

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

January 2023
PN: 51631200
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Intended Use

The VetScan® Large Animal Profile reagent rotor, used with the VetScan Whole Blood Analyzer, utilizes dry and liquid reagents to provide *in vitro* quantitative determinations of albumin (ALB), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), calcium (CA⁺⁺), creatine kinase (CK), gamma glutamyl transferase (GGT), globulin*(GLOB), magnesium (MG), inorganic phosphorus (PHOS), total protein (TP) and urea nitrogen (BUN) in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum.¹

* Calculated Value

2. Summary and Explanation of Tests

NOTE: Bovine samples should be run as “Other” species (animal type) when running the Large Animal Profile Rotor. The albumin (ALB) method has bovine specific calibration factors, which are stored in this key function. Please refer to the VetScan Operator’s Manual for additional information.

The VetScan Large Animal Profile reagent rotor and the VetScan Whole Blood Analyzer comprise an *in vitro* diagnostic system that aids the veterinarian in diagnosing the following disorders:

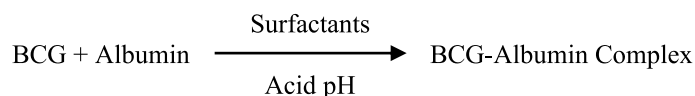
Albumin	Liver and kidney disease
Alkaline phosphatase	Liver, bone, parathyroid and intestinal diseases
Aspartate aminotransferase	Liver disease including hepatitis and viral jaundice; shock
Calcium	Parathyroid, bone and chronic renal diseases; tetany
Creatine Kinase	Myocardial infarction, progressive muscular dystrophy, dermatomyositis, convulsions, heart disease, hypothyroidism, severe exercise, intramuscular injection, physical inactivity, and decreased muscle mass
Gamma glutamyl transferase	Liver disease, primary and secondary liver tumors
Magnesium	Kidney disease and malnutrition
Phosphorus	Kidney disease, hypoparathyroidism and nutritional disorders
Total protein	Liver, kidney, bone marrow diseases; metabolic and nutritional disorders
Urea Nitrogen	Renal and metabolic 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. Principles of Procedure

Albumin (ALB)

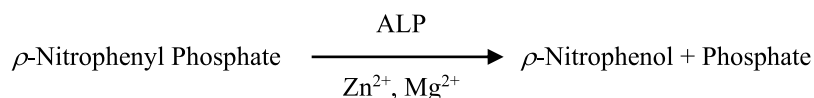
Dye binding techniques are the most frequently used methods for measuring albumin. Bromocresol green (BCG) is the most commonly used of the dye binding methods but may over-estimate albumin concentration, especially at the low end of the normal range.²



Bound albumin is proportional to the concentration of albumin in the sample. This is an endpoint reaction that is measured as the difference in absorbance between 600 nm and 550 nm.

Alkaline Phosphatase (ALP)

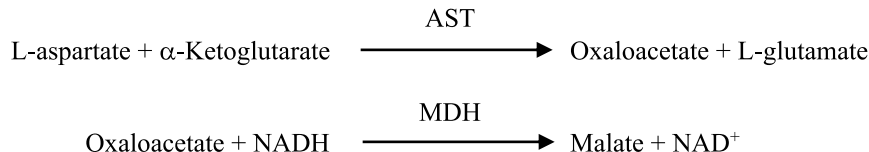
The Abaxis procedure is modified from the American Association of Clinical Chemistry (AACC)³ and the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)⁴ methods, which uses *p*-NPP as a substrate and a metal-ion buffer. In this reaction, ALP hydrolyzes *p*-NPP in a metal ion buffer and forms *p*-nitrophenol and phosphate.



The amount of ALP in the sample is proportional to the rate of increase in absorbance at 405 nm.

Aspartate Aminotransferase (AST)

The Abaxis AST method is a modification of the IFCC reference method.^{5,6} This method catalyzes the reaction of L-aspartate and α -ketoglutarate into oxaloacetate and L-glutamate. Oxaloacetate is converted to malate and NADH is oxidized to NAD^+ by the catalyst MDH.



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

Calcium (Ca^{++})

Calcium in the patient sample binds with Arsenazo III to form a calcium-dye complex.^{7,8}



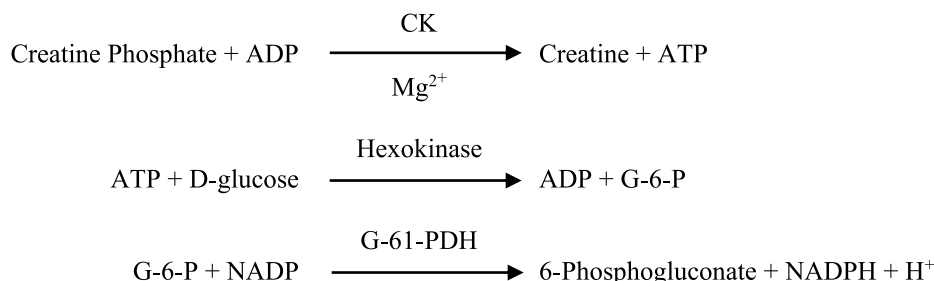
The endpoint reaction is monitored at 405 nm, 467 nm, and 600 nm. The amount of calcium in the sample is proportional to the absorbance.

Creatine Kinase (CK)

Creatine Kinase catalyzes the reversible phosphorylation of creatine by adenosine triphosphate (ATP).⁹

The CK measurement procedure used by Abaxis is a modified version of the IFCC.¹⁰ Key modifications are sample volume fraction, buffer and temperature. N-acetyl cysteine (NAC) has been added to reactivate the CK.¹¹ Magnesium is used as a cofactor for both CK and hexokinase. EDTA has been added as a stabilizer for NAC and for the removal of various cations, such as calcium and iron, that inhibit CK. P^1 , P^5 -di (adenosine-5')pentaphosphate and adenosine monophosphate (AMP) have also been added to inhibit adenylate kinase, another skeletal muscle and erythrocyte enzyme that reacts with the substrates used to measure CK.

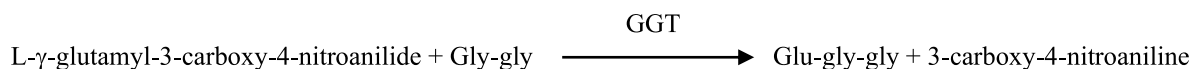
Creatine Kinase catalyzes the formation of creatine and adenosine triphosphate (ATP) from creatine phosphate P^1 , P^5 -di (adenosine 5')penta phosphate (ADP) at pH 6.7. With hexokinase as a catalyst, ATP reacts with D-glucose to form ADP and D-glucose-6-phosphate (G-6-P), which is reacted with nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) in the presence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) to produce G-6-P and NADPH.



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

Gamma Glutamyl Transferase (GGT)

Abaxis has modified the IFCC method which uses the L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide and glycylglycine¹² as the other substrate¹³ to react at 37° C. The addition of sample containing gamma glutamyl transferase to the substrates L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide and glycylglycine (gly-gly) causes the formation of L- γ -glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) and 3-carboxy-4-nitroaniline.

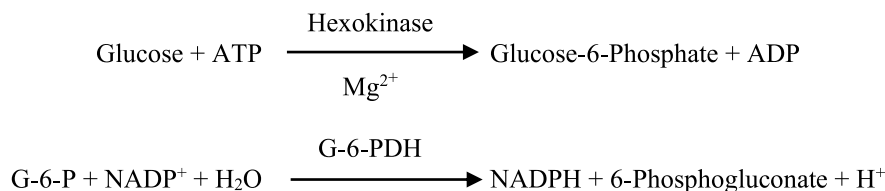


The absorbance of this rate reaction is measured at 405 nm. The production of 3-carboxy-4-nitroaniline is directly proportional to the GGT activity in the sample.

Magnesium (MG)

The hexokinase activation method for magnesium is the best fit system in terms of sensitivity, precision and accuracy.¹⁴

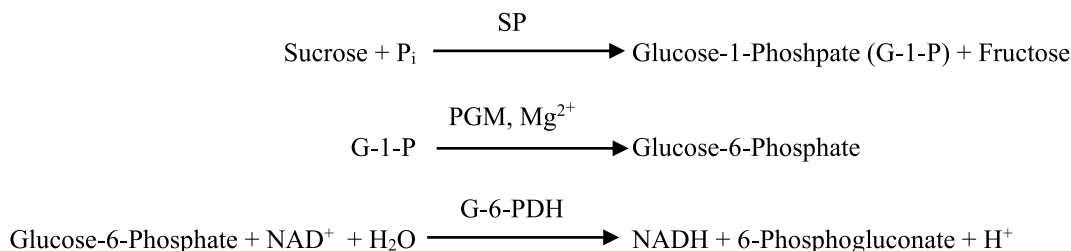
The enzymatic magnesium method can be written as follow:



The rate limiting reaction is the hexokinase reaction. Magnesium from serum activates hexokinase, which in turn catalyzes the breakdown of glucose to form glucose-6-phosphate (G-6-P) and ADP. Glucose-6-phosphate reacts with NADP^+ to form NADPH and 6-phosphogluconate in the presence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH). This is a first-order rate reaction. Magnesium concentration is determined by measuring the increase in absorbance of NADPH at 340 nm.

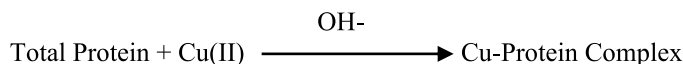
Phosphorus (PHOS)

The most applicable enzymatic method for the Abaxis system uses sucrose phosphorylase coupled through phosphoglucomutase (PGM) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH).^{15,16} Using the enzymatic system for each mole of phosphorus present in the sample, one mole of NADH is formed. The amount of NADH formed can be measured as an endpoint at 340 nm.



Total Protein (TP)

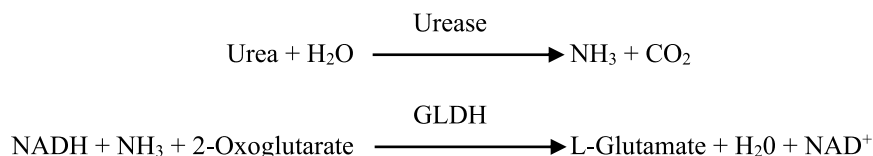
In the biuret reaction, the protein solution is treated with cupric [Cu(II)] ions in a strong alkaline medium. Sodium potassium tartate and potassium iodide are added to prevent the precipitation of copper hydroxide and the auto-reduction of copper, respectively.¹⁷ The Cu(II) ions react with peptide bonds between the carbonyl oxygen and amide nitrogen atoms to form a colored Cu-Protein complex.



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

Urea Nitrogen (BUN)

A coupled-enzymatic reaction is used by the Abaxis system. In this reaction, urease hydrolyzes urea into ammonia and carbon dioxide.¹⁸ 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® Chemistry Analyzer Operator's Manual, for the Principles and Limitations of the Procedure.

5. Description of Reagents

Reagents

Each VetScan Large Animal Profile reagent rotor contains dry test specific reagent beads. A dry sample blank reagent (comprised of buffer, surfactants, excipients, and preservatives) is included in each reagent rotor for use in calculating concentrations of ALP, AST, CK, GGT, and urea nitrogen (BUN). A dedicated sample blank is included in the rotor to calculate the concentration of total protein levels. Each reagent rotor also contains a diluent consisting of surfactants and preservatives.

Table 1: Reagents

Components	Contents
Albumin Reagent	
Bromcresol purple	2 µg
Buffer, surfactants, excipients and preservatives	
Alkaline Phosphatase Reagent	
Magnesium chloride	3 µg
Zinc sulfate	3 µg
ρ -NPP	56 µg
Buffers, surfactants and excipients	
Aspartate Aminotransferase Reagent (AST)	
L-aspartic acid	426 µg
Lactate dehydrogenase (LDH) (microbial)	0.03 U
β -nicotinamide adenine dinucleotide, reduced (NADH)	5 µg
Malate dehydrogenase (MDH) (porcine heart)	0.01 µg
α -ketoglutarate	28 µg
Buffers, surfactants, excipients and preservatives	
Calcium Reagent	
Arsenazo III, sodium salt	3 µg
Buffers, surfactants and excipients	
Creatine Kinase Reagent	
Adenosine diphosphate	31 µg
Adenosine monophosphate	33 µg
P^1 , P^5 -di(adenosine-5')pentaphosphate	0.2 µg
Magnesium Acetate, Tetrahydrate	69 µg
Hexokinase	95904 U
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	79920 U
NADP Sodium Salt	104 µg
EDTA, disodium	12 µg
N-acetyl cysteine	52 µg
Phosphocreatine	122 µg
Buffer, surfactants, excipients and preservatives	
Gamma Glutamyl Transferase	
Glycylglycine	317 µg
L-glutamic acid γ -(3-carboxy-4-nitroanilide)	30 µg
Buffer, surfactants, excipients and preservatives	
Magnesium	
EDTA, disodium	0.00032 mg
NADP, sodium	0.0296 mg
Hexokinase	0.0120 U
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	0.0220 U
Phosphorus	
NAD (free acid)	0.043 mg
Magnesium Acetate, Tetrahydrate	0.007 mg
Glucose-1,6-diphosphate	0.001 mg
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	0.023 U
Phosphoglucomutase (rabbit)	0.035 U
Sucrose phosphorylase	0.070 U

Table 1: Reagents (continued)

Components	Contents
Total Protein Reagent	
Sodium potassium tartrate	343 µg
Cupric sulfate	134 µg
Potassium iodide	28 µg
Surfactants, excipients and preservatives	
Total Protein Blank	
Sodium potassium tartrate	343 µg
Potassium iodide	28 µg
Surfactants, excipients and preservatives	

Warnings and Precautions

- For *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 can not 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.
- Reagent beads and diluent 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. Do not allow the rotors to remain at room temperature longer than 48 hours. 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 System 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). To use reagent rotors, remove the rotors from their sealed foil pouches from the refrigerator. Ensure that the cumulative time that the rotors are unrefrigerated (in their sealed pouches) does not exceed 48 hours. Open the pouch and remove the rotor just prior to use.

