

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

January 2023
PN: 51630900
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Intended Use

The VetScan® Prep Profile II reagent rotor used with the VetScan Chemistry Analyzer utilizes dry and liquid reagents to provide *in vitro* quantitative determinations of alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), creatinine (CRE), glucose (GLU), total protein (TP), and urea nitrogen (BUN) in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum.

2. Summary and Explanation of Tests

The VetScan Prep Profile II reagent rotor and the VetScan Chemistry Analyzer comprise an *in vitro* diagnostic system that aids the veterinarian in diagnosing the following disorders:

Alanine Aminotransferase	Liver diseases; including viral hepatitis and cirrhosis; heart diseases.
Alkaline Phosphatase	Liver, bone, parathyroid and intestinal diseases.
Creatinine	Renal disease.
Glucose	Diabetes, hyperglycemia, hypoglycemia, diabetes and liver disease.
Total Protein	Dehydration, kidney, liver disease, metabolic and nutritional disorders.
Blood Urea Nitrogen	Liver and kidney diseases.

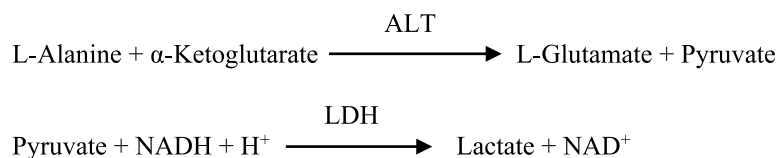
As with any diagnostic test procedure, all other test procedures including the clinical status of the patient should be considered prior to final diagnosis.

3. Principles of Procedure

Alanine Aminotransferase (ALT)

The method developed for use on the VetScan Chemistry Analyzer is a modification of the Wróblewski and LaDue procedure recommended by the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).^{1, 2}

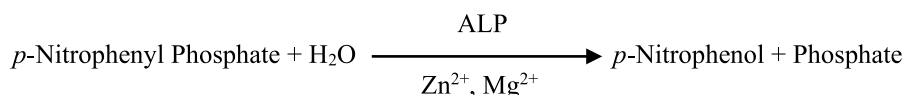
In this reaction, ALT catalyzes the transfer of an amino group from L-alanine to α -ketoglutarate to form L-glutamate and pyruvate. Lactate dehydrogenase catalyzes the conversion of pyruvate to lactate. Concomitantly, NADH is oxidized to NAD^+ , as illustrated in the following reaction scheme.



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

Alkaline Phosphatase (ALP)

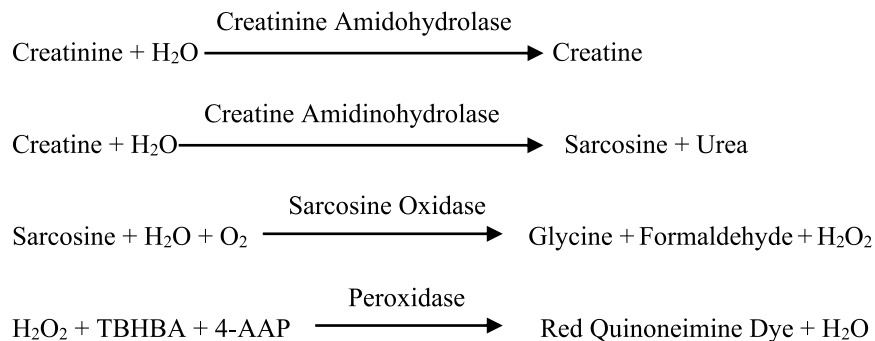
The VetScan procedure is modified from the AACC and IFCC methods.³ Alkaline phosphatase hydrolyzes *p*-NPP in a metal-ion buffer and forms *p*-nitrophenol and phosphate. The use of *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP) increases the speed of the reaction.^{4, 5} The reliability of this technique is greatly increased by the use of a metal-ion buffer to maintain the concentration of magnesium and zinc ions in the reaction.⁶ The American Association for Clinical Chemistry (AACC) reference method uses *p*-NPP as a substrate and a metal-ion buffer.⁷



The amount of ALP in the sample is proportional to the rate of increase in absorbance difference between 405 nm and 500 nm.

Creatinine (CRE)

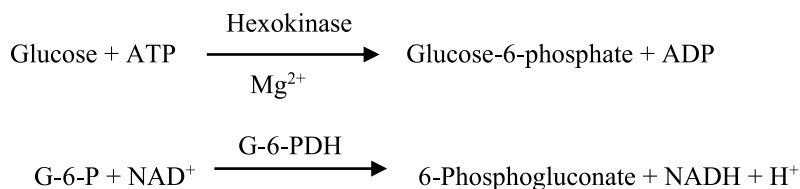
The Jaffe method, first introduced in 1886, is still a commonly used method of determining creatinine levels in blood. The current reference method combines the use of Fuller's earth (floridin) with the Jaffe technique to increase the specificity of the reaction.^{8, 9} Enzymatic methods have been developed that are more specific for creatinine than the various modifications of the Jaffe technique.^{10, 11, 12} Methods using the enzyme creatinine amidohydrolase eliminate the problem of ammonium ion interference found in techniques using creatinine iminohydrolase.¹³



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

Glucose (GLU)

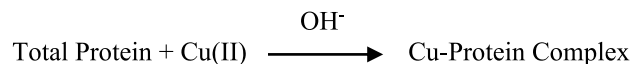
Measurements of glucose concentration were first performed using copper-reduction methods (such as Folin-Wu and Somogyi-Nelson)^{14, 15, 16} The lack of specificity in copper-reduction techniques led to the development of quantitative procedures using the enzymes hexokinase and glucose oxidase. The Abaxis glucose is a modified version of the hexokinase method, which has been proposed as the basis of the glucose reference method.¹⁷ The reaction of glucose with adenosine triphosphate (ATP), catalyzed by hexokinase (HK), produces glucose-6-phosphate (G-6-P) and adenosine diphosphate (ADP). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) catalyzes the reaction of G-6-P into 6-phosphogluconate and the reduction of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) to NADH.



Total Protein (TP)

The total protein method is a modification of the biuret reaction, noted for its precision, accuracy, and specificity.¹⁸ It was originally developed by Riegler and modified by Weichselbaum, Doumas, et al. The biuret reaction is a candidate total protein reference method.^{19, 20, 21}

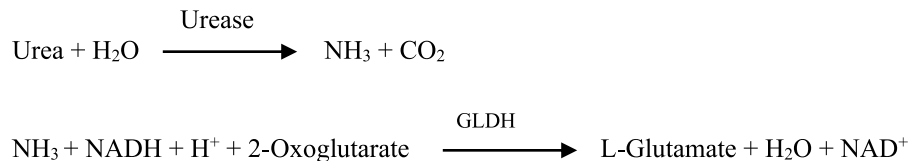
In the biuret reaction, the protein solution is treated with cupric [Cu(II)] ions in a strong alkaline medium. Sodium potassium tartrate and potassium iodide are added to prevent the precipitation of copper hydroxide and the auto-reduction of copper, respectively.⁴¹ The Cu(II) ions react with peptide 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.²² 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 Prep Profile II 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 alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, glucose, and urea nitrogen. Dedicated sample blanks are included in the rotor to calculate the concentration of creatinine and total protein levels. Each reagent rotor also contains a diluent consisting of surfactants and preservatives.

Warnings and Precautions

- For Veterinary *In vitro* Diagnostic Use
- The diluent container in the reagent rotor is automatically opened when the analyzer drawer closes. A rotor with an opened diluent container 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.
- Some Reagent beads contain sodium azide, which may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Reagents will not come into contact with lead and copper plumbing when following recommended procedures. However, if the reagents do come into contact with such plumbing, flush with a large volume of water to prevent azide buildup.

Instructions for Reagent Handling

Reagent rotors may be used directly from the refrigerator without warming. Open the sealed foil pouch and remove the rotor being careful not to touch the bar code ring located on the top of the reagent rotor. Use according to the instructions provided in the VetScan

Operator's Manual. A rotor not used within 20 minutes of opening the pouch should be discarded. Rotors in opened pouches can not be placed back in the refrigerator for use at a later time.

