières mesures de concentration de glucose ont été effectuées à l'aide de méthodes de réduction du cuivre (telles que Folin-Wu¹³ et Somogyi-Nelson^{14, 15}). Le manque de spécificité des techniques de réduction du cuivre a conduit au développement de procédures quantitatives qui utilisent les enzymes hexokinase et glucose oxydase. La méthode du glucose élaborée par Abaxis est une version modifiée de la méthode hexokinase, qui a été proposée comme base pour la méthode de référence en glucose.¹⁶

La réaction du glucose avec l'adénosine-triphosphate (ATP), catalysé par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de conversion du G-6-P en 6-phosphogluconate et la réduction du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+) en NADH.



Phosphore

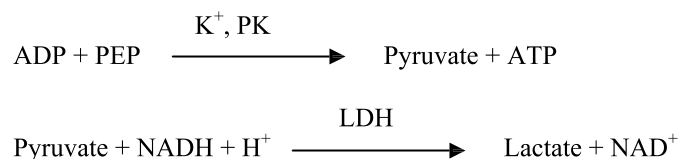
La méthode du phosphore élaborée par Abaxis utilise les réactions de la saccharose phosphorylase (SP) couplée à la phosphoglucomutase (PGM) et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH).^{17,18} En utilisant le système enzymatique, pour chaque mole de phosphore inorganique présente dans l'échantillon, une mole de NADH est formée. La quantité de NADH formée peut être mesurée comme un point final à 340 nm.



Potassium (K^+)

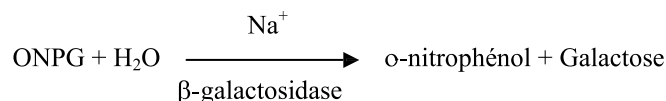
Des méthodes spectrophotométriques permettant de mesurer la concentration de potassium avec des instruments de chimie clinique standard ont été développées. La méthode enzymatique élaborée par Abaxis est fondée sur l'activation du pyruvate kinase avec le potassium et donne une excellente linéarité, ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes.^{19, 20, 21} L'interférence provenant du sodium et de l'ion ammonium est minimisée par l'ajout de Kryptofix et de glutamate déshydrogénase, respectivement.¹⁹

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. Simultanément, 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.^{22, 23, 24} 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- β -D-galactopyranoside (ONPG) en o-nitrophénol et galactose. La vitesse de réaction entre 405 nm et 500 nm est proportionnelle à la concentration de sodium.

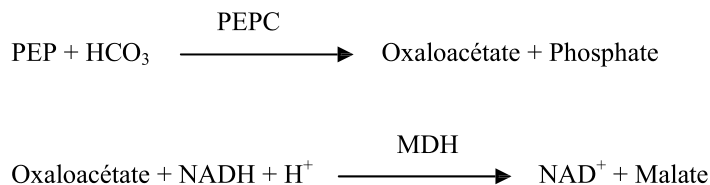


Dioxyde de carbone total (tCO₂)

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.^{25, 26} La méthode enzymatique s'adapte bien à l'utilisation sur un analyseur biochimique courant sans y apporter de complexités.

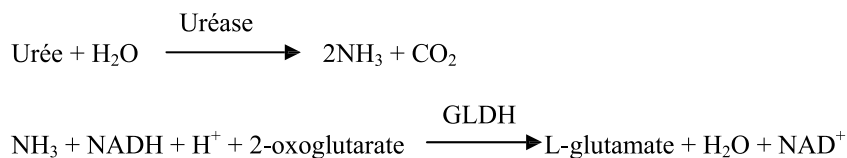
Dans la méthode enzymatique, l'échantillon est d'abord rendu alcalin afin de convertir toutes les formes de dioxyde de carbone (CO₂) en bicarbonate (HCO₃⁻). Le phosphoénolpyruvate (PEP) et le HCO₃⁻ réagissent ensuite pour former de l'oxaloacétate et du

phosphate en présence de phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPC). La malate déshydrogénase (MDH) catalyse la réaction de l'oxaloacétate et du nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH) en NAD⁺ et en malate. Le taux de variation de l'absorbance est dû à la conversion du NADH en NAD⁺ et il est directement proportionnel à la quantité de tCO₂ présente dans l'échantillon.



Azote uréique (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.²⁷ 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.

4. Principe d'exécution

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

5. Description des réactifs

Réactifs

Chaque rotor de réactif VetScan Kidney Profile Plus contient des billes de réactif sèches spécifiques au test (décrites ci-dessous). Un réactif à blanc d'échantillon sec (constitué de tampon, de surfactants, d'excipients et d'agents conservateurs) est compris dans chaque rotor de réactif afin de calculer les concentrations en albumine (ALB), en calcium (CA⁺⁺), en chlorure (CL⁻), en glucose (GLU), en phosphore (PHOS), en potassium (K⁺), en sodium (NA⁺), en dioxyde de carbone total (tCO₂) et en azote uréique (BUN). Des

échantillons à blanc dédiés sont inclus dans le rotor pour calculer la concentration en créatinine (CRE). 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. Vérifiez 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 s'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 peut réagir avec les canalisations de plomb et de cuivre pour former des azides de métal hautement explosifs. Les réactifs n'entrent pas en contact avec les canalisations de plomb et de cuivre si l'utilisateur respecte les procédures recommandées. Toutefois, dans le cas où les réactifs entreraient en contact avec les canalisations, rincez à grande eau afin d'éviter l'accumulation d'azide.

