

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

**January 2023**  
**PN: 51630600**  
**© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587**

## 1. Intended Use

The VetScan® Avian/Reptilian Profile Plus reagent rotor used with the VetScan Whole Blood Analyzer utilizes dry and liquid reagents to provide *in vitro* quantitative determinations of aspartate Aminotransferase (AST), bile acids (BA), creatine kinase (CK), uric acid (UA), glucose (GLU), total calcium ( $CA^{++}$ ), phosphorus (PHOS), total protein (TP), albumin (ALB), globulin\* (GLOB), potassium ( $K^+$ ), sodium ( $Na^+$ ) in heparinized whole blood, heparinized plasma, or serum.<sup>1</sup>

\* Calculated Value

## 2. Summary and Explanation of Tests

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

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

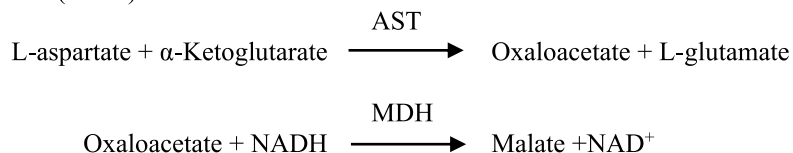
|                                         |                                                                                               |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aspartate Aminotransferase (AST)</b> | Liver disease, muscle damage.                                                                 |
| <b>Bile Acids (BA)</b>                  | Hepatobiliary disease; portosystemic vascular anomaly (PSVA); extrahepatic shunting.          |
| <b>Creatine Kinase (CK)</b>             | Muscle damage, used in conjunction with AST to differentiate between liver and muscle damage. |
| <b>Uric Acid (UA)</b>                   | Best indicator of renal health in almost all birds and reptiles.                              |
| <b>Glucose (GLU)</b>                    | Severe liver disease; sepsis; anorexia; pancreatic disease.                                   |
| <b>Phosphorous (PHOS)</b>               | Renal and nutritional disease; fluid balance.                                                 |
| <b>Calcium (<math>CA^{++}</math>)</b>   | Egg production; bone and renal disease                                                        |
| <b>Total Protein (TP)</b>               | Liver, gastrointestinal, and kidney disease; dehydration.                                     |
| <b>Albumin (ALB)</b>                    | Liver and kidney disease.                                                                     |
| <b>Globulin (GLOB)</b>                  | Globulin recovery is calculated from the TP and ALB. Dehydration; antigenic stimulation.      |
| <b>Potassium (<math>K^+</math>)</b>     | Indicator of cell lysis, and fluid balance.                                                   |
| <b>Sodium (<math>Na^+</math>)</b>       | Indicator of fluid balance and dehydration.                                                   |

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

#### Aspartate Aminotransferase (AST)

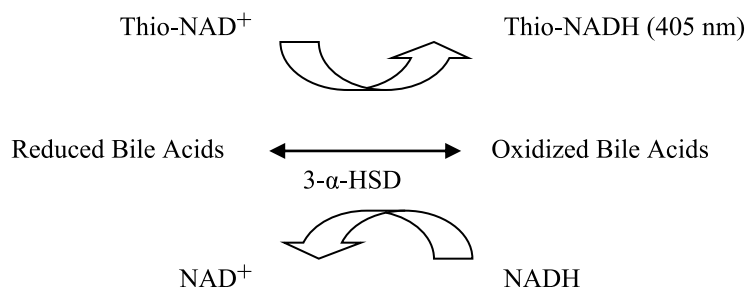
The Abaxis AST method is a modification of the IFCC reference method.<sup>3,4</sup> This method catalyzes the reaction of L-aspartate and  $\alpha$ -ketoglutarate into oxaloacetate and L-glutamate. Oxaloacetate is converted to malate and NADH is oxidized to  $\text{NAD}^+$  by the enzyme malate dehydrogenase (MDH).



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

#### Bile Acids (BA)

In the presence of the thio-derivative of nicotinamide adenine dinucleotide (Thio- $\text{NAD}^+$ ) the enzyme 3- $\alpha$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase (3- $\alpha$ -HSD) reversibly oxidizes bile acids to oxidized bile acids (3- $\alpha$ -keto forms) with the concomitant conversion of Thio- $\text{NAD}^+$  to its reduced form (Thio-NADH). In a cycling reaction, the oxidized bile acids are returned to their reduced state when excess NADH is present. The NADH is converted to  $\text{NAD}^+$ . In the Abaxis system, Thio- $\text{NAD}^+$ , NADH, and 3- $\alpha$ -HSD are supplied as dry reagent beads. The cycling reaction amplifies the levels of bile acids from the sample. The rate of increase in absorbance at 405 nm (Thio-NADH) is measured and is proportional to the concentration of bile acids in the sample. The rate is measured bichromatically at 405 and 500 nm.