Indications of Reagent Rotor Instability or Deterioration

- All reagents contained in a 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 Whole Blood 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.
- After opening the pouch, examine the desiccant packet that is included with the reagent rotor. A blue strip on the back of the desiccant packet indicates that the correct relative humidity has been maintained in the pouch. A pink strip means the rotor has been exposed to excess moisture in the pouch (e.g. through a puncture hole and the rotor should **not** be used).

6. Instrument

See the VetScan System Operator's Manual for complete information on using the analyzer, including installation, performance specifications, operational precautions and limits, service and maintenance.

7. Sample Collection and Preparation

The minimum required sample size is ~90 µL of heparinized whole blood, heparinized plasma, serum or serum control. The reagent rotor sample chamber can contain up to 120 µL of sample.

- Specimen collected in a heparinized micropipette should be dispensed into the reagent rotor **immediately** following sample collection.
- Use only lithium heparin (green stopper) evacuated specimens collection tubes for whole blood or plasma samples. Use no-additive (red stopper) evacuated specimen collection tubes or serum separator tubes (red or red/black stopper) for serum samples.
- Whole blood samples obtained by venipuncture must be homogenous before transferring a sample to the reagent rotor. Gently invert the collection tubes several times just prior to sample transfer. Do **not** shake the collection tube. Shaking can 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.¹⁹ The sample may be separated into plasma or serum and stored in capped sample tubes at 2-8° C (36-46° F) if the sample can not be run within 60 minutes.

Known Interfering Substances

- The only anticoagulant recommended for use with the VetScan Whole Blood Analyzer is lithium heparin.
- Physical interferents (hemolysis, icterus, and lipemia) cause changes in the reported concentrations of some analytes. The sample indices are printed on the bottom of each result card to inform the operator about the levels of interferents present in each sample. The VetScan Whole Blood Analyzer suppresses any results that are affected by significant interference from hemolysis, lipemia, or icterus. “HEM”, “LIP”, “ICT”, respectively is printed on the result card in place of the result.
- Creatine kinase is inactivated both by bright daylight and by increasing specimen pH owing to loss of carbon dioxide. Accordingly, specimens should be stored in the dark in tightly closed tubes.²⁰

8. Procedure

Materials Provided

- One VetScan® Large Animal Reagent Rotor

Materials Required but not Provided

- VetScan Whole Blood Chemistry Analyzer

Test Parameters

The VetScan® System operates at ambient temperatures between 15° C and 32° C (59-90° F). The analysis time for each VetScan® Large Animal 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 System Operator's Manual.

Calibration

The VetScan Whole Blood 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 System Operator's Manual.

Quality Control

Controls may be run periodically on the VetScan Whole Blood Analyzer to verify the accuracy of the analyzer. Abaxis recommends that a serum-based commercially available control be run. Reagent rotors used for controls should be prepared the same as for patient samples. See the VetScan System Operator's Manual to run controls.

9. Results

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

Interpretation of results is detailed in the VetScan Operator's Manual. Results are printed onto result cards supplied by Abaxis. The result cards have an adhesive backing for easy placement in the patient's files.

10. Limitations of Procedure

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

- If a result for a particular test exceeds the assay range, the sample should be analyzed by another approved test method or sent to a referral laboratory. Do **not** dilute the sample and run it again on the VetScan Whole Blood Analyzer.
- Samples with hematocrits in excess of 62-64% 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.

11. Performance Characteristics

Linearity

The chemistry for each analyte is linear over the dynamic range listed below when the VetScan® System is operated according to the recommended procedure (see the VetScan System Operator's Manual).

Table 1: VetScan Dynamic Ranges

Analyte	Dynamic Ranges	
	Common Units	SI Units
ALB_BCG	1–6.5 g/dL	10–65 g/L
ALP	5–2400 U/L	5–2400 U/L
AST	5–2000 U/L	5–2000 U/L
CA++	4–16 mg/dL	1.0–4.0 mmol/L
CK	5–14000 U/L	5–14000 U/L
GGT	5–3000 U/L	5–3000 U/L
GLOB*	1–11 g/dL	10–110 g/L
MG	0–8 mg/dL	0–3.29 mmol/L
PHOS	0–20 mg/dL	0–6.46 mmol/L
TP	2–14 g/dL	20–140 g/L
BUN	2–180 mg/dL	0.7–64.3 mmol urea/L

*Calculated Value

12. Bibliography

1. Howe PE. 1921. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. J Biol Chem 49:93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-108.

3. Tietz NW, CA Burtis, P Duncan, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
4. Bowers, GN Jr, HU Bergmeyer, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chem Acta 1974;98:163F-74F.
5. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977;23: 887-99.
6. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978;24: 720-1.
7. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
8. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
9. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. J Biol Chem 1959;234: 3201-4.
10. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
11. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. Scand J. Clin Lab Invest 1976;36: 711-23.
12. Goldbarg JA, OM Friedman, EP Pineda, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960;91: 61-70.
13. Shaw LM, JH Stromme, JL London, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:633-46.
14. Tabata M, Kido M, Totani M, et al. Direct Spectrophotometry of Magnesium in Serum after Reaction with Hexokinase and Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase. Clin Chem 1985; 31:703-5.
15. Schulz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination Anal Biochem 1967;19:300-14.
16. Tedokon, M Suzuki, K Kayamori, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. Clin Chem 1992;38:512-5.
17. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16: 40-49.
18. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 1980. 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 26: 816-826.
19. National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS). 1984. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
20. Moss DW, Henderson AR. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 804.

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

Januar 2023
Art.-Nr.: 51631200
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 USA

1. Verwendungszweck

Die VetScan®-Großtierprofil-Reagenzdisk für das VetScan-Vollblut-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Albumin (ALB), alkalischer Phosphatase (ALP), Aspartat-Aminotransferase (AST), Calcium (CA⁺⁺), Creatin-Kinase (CK), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Globulin* (GLOB), Magnesium (MG), anorganischem Phosphor (PHOS), Gesamtprotein (TP) und Harnstoffstickstoff (BUN) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.¹

* Berechneter Wert

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

HINWEIS: Beim Einsatz der Großtierprofil-Reagenzdisk sind Proben von Rindern als Spezies (Tierart) „Other“ (andere) zu analysieren. Die Albumin-Methode (ALB) umfasst rinderspezifische Kalibrierungsfaktoren, die unter dieser Tastenfunktion gespeichert sind. Weitere Angaben bietet das Bedienungshandbuch für das VetScan-System.

Die VetScan-Großtierprofil-Reagenzdisk und das VetScan-Vollblut-Analysesystem ergeben ein *In-vitro*-Diagnostiksystem, das den Veterinär bei der Diagnose der folgenden Störungen unterstützt:

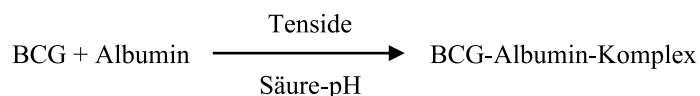
Albumin	Leber- und Nierenerkrankungen
Alkalische Phosphatase	Leber-, Knochen-, Nebenschilddrüsen- und Darmerkrankungen
Aspartat-Aminotransferase	Lebererkrankungen, einschließlich Hepatitis und Virusgelbsucht; Schock.
Calcium	Nebenschilddrüsen-, Knochen- und chronische Nierenerkrankungen; Tetanie
Creatin-Kinase	Myokardinfarkt, progressive Muskeldystrophie, Dermatomyositis, Krampfanfälle, Herzkrankheiten, Hypothyroidismus, schwere Anstrengungen, intramuskuläre Injektionen, körperliche Untätigkeit und reduzierte Muskelmasse
Gamma-Glutamyl-Transferase	Lebererkrankungen, primäre und sekundäre Lebertumoren
Magnesium	Nierenerkrankungen und Mangelernährung
Phosphor	Nierenerkrankungen, Hypoparathyroidismus und Ernährungsstörungen
Gesamtprotein	Leber-, Nieren- und Knochenmarkerkrankungen, Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen
Harnstoffstickstoff	Nieren- und Stoffwechselerkrankungen

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

3. Verfahrensprinzip

Albumin (ALB)

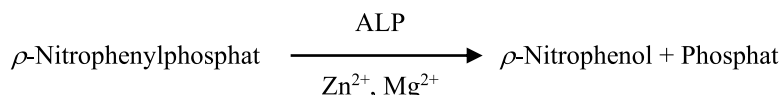
Farbstoffbindungstechniken sind die am häufigsten gebrauchten Methoden zur Bestimmung von Albumin. Bromkresolgrün (BCG) ist die am häufigsten verwendete unter den Farbstoffbindungsmethoden, kann aber zu einer Überschätzung der Albuminkonzentration führen (besonders am unteren Ende des Normalbereichs).²



Gebundenes Albumin verhält sich proportional zur Albuminkonzentration in der Probe. Dies ist eine Endpunktreaktion, die als Extinktionsdifferenz zwischen 600 nm und 550 nm gemessen wird.

Alkalische Phosphatase (ALP)

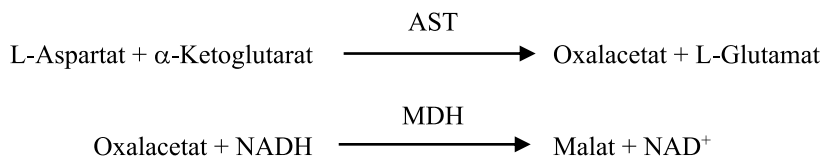
Das Abaxis-Verfahren ist eine Abwandlung der Methoden der American Association of Clinical Chemistry (AACC)³ und der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)⁴ und verwendet *p*-NPP als Substrat und Metallionenpuffer. Bei dieser Reaktion hydrolysiert alkalische Phosphatase *p*-NPP in einem Metallionenpuffer und bildet *p*-Nitrophenol und Phosphat.



Die Menge an ALP in der Probe verhält sich proportional zur Anstiegsgeschwindigkeit der Extinktion bei 405 nm.

Aspartat-Aminotransferase (AST)

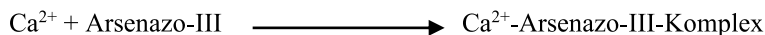
Die AST-Methode von Abaxis ist eine Abwandlung der IFCC-Referenzmethode.^{5,6} Bei dieser Methode wird die Reaktion von L-Aspartat und α -Ketoglutarat zu Oxalacetat und L-Glutamat katalysiert. Oxalacetat wird in Malat umgewandelt, und NADH wird durch den Katalysator MDH zu NAD^+ oxidiert.



Die durch die Umwandlung von NADH zu NAD^+ bewirkte Extinktionsänderungsgeschwindigkeit (340/405 nm) verhält sich direkt proportional zu der in der Probe vorhandenen AST-Menge.

Calcium (Ca^{++})

Das Calcium in der Patientenprobe verbindet sich mit Arsenazo-III unter Bildung eines Calcium-Farbstoffkomplexes.^{7,8}



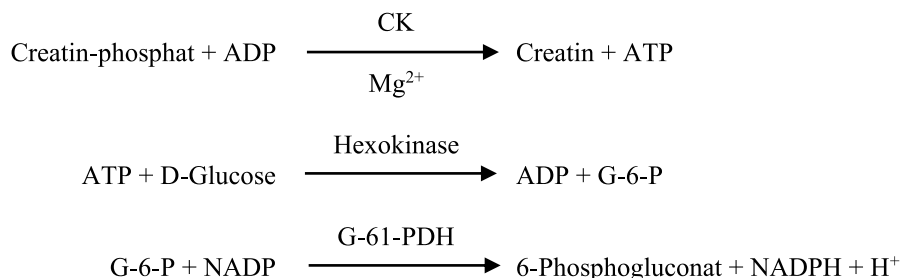
Die Endpunktreaktion wird bei 405 nm, 467 nm und 600 nm überwacht. Die Calciummenge in der Probe ist proportional zur Extinktion.

Creatin-Kinase (CK)

Creatin-Kinase katalysiert die reversible Phosphorylierung von Creatin durch Adenosin-triphosphat (ATP).⁹

Das von Abaxis angewandte Verfahren zur CK-Bestimmung ist eine Abwandlung der IFCC-Methode.¹⁰ Wichtige Änderungen stellen Probenvolumenfraktion, Puffer und Temperatur dar. Zur Reaktivierung der CK wurde N-Acetylcystein (NAC) zugesetzt.¹¹ Magnesium dient als Co-Faktor für sowohl CK als auch Hexokinase. EDTA wurde als Stabilisator für NAC und zum Entfernen verschiedener CK-hemmender Kationen (wie bspw. Calcium und Eisen) zugesetzt. Außerdem wurden P^1 , P^5 -Di-(adenosin-5')-pentaphosphat und Adenosin-monophosphat (AMP) zugesetzt, um Adenylat-Kinase zu hemmen, ein weiteres Skelettmuskulatur- und Erythrozyten-Enzym, das mit den zur CK-Bestimmung eingesetzten Substraten reagiert.