Storage

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

Indications of Reagent Rotor Instability or Deterioration

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

6. Instrument

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

7. Sample Collection and Preparation

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

- Specimens collected in a heparinized micropipette should be dispensed into the reagent rotor **immediately** following sample collection.
- Use only lithium heparin (green stopper) evacuated specimen collection tubes for whole blood or plasma samples. Use no additive (red stopper) evacuated specimen collection tubes or serum separator tubes (red or red/black stopper) for serum samples.
- Whole blood samples obtained by venipuncture must be homogenous before transferring a sample to the reagent rotor. Gently invert the collection tubes several times just prior to sample transfer. Do **not** shake the collection tube. Shaking may cause hemolysis.
- The test must be started within 10 minutes of transferring the sample into the reagent rotor.
- Whole blood venipuncture samples should be run within 60 minutes of collection; if this is not possible, separate the sample and transfer it into a clean test tube.²³ Run the separated plasma or serum sample within 5 hours of centrifugation. If this is not possible, refrigerate the sample in a stoppered test tube at 2-8°C (36-46°F) for no longer than 48 hours. A plasma or serum sample can be stored at -10°C (14°F) for up to 5 weeks in a freezer that does not have a self-defrost cycle.
- **Glucose** concentrations decrease approximately 5-12 mg/dL in 1 hour in uncentrifuged samples stored at room temperature.²⁴
- Refrigerating whole blood samples can cause significant changes in concentrations of **glucose** and **creatinine**.²⁵

Known Interfering Substances

- The only anticoagulant recommended for use with the VetScan Chemistry Analyzer is lithium heparin. Abaxis has performed studies demonstrating that EDTA, fluoride, oxalate, and any anticoagulant containing ammonium ions will interfere with at least one chemistry in the VetScan Prep Profile II reagent rotor.
- Physical interferents (hemolysis, icterus, and lipemia) may cause changes in the reported concentrations of some analytes. The sample indices are printed on the bottom of each result card to inform the operator about the levels of interferents present in each sample. The VetScan Chemistry Analyzer suppresses any results that are affected by significant interference from hemolysis, lipemia, or icterus. "HEM", "LIP", "ICT" is printed on the result card in place of the result.
- **Glucose** concentrations are affected by the length of time since the patient has eaten and by the type of sample collected from the patient. To accurately interpret glucose results, samples should be obtained from a patient that has been fasted for at least 12 hours.²⁶
- Interference may be seen in the total protein test when analyzing samples with a 3 + lipemic index.²⁷ Samples with a triglyceride concentration >400 mg/dL may show an increased total protein level. The VetScan Chemistry Analyzer suppresses any results that are affected by >10% interference from lipemia. "LIP" is printed on the result card in place of the result.

8. Procedure

Materials Provided

- One VetScan Prep Profile II Reagent Rotor

Materials Required but not Provided

- VetScan Chemistry Analyzer

Test Parameters

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

Test Procedure

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

Calibration

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

Quality Control

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

9. Results

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

10. Limitations of Procedure

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

- Samples with hematocrits in excess of 60% packed red cell volume may give inaccurate results. Samples with high hematocrits may be reported as hemolyzed. These samples may be spun down and the plasma then re-run in a new reagent rotor.

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

11. Performance Characteristics (Linearity)

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

Table 1: VetScan Dynamic Ranges

Analyte	Dynamic Ranges Common Units	SI Units
ALT	5-2000 U/L	5-2000 U/L
ALP	5-2400 U/L	5-2400 U/L
CRE	0.2-20 mg/dL	18-1768µmol/L
GLU	10-700 mg/dL	0.6-38.9 mmol/L
TP	2-14 g/dL	20-140 g/L
BUN	2-180 mg/dL	0.7-64.3 mmol urea/L

12. Bibliography

1. Wróblewski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med. 1956;91:569-71.
2. Bergmeyer HU and Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J. Clin Chem Clin Biochem 1980;18:521-34.
3. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979;98:163F-74F.
4. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Über die Mikrobestimung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan. 1937;30:69-87.
6. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. Clin Chem 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. Clin Chem 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In:CA Burtis and ER Ashwood, Eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In:LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. Z Anal Chem 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16:40-9.
21. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981;27:1642-50.

22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980;26: 816-826.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. Am J Med Tech 1982;48:543-5.

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

Januar 2023

Art.-Nr.: 51630900

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

1. Verwendungszweck

Die VetScan®-Prep-Profil-II-Reagenzdisk für das VetScan-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Alaninaminotransferase (ALT), alkalischer Phosphatase (ALP), Creatinin (CRE), Glucose (GLU), Gesamtprotein (TP) und Harnstoffstickstoff (BUN) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

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

Alaninaminotransferase	Leberkrankungen einschließlich Virushepatitis und Zirrhose; Herzkrankheiten.
Alkalische Phosphatase	Leber-, Knochen-, Nebenschilddrüsen- und Darmerkrankungen.
Creatinin	Nierenerkrankungen.
Glucose	Diabetes, Hyperglykämie, Hypoglykämie, und Lebererkrankungen.
Gesamtprotein	Dehydratation, Nieren- und Lebererkrankungen, Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen.
Harnstoffstickstoff	Leber- und Nierenerkrankungen.

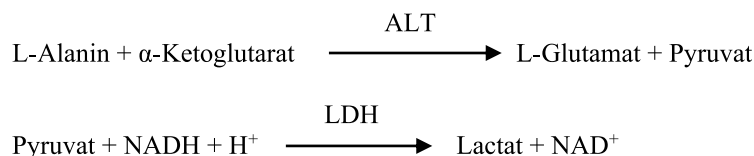
Wie bei allen diagnostischen Testverfahren sind vor der abschließenden Diagnose alle anderen Prüfverfahren, einschließlich des klinischen Status des Patienten, in Betracht zu ziehen.

3. Verfahrensprinzip

Alaninaminotransferase (ALT)

Die für das VetScan-Analysesystem entwickelte Methode ist eine Abwandlung des Verfahrens nach Wróblewski und LaDue, das von der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) empfohlen wird.^{1, 2}

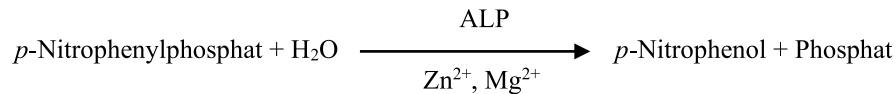
Bei dieser Reaktion katalysiert ALT den Transfer einer Aminogruppe von L-Alanin zu α -Ketoglutarat und damit die Bildung von L-Glutamat und Pyruvat. Lactat-Dehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Pyruvat zu Lactat. Gleichzeitig wird NADH wie im folgenden Reaktionsschema dargestellt zu NAD^+ oxidiert.



Die Extinktionsveränderungsgeschwindigkeit 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 ALT.