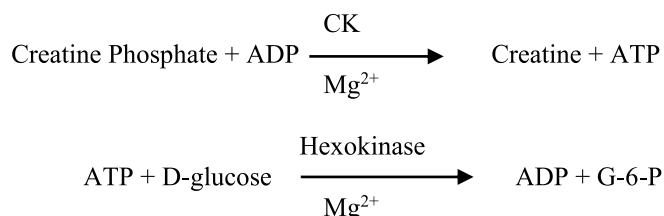


#### Creatine Kinase (CK)

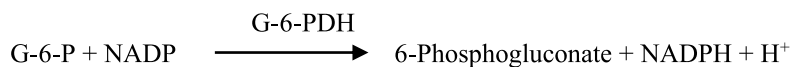
Creatine kinase catalyzes the reversible phosphorylation of creatine by adenosine triphosphate (ATP).<sup>7</sup>

The CK measurement procedure used by Abaxis is a modified version of the IFCC.<sup>8</sup> Key modifications are sample volume fraction, buffer and temperature. N-acetyl cysteine (NAC) has been added to reactivate the CK.<sup>9</sup> Magnesium is used as a cofactor for both CK and hexokinase. EDTA has been added as a stabilizer for NAC and for the removal of various cations, such as calcium and iron, that inhibits CK.  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di(adenosine-5') pentaphosphate and adenosine monophosphate (AMP) have also been added to inhibit adenylate kinase, another skeletal muscle and erythrocyte enzyme that reacts with the substrates used to measure CK.

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



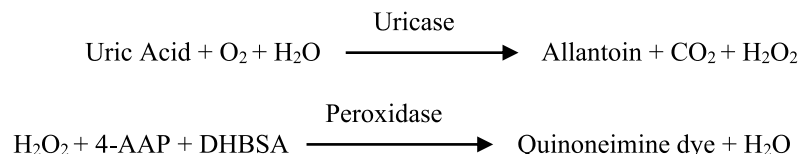




The formation of NADPH is measured as a change in absorbance at 340 nm relative to 405 nm. This absorbance change is directly proportional to creatine kinase activity in the sample.

### Uric Acid (UA)

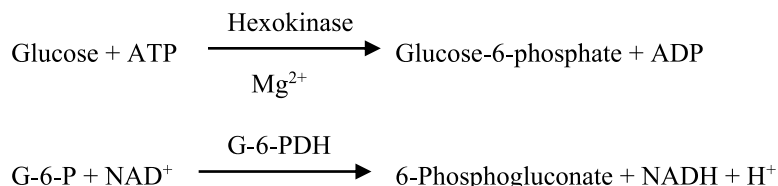
The standard clinical chemistry technique for this assay is a uric acid-specific enzyme uricase.<sup>24</sup> The uricase method is coupled through a Trinder finish.<sup>25</sup> In this method, uricase catalyzes the oxidation of uric acid to allantoin and hydrogen peroxide. Peroxidase catalyzes the reaction among hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 4-aminotipyrine (4-AAP) and 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid (DHBSA) into a red quinoneimine dye. Sodium ferrocyanide and ascorbate oxidase are added to the reaction mixture to minimize the potential interference of bilirubin and ascorbic acid.



The amount of uric acid in the sample is directly proportional to the absorbance of the quinoneimine dye. The final absorbance of this endpoint reaction is measured bichromatically at 515 nm and 600 nm.

### Glucose (GLU)

Measurements of glucose concentration were first performed using copper-reduction methods (such as Folin-Wu<sup>10</sup> and Somogyi-Nelson<sup>11,12</sup>). The lack of specificity in copper-reduction techniques led to the development of quantitative procedures using the enzymes hexokinase and glucose oxidase. The glucose test incorporated into the Avian/Reptilian Reagent Rotor is a modified version of the hexokinase method, which has been proposed as the basis of the glucose reference method.<sup>13</sup> The reaction of glucose with adenosine triphosphaste (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<sup>+</sup>) to NADH.