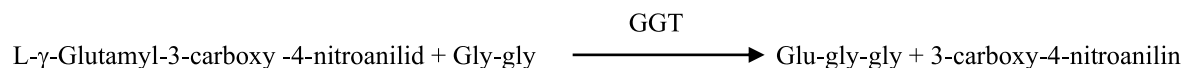
Creatin-Kinase katalysiert die Bildung von Creatin und Adenosin-triphosphat (ATP) aus Creatin-phosphat-P¹,P⁵-Di-(adenosin-5')-pentaphosphat (ADP) bei einem pH-Wert von 6,7. Mit Hexokinase als Katalysator reagiert ATP mit D-Glucose unter Bildung von ADP und D-Glucose-6-phosphat (G-6-P), das bei Vorliegen von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) mit Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) unter Bildung von G-6-P und NADPH reagiert.



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

Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

Abaxis hat die IFCC-Methode, bei der L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid und Glycyl-glycin¹² als das andere Substrat¹³ verwendet werden, so abgewandelt, dass die Reaktion bei 37 °C erfolgt. Die Zugabe einer Probe mit Gamma-Glutamyl-Transferase zu den Substraten L-γ-Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid und Glycylglycin (Gly-gly) führt zur Bildung von L-γ-Glutamyl-glycylglycin (Glu-gly-gly) und 3-Carboxy-4-nitroanilin.

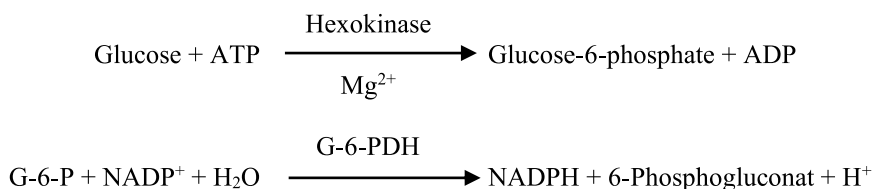


Die Extinktion dieser kinetischen Reaktion wird bei 405 nm gemessen. Die Produktion von 3-Carboxy-4-nitroanilin ist direkt proportional zur GGT-Aktivität in der Probe.

Magnesium (MG)

Die Hexokinase-Aktivierungsmethode für Magnesium ist in Bezug auf Empfindlichkeit, Präzision und Genauigkeit das am besten geeignete System.¹⁴

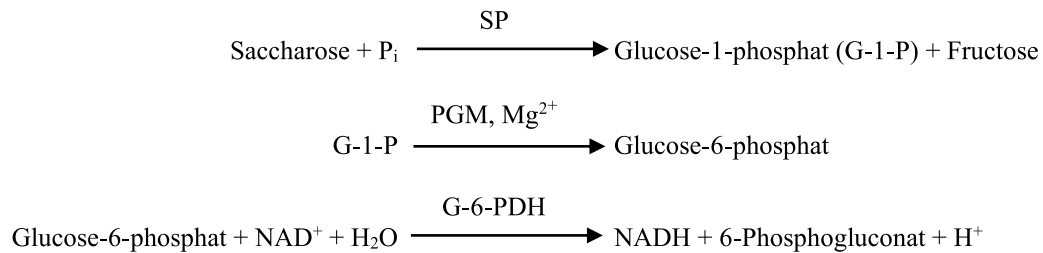
Die enzymatische Magnesium-Methode lässt sich folgendermaßen ausdrücken:



Die geschwindigkeitsbegrenzende Reaktion ist die Hexokinase-Reaktion. Magnesium aus dem Serum aktiviert die Hexokinase, die ihrerseits die Umwandlung von Glucose zu Glucose-6-phosphat (G-6-P) und ADP katalysiert. Glucose-6-phosphat reagiert bei Vorliegen von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) mit NADP⁺ unter Bildung von NADPH und 6-Phosphogluconat. Dies ist eine kinetische Reaktion erster Ordnung. Die Bestimmung der Magnesium-Konzentration erfolgt durch Messen der Extinktionszunahme von NADPH bei 340 nm.

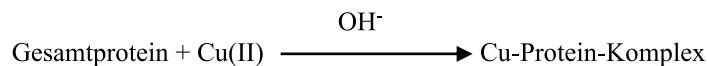
Phosphor (PHOS)

Die für das Abaxis-System geeignetste enzymatische Methode verwendet durch Phosphoglucomutase (PGM) und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) gekoppelte Saccharose-Phosphorylase.^{15,16} Das enzymatische System bildet für jedes in der Probe vorhandene Phosphor-Mol ein Mol NADH. Die Menge an gebildetem NADH wird als Endpunkt bei 340 nm gemessen.



Gesamtprotein (TP)

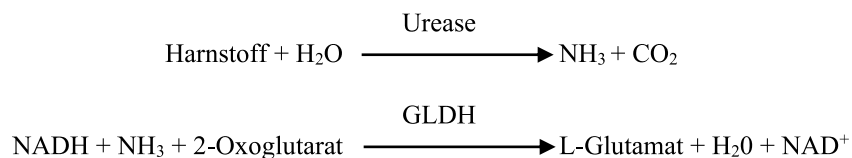
Bei der Biuret-Reaktion wird die Proteinlösung mit Kupfer(II)-Ionen in einem stark basischen Medium behandelt. Natriumkaliumtartrat und Kaliumiodid werden zugesetzt, um die Präzipitation von Kupferhydroxid bzw. die Eigenreduktion von Kupfer zu verhindern.¹⁷ Die Kupfer(II)-Ionen reagieren mit Peptidbindungen zwischen Carbonylsauerstoff- und Amidstickstoffatomen und bilden einen gefärbten Kupfer-Protein-Komplex.



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

Harnstoffstickstoff (BUN)

Das Abaxis-System verwendet eine gekoppelte Enzymreaktion. Bei dieser Reaktion wird Harnstoff durch Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert.¹⁸ 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

Die Grundsätze und Grenzen des Verfahrens sind im Bedienungshandbuch für das VetScan[®]-Analysesystem aufgeführt.

5. Beschreibung der Reagenzien

Reagenzien

Jede VetScan-Großtierprofil-Reagenzdisk enthält trockene testspezifische Reagenzien-Beads. Jede Reagenzdisk enthält ein trockenes Blindprobenreagenz (bestehend aus Puffer, Tensiden, Hilfsstoffen und Konservierungsmitteln) für die Berechnung der Konzentrationen an ALP, AST, CK, GGT und Harnstoffstickstoff (BUN). Die Disk enthält eine spezifische Blindprobe für die Berechnung der Gesamtprotein-Konzentrationen. Jede Reagenzdisk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Tabelle 1: Reagenzien

Komponenten	Inhalt
Albumin-Reagenz	
Bromkresolpurpur	2 µg
Puffer, Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	
Alkalische Phosphatase-Reagenz	
Magnesiumchlorid	3 µg
Zinksulfat	3 µg
ρ -NPP	56 µg
Puffer, Tenside und Hilfsstoffe	
Aspartat-Aminotransferase-Reagenz (AST)	
L-Asparaginsäure	426 µg
Lactat-Dehydrogenase (LDH) (mikrobiell)	0,03 E
β -Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert (NADH)	5 µg
Malat-Dehydrogenase (MDH) (Schweineherz)	0,01 µg
α -Ketoglutarat	28 µg
Puffer, Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	
Calcium-Reagenz	
Arsenazo-III, Natriumsalz	3 µg
Puffer, Tenside und Hilfsstoffe	
Creatin-Kinase-Reagenz	
Adenosin-diphosphat	31 µg
Adenosin-monophosphat	33 µg
P^1 , P^5 -Di(adenosin-5')pentaphosphat	0,2 µg
Magnesiumacetat Tetrahydrat	69 µg
Hexokinase	95904 E
Glucose-6-Phosphatdehydrogenase	79920 E
NADP-Natriumsalz	104 µg
EDTA, Dinatrium	12 µg
N-Acetylcystein	52 µg
Phosphocreatin	122 µg
Puffer, Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	
Gamma-Glutamyl-Transferase	
Glycylglycin	317 µg
L-Glutaminsäure- γ -(3-Carboxy-4-nitroanilid)	30 µg
Puffer, Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	
Magnesium	
EDTA, Dinatrium	0,00032 mg
NADP, Natrium	0,0296 mg
Hexokinase	0,0120 E
Glucose-6-Phosphatdehydrogenase	0,0220 E
Phosphor	
NAD (freie Säure)	0,043 mg
Magnesiumacetat Tetrahydrat	0,007 mg
Glucose-1,6-Diphosphat	0,001 mg
Glucose-6-Phosphatdehydrogenase	0,023 E
Phosphoglucomutase (Kaninchen)	0,035 E
Saccharosephosphorylase	0,070 E

Tabelle 1: Reagenzien (Fortsetzung)

Komponenten	Inhalt
Gesamtprotein-Reagenz	
Natriumkaliumtartrat	343 µg
Kupfer-sulfat	134 µg
Kaliumiodid	28 µg
Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	
Gesamtprotein-Blindprobe	
Natriumkaliumtartrat	343 µg
Kaliumiodid	28 µg
Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- *In-vitro*-Diagnostikum.
- Der Verdünnungsmittelbehälter in der Reagenzdisk wird beim Schließen des Schubfachs des Analysesystems automatisch geöffnet. Disks mit geöffneten Verdünnungsmittelbehältern können nicht wieder verwendet werden. Vor dem Schließen des Schubfachs prüfen, ob die Probe bzw. Kontrolle in die Disk eingesetzt wurde.
- Reagenzien-Beads können Säuren oder Basen enthalten. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommt der Bediener nicht mit den Reagenzien-Beads in Berührung. Beim Umgang mit Beads (z.B. bei Reinigungsmaßnahmen nach dem Fallenlassen und Zerschlagen einer Reagenzdisk) Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen der Reagenzien-Beads vermeiden.
- Reagenzien-Beads und Verdünnungsmittel 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. Die Disks vor Gebrauch nicht länger als 48 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahren. Den verschweißten Folienbeutel öffnen und die Disk herausnehmen. Dabei darauf achten, den Barcode-Ring auf der Oberseite der Reagenzdisk nicht zu berühren. Gemäß den Anweisungen des Bedienungshandbuchs für das VetScan-System verwenden. Nicht innerhalb von 20 Minuten nach Öffnen des Beutels verwendete Disks sind zu entsorgen. Disks in geöffneten Beuteln dürfen nicht zur späteren Verwendung wieder in den Kühlschrank gelegt werden.

Lagerung

Die in ihren Beuteln eingeschweißten Reagenzdisks bei 2–8 °C (36–46 °F) lagern. Geöffnete oder ungeöffnete Disks vor direkter Sonneneinstrahlung und Temperaturen über 32 °C (90 °F) schützen. Die Reagenzdisks für den Gebrauch aus dem Kühlschrank und aus ihren versiegelten Folienbeuteln entnehmen. Sicherstellen, dass die insgesamt Zeitdauer, während der die Disks (in ihren versiegelten Beuteln) nicht gekühlt sind, 48 Stunden nicht überschreitet. Erst unmittelbar vor Gebrauch den Beutel öffnen und die Disk entnehmen.

Anzeichen für instabile oder zerfallene Reagenzdisks

- Alle in einer 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-Vollblut-Analysesystems eine Fehlermeldung.
- Bei einem aufgerissenen oder anderweitig beschädigten Folienbeutel kann Feuchtigkeit zur unbenutzten Disk vordringen und die Leistung der Reagenzien beeinträchtigen. Niemals Disks aus beschädigten Beuteln verwenden.
- Nach dem Öffnen des Beutels das der Reagenzdisk beiliegende Trockenmittelpäckchen überprüfen. Ein blauer Streifen auf der Rückseite des Trockenmittelpäckchens bedeutet, dass die korrekte relative Feuchtigkeit im Beutel gewahrt geblieben ist. Ein rosa Streifen bedeutet, dass die Disk im Beutel übermäßiger Feuchtigkeit ausgesetzt war (z.B. durch ein Einstichloch) und die Disk **nicht** verwendet werden darf.

6. Gerät

Vollständige Angaben zum Gebrauch des Analysesystems, einschließlich Installation, Leistungsdaten, Vorsichtsmaßnahmen beim Betrieb und Grenzen, Service und Wartung enthält das Bedienungshandbuch für das VetScan-System.

7. Probennahme und -vorbereitung

Das erforderliche Mindestprobenvolumen ist ~90 µl heparinisiertes Vollblut, heparinisiertes Plasma, Serum oder Serumkontrolle. Die Probenkammer der Reagenzdisk kann eine Probenmenge von bis zu 120 µl aufnehmen.

- In heparinisierten Mikropipetten gesammelte Proben sind nach der Probennahme **sofort** in die Reagenzdisk einzubringen.
- Für Vollblut- oder Plasmaproben nur evakuierte Probensammelröhrchen mit Lithiumheparin (grüner Stopfen) verwenden. Für Serumproben nur evakuierte Probensammelröhrchen ohne Zusatz (roter Stopfen) oder Serumentrennröhrchen (roter oder rot/schwarzer Stopfen) verwenden.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor die Probe in die Reagenzdisk transferiert wird. Die Sammelröhrchen vor dem Probentransfer mehrmals vorsichtig überkopfdrehen. Das Sammelröhrchen **nicht** schütteln. Schütteln kann zu Hämolyse führen.
- Der Test muss innerhalb von 10 Minuten nach dem Probentransfer in die Reagenzdisk beginnen.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sind innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme zu analysieren.¹⁹ Falls die Analyse nicht innerhalb 60 Minuten durchgeführt werden kann, kann die Probe in Plasma bzw. Serum aufgetrennt und in geschlossenen Probenröhrchen bei 2–8 °C (36–46 °F) aufbewahrt werden.