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 VS2. 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 ultérieure.

Conservation

Conserver les rotors de réactif dans leurs sachets scellés 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 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'affiche sur l'écran de l'analyseur chimique VetScan VS2 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 les performances du réactif. Ne pas utiliser un rotor dont le sachet est endommagé.

6. Instrument

Se reporter au manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan VS2 pour plus d'informations 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 secouer le tube de prélèvement pour éviter 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 doivent être traités dans les 60 minutes suivant le prélèvement. Si cela n'est pas possible, séparer l'échantillon et le transférer dans un tube à essai propre.²⁸ Traiter l'échantillon de plasma ou de sérum séparé dans les 5 heures suivant 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.²⁹
- La réfrigération d'échantillons de sang total peut entraîner des modifications importantes des concentrations en **créatinine** et **glucose**.³⁰
- Les échantillons présentant des concentrations en amylase >4000 U/l fourniront des valeurs de chlorure faussement élevées.
- 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. Par ailleurs, du dioxyde de carbone gazeux dissout s'échappe de l'échantillon dans l'air, ce qui entraîne une réduction de la valeur du dioxyde de carbone atteignant jusqu'à 6 mmol/l en 1 heure.³¹

Substances interférentes connues

- L'héparine de lithium est l'unique anticoagulant dont l'utilisation est recommandée avec l'analyseur chimique VetScan VS2. Ne pas utiliser l'héparine de sodium lors de la collecte des échantillons de sang qui seront utilisés avec ce bilan. 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 VetScan Kidney Profile Plus.
- 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.
- L'hémolyse peut générer des résultats faussement très élevés des dosages de potassium. Ce problème risque de passer inaperçu lors de l'analyse du sang entier (une libération de potassium aussi faible que 0,5 % des érythrocytes risque d'augmenter le niveau de sérum de potassium de 0,5 mmol/l). Plus particulièrement, même les échantillons non hémolysés, s'ils ne sont pas traités dans les plus brefs délais, peuvent présenter des taux augmentés de potassium à la suite de la fuite de potassium intracellulaire.³²
- 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 du glucose, les échantillons doivent être prélevés alors que le patient est à jeun depuis au moins 12 heures.³³
- Le dosage du potassium dans le système VetScan VS2 est un dosage couplé de pyruvate kinase (PK) et de lactate déshydrogénase (LDH). Par conséquent, dans les cas de traumatismes musculaires extrêmes ou de taux très élevés de créatine kinase (CK), le système VetScan peut fournir une valeur de potassium (K+) faussement élevée. Les valeurs de potassium anormalement élevées doivent alors être confirmées à l'aide d'une autre méthodologie.

8. Procédure

Matériel fourni

- Un rotor de réactif VetScan Kidney Profile Plus

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur chimique VetScan VS2

Paramètres de test

L'analyseur chimique VetScan VS2 fonctionne à des températures ambiantes comprises entre 15 °C et 32 °C (entre 59 °F et 90 °F). Le temps d'analyse pour chaque rotor de réactif VetScan Kidney Profile Plus 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 complètes de prélèvement d'échantillon et d'utilisation sont expliquées en détail dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan VS2.

Étalonnage

L'analyseur chimique VetScan VS2 est étalonné par le fabricant avant 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 de l'analyseur chimique VetScan VS2.

Contrôle qualité

Des témoins peuvent être régulièrement analysés sur l'analyseur de réaction chimique VetScan VS2 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 VS2 pour plus d'informations sur l'analyse des témoins.

9. Résultats

L'analyseur chimique VetScan VS2 calcule et imprime automatiquement les concentrations des substances à analyser présentes dans l'échantillon. Les calculs des réactions à point final et de la cinétique sont expliqués en détail dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan VS2.

10. Limitations de la procédure

Les limitations générales de la procédure sont indiquées dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur chimique VetScan VS2.

- **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 du concentré de globules rouges 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 afin d'obtenir du plasma et ensuite relancée dans un nouveau rotor de réactif.

Attention : des tests poussés du système chimique VetScan VS2 ont montré que dans 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)

Pour chaque analyte, les réactions chimiques sont linéaires dans la plage dynamique indiquée ci-dessous lorsque le système VetScan VS2 est utilisé conformément à la procédure recommandée (se reporter au manuel de l'utilisateur du système VetScan VS2). Le tableau des plages dynamiques ci-dessous représente le spectre de détection du système VetScan VS2.

Les intervalles indiqués ci-dessous ne représentent pas les plages normales.

Tableau 2 : Plages dynamiques VetScan

Analyte	Unités communes	Unités SI
Albumine	1 – 6,5 g/dl	10 – 65 g/l
Calcium	4 – 16 mg/dl	1,0 – 4,0 mmol/l
Chlorure	80 – 135 mmol/l	80 – 135 mmol/l
Glucose	10 à 700 mg/dl	0,56 – 38,9 mmol/l
Créatinine	0,2 à 20 mg/dl	18 – 1768 µmol/l
Phosphore	0 – 20 mg/dl	0 – 6,46 mmol/l
Potassium	1,5 – 8,5 mmol/l	1,5 – 8,5 mmol/l
Sodium	110 – 170 mmol/l	110 – 170 mmol/l
Dioxyde de carbone total	5 – 40 mmol/l	5 – 40 mmol/l
Azote uréique	2 – 180 mg/dl	0,7 à 64,3 mmol d'urée/l

13. Bibliographie

1. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-8.
2. Cali JP, Bowers GN, Young DS, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., *Selected methods of Clinical Chemistry*. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977;8:3-8.
3. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
4. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
5. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem*. 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. *J Cklin Chem Clin Biochem*. 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay : a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In : CA Burtis and ER Ashwood, Eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
13. Folin O, and Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem*. 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem*. 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol*. 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose In : LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
17. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967 ; 19:300-14.
18. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992 ; 38:512-5.
19. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-20.
20. 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.
21. 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: 1528-31.
22. Helgersen RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-50.
23. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-12.
24. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-98.
25. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
26. 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.
27. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum : optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980;26: 816-826.
28. 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.
29. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
30. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
31. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.