### Total Calcium (CA<sup>++</sup>)

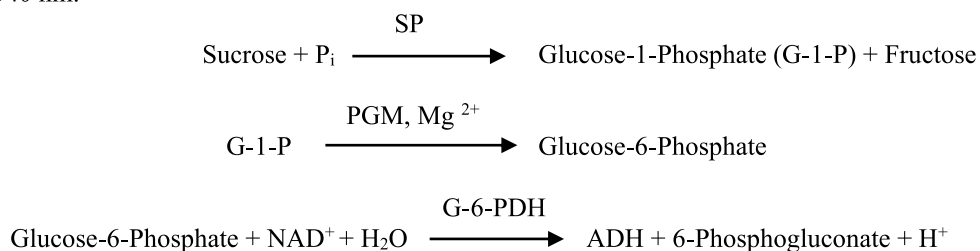
Calcium in the patient sample binds with arsenazo III to form a calcium-dye complex.<sup>5,6</sup>



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

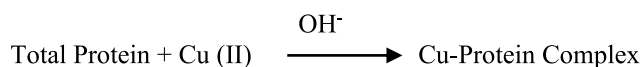
### Phosphorus (PHOS)

The most applicable enzymatic method for the Abaxis system uses sucrose phosphorylase (SP) coupled through phosphoglucomutase (PGM) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH).<sup>14,15</sup> Using the enzymatic system for each mole of inorganic phosphorus present in the sample, one mole of NADH is formed. The amount of NADH formed is measured as an endpoint at 340 nm.



### Total Protein (TP)

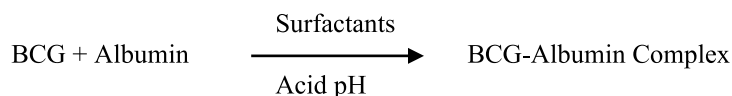
In the biuret reaction, the protein solution is treated with cupric [Cu(II)] ions in a strong alkaline medium. Sodium potassium tartate and potassium iodide are added to prevent the precipitation of copper hydroxide and the auto-reduction of copper, respectively.<sup>22</sup> The Cu (II) ions react with 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

### Albumin (ALB)

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

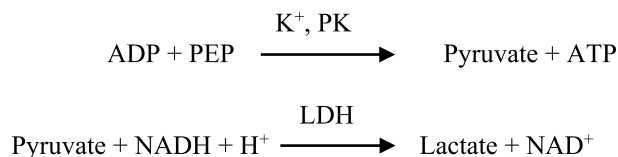


Bound albumin is proportional to the concentration of albumin in the sample. This is an endpoint reaction that is measured bichromatically at 630 nm and 405 nm.

### Potassium (K<sup>+</sup>)

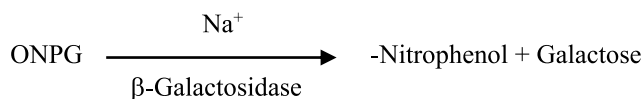
Spectrophotometric methods have been developed that allow the measurement of potassium concentration on standard clinical chemistry instrumentation. The Abaxis enzymatic method is based on the activation of pyruvate kinase (PK) with potassium and shows excellent linearity and negligible susceptibility to endogenous substances.<sup>16, 17, 18</sup> Interference from sodium and ammonium ion are minimized with the addition of Kryptofix and glutamate dehydrogenase respectively.<sup>18</sup>

In the coupled-enzyme reaction, PK dephosphorylates phosphoenolpyruvate (PEP) to form pyruvate. Lactate dehydrogenase (LDH) catalyzes conversion of pyruvate to lactate. Concomitantly, NADH is oxidized to NAD<sup>+</sup>. The rate of change in absorbance due to the conversion of NADH to NAD<sup>+</sup> is directly proportional to the amount of potassium in the sample.



### Sodium (Na<sup>+</sup>)

Colorimetric and enzymatic methods have been developed that allow the measurement of sodium concentration on standard clinical chemistry instrumentation.<sup>19, 20, 21</sup> In the Abaxis enzymatic reaction, β-galactosidase is activated by the sodium in the sample. The activated enzyme catalyzes the reaction of o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG) to o-nitrophenol and galactose



and the absorbance is measured as the difference in absorbance between 550 nm and 850 nm.

## 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 Avian/Reptilian Profile Plus reagent rotor contains dry test specific reagent beads. A dry sample blank reagent (comprised of buffer, surfactants, excipients and preservatives) is included in each reagent rotor for use in calculating concentrations of albumin, alanine aminotransferase, calcium, creatine kinase, glucose, potassium, sodium, and urea nitrogen. A dedicated sample blank is included in the rotor to calculate the concentration of total protein levels. Each reagent rotor also contains a diluent consisting of surfactants and preservatives.