Alkalische Phosphatase (ALP)

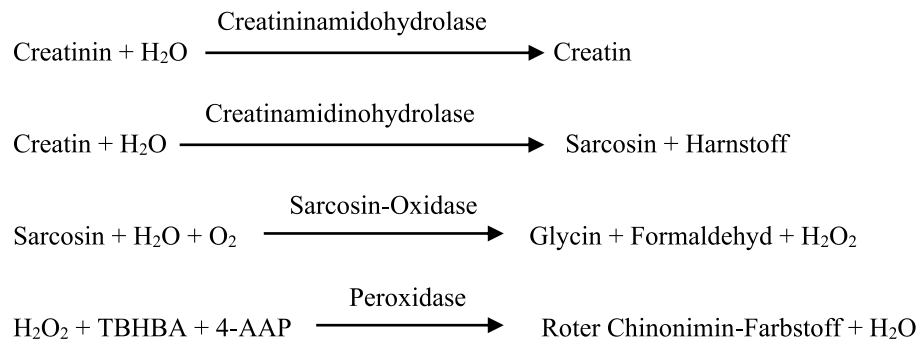
Das VetScan-Verfahren ist eine Abwandlung der von der American Association for Clinical Chemistry (AACC) und der IFCC verwendeten Methoden.³ Alkalische Phosphatase hydrolysiert *p*-NPP in einem Metallionenpuffer und bildet *p*-Nitrophenol und Phosphat. Die Verwendung von *p*-Nitrophenylphosphat (*p*-NPP) erhöht die Reaktionsgeschwindigkeit.^{4, 5} Die Zuverlässigkeit dieses Verfahrens verbessert sich durch die Verwendung eines Metallionenpuffers zur Aufrechterhaltung der Konzentration der Magnesium- und Zinkionen in der Reaktion stark.⁶ Die Referenzmethode der AACC verwendet *p*-NPP als Substrat und als Metallionenpuffer.⁷



Die Menge an ALP in der Probe verhält sich proportional zur Anstiegsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 405 nm und 500 nm.

Creatinin (CRE)

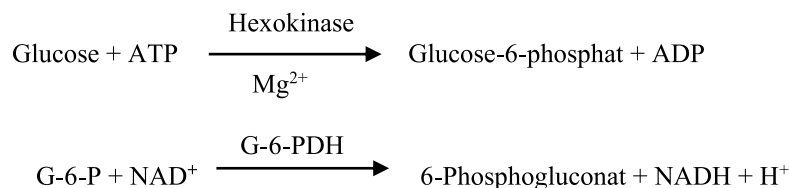
Die 1886 eingeführte Jaffe-Methode wird noch immer weithin zur Bestimmung der Creatinin-Spiegel im Blut eingesetzt. Die heutige Referenzmethode kombiniert den Einsatz von Fullererde (Floridin) mit der Jaffe-Technik, um eine Verbesserung der Reaktionsspezifität zu bewirken.^{8, 9} Es wurden enzymatische Methoden entwickelt, die eine bessere Creatinin-Spezifität aufwiesen, als die verschiedenen Abwandlungen der Jaffe-Methode.^{10, 11, 12} Methoden mit dem Enzym Creatininamidohydrolase eliminieren das Problem der Störungen durch Ammoniumionen, welches bei Verfahren mit Creatinin-Iminohydrolase auftritt.¹³



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

Glucose (GLU)

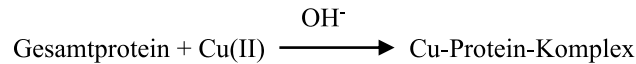
Die ersten Bestimmungen des Glucose-Spiegels wurden mit Kupferreduktionsmethoden (bspw. nach Folin-Wu und Somogyi-Nelson) durchgeführt.^{14, 15, 16} Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glucose-Oxidase. Bei dem Glucose-Test von Abaxis handelt es sich um eine Abwandlung der Hexokinase-Methode, die als Basis für die Glucose-Referenzmethode vorgeschlagen wurde.¹⁷ Die durch Hexokinase (HK) katalysierte Reaktion von Glucose mit Adenosin-triphosphat (ATP) ergibt Glucose-6-phosphat (G-6-P) und Adenosin-diphosphat (ADP). Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) katalysiert die Umsetzung von G-6-P zu 6-Phosphogluconat und die Reduktion von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD^+) zu NADH.



Gesamtprotein (TP)

Die Gesamtprotein-Methode ist eine Abwandlung der für ihre Präzision, Genauigkeit und Spezifität geschätzten Biuret-Reaktion.¹⁸ Sie wurde ursprünglich von Riegler entwickelt und dann von Weichselbaum, Doumas *et al.* modifiziert. Die Biuret-Reaktion wird als mögliche Gesamtprotein-Referenzmethode erwägt.^{19, 20, 21}

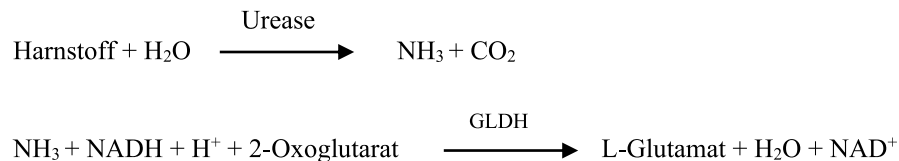
Bei der Biuret-Reaktion wird die Proteinlösung mit Kupfer(II)-Ionen in einem stark basischen Medium behandelt. Natriumkaliumtartrat und Kaliumjodid werden zugesetzt, um das Ausfällen von Kupferhydroxid bzw. eine Autoreduktion von Kupfer zu verhindern.²⁰ Die Cu(II)-Ionen reagieren mit Peptidbindungen zwischen den Carbonylsauerstoff- und Amidstickstoffatomen und bilden einen farbigen Cu-Protein-Komplex.



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

Harnstoffstickstoff (BUN)

Das Abaxis-System verwendet eine gekoppelte Enzymreaktion. Bei dieser Reaktion wird Harnstoff durch Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert.²² Nach der Kopplung von Ammoniak mit 2-Oxoglutarat und reduziertem Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) oxidiert das Enzym Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) NADH zu NAD⁺.



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

4. Funktionsprinzip

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

5. Beschreibung der Reagenzien

Reagenzien

Jede VetScan-Prep-Profil-II-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 Alaninaminotransferase, alkalischer Phosphatase, Glucose, Phosphor und Harnstoffstickstoff. Die Disk enthält spezifische Blindproben für die Berechnung der Creatinin- und Gesamtprotein-Konzentrationen. Jede Reagenzdisk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

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

Lagerung

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

Anzeichen für instabile oder zerfallene Reagenzdisks

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

6. Gerät

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

7. Probennahme und -vorbereitung

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

- In heparinisierten Mikropipetten gesammelte Proben sind nach der Probennahme **sofort** in die Reagenzdisk einzubringen.
- Für Vollblut- oder Plasmaproben nur evakuierte Probensammelröhrchen mit Lithiumheparin (grüner Stopfen) verwenden. Für Serumproben nur evakuierte Probensammelröhrchen ohne Zusatz (roter Stopfen) oder Serumentrennröhrchen (roter oder rot/schwarzer Stopfen) verwenden.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor die Probe in die Reagenzdisk transferiert wird. Die Sammelröhrchen vor dem Probentransfer mehrmals vorsichtig überkopfdrehen. Das Sammelröhrchen **nicht** schütteln. Schütteln kann zu Hämolyse führen.
- Der Test muss innerhalb von 10 Minuten nach dem Probentransfer in die Reagenzdisk beginnen.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sind innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme zu analysieren. Sollte dies nicht möglich sein, die Probe trennen und in ein sauberes Teströhrchen transferieren.²³ Die getrennte Plasma- oder Serumprobe innerhalb von 5 Stunden nach der Zentrifugation analysieren. Sollte dies nicht möglich sein, die Probe in einem verschlossenen Teströhrchen maximal 48 Stunden lang bei 2–8 °C (36–46 °F) im Kühlschrank lagern. In Gefrierschränken ohne Selbstabtaufungsfunktion können Plasma- oder Serumproben bei -10 °C (14 °F) bis zu 5 Wochen lang gelagert werden.
- Die **Glucose**-Konzentration nimmt in nicht zentrifugierten, bei Raumtemperatur gelagerten Proben um etwa 5–12 mg/dl pro Stunde ab.²⁴
- Das Einfrieren von Vollblutproben kann zu erheblichen Veränderungen der **Glucose**- und **Creatinin**-Spiegel führen.²⁵

Bekannte Störsubstanzen

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoagulantien mindestens eine der Methoden der VetScan-Prep-Profil-II-Reagenzdisk stören.
- Physiologische Störungen (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) können zu Veränderungen der berichteten Konzentrationen einiger Analyten führen. Die Probenindizes werden unten auf jeder Ergebniskarte ausgedruckt, damit der Bediener weiß, welche Konzentration an Störsubstanzen in den einzelnen Proben vorliegen. Das VetScan-Vollblut-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die durch signifikante Interferenzen auf Grund von Hämolyse, Lipämie oder Ikterus beeinflusst sind. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „HEM“ (Hämolyse), „LIP“ (Lipämie) oder „ICT“ (Ikterus) ausgedruckt.