13. Bibliographie (suite)

32. Scott MG, Electrolytes and Blood Gases. *In*: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia : WB Saunders Company, 1999:617-721.
33. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, 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.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP5-A2. Wayne, PA: CLSI, 2004.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA : NCCLS, 1999.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP18-A2. Wayne, PA: CLSI, 2009

Exclusivamente para uso veterinario
Servicio técnico y Servicio al cliente 1-800-822-2947

Enero 2023
PN: 51630400
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo VetScan[®] Kidney Profile Plus utilizado con el analizador químico VetScan VS2 utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones veterinarias cuantitativas *in vitro* de albúmina (ALB), calcio (CA⁺⁺), cloruro (CL⁻), creatinina (CRE), glucosa (GLU), fósforo (PHOS), potasio (K⁺), sodio (NA⁺), dióxido de carbono total (tCO2) y nitrógeno ureico (BUN) en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El rotor reactivo VetScan Kidney Profile Plus y el analizador químico VetScan VS2 incluyen un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al veterinario en el diagnóstico de los trastornos siguientes:

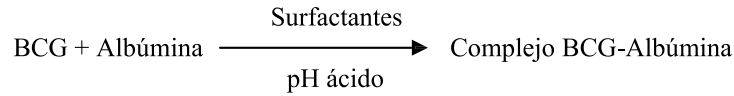
Albúmina	Enfermedades del hígado y del riñón.
Calcio	Enfermedades de la glándula paratiroides, óseas y nefropatías crónicas; tetania.
Cloruro	Diarrea crónica, vómitos crónicos, enfermedad renal, enfermedad paratiroidea, acidosis o alcalosis respiratoria crónica, hiperadrenocorticismo, hipoadrenocorticismo y terapia con tiazidas.
Creatinina	Enfermedad renal.
Glucosa	Diabetes, hiperglucemia, hipoglucemia y enfermedad del hígado.
Fósforo	Enfermedad del riñón, hipoparatiroidismo y trastornos nutricionales.
Potasio	Malnutrición y enfermedad renal. Este electrolito se utiliza para diagnosticar las causas de vómitos, diarrea y síntomas cardíacos.
Sodio	Deshidratación y diabetes. Este electrolito se utiliza para diagnosticar las causas de vómitos, diarrea y síntomas cardíacos.
Dióxido de carbono total	Alcalosis y acidosis metabólica primaria, y alcalosis y acidosis respiratoria primaria.
Nitrógeno ureico	Enfermedades del hígado y del riñón.

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

3. Principio del procedimiento

Albúmina

Los métodos usados con mayor frecuencia para la determinación de la albúmina son las técnicas de unión a colorantes. El bromocresol verde (BCG) es el más usado de los métodos de tinción.¹

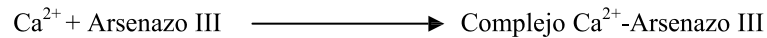


La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra. Se trata de un criterio de valoración de la reacción final que se mide bicromáticamente a 630 nm y 405 nm.

Calcio total

El método de referencia para el calcio es la espectroscopia por absorción atómica; sin embargo, no se adapta al uso rutinario.² Los métodos espectrofotométricos que usan indicadores como *o*-cresoltaleína complexona (CPC) o arsenazo III metalocrómico son los usados con mayor frecuencia.^{3,4,5} El arsenazo III tiene gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

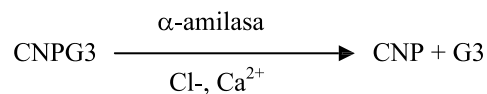
El calcio presente en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio.



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

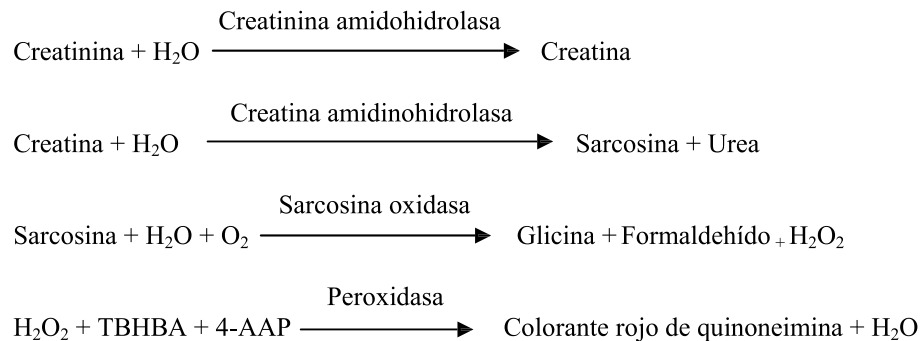
Cloruro (Cl⁻)