Bekannte Störsubstanzen

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin.
- Physiologische Störsubstanzen (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) verursachen Veränderungen der berichteten Konzentrationen mancher Analyten. Die Probenindizes werden unten auf jeder Ergebniskarte ausgedruckt, damit der Bediener weiß, welche Konzentration an Störsubstanzen in den einzelnen Proben vorliegen. Das VetScan-Vollblut-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die durch signifikante Interferenzen auf Grund von Hämolyse, Lipämie oder Ikterus beeinflusst sind. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „HEM“ (Hämolyse), „LIP“ (Lipämie) bzw. „ICT“ (Ikterus) ausgedruckt.
- Creatin-Kinase wird sowohl durch helles Tageslicht als auch durch Erhöhen des Proben-pH-Werts auf Grund von Kohlendioxidverlusten inaktiviert. Daher sind die Proben in fest verschlossenen Röhrchen im Dunkeln zu lagern.²⁰

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine VetScan®-Großtier-Reagenzdisk

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- VetScan-Vollblut-Analysesystem

Testparameter

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

Testverfahren

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

Kalibrierung

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

Qualitätskontrolle

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

9. Ergebnisse

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

Die Interpretation der Ergebnisse ist im Bedienungshandbuch für das VetScan-System ausführlich erläutert. Die Ergebnisse werden auf von Abaxis gelieferten Ergebniskarten gedruckt. Die Ergebniskarten haben rückseitig eine Klebeschicht zur einfachen Anbringung in der Patientenakte.

10. Verfahrensgrenzen

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

- Ein den Assaybereich überschreitendes Ergebnis für einen bestimmten Test sollte mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden. Die Probe **nicht** verdünnen und erneut im VetScan-Vollblut-Analysesystem testen.
- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von 62–64 % 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.

12. Leistungsmerkmale

Linearität

Die Methodenkurve der einzelnen Analyten verläuft in dem hier präsentierten dynamischen Bereich linear, wenn das VetScan®-System empfehlungsgemäß betrieben wird (siehe das Bedienungshandbuch für das VetScan-System).

Tabelle 1: Dynamische Bereiche des VetScan-Systems

Analyt	Dynamische Bereiche	
	Gebräuchliche Einheiten	SI-Einheiten
ALB_BCG	1–6,5 g/dl	10–65 g/l
ALP	5–2400 E/l	5–2400 E/l
AST	5–2000 E/l	5–2000 E/l
CA ⁺⁺	4–16 mg/dl	1,0–4,0 mmol/l
CK	5–14000 E/l	5–14000 E/l
GGT	5–3000 E/l	5–3000 E/l
GLOB*	1–11 g/dl	10–110 g/l
MG	0–8 mg/dl	0–3,29 mmol/l
PHOS	0–20 mg/dl	0–6,46 mmol/l
TP	2–14 g/dl	20–140 g/l

13. Literaturverzeichnis

1. Howe PE. 1921. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. J Biol Chem 49:93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-108.
3. Tietz NW, CA Burtis, P Duncan, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
4. Bowers, GN Jr, HU Bergmeyer, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chem Acta 1974;98:163F-74F.
5. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977;23: 887-99.
6. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978;24: 720-1.
7. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
8. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
9. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. J Biol Chem 1959;234: 3201-4.
10. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
11. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. Scand J. Clin Lab Invest 1976;36: 711-23.
12. Goldbarg JA, OM Friedman, EP Pineda, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. Arch Biochem Biophys 1960;91: 61-70.
13. Shaw LM, JH Stromme, JL London, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:633-46.
14. Tabata M, Kido M, Totani M, et al. Direct Spectrophotometry of Magnesium in Serum after Reaction with Hexokinase and Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase. Clin Chem 1985; 31:703-5.
15. Schulz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination Anal Biochem 1967;19:300-14.
16. Tedokon, M Suzuki, K Kayamori, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. Clin Chem 1992;38:512-5.
17. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16: 40-49.

18. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 1980. 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 26: 816-826.
19. National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS). 1984. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
20. Moss DW, Henderson AR. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 804.

Pour usage vétérinaire seulement

Service à la clientèle et technique 1-800-822-2947

Janvier 2023

Réf. : 51631200

© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 États-Unis

1. Usage prévu

Le rotor de réactif pour Profil animal de grosse taille VetScan®, utilisé conjointement avec l'analyseur de sang total VetScan, utilise des réactifs secs et liquides pour fournir des déterminations quantitatives *in vitro* d'albumine (ALB), de phosphatase alcaline (ALP), d'aspartate aminotransférase (SGOT), de calcium (CA⁺⁺), de créatine kinase (CK), de gamma-glutamyl-transférase (GGT), de globuline*(GLOB), de magnésium (Mg), de phosphore inorganique (PHOS), de protéine totale (TP) et d'azote uréique (BUN) dans le sang total hépariné, le plasma hépariné ou le sérum.¹

* Valeur calculée

2. Résumé et explication des tests

REMARQUE : lors de l'utilisation du rotor Profil animal de grosse taille, les échantillons bovins doivent être passés comme « autres » espèces (type d'animal). La méthode à l'albumine (ALB) est dotée de facteurs d'étalonnage spécifiques aux bovins, qui sont stockés dans cette fonction clé. Se reporter au manuel de l'utilisateur VetScan pour obtenir de plus amples informations.

Le rotor de réactif Profil animal de grosse taille VetScan et l'analyseur de sang total VetScan sont dotés d'un système de diagnostic *in vitro* qui aide le vétérinaire à diagnostiquer les troubles suivants :

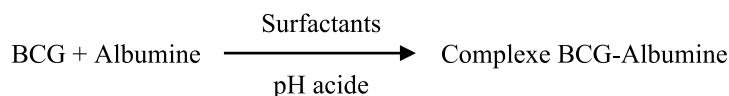
Albumine	Pathologie hépatique et néphropathie
Phosphatase alcaline	Pathologies hépatiques, osseuses, parathyroïdiennes et intestinales
Aspartate aminotransférase	Maladies du foie, y compris l'hépatite et la jaunisse virale ; l'état de choc
Calcium	Maladies parathyroïdes, osseuses et maladies rénales chroniques ; tétanie
Créatine kinase	Infarctus du myocarde, dystrophie musculaire progressive, dermatomyosite, convulsions, cardiopathie, hypothyroïdie, efforts intenses, injection intramusculaire, inactivité physique et masse musculaire réduite
Gamma-glutamyl-transférase	Maladie du foie, tumeurs hépatiques primaire et secondaire
Magnésium	Néphropathie et malnutrition
Phosphore	Néphropathie, hypoparathyroïdie et troubles nutritionnels
Protéine totale	Pathologies hépatiques, des reins et de la moelle osseuse ; troubles métaboliques et nutritionnels
Azote uréique	Maladies rénales et métaboliques

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

3. Principes de la procédure

Albumine (ALB)

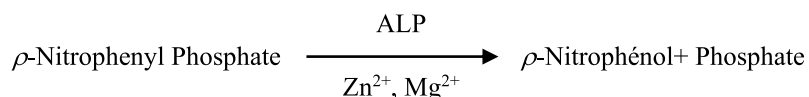
Les techniques de fixation de colorant sont les méthodes les plus utilisées pour mesurer l'albumine. Le vert de bromocrésol (BCG) est la méthode de fixation de colorant la plus utilisée, mais elle risque de surestimer la concentration d'albumine, surtout à l'extrémité inférieure de la plage normale.²



L'albumine liée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon. Il s'agit d'une réaction en point final mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 600 nm et 550 nm.

Phosphatase alcaline (ALP)

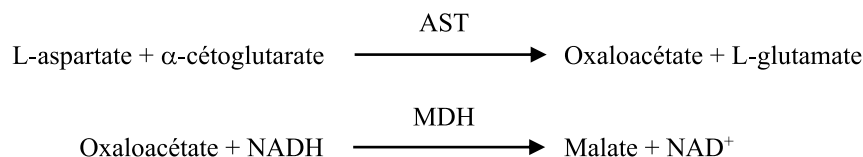
La procédure d'Abaxis est différente des méthodes de l'American Association of Clinical Chemistry (AACC)³ et de la Fédération internationale de chimie clinique (FICC)⁴, utilisant le ρ -NPP comme substrat et un tampon à ions métalliques. Dans cette réaction, l'ALP hydrolyse le ρ -NPP dans un tampon à ions métalliques et forme le ρ -nitrophénol et le phosphate.



La quantité d'ALP dans l'échantillon est proportionnelle au taux d'augmentation d'absorbance à 405 nm.

Aspartate aminotransférase (AST)

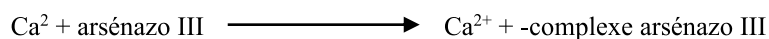
La méthode AST d'Abaxis est une modification de la méthode de référence de la FICC.^{5,6} Cette méthode catalyse la réaction de L-aspartate et d' α -cétoglutarate en oxaloacétate et L-glutamate. L'oxaloacétate est converti en malate et le NADH est oxydé en NAD⁺ par le catalyste MDH.



La modification du taux d'absorbance à 340/405 nm causée par la conversion de NADH en NAD⁺ est directement proportionnelle à la quantité d'AST présente dans l'échantillon.

Calcium (Ca⁺⁺)

Le calcium dans l'échantillon du patient se lie à l'arsénazo III afin de former un complexe de calcium et de colorant.^{7,8}



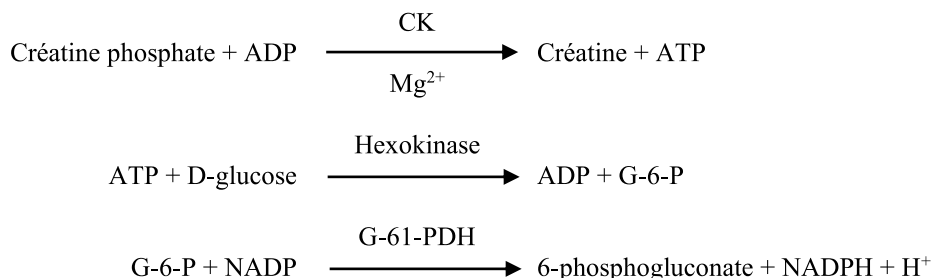
La réaction au point final est contrôlée à 405 nm, 467 nm et 600 nm. La quantité de calcium dans l'échantillon est proportionnelle à l'absorbance.

Créatine kinase (CK)

La créatine kinase catalyse la phosphorylation réversible de la créatine par l'adénosine triphosphate (ATP).⁹

La procédure de mesure de la CK utilisée par Abaxis est une version modifiée de celle employée par la FICC.¹⁰ Les modifications clés sont la fraction de volume des échantillons, le tampon et la température. La N-acétyl cystéine (NAC) est ajoutée afin de réactiver la CK.¹¹ Le magnésium est utilisé en tant que cofacteur pour la CK et l'hexokinase. L'EDTA a été ajouté pour stabiliser la NAC et pour le retrait de plusieurs cations, tels que le calcium et le fer, qui inhibent la CK. P1, P5-di (adénosine-5') pentaphosphate et adénosine monophosphate (AMP) ont également été ajoutés afin d'inhiber l'adenylate kinase, un autre enzyme érythrocyte et du muscle squelettique qui réagit avec les substrats utilisés pour mesurer la CK.

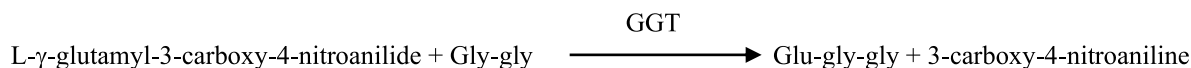
La créatine kinase catalyse la formation de créatine et adénosine triphosphate (ATP) de la créatine phosphate P¹, P⁵-di (adénosine 5') pentaphosphate (ADP) à un pH de 6,7. Avec l'hexokinase comme catalyste, l'ATP réagit avec le D-glucose afin de former de l'ADP et du D-glucose-6-phosphate (G-6-P), qui réagit au nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) afin de produire du G-6-P et du NADPH.



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

Gamma-glutamyl-transférase (GGT)

Abaxis a modifié la méthode de la FICC qui utilise le L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide et glycylglycine¹² comme autre substrat¹³ pour réagir à 37° C. L'ajout d'un échantillon contenant de la gamma-glutamyl-transférase aux substrats L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide et glycylglycine (gly-gly) entraîne la formation de L-γ-glutamyl-glycylglycine (glu-gly-gly) et 3-carboxy-4-nitroaniline.

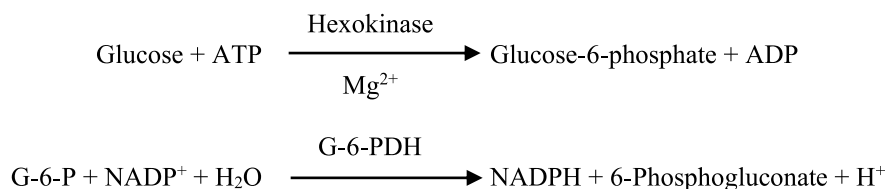


L'absorbance de la réaction de ce taux est mesurée à 405 nm. La production de 3-carboxy-4-nitroaniline est directement proportionnelle à l'activité de la GGT dans l'échantillon.