- Die **Glucose**-Spiegel werden beeinflusst von der Zeitspanne seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie vom entnommenen Probenotyp. Zur genauen Interpretation der Glucose-Ergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung aufgenommen hat.²⁶
- Beim Gesamtprotein-Test kann es zu Störungen kommen, wenn die analysierten Proben einen Lipämie-Index von 3 + aufweisen.²⁷ Proben mit Triglycerid-Konzentrationen von >400 mg/dl können erhöhte Gesamtprotein-Konzentrationen aufweisen. Das VetScan-Analysesystem unterdrückt alle Ergebnisse, die auf Grund von Lipämie Störungen von mehr als 10 % aufweisen. In solchen Fällen wird auf der Ergebniskarte an Stelle des Ergebnisses „LIP“ (Lipämie) ausgedruckt.

8. Verfahren

Lieferumfang

- Eine VetScan-Prep-Profil-II-Reagenzdisk

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- VetScan-Analysesystem

Testparameter

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

Testverfahren

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

Kalibrierung

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

Qualitätskontrolle

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

9. Ergebnisse

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

10. Verfahrensgrenzen

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

- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von über 60 % umfasst, können ungenaue Ergebnisse erbringen. Solche Proben mit hohen Hämatokritwerten können als hämolysiert berichtet werden. Diese Proben können dann zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenzdisk erneut getestet werden.

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

11. Leistungsmerkmale (Linearität)

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

Tabelle 1: Dynamische Bereiche des VetScan-Systems

Analyt	Dynamische Bereiche	
	Gebräuchliche Einheiten	SI-Einheiten
ALT	5–2000 E/l	5–2000 E/l
ALP	5–2400 E/l	5–2400 E/l
CRE	0,2–20 mg/dl	18–1768 µmol/l
GLU	10–700 mg/dl	0,6–39 mmol/l
TP	2–14 g/dl	20–140 g/l
BUN	2–180 mg/dl	0,7–64,3 mmol Harnstoff/l

12. Literaturverzeichnis

1. Wróblewski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956;91:569-71.
2. Bergmeyer HU and Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J. Clin Chem Clin Biochem* 1980;18:521-34.
3. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979;98:163F-74F.
4. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. *Enzymologia* 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Über die Mikrobestimung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan*. 1937;30:69-87.
6. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem*. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. *J Cklin Chem Clin Biochem*. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. *Clin Chem* 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. *Clin Chem* 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. *Clin Chem* 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16:40-9.
21. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981;27:1642-50.
22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980;26: 816-826.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.

Pour usage vétérinaire seulement

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

Janvier 2023

Réf. : 51630900

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

1. Usage prévu

Le rotor de réactif Profil prep VetScan® II employé avec l'analyseur de réaction chimique VetScan utilise des réactifs secs et liquides pour fournir les déterminations quantitatives *in vitro* de l'aminotransférase alanine (ALT), de la phosphatase alcaline (ALP), de la créatinine (CRE), du glucose (GLU), des protéines totales (TP) et de l'azote uréique (BUN) dans le sang entier hépariné, le plasma hépariné ou le sérum.

2. Résumé et explication des tests

Le rotor de réactif Profil prep VetScan II et l'analyseur de réaction chimique VetScan comprennent un système de diagnostic *in vitro* qui aide les vétérinaires à diagnostiquer les troubles suivants :

Aminotransférase alanine	Pathologies hépatiques, notamment hépatite virale et cirrhose ; maladies cardiaques
Phosphatase alcaline	Maladies hépatiques, osseuses, parathyroïdiennes et intestinales
Créatinine	Insuffisance rénale
Glucose	Diabète, hyperglycémie, hypoglycémie et maladies hépatiques
Protéine totale	Déshydratation, rein, maladies hépatiques, troubles métaboliques et nutritionnels
Azote uréique du sang	Pathologies hépatiques et insuffisances rénales

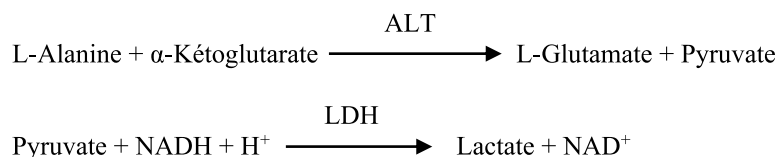
Comme c'est le cas pour toute procédure de test de diagnostic, toutes les autres procédures de test, y compris l'état clinique du patient, doivent être prises en considération avant d'établir un diagnostic définitif.

3. Principes de la procédure

Aminotransférase alanine (ALT)

La méthode développée pour l'analyseur de réaction chimique VetScan est une modification de la procédure Wróblewski et LaDue recommandée par la Fédération internationale de chimie clinique (IFCC, International Federation of Clinical Chemistry).^{1, 2}

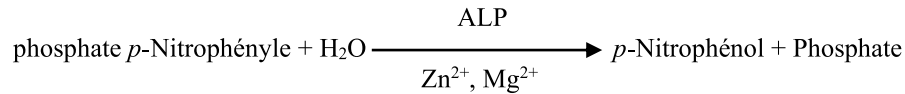
Dans cette réaction, l'ALT catalyse le transfert d'un groupe amino de la L-alanine vers α -kétooglutarate pour former le L-glutamate et le pyruvate. Le lactate déshydrogénase catalyse la conversion du pyruvate en lactate. Simultanément, la NADH est oxydée en NAD^+ , comme illustré dans la formule suivante.



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

Phosphatase alcaline (ALP)

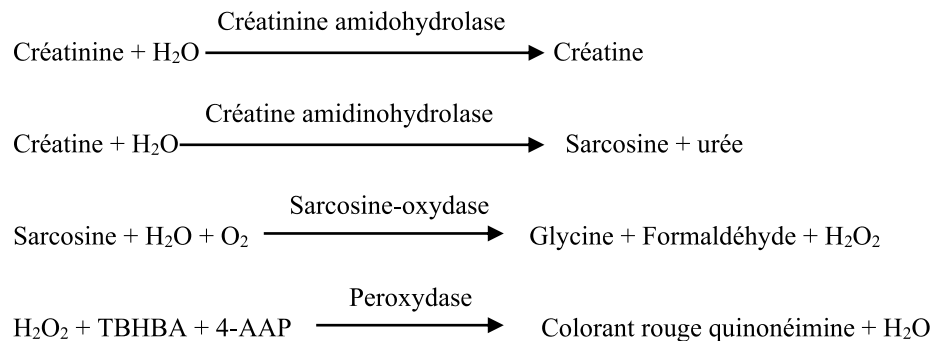
La procédure VetScan est modifiée à partir des méthodes recommandées par l'AACC et l'IFCC.³ La phosphatase alcaline hydrolyse *p*-NPP en un tampon d'ions métalliques et forme du *p*-nitrophénol et du phosphate. L'utilisation de phosphate *p*-nitrophényle (*p*-NPP) accélère la réaction.^{4, 5} La fiabilité de cette technique est considérablement améliorée par l'utilisation d'un tampon d'ions métalliques pour maintenir la concentration des ions magnésium et zinc dans la réaction.⁶ La méthode de référence de l'association américaine de chimie clinique (AACC, American Association for Clinical Chemistry) utilise le *p*-NPP comme substrat et un tampon d'ions métalliques.⁷



La quantité d'ALP dans l'échantillon est proportionnelle au taux d'augmentation de l'absorbance entre 405 nm et 500 nm.