El método se basa en la determinación de la activación, dependiente del cloruro, de la actividad de la α -amilasa. La α -amilasa desactivada se reactiva al añadir el ión de cloruro, permitiendo que el calcio se vuelva a asociar con la enzima. La reactivación de la α -amilasa es proporcional a la concentración de iones de cloruro en la muestra. La α -amilasa reactivada convierte el sustrato, 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriosido (CNPG3) en 2-cloro-p-nitrofenol (CNP) que produce color y una α -maltotriosa (G3). La reacción se mide biocromáticamente y el aumento en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la α -amilasa reactivada y la concentración de ion cloruro en la muestra.⁶



Creatinina (CRE)

El método Jaffé, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método actual de referencia combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffé para aumentar la especificidad de la reacción.^{7, 8} Se desarrollaron métodos enzimáticos más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica Jaffé.^{9, 10, 11} Los métodos que usan a la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia del ión amoníaco de las técnicas que usan creatinina iminohidrolasa.¹²

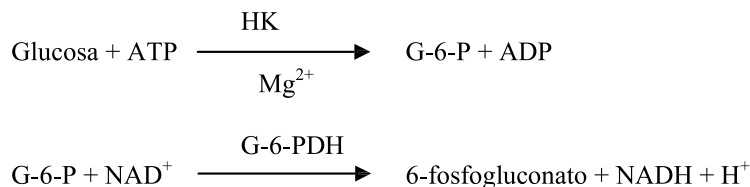


Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina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

Glucosa (GLU)

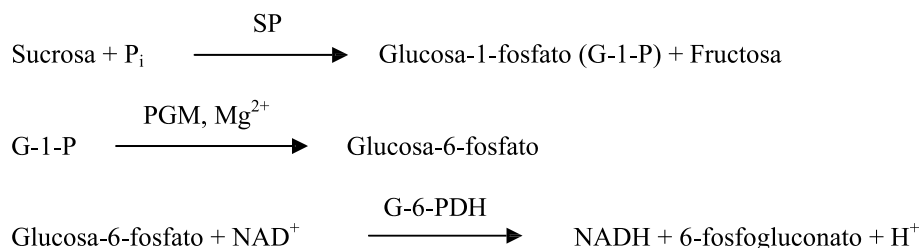
Las primeras mediciones de la concentración de glucosa fueron realizadas mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu¹³ y Somogyi-Nelson^{14, 15}). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de glucosa Abaxis es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.¹⁶

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce 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.



Fósforo

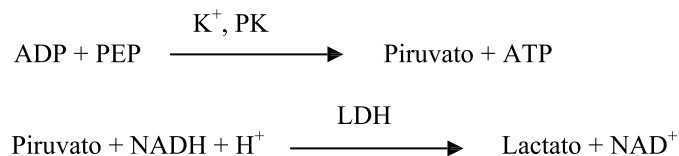
El método de fósforo de Abaxis utiliza sucrosa fosforilasa (SP) acoplada con las reacciones de fosfoglucomutasa (PGM) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH).^{17,18} Mediante el sistema enzimático, por cada mol de fósforo inorgánico presente en la muestra, se forma un mol de NADH. La cantidad de NADH formado se mide como una reacción final a 340 nm.



Potasio (K⁺)

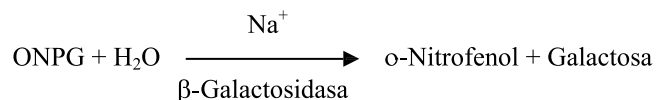
Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. El método enzimático Abaxis se basa en la activación de la piruvato quinasa con potasio, y muestra una linealidad excelente y una susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas.^{19, 20, 21} La interferencia de los iones sodio y amonio se reduce al mínimo al añadir Kryptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente.¹⁹

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 absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺, la cual 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}.^{22, 23, 24} 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-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa. El índice de reacción entre 405 nm y 500 nm es proporcional a la concentración de sodio.

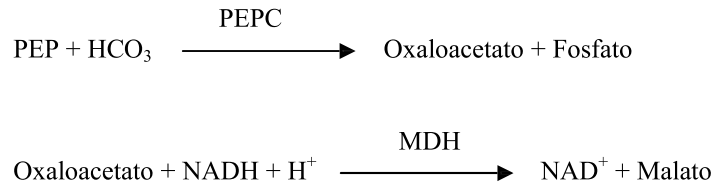


Dióxido de carbono total (tCO₂)

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.^{25, 26} El método enzimático está bien adaptado para usar con un analizador químico sanguíneo de rutina sin agregar complejidad al proceso.

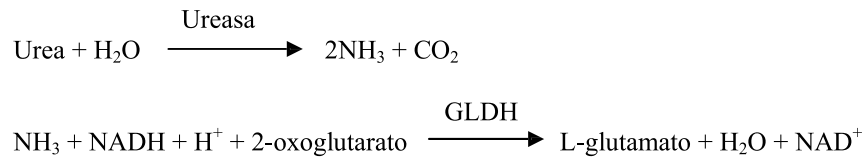
En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO₂) a bicarbonato (HCO₃⁻). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO₃⁻ reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de

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 tCO_2 en la muestra.



Nitrógeno ureico (BUN)

El sistema Abaxis utiliza una reacción enzimática acoplada. En esta reacción, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono.²⁷ 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.