Magnésium (Mg)

La méthode d'activation de l'hexokinase pour le magnésium est le système le mieux adapté en termes de sensibilité, d'exactitude et de précision.¹⁴

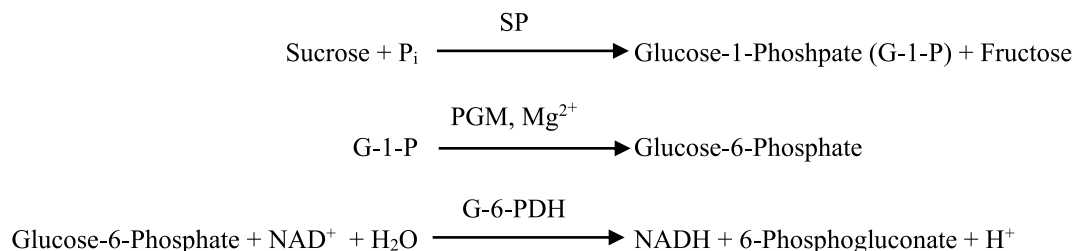
La méthode du magnésium enzymatique peut s'écrire comme suit :



La réaction cinétiquement limitante est la réaction hexokinase. Le magnésium du sérum active l'hexokinase, laquelle catalyse à son tour la décomposition du glucose pour former le glucose-6-phosphate (G-6-P) et l'ADP. Le glucose-6-phosphate réagit avec le NADP⁺ pour former le NADPH et le 6-phosphogluconate en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH). C'est une cinétique de réaction de premier ordre. La concentration en magnésium est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance du NADPH à 340 nm.

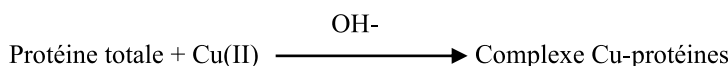
Phosphore (PHOS)

La méthode enzymatique la plus applicable pour le système Abaxis utilise le saccharose phosphorylase couplé via la glucophosphomutase (PGM) et glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH).^{15,16} En utilisant le système enzymatique pour chaque mole de phosphore 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.



Protéine totale (TP)

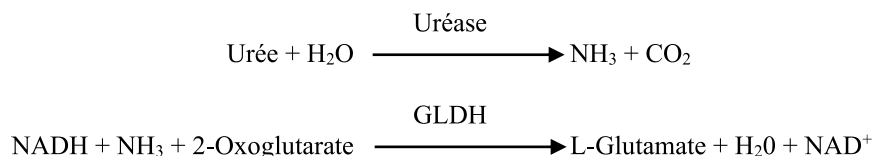
Dans la réaction au biuret, la solution de protéine est traitée avec des ions cupriques [Cu(II)] dans un milieu fortement alcalin. Du tartrate de sodium et de potassium et de l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto-réduction du cuivre respectivement.¹⁷ Les ions Cu(II) réagissent en créant des liens peptides entre les atomes d'oxygène carbonyle et d'azote amide afin de former un complexe coloré Cu-protéine.



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

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.¹⁸ 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 du NADH en NAD⁺ et est directement proportionnel à la quantité d'urée présente dans l'échantillon.

4. Principe d'exécution

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

5. Description des réactifs

Réactifs

Chaque rotor de réactif Profil animal de grosse taille VetScan contient des billes de réactifs spécifiques aux essais à sec. Un réactif à blanc d'échantillon sec (composé de tampon, de surfactants, d'excipients et de conservateurs) est inclus dans chaque rotor de réactif pour le calcul des concentrations d'ALP, d'AST, de CK, de GGT et d'azote uréique (BUN). Le rotor comprend un réactif à blanc d'échantillon dédié afin de calculer la concentration des niveaux de protéine totale. Chaque rotor de réactif contient également un diluant composé de surfactants et d'agents conservateurs.

Tableau 1 : Réactifs

Composants	Contenu
Réactif à l'albumine	
Pourpre de bromocrésol	2 µg
Tampon, surfactants, excipients et conservateurs	
Réactif à la phosphatase alcaline	
Chlorure de magnésium	3 µg
Sulfate de zinc	3 µg
ρ -NPP	56 µg
Tampons, surfactant et excipients	
Réactif à l'aspartate aminotransférase (AST)	
Acide L-aspartique	426 µg
Lactate-déshydrogénase (LDH) (microbien)	0,03 U
β-nicotinamide adénine dinucléotide, réduit (NADH)	5 µg
Malate déshydrogénase (MDH) (cœur de porc)	0,01 µg
α-cétoglutarate	28 µg
Tampons, surfactants, excipients et conservateurs	
Réactif au calcium	
Arsénazo III, sel de sodium	3 µg
Tampons, surfactant et excipients	
Réactif à la créatine kinase	
Adénosine diphosphate	31 µg
Adénosine monophosphate	33 µg
P ¹ , P ⁵ -di(adénosine-5')pentaphosphate	0,2 µg
Acétate de magnésium, tétrahydrate	69 µg
Hexokinase	95904 U
Glucose-6-phosphate déshydrogénase	79920 U
Sel de sodium NADP	104 µg
EDTA, disodium	12 µg
N-acétyl cystéine	52 µg
Phosphocréatine	122 µg
Tampon, surfactants, excipients et conservateurs	
Gamma-glutamyl-transférase	
Glycylglycine	317 µg
Acide L-glutamique γ-(3-carboxy-4-nitroanilide)	30 µg
Tampon, surfactants, excipients et conservateurs	
Magnésium	
EDTA, disodium	0,00032 mg
NADP, sodium	0,0296 mg
Hexokinase	0,0120 U
Glucose-6-phosphate déshydrogénase	0,0220 U
Phosphore	
NAD (acide libre)	0,043 mg
Acétate de magnésium, tétrahydrate	0,007 mg
Glucose-1,6-diphosphate	0,001 mg
Glucose-6-phosphate déshydrogénase	0,023 U
Glucophosphomutase (lapin)	0,035 U
Sucrose phosphorylase	0,070 U

Tableau 1 : Réactifs (suite)

Composants	Contenu
Réactif à la protéine totale	
Tartrate de sodium et de potassium	343 µg
Sulfate de cuivre	134 µg
Iodure de potassium	28 µg
Surfactants, excipients et conservateurs	
Blanc de protéine totale	
Tartrate de sodium et de potassium	343 µg
Iodure de potassium	28 µg
Surfactants, excipients et conservateurs	

Avertissements et précautions

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

Manipulation des réactifs

Les rotors de réactif peuvent être utilisés dès leur sortie du réfrigérateur sans devoir être réchauffés. Ne pas laisser les rotors à température ambiante pendant plus de 48 heures. Ouvrir le sachet en aluminium scellé et en retirer le rotor en prenant soin de ne pas toucher l'anneau du code-barres qui se trouve sur le dessus du rotor. Utiliser conformément aux instructions du manuel de l'utilisateur du système VetScan. Tout rotor qui n'a pas été utilisé dans les 20 minutes suivant l'ouverture du sachet doit être jeté. En aucun cas les rotors dont le sachet est ouvert ne peuvent être replacés dans le réfrigérateur en vue de leur utilisation ultérieurement.

Conservation

Conserver les rotors de réactif dans leurs sachets scellés à une température 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). Pour utiliser les rotors de réactif, les retirer du réfrigérateur dans leur sachet scellé. S'assurer que le temps cumulatif que les rotors passent hors du réfrigérateur (dans leurs sachets scellés) ne dépasse pas 48 heures. Ouvrir le sachet et retirer le rotor juste avant son utilisation.

Indications d'instabilité/de détérioration du rotor de réactif

- Tous les réactifs contenus dans un rotor de réactif, lorsqu'ils sont stockés comme indiqué ci-dessus, sont stables jusqu'à la date d'expiration imprimée sur le sachet du rotor. Ne pas utiliser un rotor après sa date d'expiration. La date de péremption est également encodée dans le code-barres imprimé sur l'anneau du code-barres. Un message d'erreur s'affichera sur l'écran de l'analyseur de sang entier VetScan si les réactifs sont périmés.
- Un sachet déchiré ou détérioré risque de laisser pénétrer l'humidité, qui atteindra le rotor inutilisé et aura un effet défavorable sur la performance du réactif. Ne pas utiliser un rotor provenant d'un sachet détérioré.
- Une fois le sachet ouvert, examiner le sachet déshydrateur inclus avec le rotor de réactif. Une bande bleue au dos du sachet déshydrateur indique que l'humidité relative correcte a été maintenue dans le sachet. Une bande rose signifie que le rotor a été exposé à une humidité excessive dans le sachet (par ex. à cause d'un orifice et le rotor ne doit **pas** être utilisé).

6. Instrument

Voir le manuel de l'utilisateur du système VetScan pour obtenir des informations complètes sur l'utilisation de l'analyseur, dont l'installation, les caractéristiques de performances, les limites et les précautions d'emploi, l'entretien et la maintenance.

7. Prélèvement et préparation des échantillons

La taille minimum requise pour un échantillon est de ~90 µl de sang total hépariné, de plasma hépariné, de sérum ou de sérum témoin. La chambre à échantillon du rotor de réactif peut contenir jusqu'à 120 µL d'échantillon.

- L'échantillon prélevé dans une micropipette héparinée doit être distribué dans le rotor de réactif **immédiatement** après son prélèvement.
- N'utiliser que des tubes de prélèvement sous vide (bouchon vert) à héparine de lithium pour les échantillons de sang total ou de plasma. Utiliser des tubes de prélèvement sous vide (bouchon rouge) sans adjuvants ou des tubes de séparation de sérum (bouchon rouge ou rouge et noir) pour les échantillons de sérum.
- Les échantillons de sang entier obtenus par ponction veineuse doivent être homogènes avant de transférer un échantillon au rotor de réactif. Retourner doucement le tube de prélèvement à plusieurs reprises juste avant de transférer les échantillons. **Ne pas** agiter le tube de prélèvement. L'utilisateur évitera ainsi tout risque d'hémolyse.
- Le test doit être commencé dans les 10 minutes suivant le transfert de l'échantillon dans le rotor de réactif.
- Les échantillons de sang total prélevés par ponction veineuse doivent être traités dans les 60 minutes suivant le prélèvement.¹⁹ Si l'échantillon ne peut être traité dans les 60 minutes, il peut être séparé en plasma ou sérum et conservé dans des tubes de prélèvement munis d'un bouchon à une température entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F).

Substances interférentes connues

- L'héparine de lithium est l'unique anticoagulant dont l'utilisation est recommandée avec l'analyseur de sang entier VetScan.
- Les interférants physiologiques (hémolyse, ictère et hyperlipidémie) entraînent des modifications des concentrations rapportées pour 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 carte de résultats à la place du résultat.
- La créatine kinase est activée à la fois par la lumière du jour et en augmentant le pH de l'échantillon en raison d'une perte de dioxyde de carbone. En conséquence, les échantillons doivent être stockés à l'abri de la lumière dans des tubes bien fermés.²⁰

8. Procédure

Matériel fourni

- Un rotor de réactif Animal de grosse taille VetScan®

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur chimique de sang entier VetScan

Paramètres de test

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

Procédure de test

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

Étalonnage

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

Contrôle qualité

Des témoins peuvent être régulièrement analysés sur l'analyseur de sang entier VetScan afin de vérifier son exactitude. Abaxis recommande l'exécution d'un témoin à base de sérum disponible dans le commerce. Les rotors de réactif utilisés pour les contrôles doivent être préparés de la même façon que pour les échantillons des patients. Se reporter au manuel de l'utilisateur du système VetScan pour plus d'informations sur l'analyse de témoins.

9. Résultats

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

L'interprétation des résultats est également expliquée en détail dans le manuel de l'utilisateur VetScan. Les résultats sont imprimés sur des fiches de résultats fournies par Abaxis. Le dos des fiches de résultats est adhésif pour permettre de les insérer facilement dans les dossiers de patient.

10. Limitations de la procédure

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

- Si un résultat d'un test spécifique dépasse la plage de dosage, l'échantillon doit être analysé en utilisant une autre méthode de test approuvée, ou envoyé à un laboratoire de référence. **Ne pas** diluer l'échantillon et le traiter à nouveau sur l'analyseur de sang total VetScan.
- Les échantillons dont les hémocrites dépassent 62-64 % du volume globulaire total risquent de donner des résultats inexacts. Les échantillons dont les hémocrites sont élevés peuvent être décrits comme étant hémolysés. La rotation de ces échantillons peut être décélérée afin d'obtenir du plasma et ensuite relancée dans un nouveau rotor de réactif.

11. Caractéristiques de performance

Linéarité

Les solutions chimiques pour chaque analyte sont linéaires sur la plage dynamique fournie ci-dessous quand le système VetScan® est utilisé conformément à la procédure recommandée (se reporter au manuel de l'utilisateur du système VetScan).