Créatinine (CRE)

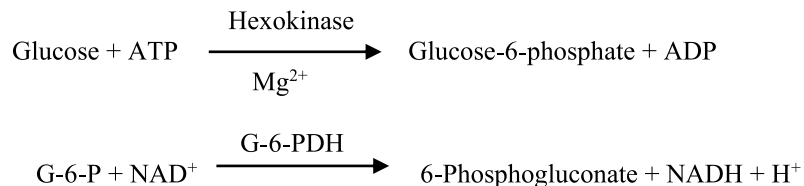
La méthode de Jaffé, introduite pour la première fois en 1886, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les taux de créatinine dans le sang. La méthode de référence actuelle combine l'utilisation de la terre à foulons (floridine) et la technique de Jaffé afin d'accroître la spécificité de la réaction.^{8, 9} Il existe des méthodes enzymatiques plus spécifiques pour la créatinine que les diverses modifications de la technique de Jaffé.^{10, 11, 12} Les méthodes utilisant l'enzyme créatinine amidohydrolase éliminent le problème d'interférence de l'ion ammonium présent dans les techniques qui utilisent la créatinine iminohydrolase.¹³



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

Glucose (GLU)

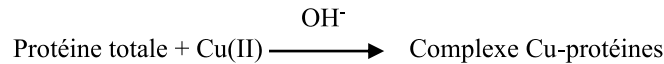
Les mesures de la concentration de glucose ont été effectuées dans un premier temps à l'aide des méthodes de réduction du cuivre (par exemple Folin-Wu et Somogyi-Nelson).^{14, 15, 16} Le manque de spécificité de ces techniques a conduit au développement de procédures quantitatives utilisant les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le test du glucose développé par Abaxis est une version modifiée de la méthode hexokinase, qui a été proposée comme base de la méthode de référence pour le glucose.¹⁷ La réaction du glucose avec l'adénosine triphosphate (ATP), catalysée par l'hexokinase (HK), produit du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) catalyse la réaction de conversion de G-6-P en 6-phosphogluconate et la réduction du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺) en NADH.



Protéine totale (TP)

La méthode de protéine totale est une modification de la réaction au biuret, préconisée pour sa précision, son exactitude et sa spécificité.¹⁸ Elle a été initialement développée par Riegler, puis modifiée par Weichselbaum, Dumas, et al. La réaction au biuret est une méthode de référence admissible pour les protéines totales.^{19, 20, 21}

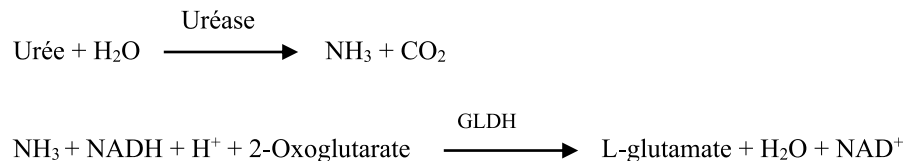
Dans la réaction au biuret, la solution de protéine est traitée avec des ions cupriques [Cu(II)] dans un milieu fortement alcalin. Le tartrate double de potassium et de sodium et l'iodure de potassium sont ajoutés pour éviter la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto-réduction du cuivre, respectivement.²⁰ Les ions Cu(II) réagissent avec les liaisons peptidiques entre les atomes d'oxygène carbonyle et d'azote amide pour former un complexe de Cu-protéines coloré.



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

Azote uréique (BUN)

Le système Abaxis utilise une réaction enzymatique couplée. Dans cette réaction, l'uréase hydrolyse l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone.²² Lors de la combinaison d'ammoniac avec du 2-oxoglutarate et de la nicotinamide adénine dinucléotide réduite (NADH), l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH) oxyde la NADH en NAD⁺.



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

4. Principe d'exécution

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

5. Description des réactifs

Réactifs

Chaque rotor de réactif Profil prep VetScan contient des billes de réactif sèches spécifiques au test. Un réactif à blanc d'échantillon sec (constitué de tampon, surfactants, excipients et agents conservateurs) est compris dans chaque rotor de réactif afin de calculer les concentrations d'aminotransférase alanine, de phosphatase alcaline, de glucose et d'azote uréique. Des échantillons à blanc dédiés sont inclus dans le rotor pour calculer la concentration de créatinine et les niveaux de protéines totales. Chaque rotor de réactif contient également un diluant composé de surfactants et d'agents conservateurs.

Avertissements et précautions

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

lorsque l'utilisateur respecte les procédures recommandées. Toutefois, au cas où les réactifs entreraient en contact avec les canalisations, rincer à grande eau afin d'éviter l'accumulation d'azides.

Manipulation des réactifs

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

Conservation

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

Indications d'instabilité/de détérioration du rotor de réactif

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

6. Instrument

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

7. Prélèvement et préparation des échantillons

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

- Les échantillons prélevés dans une micropipette héparinée doivent être distribués dans le rotor de réactif **immédiatement** après leur prélèvement.
- N'utiliser que des tubes de prélèvement sous vide à héparine de lithium (bouchon vert) pour les échantillons de sang entier ou de plasma. Utiliser des tubes de prélèvement sous vide (bouchon rouge) sans adjuvants ou des tubes de séparation de sérum (bouchon rouge ou rouge et noir) pour les échantillons de sérum.
- Les échantillons de sang entier obtenus par ponction veineuse doivent être homogènes avant de transférer un échantillon au rotor de réactif. Retourner doucement le tube de prélèvement à plusieurs reprises juste avant de transférer les échantillons. **Ne pas** agiter le tube de prélèvement. L'utilisateur évitera ainsi tout risque d'hémolyse.
- Le test doit être commencé dans les 10 minutes suivant le transfert de l'échantillon dans le rotor de réactif.
- Les échantillons de sang entier prélevés par ponction veineuse doivent être traités dans les 60 minutes suivant le prélèvement. Si cela n'est pas possible, séparer l'échantillon et le transférer dans un tube à essai propre.⁷ Traiter l'échantillon de plasma ou de sérum séparé dans les 5 heures suivant la centrifugation. Si cela n'est pas possible, réfrigérer l'échantillon dans un tube à essai muni d'un bouchon à une température comprise entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F), pendant 48 heures au maximum. Un échantillon de plasma ou de sérum peut être conservé à -10° C (14° F) pendant 5 semaines au maximum dans un congélateur non doté d'un cycle de dégivrage automatique.
- Les concentrations de **glucose** diminuent d'environ 5 à 12 mg/dL en 1 heure dans des échantillons non centrifugés conservés à température ambiante.²⁴
- La réfrigération des échantillons de sang entier peut être la cause d'importants changements des concentrations de **créatinine** et de **glucose**.²⁵

Substances interférentes connues

- L'héparine de lithium est l'unique anticoagulant dont l'utilisation est recommandée avec l'analyseur de réaction chimique VetScan. Abaxis a mené des études démontrant que l'EDTA, le fluorure, l'oxalate et tout anticoagulant contenant des ions ammonium interféreront avec au moins une solution chimique contenue dans le rotor de réactif Profil prep VetScan II.
- Les substances physiologiques interférentes (hémolyse, ictère et lipémie) peuvent entraîner des variations des concentrations telles que relevées dans certains analytes. Les indices des échantillons sont imprimés au bas de chaque fiche de résultats afin d'informer l'utilisateur des taux des substances interférentes présentes dans chaque échantillon. L'analyseur de sang total VetScan

supprime tout résultat affecté par une interférence significative due à une hémolyse, une lipémie ou un ictère. Le symbole « HEM », « LIP » ou « ICT » respectivement sera imprimé sur la fiche de résultats à la place du résultat.

- La durée de la période de jeun du patient et le type d'échantillon prélevé chez le patient influencent les concentrations de **glucose**. Pour interpréter avec précision les résultats de glucose, les échantillons doivent provenir d'un patient qui n'a rien mangé au cours des 12 heures précédentes.
- Des interférences peuvent être observées dans le dosage des protéines totales lors de l'analyse d'échantillons dont l'indice lipémique est égal à 3+.²⁷ Dans les échantillons dont la concentration de triglycérides est supérieure à 400 mg/dL, on peut observer un niveau de protéines totales élevé. L'analyseur de réaction chimique VetScan supprime tout résultat affecté par une interférence >10 % due à une lipémie. Le symbole « LIP » est imprimé sur la fiche de résultats à la place du résultat.