4. Principios de la operación

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

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada rotor reactivo VetScan Kidney Profile Plus contiene soportes sólidos reactivos secos específicos para la prueba (descritos a continuación). Se incluye un reactivo seco de muestra de referencia (compuesto por amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes) en cada rotor reactivo para usar en el cálculo de las concentraciones de albúmina (ALB), calcio (CA^{++}), cloruro (CL^-), glucosa (GLU), fósforo (PHOS), potasio (K^+), sodio (NA^+), dióxido de carbono total (tCO_2) y nitrógeno ureico (BUN). Se incluyen muestras de referencia dedicadas en el rotor para calcular la concentración de creatinina (CRE). Cada rotor reactivo contiene también un diluyente que consta de 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 el control 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. Utilícelo de acuerdo con las instrucciones provistas en el manual del usuario de VetScan VS2. Deseche los rotores no usados transcurridos 20 minutos desde la apertura de la bolsa. Los rotores dentro de bolsas abiertas no pueden volver a colocarse en el refrigerador para usarse en otro momento.

Almacenamiento

Almacene 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/deterioro del rotor reactivo.

- Todos los reactivos contenidos en el rotor reactivo, cuando se almacenan tal como se describe más arriba, permanecen 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 VS2.
- Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin usar entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar negativamente al rendimiento del reactivo. No utilice un rotor de una bolsa dañada.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico VetScan VS2 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 de litio (tapón verde). Use tubos para obtención de muestras no evacuados con aditivos (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro) para las muestras de suero.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente el tubo para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. No agite el tubo para obtención de muestras; esto 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 posteriores a la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfírala a un tubo de ensayo limpio.²⁸ 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 ambiente.²⁹
- La refrigeración de muestras de sangre entera puede causar cambios significativos en las concentraciones de **creatinina y glucosa**.³⁰
- Las muestras con concentraciones de amilasa de más de 4000 U/l darán lecturas de cloruro falsamente elevadas.

- 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 hora.³¹

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador químico VetScan VS2 es la heparina de litio. No debe usarse heparina sódica durante la recolección de muestras de sangre para ser utilizadas con este panel. 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 VetScan Kidney Profile Plus.
- Los interferentes físicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) pueden causar cambios en las concentraciones informadas de algunos analitos. Los índices de la muestra están 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 lugar del resultado.
- La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de potasio. Este problema puede pasar desapercibido cuando se analiza sangre entera (la liberación de potasio de apenas 0,5 % de los eritrocitos puede provocar aumentos en el nivel sérico del potasio de 0,5 mmol/l). En particular, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con rapidez pueden tener niveles de potasio elevados por la pérdida intracelular de potasio.³²
- 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 horas.³³
- La prueba de potasio en el sistema VetScan VS2 es una prueba de acoplamiento de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH). Por consiguiente, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el sistema VetScan puede recuperar un valor de potasio (K+) falsamente elevado. En tales casos, será necesario confirmar los resultados de potasio inesperadamente elevados utilizando otra metodología.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo VetScan Kidney Profile Plus

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico VetScan VS2

Parámetros de prueba

El analizador químico VetScan VS2 opera a temperaturas ambientes entre 15° C y 32° C (59-90° F). El tiempo de análisis para cada rotor reactivo VetScan Kidney Profile Plus 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 la prueba

La recolección completa de la muestra y los procedimientos paso por paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico VetScan VS2.

Calibración

El analizador químico VetScan VS2 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. Ver el Manual del operador del analizador químico VetScan VS2.

Control de calidad

Pueden analizarse controles periódicamente en el analizador químico VetScan VS2 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 del sistema VetScan VS2 para aprender cómo

analizar los controles.

9. Resultados

El analizador químico VetScan VS2 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 del analizador químico VetScan VS2.

10. Limitaciones del procedimiento

En el Manual del usuario del analizador químico VetScan VS2 se explican las limitaciones generales del procedimiento.

- **Si un resultado de una prueba determinada 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 de eritrocitos concentrados pueden proporcionar resultados inexactos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo rotor reactivo.

Advertencia: Pruebas exhaustivas del sistema químico VetScan VS2 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 los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. 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 VS2 se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario de VetScan VS2). La tabla de intervalos dinámicos que aparece a continuación representa el espectro que puede detectar el sistema VetScan VS2. **Los intervalos que aparecen a continuación no representan intervalos normales.**

Tabla 2: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Unidades comunes	Unidades SI
Albúmina	1 – 6,5 g/dl	10 – 65 g/l
Calcio	4 – 16 mg/dl	1,0 – 4,0 mmol/l
Cloruro	80 – 135 mmol	80 – 135 mmol
Glucosa	10 – 700 mg/dl	0,56 – 38,9 mmol
Creatinina	0,2 – 20 mg/dl	18 – 1768 µmol
Fósforo	0 – 20 mg/dl	0 – 6,46 mmol
Potasio	1,5 – 8,5 mmol	1,5 – 8,5 mmol
Sodio	110 – 170 mmol	110 – 170 mmol
Dióxido de carbono total	5 – 40 mmol	5 – 40 mmol
Nitrógeno ureico	2 – 180 mg/dl	0,7 – 64,3 mmol/urea/l

12. Bibliografía

1. Webster D, y otros An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-8.
2. Cali JP, Bowers GN, Young DS, y otros A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., Selected methods of Clinical Chemistry. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977;8:3-8.
3. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
4. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
5. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978;307:86-112.
6. Ono T y otros. A new enzymatic assay of chloride in serum. Clin Chem 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970; 8: 582-587.