Tableau 1 : Plages dynamiques VetScan

Analyte	Plages dynamiques	
	Unités communes	Unités SI
ALB_BCG	1–6,5 g/dL	10–65 g/dL
ALP	5–2400 U/L	5–2400 U/L
AST	5–2000 U/L	5–2000 U/L
CA++	4–16 mg/dL	1,0–4,0 mmol/L
CK	5–14000 U/L	5–14000 U/L
GGT	5–3000 U/L	5–3000 U/L
GLOB*	1–11 g/dL	10–110 g/dL
MG	0–8 mg/dL	0–3,29 mmol/L
PHOS	0–20 mg/dL	0–6,46 mmol/L
TP	2–14 g/dL	20–140 g/dL

12. Bibliographie

1. Howe PE. 1921. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. *J Biol Chem* 49:93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-108.
3. Tietz NW, CA Burtis, P Duncan, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-61.
4. Bowers, GN Jr, HU Bergmeyer, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1974;98:163F-74F.
5. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977;23: 887-99.
6. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24: 720-1.
7. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
8. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
9. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. *J Biol Chem* 1959;234: 3201-4.
10. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
11. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
12. Goldbarg JA, OM Friedman, EP Pineda, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960;91: 61-70.
13. Shaw LM, JH Stromme, JL London, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:633-46.
14. Tabata M, Kido M, Totani M, et al. Direct Spectrophotometry of Magnesium in Serum after Reaction with Hexokinase and Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase. *Clin Chem* 1985; 31:703-5.
15. Schulz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
16. Tedokon, M Suzuki, K Kayamori, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
17. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.

18. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 1980. 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 26: 816-826.
19. National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS). 1984. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
20. Moss DW, Henderson AR. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 804.

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

Enero 2023
PN: 51631200
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo de perfil de animal grande VetScan®, utilizado con el analizador de sangre entera VetScan, utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), calcio (CA⁺⁺), creatina quinasa (CK), gammaglutamil transferasa (GGT), globulina*(GLOB), magnesio (MG), fósforo inorgánico (PHOS), proteína total (TP) y nitrógeno ureico (BUN), en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero¹.

* Valor calculado

2. Resumen y explicación de las pruebas

NOTA: Las muestras bovinas deben procesarse como “Otras” especies (tipo de animal) al procesar el rotor de perfil de animal grande. El método de albúmina (ALB) tiene factores de calibración específicos bovinos, que están almacenados en esta función clave. Consulte el Manual del usuario de VetScan para obtener información adicional.

El rotor reactivo de perfil de animal grande VetScan y el analizador de sangre entera VetScan comprenden un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al veterinario en el diagnóstico de los trastornos siguientes:

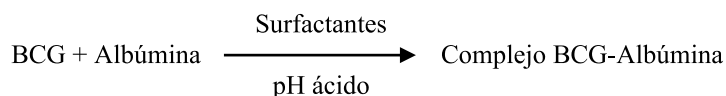
Albúmina	Enfermedades del hígado y del riñón
Fosfatasa alcalina	Enfermedades del hígado, óseas, paratiroides e intestinales
Aspartato aminotransferasa	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral; shock
Calcio	Enfermedades de la glándula paratiroides, huesos y enfermedades renales crónicas; tétanos
Creatina quinasa	Infarto de miocardio, distrofia muscular progresiva, dermatomiositis, convulsiones, enfermedad cardíaca, hipotiroidismo, ejercicio físico severo, inyección intramuscular, inactividad física y reducción en la masa muscular
Gammaglutamil transferasa	Enfermedad del hígado, tumores hepáticos primarios y secundarios
Magnesio	Enfermedad del riñón y malnutrición
Fósforo	Enfermedad del riñón, hipoparatiroidismo y trastornos nutricionales
Proteínas totales	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición
Nitrógeno ureico	Enfermedades renales y metabólicas

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

3. Principios del procedimiento

Albúmina (ALB)

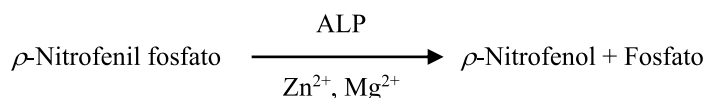
Los métodos usados con mayor frecuencia para la determinación de la albúmina son las técnicas de unión a colorantes. El verde de bromocresol (BCG) es el más común de los métodos de unión al colorante, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, en especial en el extremo inferior del rango normal².



La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la diferencia en la absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

Fosfatasa alcalina (ALP)

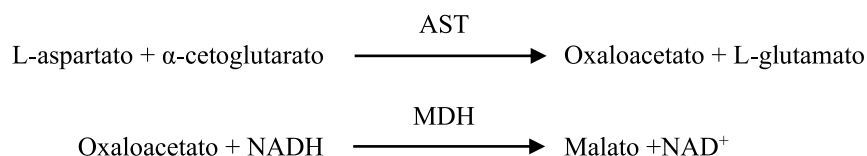
El procedimiento de Abaxis se modificó a partir de los métodos de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC)³ y de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)⁴, que utiliza *p*-NPP como sustrato y un tampón de iones metálicos. En esta reacción, ALP hidroliza al *p*-NPP en un tampón con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.



La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la absorbancia entre 405 nm.

Aspartato aminotransferasa (AST)

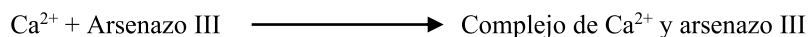
El método AST de Abaxis es una modificación del método de referencia de la IFCC^{5,6}. Este método cataliza la reacción de L-aspartato y α -cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato se convierte en malato y NADH se oxida a NAD⁺ por el catalizador MDH.



El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de AST contenida en la muestra.

Calcio (Ca⁺⁺)

El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio^{7,8}.



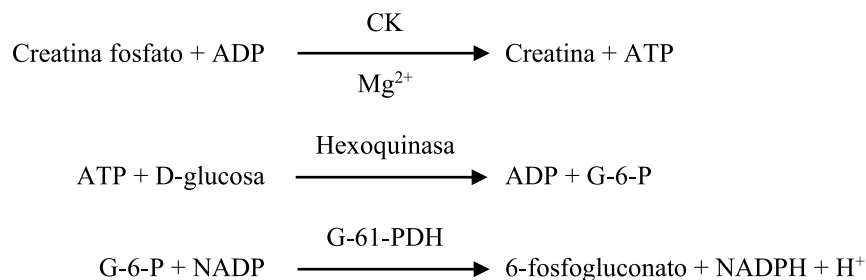
La reacción de punto final es controlada a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio en la muestra es proporcional a la absorbancia.

Creatina quinasa (CK)

La creatina quinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina por la adenosina trifosfato (ATP)⁹.

El procedimiento de medición CK usado por Abaxis es una versión modificada del método de la IFCC¹⁰. Las modificaciones principales son la fracción de volumen de la muestra, el amortiguador y la temperatura. Se agregó n-acetilo cisteína (NAC) para reactivar la CK¹¹. Se usó magnesio como factor para la CK y la hexoquinasa. Se agregó EDTA como estabilizador NAC y para la eliminación de varios cationes, como el calcio y el hierro, que inhiben a la CK. También se agregaron P¹, P⁵-di (adenosina-5') pentafofato y adenosina monofosfato (AMP) para inhibir la adenilato quinasa, otra enzima de músculo esquelético y eritrocitos que reacciona con los sustratos utilizados para medir la CK.

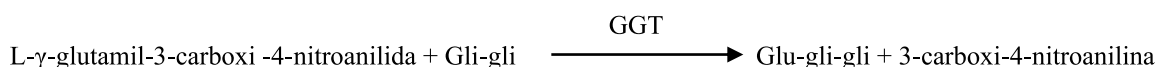
La creatina quinasa cataliza la formación de creatina y adenosina trifosfato (ATP) a partir de creatina fosfato P¹, P⁵-di (adenosina 5') pentafofato (ADP) a pH 6,7. Con hexoquinasa como catalizador, ATP reacciona con D-glucosa para formar ADP y d-glucosa-6-fosfato (G-6-P), que reacciona con nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) para producir G-6-P y NADPH.



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

Gammaglutamil transferasa (GGT)

Abaxis modificó el método IFCC que utiliza L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida y glucilglicina¹² como el otro sustrato¹³ para que reaccione a 37° C. El agregado de una muestra con gamma glutamil transferasa a los sustratos L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida y glicilglicina (gli-gli) causa la formación de L-γ-glutamyl-glicilglicina (glu-gli-gli) y 3-carboxi-4-nitroanilina.

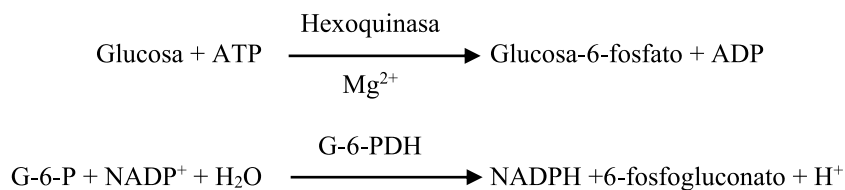


La absorbancia de este índice de reacción se mide a 405 nm. La producción de 3-carboxi-4-nitroanilina es directamente proporcional a la actividad de GGT en la muestra.

Magnesio (MG)

El método de activación de la hexoquinasa para el magnesio es el sistema de mejor ajuste en términos de sensibilidad, precisión y exactitud¹⁴.

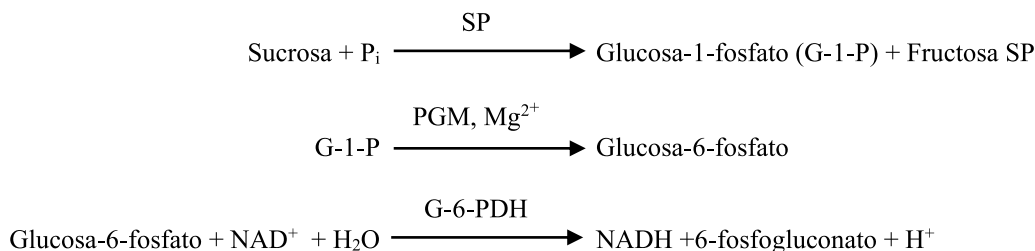
El método de magnesio enzimático puede describirse como:



La reacción que limita la velocidad es la reacción de hexoquinasa. El magnesio del suero activa la hexoquinasa, que a su vez cataliza la descomposición de la glucosa para formar glucosa-6-fosfato (G-6-P) y ADP. La glucosa-6-fosfato reacciona con NADP⁺ para formar NADPH y 6-fosfogluconato en la presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH). Esta es una reacción de primer orden de velocidad. La concentración del magnesio se determina al medir el aumento en la absorbancia de NADPH a 340 nm.

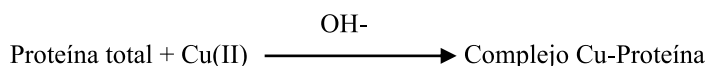
Fósforo (PHOS)

El método enzimático más válido para el sistema Abaxis utiliza sacarosa fosforilasa acoplada a través de la fosfoglucomutasa (PGM) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH)^{15,16}. Utilizando el sistema enzimático para cada mol de fósforo presente en la muestra, se forma un mol de NADH. La cantidad de NADH formado puede ser medida como un criterio de valoración a 340 nm.



Proteína total (TP)

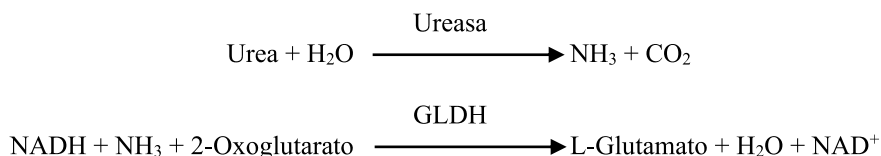
En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartato sódico potásico y yoduro de potasio para impedir la precipitación de hidróxido de cobre y la autorreducción del cobre, respectivamente¹⁷. Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre los átomos de oxígeno carbonilo y nitrógeno amida para formar un complejo Cu-proteína coloreado.



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

Nitrógeno ureico (BUN)

El sistema Abaxis utiliza una reacción enzimática acoplada. En esta reacción, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono¹⁸. 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[®] para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos

Cada rotor reactivo de perfil de animal grande VetScan contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas. Un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes) se incluye en cada disco para utilizar en el cálculo de las concentraciones de ALP, AST, CK, GGT y nitrógeno ureico (BUN). Se incluyen muestras de referencia dedicadas en el rotor para calcular la concentración de los niveles de proteína total. Cada rotor reactivo contiene también un diluyente que consiste en surfactantes y conservantes.