8. Procédure

Matériel fourni

- Un rotor de réactif Profil prep VetScan II

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur de réaction chimique VetScan

Paramètres de test

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

Procédure de test

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

Étalonnage

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

Contrôle qualité

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

9. Résultats

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

10. Limitations de la procédure

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

- Les échantillons dont les hémocrites dépassent 60 % du volume globulaire total risquent de donner des résultats inexacts. Les échantillons dont les hémocrites sont élevés peuvent être décrits comme étant hémolysés. La rotation de ces échantillons peut être décélérée et le plasma réanalysé dans un nouveau rotor de réactif.

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

11. Caractéristiques de performance (linéarité)

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

Tableau 1 : Plages dynamiques VetScan

Analyte	Plages dynamiques	
	Unités communes	Unités SI
ALT	5-2000 U/L	5-2000 U/L
ALP	5-2400 U/L	5-2400 U/L
CRE	0,2-20 mg/dL	18-1768 µmol/L
GLU	10-700 mg/dL	0,6-39 mmol/L
TP	2-14 g/dL	20-140 g/dL
BUN	2-180 mg/dL	0,7-64,3 mmol urée/L

12. Bibliographie

1. Wróblewski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956;91:569-71.
2. Bergmeyer HU and Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J. Clin Chem Clin Biochem* 1980;18:521-34.
3. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979;98:163F-74F.
4. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. *Enzymologia* 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Über die Mikrobestimung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan*. 1937;30:69-87.
6. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem*. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. *J Cklin Chem Clin Biochem*. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. *Clin Chem* 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. *Clin Chem* 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. *Clin Chem* 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919; 38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16:40-9.
21. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981;27:1642-50.
22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980;26: 816-826.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. *Am J Med Tech* 1982;48:543-5.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.

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

Enero 2023
PN: 51630900
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El rotor reactivo del perfil VetScan® Prep II utilizado con el analizador químico VetScan utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP), creatinina (CRE), glucosa (GLU), proteína total (TP) y nitrógeno ureico (BUN) en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero

2. Resumen y explicación de las pruebas

El rotor reactivo del perfil VetScan Prep II y el analizador químico VetScan comprenden un sistema diagnóstico *in vitro* que ayuda al veterinario en el diagnóstico de los trastornos siguientes:

Alanina aminotransferasa	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis; cardiopatías.
Fosfatasa alcalina	Enfermedades del hígado, óseas, paratiroides e intestinales.
Creatinina	Enfermedad renal.
Glucosa	Diabetes, hiperglucemia, hipoglucemia, y enfermedad del hígado.
Proteínas totales	Deshidratación, enfermedad del riñón y del hígado, enfermedades metabólicas y nutricionales.
Nitrógeno ureico en sangre	Enfermedades del hígado y del riñón.

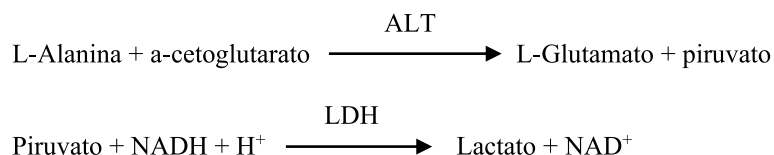
Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, hay que considerar todos los procedimientos de prueba restantes, incluido el estado clínico del paciente, antes del diagnóstico final.

3. Principios del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)

El método desarrollado para uso en el analizador químico VetScan es una modificación del procedimiento Wróblewski y LaDue recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)^{1, 2}.

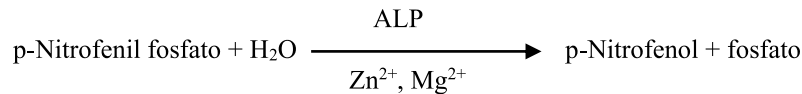
En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, la NADH se oxida a NAD^+ , como se observa en el esquema de la siguiente reacción.



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 ALT en la muestra.

Fosfatasa alcalina (ALP)

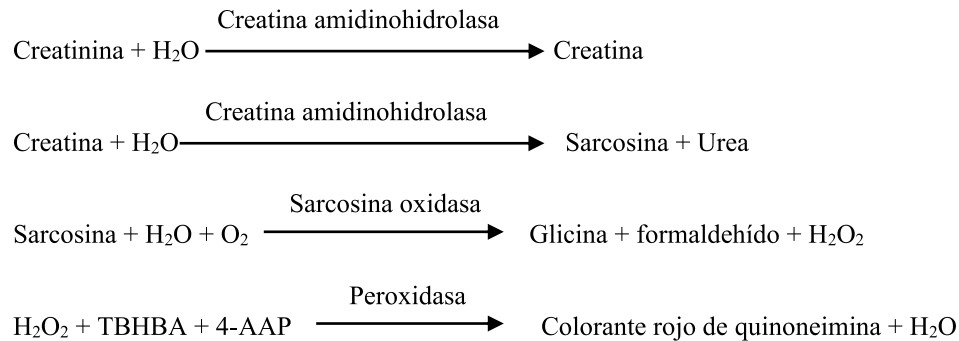
El procedimiento VetScan se modificó a partir de los métodos AACC e IFCC³. La fosfatasa alcalina hidroliza al *p*-NPP en un tampón con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumenta la velocidad de la reacción^{4, 5}. La fiabilidad de esta técnica aumenta significativamente con el uso de un tampón con ión metálico para mantener la concentración de iones magnesio y zinc en la reacción⁶. El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AFCC) usa *p*-NPP como sustrato y un amortiguador con ión metálico⁷.



La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

Creatinina (CRE)

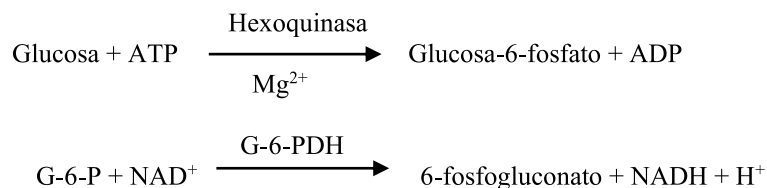
El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método de referencia actual combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción^{8, 9}. Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe^{10, 11, 12}. Los métodos mediante la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia de ión amoníaco encontrada en técnicas que utilizan creatinina iminohidrolasa¹³.



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

Glucosa (GLU)

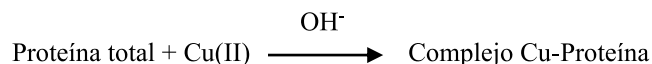
Las mediciones de la concentración de glucosa fueron introducidas por primera vez mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu y Somogyi-Nelson)^{14, 15, 16}. La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa de Abaxis es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa¹⁷. La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por hexoquinasa (HK), resulta en glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) a NADH.



Proteína total (TP)

El método de la proteína total es una modificación de la reacción de Biuret, mencionado por su precisión, exactitud y especificidad¹⁸. Originariamente fue desarrollado por Riegler y modificado por Weichselbaum, Doumas y otros. La reacción de Biuret es un posible método de referencia para la proteína total^{19, 20, 21}.

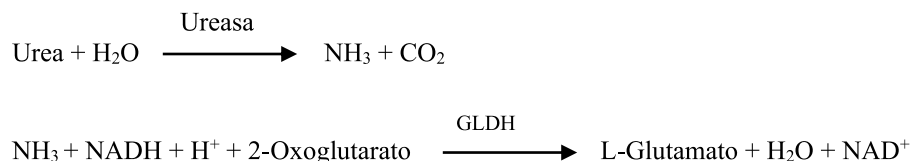
En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio y yoduro de potasio para impedir la precipitación del hidróxido de cobre y la auto-reducción del cobre, respectivamente²⁰. Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre el oxígeno del carbonilo y el nitrógeno de la amida para formar un complejo Cu-Proteína coloreado.