12. Bibliografía (continuación)

8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
13. Folin O, and Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
17. Schulz DW, y otros An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
18. Tedokon, M Suzuki, y otros Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucumutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
19. Berry MN y otros. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-20.
20. 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.
21. Hubl W y otros. 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: 1528-31.
22. Helgerson RC y otros. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-50.
23. Kumar A y otros. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-12.
24. Berry MN y otros. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-98.
25. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
26. 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.
27. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 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.
28. 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.
29. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
30. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
31. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
32. Scott MG, Electrolytes and Blood Gases. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999:617-721.
33. Melnik J y Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, 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.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP5-A2. Wayne, PA: CLSI, 2004.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP18-A2. Wayne, PA: CLSI, 2009.

Esclusivamente per uso veterinario
Servizio clienti e assistenza tecnica +1-800-822-2947

Gennaio 2023
PN: 51630400
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo renale VetScan® Plus usato con l'analizzatore chimico VetScan VS2 impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* per uso veterinario di albumina (ALB), calcio (CA^{++}), cloruro (CL^-), creatinina (CRE), glucosio (GLU), fosforo (PHOS), potassio (K^+), sodio (NA^+), anidride carbonica totale (tCO_2) e azoto ureico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.

2. Sommario e spiegazione dei test

Il rotore reagente Profilo renale VetScan® Plus e l'analizzatore chimico VetScan VS2 costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il veterinario nella diagnosi delle seguenti patologie:

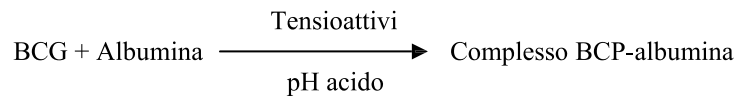
Albumina	Malattie epatiche e renali.
Calcio	Malattie paratiroidiche, ossee e renali croniche; tetanie.
Cloruro	Diarrea cronica, vomito cronico, malattia renale, malattia paratiroidica, alcalosi o acidosi respiratoria cronica, iperadrenocorticismo, ipoadrenocorticismo e terapia con tiazidici.
Creatinina	Malattia renale.
Glucosio	Diabete, iperglicemia, ipoglicemia e malattia epatica.
Fosforo	Malattia renale, ipoparatiroidismo e disturbi nutrizionali
Potassio	Malnutrizione e malattia renale. Questo elettrolita viene usato per diagnosticare le cause di vomito, diarrea e sintomi cardiaci.
Sodio	Disidratazione e diabete. Questo elettrolita viene usato per diagnosticare le cause di vomito, diarrea e sintomi cardiaci.
Anidride carbonica totale	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.
Azoto ureico	Malattie renali e metaboliche.

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. Principio della procedura

Albumina

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

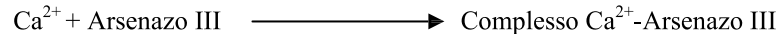


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint che viene misurata bicompativamente a 630 nm e 405 nm.

Calcio totale

Il metodo di riferimento per il calcio è la spettroscopia ad assorbimento atomico, che è però inadatta ad analisi di routine.² I metodi spettrofotometrici che utilizzano indicatori metallocromici a base di *o*-cresoftaleina complexone (CPC) o arsenazo III sono quelli più comunemente usati.^{3,4,5} L'arsenazo III presenta una elevata affinità per il calcio e non è temperatura-dipendente come il CPC.

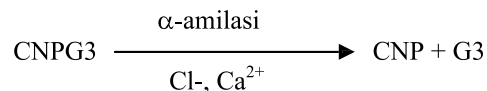
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.



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

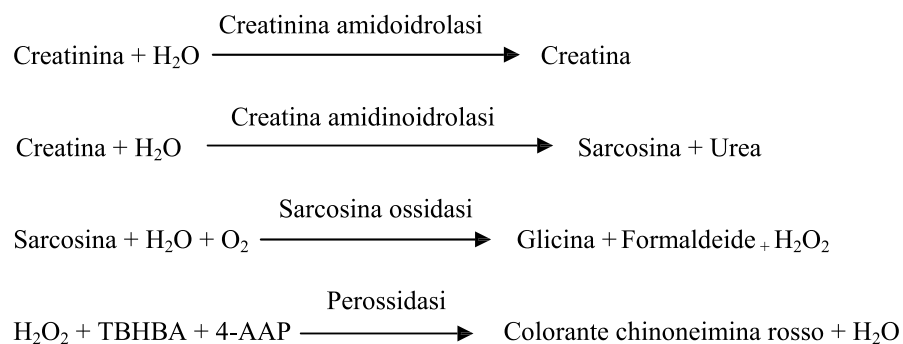
Cloruro (Cl⁻)

Il metodo si basa sulla determinazione dell'attivazione cloruro-dipendente dell'attività dell' α -amilasi. L' α -amilasi disattivata viene riattivata mediante aggiunta dello ione cloruro, consentendo al cloruro di riassociarsi con l'enzima. La riattivazione dell'attività dell' α -amilasi è proporzionale alla concentrazione di ioni cloruro nel campione. L' α -amilasi riattivata trasforma il substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotrioside (CNPG3) in 2-cloro-*p*-nitrofenolo (CNP) sviluppando colore e α -maltotriosio (G3). La reazione si misura bicompativamente e l'aumento dell'assorbanza è direttamente proporzionale all'attività di α -amilasi riattivata e alla concentrazione di ione cloruro nel campione.⁶



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 abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{7, 8} 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.^{9, 10, 11} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.¹²

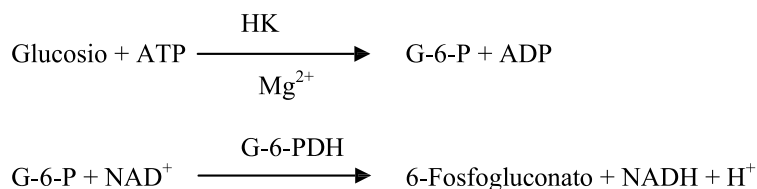


Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai 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.