### Warnings and Precautions

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

### Instructions for Reagent Handling

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

### Storage

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

### Indications of Reagent Rotor Instability or Deterioration

- All reagents contained in the reagent rotor, when stored as described above, are stable until the expiration date printed on the rotor pouch. Do **not** use a rotor after the expiration date. The expiration date is also encoded in the bar code printed on the bar code ring. An error message will appear on the VetScan Whole Blood Analyzer display if the reagents have expired.

### Indications of Reagent Rotor Instability or Deterioration Continued

- 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 System 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 serum control. The reagent rotor sample chamber can contain up to 120 µL of sample.

- Specimen collected in a heparinized micropipette should be dispensed into the reagent rotor **immediately** following sample collection.
- Use only lithium heparin (green stopper) evacuated 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 can cause hemolysis.
- The test must be started within 10 minutes of transferring the sample into the reagent rotor.

- Whole blood venipuncture samples should be run within 60 minutes of collection; if this is not possible, separate the sample and transfer it into a clean test tube.<sup>26</sup> 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.

#### **Known Interfering Substances**

- The only anticoagulant recommended for use with the VetScan Whole Blood Analyzer is lithium heparin.
- Physical interferents (hemolysis, icterus, and lipemia) may cause changes in the reported concentrations of some analytes. The sample indices are printed on the bottom of each result card to inform the operator about the levels of interferents present in each sample. The VetScan Whole Blood Analyzer suppresses any results that are affected by significant interference from hemolysis, lipemia, or icterus. “HEM”, “LIP”, “ICT” is printed on the result card in place of the result.
- Creatine kinase is inactivated both by bright daylight and by increasing specimen pH owing to loss of carbon dioxide. Specimens should be stored in the dark in tightly closed tubes accordingly.<sup>27</sup>
- 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.<sup>28</sup>
- Bile Acids concentrations can be affected by the length of time since the patient has eaten, however pre- and post-prandial measurements in birds can be challenging due to variability in storage and ingestion of crop contents.
- The potassium assay in the VetScan system is a coupled pyruvate kinase (PK) / lactate dehydrogenase (LDH) assay. Therefore, in cases of extreme muscle trauma or highly elevated levels of creatine kinase (CK), the VetScan may recover a falsely elevated potassium (K<sup>+</sup>) value. In such cases, unexpected high potassium recoveries need to be confirmed utilizing a different methodology.

## **8. Procedure**

#### **Materials Provided**

- One VetScan Avian/Reptilian Profile Plus Reagent Rotor PN: 500-1041 (a box of 12 rotors PN: 500-0041-12)

#### **Materials Required but not Provided**

- VetScan Whole Blood Chemistry Analyzer

#### **Test Parameters**

The VetScan System operates at ambient temperatures between 15°C and 32°C (59-92°F). The analysis time for each VetScan Avian/Reptilian Profile Plus Reagent Rotor is less than 14 minutes. The analyzer maintains the reagent rotor at a temperature of 37°C (98.6°F) over the measurement interval.

#### **Test Procedure**

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

#### **Calibration**

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

#### **Quality Control**

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

## **9. Results**

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

## **10. Limitations of Procedure**

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

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

- Samples with hematocrits in excess of 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.
- Not all Avian/Reptilian species have been studied. As a result, unknown matrix effects are possible.
- The Avian/Reptilian Profile Plus reagent rotor has been designed for bird and reptile samples only.

**Warning:** Extensive testing of the VetScan 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 System 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<br>Common Units | SI Units        |
|------------------|--------------------------------|-----------------|
| AST              | 5-2000 U/L                     | 5-2000 U/L      |
| BA               | 35 – 200 µmol/L                | 35 – 200 µmol/L |
| CK               | 5-14000 U/L                    | 5-14000 U/L     |
| UA               | 0.3-25.0 mg/dL                 | 18-1488 µmol/L  |
| GLU              | 10-700 mg/dL                   | 0.6-38.9 mmol/L |
| CA <sup>++</sup> | 4 -16 mg/dL                    | 1.0-4.0 mmol/L  |
| PHOS             | 0 -20.0 mg/dL                  | 0 -6.46 mmol/L  |
| TP               | 2-14 g/dL                      | 20-140 g/L      |
| ALB_BCG          | 1-6.5 g/dL                     | 10-65 g/L       |
| GLOB*            | 1-11 g/dL                      | 10-110 g/L      |
| K <sup>+</sup>   | 1.5-8.5 mmol/L                 | 1.5-8.5 mmol/L  |
| NA <sup>+</sup>  | 110-170 mmol/L                 | 110-170 mmol/L  |