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

Nitrógeno ureico (BUN)

El sistema Abaxis utiliza una reacción enzimática acoplada. En esta reacción, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono²². 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 del perfil VetScan Prep II contiene soportes sólidos reactivos específicos para pruebas secas. Un reactivo seco de muestra de referencia (con amortiguador, surfactantes, excipientes y estabilizadores) se incluye en cada disco para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa, alcalina fosfatasa, glucosa y nitrógeno ureico. Se incluyen muestras de referencia dedicadas en el rotor para calcular la concentración de creatinina y los niveles de proteína total. Cada rotor reactivo contiene también un diluyente que consiste en surfactantes y estabilizadores.

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico veterinario *in vitro*
- El envase del diluyente del rotor reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. 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.
- Algunos reactivos en soporte sólido contienen azida sódica, que puede reaccionar con plomo y cobre para formar azidas metálicas muy explosivas. Los reactivos no entrarán en contacto con el plomo y cobre si se siguen los procedimientos recomendados. Sin

embargo, si los reactivos entran en contacto con los metales, se debe lavar abundantemente con agua para prevenir la acumulación de azida.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

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

Almacenamiento

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

Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo

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

6. Instrumento

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

7. Obtención y preparación de las muestras

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

- La muestra recogida en una micropipeta heparinizada debe dispensarse en el rotor reactivo **inmediatamente** después de la recolección de la muestra.
- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina 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 analizarse en los 60 minutos de la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfírala a un tubo de ensayo limpio²³. Analice la muestra separada de plasma o suero en las 5 horas siguientes a la centrifugación. Si esto no es posible, refrigere la muestra en un tubo de ensayo tapado a 2-8°C (36-46°F) durante no más de 48 horas. Una muestra de plasma o suero puede almacenarse a -10°C (14°F) durante un máximo de 5 semanas en un congelador que no tiene un ciclo de autodescongelación.
- Las concentraciones de **glucosa** disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente²⁴.
- Las muestras de sangre entera refrigerada pueden causar cambios significativos en las concentraciones de **glucosa** y **creatinina**²⁵.

Sustancias conocidas como interferencias

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador químico VetScan es heparina de litio. Abaxis realizó estudios que demuestran que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante con iones de amoníaco interferirán con por lo menos un producto químico del rotor reactivo del perfil VetScan Prep II
- Los interferentes físicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) pueden causar cambios en las concentraciones informadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El analizador de sangre entera VetScan suprime cualquier resultado que se vea afectado por una interferencia significativa por hemólisis, lipemia o ictericia. “HEM”, “LIP” o “ICT” se imprime en la tarjeta de resultado en vez del resultado.

- Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el plazo transcurrido entre el momento en el que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida del paciente. Para interpretar con precisión los resultados de la glucosa, se deben obtener las muestras de un paciente que haya estado en ayunas durante un mínimo de 12 horas²⁶.
- Cuando se analizan muestras con un índice lipídico 3+ se puede ver interferencia en la prueba de proteína total²⁷. Las muestras con una concentración de triglicéridos superior a 400 mg/dl pueden mostrar un nivel mayor de proteína total. El analizador químico VetScan elimina todos los resultados que sufren una interferencia por parte de la lipidemia superior al 10%. En lugar del resultado, en la tarjeta de resultados se imprime “LIP”.

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un rotor reactivo del perfil VetScan Prep II

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico VetScan

Parámetros de prueba

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

Procedimiento de prueba

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

Calibrado

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

Control de calidad

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

9. Resultados

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

10. Limitaciones del procedimiento

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

- Las muestras con hematocritos que excedan del 60% de volumen corpuscular de eritrocitos darán resultados inexactos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas y luego volver a analizar el plasma con un nuevo rotor reactivo.

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

11. Características de rendimiento (linealidad)

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

Tabla 1: Intervalos dinámicos de VetScan

Analito	Intervalos dinámicos Unidades comunes	Unidades SI
ALT	5 – 2000 U/l	5 – 2000 U/l
ALP	5 – 2400 U/l	5 – 2400 U/l
CRE	0,2 – 20 mg/dl	18 – 1768 µmol/l
GLU	10 – 700 mg/dl	0,6 – 39 mmol/l
TP	2 – 14 g/dl	20 – 140 g/l
BUN	2 – 180 mg/dl	0,7 – 64,3 mmol urea/l

12. Bibliografía

1. Wróblewski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med. 1956;91:569-71.
2. Bergmeyer HU and Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J. Clin Chem Clin Biochem 1980;18:521-34.
3. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979;98:163F-74F.
4. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Über die Mikrobestimung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan. 1937;30:69-87.
6. Petittler C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. Clin Chem 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. Clin Chem 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In: CA Burtis and ER Ashwood, Eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. Z Anal Chem 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16:40-9.

21. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981;27:1642-50.
22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980;26: 816-826.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. Am J Med Tech 1982;48:543-5.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.

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

Gennaio 2023
N. parte: 51630900
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo prep VetScan® II usato con l'analizzatore chimico VetScan impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* di alanino aminotransferasi (ALT), fosfatasi alcalina (ALP), creatinina (CRE), glucosio (GLU), proteine totali (TP) e azoto ureico (BUN) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.

2. Sommario e spiegazione dei test

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

Alanino aminotransferasi	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi, cardiopatie.
Fosfatasi alcalina	Malattie epatiche, ossee, paratiroidi e intestinali.
Creatinina	Malattia renale.
Glucosio	Diabete, iperglicemia, ipoglicemia e malattia epatica.
Proteine totali	Disidratazione, malattia renale, epatica, disturbi metabolici e nutrizionali.
Azoto ureico ematico	Malattie epatiche e renali.

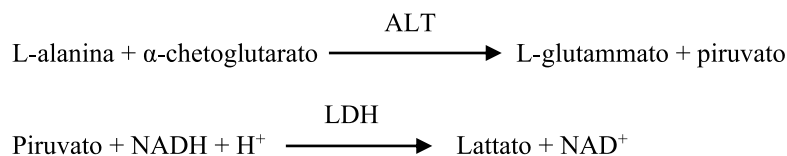
Come per ogni test diagnostico, prima della diagnosi definitiva è opportuno considerare tutte le altre procedure di analisi, incluso lo stato clinico del paziente.

3. Principi della procedura

Alanino aminotransferasi (ALT)

Il metodo sviluppato per l'uso sull'analizzatore chimico VetScan è una modifica della procedura Wróblewski e LaDue raccomandata dalla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).^{1,2}

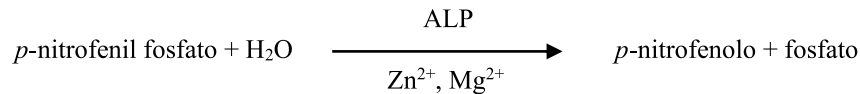
In questa reazione, ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione seguente.



La velocità di variazione della differenza di assorbanza tra 340 nm e 405 nm è dovuta alla conversione di NADH in NAD^+ ed è direttamente proporzionale alla quantità di ALT presente nel campione.