Glucosio (GLU)

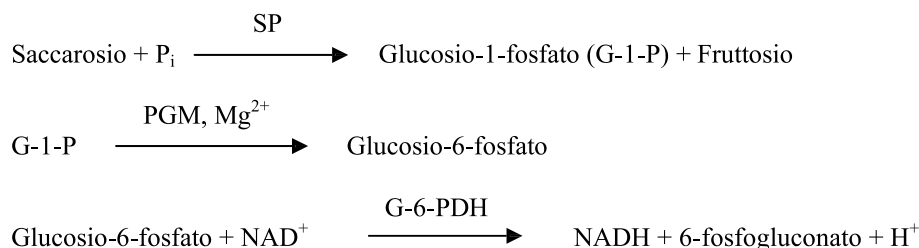
Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu¹³ e Somogyi-Nelson^{14, 15}). La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio Abaxis è una variante del metodo dell'esochinasi, che è stato proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.¹⁶

La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla 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 di nicotinammide adenin dinucleotide (NAD^+) in NADH.



Fosforo

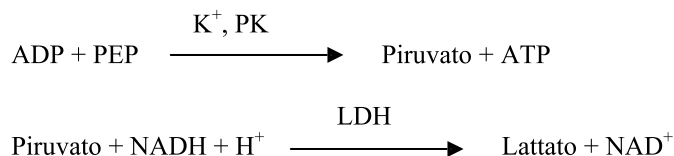
Il metodo del fosforo Abaxis si basa sulla saccarosio fosforilasi (SP) accoppiata con fosfoglucomutasi (PGM) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH).^{17,18} Applicando il sistema enzimatico, per ogni mole di fosforo inorganico presente nel campione si forma una mole di NADH. La quantità di NADH formata si misura come endpoint a 340 nm.



Potassio (K+)

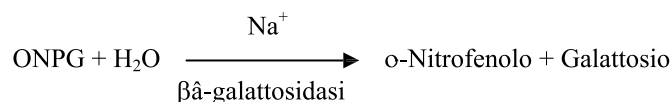
Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis è basato sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio e risulta avere eccellente linearità e bassissima suscettibilità alle sostanze endogene.^{19, 20, 21} L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è ridotta al minimo con l'aggiunta, rispettivamente, di Kryptofix e di glutammato deidrogenasi.¹⁹

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 variazione nell'assorbanza tra 340 nm e 405 nm è dovuta alla conversione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.



Sodio (Na^+)

Sono stati messi a punto metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{22, 23, 24} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β -galattosidasi è attivata dal sodio presente nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione dell'o-nitrofenil- β -D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio. La velocità della reazione tra 405 nm e 500 nm è proporzionale alla concentrazione di sodio.

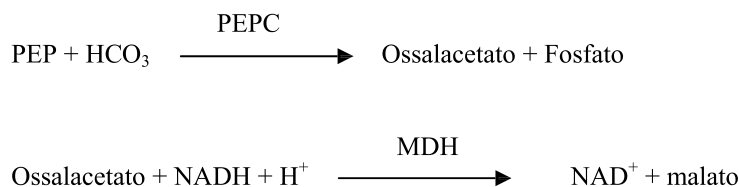


Anidride carbonica totale (tCO₂)

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 CO₂ e metodi enzimatici spettrofotometrici, tutti con risultati accurati e precisi.^{25, 26} Il metodo enzimatico è ideale per l'uso con un analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, in quanto non comporta alcuna complessità.

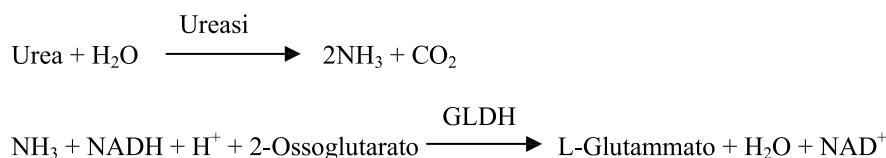
Nel metodo enzimatico, il campione viene innanzitutto alcalinizzato per convertire tutte le forme di anidride carbonica (CO₂) in bicarbonato (HCO₃⁻). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'HCO₃⁻ reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di

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 tCO₂ nel campione.



Azoto ureico (BUN)

Il sistema Abaxis impiega una reazione enzimatica accoppiata, in cui l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica.²⁷ 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 conversione di NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di urea presente nel campione.

4. Principio del test

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

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni rotore reagente profilo renale VetScan Plus contiene microsfele secche di reagente specifico per il test (cfr. descrizione seguente). In ogni rotore reagente è compreso un reagente secco per bianco campione (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni albumina (ALB), calcio (CA⁺⁺), cloruro (CL⁻), glucosio (GLU), fosforo (PHOS), potassio (K⁺), sodio (NA⁺), anidride carbonica totale (tCO₂) e azoto ureico ematico (BUN). Il rotore comprende campioni bianchi dedicati per calcolare la concentrazione di creatinina (CRE). 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 rispettano le procedure raccomandate, l'operatore non viene a contatto con le microsfere di reagente. In caso di manipolazione dei granuli (es. pulizia in seguito a caduta e incrinatura di un rotore reagente), evitare ingestione, contatto cutaneo e inalazione.
- Alcuni granuli 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

Una volta 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 VS2. 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/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. In caso di reagenti scaduti, sul display dell'analizzatore chimico VetScan VS2 viene visualizzato un messaggio di errore.
- In caso di busta strappata o altrimenti danneggiata, l'umidità può penetrare nel rotore non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non usare rotori estratti da buste danneggiate.