Tabla 1: Reactivos

Componentes	Contenido
Albúmina reactiva	
Púrpura de bromocresol	2 µg
Amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes	
Fosfatasa alcalina reactiva	
Cloruro de magnesio	3 µg
Sulfato de zinc	3 µg
ρ -NPP	56 µg
Amortiguadores, surfactantes y excipientes	
Reactivo de aspartato aminotransferasa (AST)	
L-ácido aspártico	426 µg
Lactato deshidrogenasa (LDH) (microbiana)	0,03 U
β -nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	5 µg
Malato deshidrogenasa (MDH) (corazón porcino)	0,01 µg
α -cetoglutarato	28 µg
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y conservantes	
Calcio reactivo	
Arsenazo III, sal sódica	3 µg
Amortiguadores, surfactantes y excipientes	
Reactivo de creatina quinasa	
Adenosina difosfato	31 µg
Adenosina monofosfato	33 µg
P^1 , P^5 -di(adenosina-5')pentafosfato	0,2 µg
Acetato de magnesio, tetrahidrato	69 µg
Hexoquinasa	95904 U
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	79920 U
Sal sódica NADP	104 µg
EDTA, disódico	12 µg
N-acetil cisteína	52 µg
Fosfocreatina	122 µg
Amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes	
Gammaglutamil transferasa	
Glucilglicina	317 µg
Ácido L-glutámico γ -(3-carboxi-4-nitroanilida)	30 µg
Amortiguador, surfactantes, excipientes y conservantes	
Magnesio	
EDTA, disódico	0,00032 mg
NADP, sódico	0,0296 mg
Hexoquinasa	0,0120 U
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	0,0220 U
Fósforo	
NAD (ácido libre)	0,043 mg
Acetato de magnesio, tetrahidrato	0,007 mg
Glucosa-1,6-difosfato	0,001 mg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	0,023 U
Fosfoglucomutasa (conejo)	0,035 U
Sacarosa fosforilasa	0,070 U

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componentes	Contenido
Reactivo para proteína total	
Potasio sódico tartato	343 µg
Sulfato cúprico	134 µg
Yoduro de potasio	28 µg
Surfactantes, excipientes y conservantes	
Proteína total de referencia	
Potasio sódico tartato	343 µg
Yoduro de potasio	28 µg
Surfactantes, excipientes y conservantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*
- El envase del diluyente del rotor reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un rotor con un envase de diluyente abierto. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el rotor antes de cerrar el cajón.
- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un rotor reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.
- El reactivo en soporte sólido y el diluyente contienen compuestos nitrogenados sódicos que pueden reaccionar con plomo y cobre para formar compuestos nitrogenados metálicos muy explosivos. 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. No permita que los rotores permanezcan a temperatura ambiente durante más de 48 horas. Abra la bolsa de cierre hermético y saque el rotor, teniendo cuidado de no tocar el anillo del código de barras situado en la parte superior del rotor reactivo. Utilice de acuerdo con las instrucciones provistas en el Manual del usuario del sistema VetScan. Deseche los rotores no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa. Los rotores dentro de bolsas abiertas no pueden volver a colocarse en el refrigerador para uso en otro momento.

Almacenamiento

Almacene los rotores reactivos en sus bolsas selladas a 2-8° C (36-46° F). No exponga los rotores abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32° C (90° F). Para usar los rotores reactivos, retírelos del refrigerador en su envase de papel aluminio sellado. Asegúrese de que el tiempo acumulativo durante el cual los rotores permanecen sin refrigeración (en sus bolsas selladas) no supere las 48 horas. Abra la bolsa y retire el rotor inmediatamente antes de usarlo.

Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo

- Todos los reactivos contenidos en un rotor reactivo, cuando se almacena tal como se describe más arriba, son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa del rotor. No utilice un rotor después de la fecha de caducidad. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador de sangre entera VetScan.
- Una bolsa desgarrada o dañada puede hacer que el rotor sin uso entre en contacto con la humedad, lo que puede afectar el rendimiento del reactivo de manera negativa. No utilice un rotor de una bolsa dañada.
- Después de abrir la bolsa, examine el paquete de desecante incluido con el rotor reactivo. Una tira azul en la parte posterior del paquete de desecante indica que se ha mantenido la humedad relativa correcta en la bolsa. Una tira rosada significa que el rotor ha quedado expuesto a un exceso de humedad en la bolsa (por ejemplo, a través de un orificio perforado), y **no** debe usarse el rotor.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del sistema VetScan para obtener información completa sobre cómo usar el analizador, incluida la instalación, especificaciones de rendimiento, precauciones y límites de operación, servicio y mantenimiento.

7. Obtención y preparación de las muestras

El tamaño mínimo necesario para la muestra es ~90 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o suero de 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 litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente los tubos para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. **No** agite el tubo de recolección. La agitación puede causar hemólisis.
- La prueba debe comenzarse en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser analizadas dentro de los 60 minutos de su obtención¹⁹. La muestra puede ser separada en plasma o suero, y almacenada en tubos de muestra con tapa a 2-8° C (36-46° F) si no se puede analizar la muestra dentro de los 60 minutos.

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador de sangre entera VetScan es heparina de litio.
- Los factores de interferencia física (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El analizador de sangre entera VetScan suprime cualquier resultado que se vea afectado por una interferencia significativa por hemólisis, lipemia o ictericia. “HEM”, “LIP” o “ICT” se imprimen respectivamente en la tarjeta de resultado en vez del resultado.
- La creatina quinasa es inactivada tanto por la luz diurna brillante como por el aumento del pH de la muestra debido a una pérdida de dióxido de carbono. Por esta razón, las muestras deben almacenarse a oscuras en tubos²⁰.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo de animal grande VetScan®

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico de sangre entera VetScan

Parámetros de prueba

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

Procedimiento de prueba

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

Calibrado

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

Control de calidad

Pueden analizarse controles periódicamente en el analizador de sangre entera VetScan para verificar la exactitud del analizador. Abaxis recomienda analizar un control comercialmente disponible, basado en suero. Los rotores reactivos utilizados para controles deben prepararse de la misma manera que para muestras de pacientes. Consulte el Manual del usuario del sistema VetScan para aprender cómo analizar los controles.

9. Resultados

El analizador de sangre entera VetScan calcula automáticamente e imprime las concentraciones de electrolitos 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 sistema VetScan.

En el Manual del usuario de VetScan se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en tarjetas de resultados proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

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

- Si un resultado para una prueba particular supera los valores del análisis, la muestra deberá analizarse por otro método de prueba homologada o enviarse a un laboratorio de referencia. **No** diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador de sangre entera VetScan.
- Las muestras con hematocritos que excedan del 62-64% de volumen corpuscular de eritrocitos darán 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.

11. Características de eficacia

Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el sistema VetScan® se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del sistema VetScan).

Tabla 1: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Intervalos dinámicos	
	Unidades comunes	Unidades SI
ALB_BCG	1–6,5 g/dl	10–65 g/l
ALP	5–2400 U/l	5–2400 U/l
AST	5–2000 U/l	5–2000 U/l
CA++	4–16 mg/dl	1,0–4,0 mmol/l
CK	5–14000 U/l	5–14000 U/l
GGT	5–3000 U/l	5–3000 U/l
GLOB*	1–11 g/dl	10–110 g/l
MG	0–8 mg/dl	0–3,29 mmol/l
PHOS	0–20 mg/dl	0–6,46 mmol/l
TP	2–14 g/dl	20–140 g/l
BUN	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol urea/l

* Valor calculado

12. Bibliografía

1. Howe PE. 1921. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. J Biol Chem 49:93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-108.
3. Tietz NW, CA Burtis, P Duncan, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
4. Bowers, GN Jr, HU Bergmeyer, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1974;98:163F-74F.
5. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977;23: 887-99.
6. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978;24: 720-1.
7. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
8. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
9. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. J Biol Chem 1959;234: 3201-4.
10. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.

11. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
12. Goldberg JA, OM Friedman, EP Pineda, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960;91: 61-70.
13. Shaw LM, JH Stromme, JL London, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:633-46.
14. Tabata M, Kido M, Totani M, et al. Direct Spectrophotometry of Magnesium in Serum after Reaction with Hexokinase and Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase. *Clin Chem* 1985; 31:703-5.
15. Schulz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
16. Tedokon, M Suzuki, K Kayamori, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
17. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
18. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 1980. 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* 26: 816-826.
19. National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS). 1984. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
20. Moss DW, Henderson AR. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 804.

Esclusivamente per uso veterinario

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

Gennaio 2023

N. parte: 51631200

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

1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo animali di grossa taglia VetScan® usato con l'analizzatore di sangue intero VetScan impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* di albumina (ALB), fosfatasi alcalina (ALP), aspartato aminotransferasi (AST), calcio (CA⁺⁺), creatina chinasi (CK), gamma glutamil transferasi (GGT), globulina*(GLOB), magnesio (MG), fosforo inorganico (PHOS), proteine totali (TP) e azoto ureico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.¹

* Valore calcolato

2. Sommario e spiegazione dei test

NOTA: Analizzare i campioni bovini selezionando come specie "Other" ("Altro") (tipo animale) quando si utilizza il rotore Profilo animali di grossa taglia. Il metodo dell'albumina (ALB) ha fattori di calibrazione bovini specifici, memorizzati in questa funzione chiave. Per maggiori informazioni, consultare il manuale d'uso VetScan.

Il rotore reagente Profilo animali di grossa taglia VetScan e l'analizzatore di sangue intero VetScan costituiscono un sistema diagnostico *in vitro* che coadiuva il veterinario nella diagnosi delle seguenti patologie:

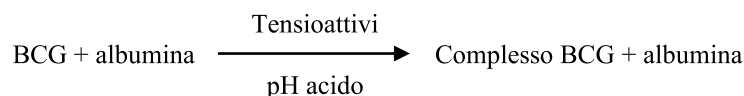
Albumina	Malattia epatica e renale
Fosfatasi alcalina	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali
Aspartato aminotransferasi	Malattie epatiche, quali epatite e ittero virale; shock
Calcio	Malattie paratiroidi, ossee e renali croniche; tetanie
Creatina chinasi	Infarto miocardico, distrofia muscolare progressiva, dermatomiosite, convulsioni, cardiopatia, ipotiroidismo, attività fisica intensa, iniezione intramuscolare, inattività fisica e massa muscolare ridotta
Gamma glutamil transferasi	Malattia epatica, tumori epatici primari e secondari
Magnesio	Malattia renale e malnutrizione
Fosforo	Malattia renale, ipoparatiroidismo e disturbi nutrizionali
Proteine totali	Malattia renale, epatica, malattie del midollo osseo; disturbi metabolici e nutrizionali
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. Principi della procedura

Albumina (ALB)

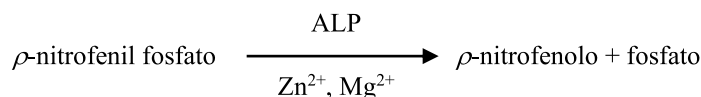
Le tecniche colorimetriche sono i metodi più frequentemente usati per misurare l'albumina. Il verde bromocresolo (BCG) è l'agente più comunemente usato per i metodi colorimetrici ma può sovrastimare la concentrazione di albumina, soprattutto nella fascia bassa del range normale.²



L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Si tratta di una reazione di endpoint, misurata come differenza di assorbanza tra 600 nm e 550 nm.

Fosfatasi alcalina (ALP)

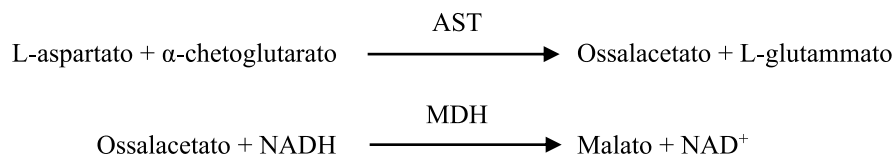
La procedura Abaxis è stata modificata dai metodi American Association of Clinical Chemistry (AACC)³ e International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)⁴, che utilizza *p*-NPP come substrato e un tampone a ioni metallici. In questa reazione, l'ALP idrolizza *p*-NPP in un tampone a ioni metallici e forma *p*-nitrofenolo e fosfato.



La quantità di ALP presente nel campione è proporzionale alla velocità di aumento nell'assorbanza a 405 nm.

Aspartato aminotransferasi (AST)

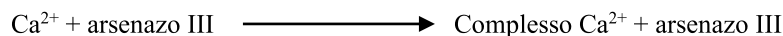
Il metodo Abaxis AST è una modificazione del metodo di riferimento IFCC.^{5,6} Questo metodo catalizza la reazione di L-aspartato e α -chetoglutarato in ossalacetato ed L-glutammato. L'ossalacetato è convertito in malato e l' NADH viene ossidato in NAD^+ dal catalizzatore MDH.



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

Calcio (Ca^{++})

Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.^{7,8}



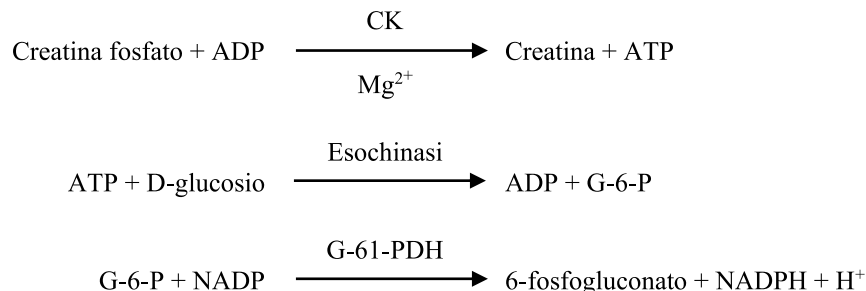
La reazione di endpoint viene controllata a 405 nm, 467 nm e 600 nm. La quantità di calcio nel campione è proporzionale all'assorbanza.

Creatina chinasi (CK)

La creatina chinasi catalizza la fosforilazione reversibile della creatina da parte dell'adenosina trifosfato (ATP).⁹

La procedura di misurazione di CK adottata da Abaxis è una variante dell'IFCC.¹⁰ Le modificazioni chiave sono frazione di volume del campione, tampone e temperatura. È stata aggiunta n-acetil cisteina (NAC) per riattivare CK.¹¹ Il magnesio è usato come cofattore sia per CK che per esochinasi. È stato aggiunto EDTA come stabilizzatore per NAC e per la rimozione di vari cationi, quali calcio e ferro, che inibiscono CK. Sono stati inoltre aggiunti P^1 , P^5 -di (adenosina-5')pentafofosfato e adenosina monofosfato (AMP) per inibire l'adenilato chinasi, un altro enzima eritrocitario e muscoloscheletrico che reagisce con i substrati usati per misurare CK.