Fosfatasi alcalina (ALP)

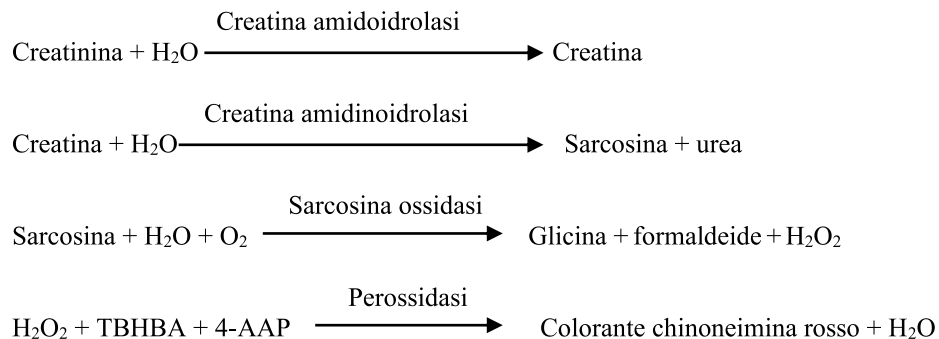
La procedura VetScan è modificata rispetto ai metodi AACC ed IFCC.³ La fosfatasi alcalina idrolizza *p*-NPP in un tampone a ioni metallici e forma *p*-nitrofenolo e fosfato. L'uso di *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumenta la velocità della reazione.^{4,5} L'uso di un tampone a ioni metallici per mantenere la concentrazione di ioni magnesio e zinco nella reazione, accresce notevolmente l'affidabilità di questa tecnica.⁶ Il metodo di riferimento della American Association for Clinical Chemistry (AACC) utilizza *p*-NPP come substrato e un tampone a ioni metallici.⁷



La quantità di ALP presente nel campione è proporzionale alla velocità di aumento nella differenza di assorbanza tra 405 nm e 500 nm.

Creatinina (CRE)

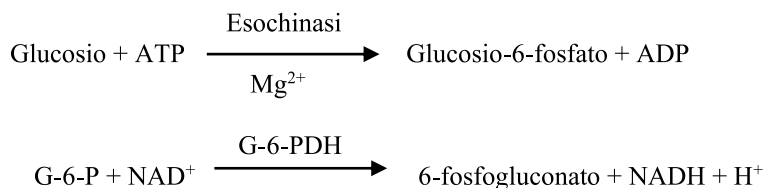
Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{8,9} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{10,11,12} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.¹³



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

Glucosio (GLU)

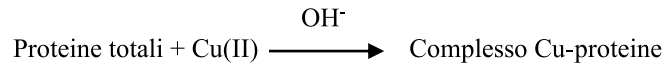
Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione in rame (ad esempio Folin-Wu e Somogyi-Nelson).^{14,15,16} La mancanza di specificità delle tecniche di riduzione del rame ha portato allo sviluppo di procedure quantitative che utilizzano gli enzimi esochinasi e glucosio ossidasi. Il test del glucosio Abaxis è una variante del metodo dell'esochinasi proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.¹⁷ La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dall'esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione del nicotinammide adenin dinucleotide (NAD⁺) in NADH.



Proteine totali (TP)

Il metodo delle proteine totali è una modifica della reazione del biureto, nota per la sua precisione, accuratezza e specificità,¹⁸ che è stata originariamente sviluppata da Riegler e successivamente modificata da Weichselbaum, Doumas, et al. La reazione del biureto è un potenziale metodo di riferimento delle proteine totale.^{19, 20, 21}

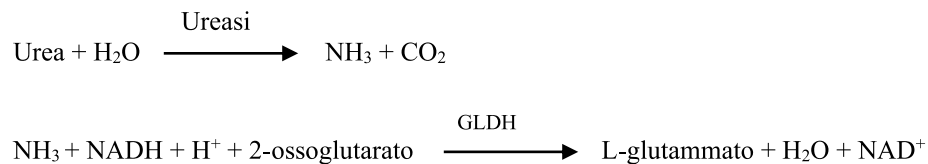
Nella reazione del biureto, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.²⁰ Gli ioni Cu(II) 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.²² 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 prep VetScan II 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 alanina aminotransferasi, fosfatasi alcalina, glucosio e azoto ureico. Il rotore comprende campioni bianchi dedicati per calcolare la concentrazione di creatinina e i livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

Avvertenze e precauzioni

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

Istruzioni per la manipolazione del reagente

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

Conservazione

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

Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente

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

6. Strumento

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

7. Raccolta e preparazione dei campioni

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

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dal prelievo; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.²³ Analizzare il campione di siero o plasma separato entro 5 ore dalla centrifugazione. Qualora ciò non fosse possibile, refrigerare il campione in una provetta tappata a 2-8 °C (36-46 °F) per non più di 48 ore. Un campione di plasma o siero può essere conservato a -10 °C (14 °F) per un massimo di 5 settimane in un congelatore privo di ciclo di autoscongellamento.
- Le concentrazioni di **glucosio** diminuiscono di circa 5-12 mg/dL in 1 ora in campioni non centrifugati conservati a temperatura ambiente.²⁴
- La refrigerazione di campioni di sangue intero può causare variazioni significative nelle concentrazioni di **glucosio** e **creatinina**.²⁵

Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore chimico VetScan è la litio eparina. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come EDTA, fluoruro, ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscano con almeno una delle sostanze chimiche contenute nel rotore reagente Profilo prep VetScan II.
- Gli interferenti fisici (emolisi, ittero e lipemia) possono causare variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. L'analizzatore di sangue intero VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza significativa dovuta a emolisi, lipemia o ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).

- Le concentrazioni di **glucosio** sono influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente e dal tipo di campione prelevato dal paziente. Per interpretare in modo corretto i risultati relativi al glucosio, prelevare i campioni da pazienti a digiuno da almeno 12 ore.²⁶
- Quando si analizzano campioni con un indice lipemico 3 +, è possibile osservare interferenze nel test delle proteine totali.²⁷ I campioni con una concentrazione di trigliceridi >400 mg/dL possono presentare un livello aumentato di proteine totali. L'analizzatore chimico VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a lipemia. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché il risultato viene stampata la dicitura "LIP" (lipemia).

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo prep VetScan II

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan

Parametri del test

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

Procedura del test

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

Calibrazione

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

Controllo di qualità

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

9. Risultati

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

10. Limiti della procedura

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

- I campioni con ematocriti superiori al 60% del volume dei globuli rossi concentrati possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Questi campioni possono essere centrifugati e il plasma quindi rianalizzato in un nuovo rotore reagente.

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

11. Caratteristiche prestazionali (linearità)

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

Tabella 1: Range dinamici VetScan

Analita	Range dinamici Unità comuni	Unità SI
ALT	5-2000 U/L	5-2000 U/L
ALP	5-2400 U/L	5-2400 U/L
CRE	0,2-20 mg/dL	18-1768µmol/L
GLU	10-700 mg/dL	0,6-39mmol/L
TP	2-14 g/dL	20-140 g/L
BUN	2-180 mg/dL	0,7-64,3 mmol urea/L

12. Bibliografia

1. Wróblewski F and LaDue. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med. 1956;91:569-71.
2. Bergmeyer HU and Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J. Clin Chem Clin Biochem 1980;18:521-34.
3. Bowers GN, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979;98:163F-74F.
4. Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-31.
5. Fujita H. Über die Mikrobestimung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan. 1937;30:69-87.
6. Petitclerc C, et al. Mechanism of action of Mg^{2+} and Zn^{2+} on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn^{2+} and Mg^{2+} alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975;53:1089-1100.
7. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-61.
8. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbestimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970;8:582-587.
9. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the "True" Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980;18:385-394.
10. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. Clin Chem 1975;21:1422-1426.
11. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. Clin Chem 1982;28:114-117.
12. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
13. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In:CA Burtis and ER Ashwood, Eds., Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999;1513-1575.
14. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
15. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937;117: 771-776.
16. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol 1944;153: 375-380.
17. Kaplan LA. Glucose. In:LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
18. Koller A and Kaplan LA. Total serum protein. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St Louis: The C.V. Mosby Company; 1989:1057-60.
19. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethods des Eiweisses. Z Anal Chem 1914;53:242-5.
20. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946;16:40-9.
21. Doumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981;27:1642-50.

22. Sampson, EJ MA Baird, CA Burtis, EM Smith, DL Witte, and DD Bayse. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. Clin Chem 1980;26: 816-826.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
24. Overfield CV, Savory J, and Heintges MG. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972;39:35-40.
25. Rehak NN and Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988;34:2111-14.
26. Melnik J and Potter JL. Variance in capillary and venous glucose levels during glucose tolerance test. Am J Med Tech 1982;48:543-5.
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.