6. Strumento

Per informazioni complete sull'uso dell'analizzatore, vedere il Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico VetScan VS2.

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 plasma, utilizzare solo provette di prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per la 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 la provetta 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 dal prelievo; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.²⁸ 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 se lasciate in campioni non centrifugati a temperatura ambiente.²⁹

- La refrigerazione di campioni di sangue intero può causare variazioni significative nelle concentrazioni di **glucosio e creatinina**.³⁰
- I campioni con concentrazioni di amilasi >4000 U/l possono fornire letture del cloruro falsamente elevate.
- 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 molta meno anidride carbonica del plasma: pertanto, parte dell'anidride carbonica in forma gassosa verrà liberata dal campione nell'aria, con conseguente diminuzione del valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/l nel giro di un'ora.³¹

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore chimico VetScan VS2 è la litio eparina. Non usare eparina sodica quando si raccolgono campioni di sangue da usare con questo pannello. 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 renale VetScan Plus.
- 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).
- L'emolisi può dare luogo a risultati erroneamente elevati nei dosaggi del potassio. Tale problema potrebbe non essere rilevato durante l'analisi di sangue intero (il rilascio di potassio anche solo dallo 0,5% degli eritrociti può determinare un aumento del livello di potassio nel siero di 0,5 mmol/l). In particolare, anche campioni non emolizzati non tempestivamente trattati potrebbero presentare livelli di potassio aumentati a causa di perdita intracellulare di potassio.³²
- 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.³³
- Il dosaggio del potassio nel sistema VetScan VS2 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 di potassio inaspettatamente elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo renale VetScan Plus

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan VS2

Parametri del test

L'analizzatore chimico VetScan VS2 funziona a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59-90 °F). Il tempo di analisi per ogni rotore reagente Profilo renale VetScan Plus 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 dell'operatore dell'analizzatore chimico VetScan VS2.

Calibrazione

L'analizzatore chimico VetScan V2 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 dell'operatore dell'analizzatore chimico VetScan VS2.

Controllo qualità

Per verificare l'accuratezza dell'analizzatore chimico VetScan VS2, è possibile analizzare periodicamente i controlli apposti. 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 del sistema VetScan VS2.

9. Risultati

L'analizzatore chimico VetScan V2 calcola e stampa automaticamente le concentrazioni di analiti nel campione. I dettagli dei calcoli delle reazioni di endpoint e velocità sono riportati nel Manuale dell'operatore dell'analizzatore chimico VetScan VS2.

10. Limiti della procedura

I limiti generici della procedura sono descritti nel manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan VS2

- **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 per ottenere il plasma, quindi rianalizzati in un nuovo rotore reagente.

Avvertenza: Test su larga scala del sistema chimico VetScan VS2 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. 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 VS2 è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (vedere il manuale d'uso VetScan VS2). La tabella dei range dinamici di seguito fornita rappresenta lo spettro rilevabile dal sistema VetScan VS2. **Gli intervalli seguenti non rappresentano i range normali.**

Tabella 2: Range dinamici VetScan

Analiti	Unità comuni	Unità SI
Albumina	1 – 6,5 g/dl	10 – 65 g/l
Calcio	4 – 16 mg/dl	1,0 – 4,0 mmol/l
Cloruro	80 – 135 mmol/l	80 – 135 mmol/l
Glucosio	10 – 700 mg/dl	0,56 – 38,9 mmol/l
Creatinina	0,2 – 20 mg/dl	18 – 1768 µmol/l
Fosforo	0 – 20 mg/dl	0 – 6,46 mmol/l
Potassio	1,5 – 8,5 mmol/l	1,5 – 8,5 mmol/l
Sodio	110 – 170 mmol/l	110 – 170 mmol/l
Anidride carbonica totale	5 – 40 mmol/l	5 – 40 mmol/l
Azoto ureico	2 – 180 mg/dl	0,7 – 64,3 mmol/urea/l

12. Bibliografia

1. Webster D, et al. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-8.
2. Cali JP, Bowers GN, Young DS, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., *Selected methods of Clinical Chemistry*. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry; 1977;8:3-8.
3. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
4. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
5. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. *Ann NY Acad Sci* 1978;307:86-112.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem*. 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem*. 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
13. Folin O, and Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem*. 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem*. 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol*. 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
17. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
18. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
19. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-20.
20. 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.
21. 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: 1528-31.
22. Helgersen RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-6350. 6339-50.
23. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-12.
24. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-98.
25. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
26. 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.
27. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 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.
28. 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.
29. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
30. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
31. Scott M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.

12. Bibliografia (segue)

32. Scott MG, Electrolytes and Blood Gases. *In*: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999:617-721.
33. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, 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.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP5-A2. Wayne, PA: CLSI, 2004.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
37. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; Approved Guideline– Second Edition. CLSI Document EP18-A2. Wayne, PA: CLSI, 2009.