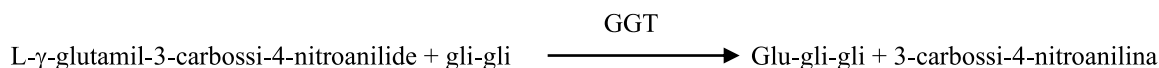
La creatina chinasi catalizza la formazione di creatina e adenosina trifosfato (ATP) da creatina fosfato P¹, P⁵-di (adenosina 5') penta fosfato (ADP) a pH 6,7. Con esochinasi come catalizzatore, l'ATP reagisce con il D-glucosio formando ADP e D-glucosio-6-fosfato (G-6-P), che a sua volta reagisce con nicotinammide adenin dinucleotide fosfati (NADP) in presenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) per produrre G-6-P e NADPH.



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

Gamma glutamil transferasi (GGT)

Abaxis ha modificato il metodo IFCC che utilizza L-γ-glutamil-3-carbossi-4-nitroanilide e glicilglicina¹² come altro substrato¹³ per la reazione a 37° C. L'aggiunta di campione contenente gamma glutamil transferasi ai substrati L-γ-glutamil-3-carbossi-4-nitroanilide e glicilglicide (gli-gli) causa la formazione di L-γ-glutamil-glicilglicina (glu-gli-gli) e 3-carbossi-4-nitroanilina.

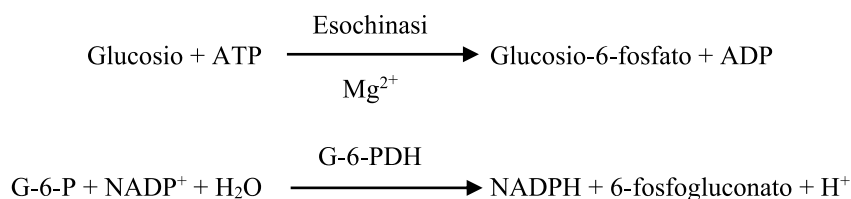


L'assorbanza di questa reazione di velocità viene misurata a 405 nm. La produzione di 3-carbossi-4-nitroanilina è direttamente proporzionale all'attività GGT nel campione.

Magnesio (MG)

Il metodo di attivazione dell'esochinasi per il magnesio è la soluzione ideale in termini di sensibilità, precisione e accuratezza.¹⁴

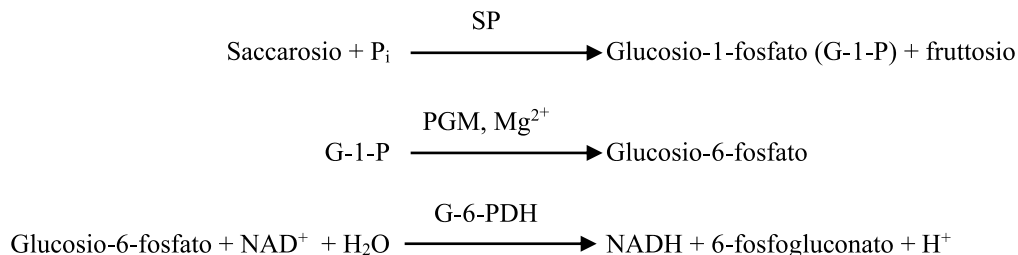
Il metodo enzimatico del magnesio può essere così descritto:



La reazione limitante la velocità è quella dell'esochinasi. Il magnesio del siero attiva l'esochinasi, che a sua volta catalizza la scissione del glucosio formando glucosio-6-fosfato (G-6-P) e ADP. Il glucosio-6-fosfato reagisce con l'NADP⁺ formando NADPH e 6-fosfogluconato in presenza di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G-6-PDH). Questa è la reazione di velocità di primo ordine. La concentrazione di magnesio è determinata dalla misurazione dell'aumento di assorbanza dell'NADPH a 340 nm.

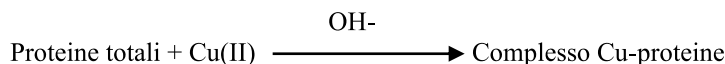
Fosforo (PHOS)

Il metodo enzimatico più adatto per il sistema Abaxis si basa sulla saccarosio fosforilasi accoppiata con fosfoglucomutasi (PGM) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH).^{15,16} Applicando il sistema enzimatico a ogni mole di fosforo presente nel campione, si forma una mole di NADH. La quantità di NADH formata si può misurare come endpoint a 340 nm.



Proteine totali (TP)

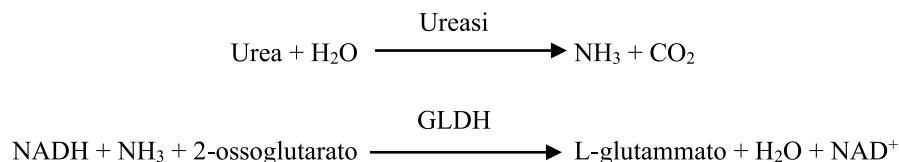
Nella reazione del biureto, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.¹⁷ Gli ioni Cu(II) reagiscono con i legami peptidici tra gli atomi di ossigeno del gruppo carbonilico e di azoto del gruppo ammidico formando un complesso colorato Cu-proteine.



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

Azoto ureico (BUN)

Il sistema Abaxis impiega una reazione enzimatica accoppiata, in cui l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica.¹⁸ 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®.

5. Descrizione dei reagenti

Reagenti

Ogni rotore reagente Profilo animali di grossa taglia VetScan contiene microsfere secche di reagente specifico per il test. In ogni rotore reagente è compreso un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di ALP, AST, CK, GGT e azoto ureico (BUN). Il rotore comprende un campione bianco dedicato per calcolare la concentrazione dei livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Tabella 1: Reagenti

Componenti	Contenuto
Reagente albumina	
Porpora di bromocresolo	2 µg
Tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti	
Reagente fosfatasi alcalina	
Cloruro di magnesio	3 µg
Solfato di zinco	3 µg
ρ -NPP	56 µg
Tamponi, tensioattivi ed eccipienti	
Reagente aspartato aminotransferasi (AST)	
Acido L-aspartico	426 µg
Lattato deidrogenasi (LDH) (microbico)	0,03 U
β -nicotinammide adenin dinucleotide, ridotta (NADH)	5 µg
Malato deidrogenasi (MDH) (cuore porcino)	0,01 µg
α -chetoglutarato	28 µg
Tamponi, tensioattivi, eccipienti e conservanti	
Reagente calcio	
Arsenazo III, sale sodico	3 µg
Tamponi, tensioattivi ed eccipienti	
Reagente creatina chinasi	
Adenosina difosfato	31 µg
Adenosina monofosfato	33 µg
P^1 , P^5 -di(adenosina-5')pentafofato	0,2 µg
Acetato di magnesio, tetraidrato	69 µg
Esochinasi	95904 U
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi	79920 U
NADP - Sale di sodio	104 µg
EDTA, disodico	12 µg
N-acetilcisteina	52 µg
Fosfocreatina	122 µg
Tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti	
Gamma glutamil transferasi	
Glicilglicina	317 µg
Acido L-glutammico γ -(3-carbossi-4-nitroanilide)	30 µg
Tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti	
Magnesio	
EDTA, disodico	0,00032 mg
NADP, sodio	0,0296 mg
Esochinasi	0,0120 U
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi	0,0220 U
Fosforo	
NAD (acido libero)	0,043 mg
Acetato di magnesio, tetraidrato	0,007 mg
Glucosio-1,6-difosfato	0,001 mg
Glucosio-6-fosfato deidrogenasi	0,023 U
Fosfoglucomutasi (coniglio)	0,035 U
Saccarosio fosforilasi	0,070 U

Tabella 1: Reagenti (cont.)

Componenti	Contenuto
Reagente proteine totali	
Tartrato di sodio e potassio	343 µg
Solfato di rame (II)	134 µg
Ioduro di potassio	28 µg
Tensioattivi, eccipienti e conservanti	
Bianco proteine totali	
Tartrato di sodio e potassio	343 µg
Ioduro di potassio	28 µg
Tensioattivi, eccipienti e conservanti	

Avvertenze e precauzioni

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

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i rotori reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Non lasciare i rotori a temperatura ambiente per oltre 48 ore. 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 del sistema VetScan. Gettare il rotore se non lo si utilizza entro 20 minuti dall'apertura del sacchetto. I rotori in sacchetti aperti non possono essere riposti in frigorifero per essere utilizzati successivamente.

Conservazione

Conservare i rotori reagente nei sacchetti sigillati a 2-8 °C (36-46 °F). Non esporre i rotori, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90 °F). Per usare i rotori reagente, rimuovere i rispettivi sacchetti sigillati di foglio d'alluminio dal frigorifero. Assicurarsi che il periodo di tempo i cui i rotori non sono refrigerati (nei rispettivi sacchetti sigillati) non superi complessivamente 48 ore. Aprire il sacchetto ed estrarre il rotore soltanto prima dell'uso.

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente

- Tutti i reagenti contenuti in un apposito rotore, se conservati nel modo sopra descritto, sono stabili sino alla data di scadenza stampata sul sacchetto del rotore. Non utilizzare un rotore dopo la data di scadenza. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. Se i reagenti sono scaduti, sul display dell'analizzatore di sangue intero VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.
- In caso di sacchetto strappato o altrimenti danneggiato, l'umidità può penetrare nel disco non utilizzato e alterare il comportamento del reagente. Non utilizzare rotori prelevati da sacchetti danneggiati.
- Una volta aperto il sacchetto, esaminare la confezione di essiccante acclusa al rotore reagente. Una striscia blu sul retro della confezione di essiccante indica che il sacchetto ha mantenuto l'umidità relativa corretta. Una striscia rosa indica che il rotore nel sacchetto è stato esposto a umidità eccessiva (es. a causa di un foro e pertanto il rotore **non** deve essere usato).

6. Strumento

Per informazioni complete sull'uso dell'analizzatore, inclusi installazione, specifiche prestazionali, limiti e precauzioni operative, assistenza e manutenzione, vedere il manuale d'uso del sistema VetScan.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

La quantità minima di campione è di ~90 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o controllo di siero. La camera del campione su rotore reagente può contenere fino a 120 µL di campione.

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta.¹⁹ Il campione può essere diviso in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8 °C (36-46 °F) qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore di sangue intero VetScan è la litio eparina.
- Gli interferenti fisici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle risultanze delle concentrazioni 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 stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- La creatina chinasi viene inattivata sia da luce solare intensa che dall'aumento del pH del campione a causa di perdita di anidride carbonica. Conservare pertanto i campioni al buio in provette accuratamente tappate.²⁰

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Animali di grossa taglia VetScan®

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico di sangue intero VetScan

Parametri del test

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

Procedura del test

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

Calibrazione

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

Controllo di qualità

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

9. Risultati

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

L'interpretazione dei risultati è descritta nel manuale d'uso VetScan. I risultati vengono stampati su apposite schede fornite da Abaxis. Le schede dei risultati sono provviste di un adesivo che ne consente l'agevole apposizione sulle cartelle dei pazienti.

10. Limiti della procedura

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

- I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range del dosaggio, devono essere analizzati con un altro metodo di test approvato oppure inviati a un laboratorio di riferimento. **Non** diluire il campione e rianalizzarlo con l'analizzatore di sangue intero VetScan.
- I campioni con ematocriti superiori al 62-64% 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.

11. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se il sistema VetScan® è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale d'uso del sistema VetScan).

Tabella 1: Range dinamici VetScan

Analita	Range dinamici	
	Unità comuni	Unità SI
ALB_BCG	1-6,5 g/dL	10-65 g/L
ALP	5-2400 U/L	5-2400 U/L
AST	5-2000 U/L	5-2000 U/L
CA++	4-16 mg/dL	1,0-4,0 mmol/L
CK	5-14000 U/L	5-14000 U/L
GGT	5-3000 U/L	5-3000 U/L
GLOB*	1-11 g/dL	10-110 g/L
MG	0-8 mg/dL	0-3,29 mmol/L
PHOS	0-20 mg/dL	0-6,46 mmol/L
TP	2-14 g/dL	20-140 g/L
BUN	2-180 mg/dL	0,7-64,3 mmol urea/L

* Valore calcolato

12. Bibliografia

1. Howe PE. 1921. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. J Biol Chem 49:93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974;53:101-108.
3. Tietz NW, CA Burtis, P Duncan, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
4. Bowers, GN Jr, HU Bergmeyer, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chem Acta 1974;98:163F-74F.
5. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977;23: 887-99.
6. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978;24: 720-1.
7. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10: 686-703.
8. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
9. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. J Biol Chem 1959;234: 3201-4.
10. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.

11. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
12. Goldberg JA, OM Friedman, EP Pineda, et al. The colorimetric determination of γ -glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys* 1960;91: 61-70.
13. Shaw LM, JH Stromme, JL London, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4 IFCC method for γ -glutamyl-transferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:633-46.
14. Tabata M, Kido M, Totani M, et al. Direct Spectrophotometry of Magnesium in Serum after Reaction with Hexokinase and Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase. *Clin Chem* 1985; 31:703-5.
15. Schulz DW, Passonneau JV, Lowry OH. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
16. Tedokon, M Suzuki, K Kayamori, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
17. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
18. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. 1980. 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* 26: 816-826.
19. National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS). 1984. Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; Tentative Standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS; pp. 219.
20. Moss DW, Henderson AR. 1994. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 804.