\*Calculated Value

## 12. Bibliography

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

9. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
10. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;38: 81-110.
11. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
12. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
13. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
14. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
15. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
16. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
17. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-7.
18. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:1528-31.
19. Helgersen RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
20. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-12.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-8.
22. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
23. 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.
24. Feichtmeir TV and Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25: 833-839.
25. Fossati P, et al. Use of 3,5-dichlor-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
27. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:804.
28. Overfield CV, et al. Glycolysis: A Re-Evaluation Of The Effect On Blood Glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39: 35-40.

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

Januar 2023  
Art.-Nr.: 51630600  
© 2023, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587 USA

## 1. Verwendungszweck

Die VetScan®-Vogel/Reptilien-Profil-Plus-Reagenzdisk für das VetScan-Vollblut-Analysesystem verwendet Trocken- und Flüssigreagenzien für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von Aspartat-Aminotransferase (AST), Gallensäuren (BA), Creatin-Kinase (CK), Harnsäure (UA), Glucose (GLU), Gesamtcalcium ( $CA^{++}$ ), Phosphor (PHOS), Gesamtprotein (TP), Albumin (ALB), Globulin\* (GLOB), Kalium ( $K^+$ ) und Natrium ( $Na^+$ ) in heparinisiertem Vollblut, heparinisiertem Plasma oder Serum.<sup>1</sup>

\* Berechneter Wert

## 2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

**HINWEIS:** Beim Einsatz der Vogel/Reptilien-Profil-Plus-Reagenzdisk sind die Proben als Spezies (Tierart) „Other“ (andere) zu analysieren. Die Albumin-Methode (ALB) umfasst spezifische Kalibrierungsfaktoren, die unter dieser Tastenfunktion gespeichert sind. Weitere Angaben bietet das Bedienungshandbuch für das VetScan-System.

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

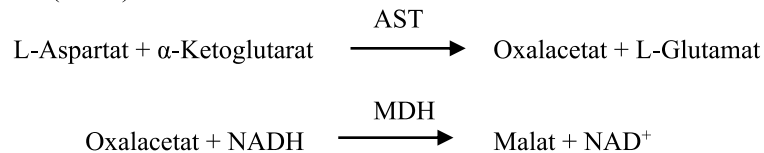
|                                        |                                                                                                        |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aspartat-Aminotransferase (AST)</b> | Lebererkrankungen, Muskelschädigung.                                                                   |
| <b>Gallensäuren (BA)</b>               | Leber-/Gallenerkrankungen; portokavale Gefäßanomalie (PSVA); extrahepatischer Shunt.                   |
| <b>Creatin-Kinase (CK)</b>             | Muskelschädigung; dient in Verbindung mit AST zur Differenzierung von Leber- und Muskelschädigungen.   |
| <b>Harnsäure (UA)</b>                  | Bei nahezu allen Vögeln und Reptilien der beste Indikator für den Nierenzustand.                       |
| <b>Glucose (GLU)</b>                   | Schwere Lebererkrankungen; Sepsis; Anorexie; Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse.                      |
| <b>Phosphor (PHOS)</b>                 | Nierenerkrankungen und ernährungsbedingte Erkrankungen; Flüssigkeitshaushalt.                          |
| <b>Calcium (<math>CA^{++}</math>)</b>  | Eierproduktion; Knochen- und Nierenerkrankungen                                                        |
| <b>Gesamtprotein (TP)</b>              | Leber-, Magen-Darm- und Nierenerkrankungen; Dehydratation.                                             |
| <b>Albumin (ALB)</b>                   | Leber- und Nierenerkrankungen.                                                                         |
| <b>Globulin (GLOB)</b>                 | Die Globulin-Wiederfindung wird anhand von TP und ALB berechnet.<br>Dehydratation; Antigenstimulation. |
| <b>Kalium (<math>K^+</math>)</b>       | Indikator für Zelllyse und Flüssigkeitshaushalt.                                                       |
| <b>Natrium (<math>Na^+</math>)</b>     | Indikator für Flüssigkeitshaushalt und Dehydratation.                                                  |

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

### 3. Verfahrensprinzip

#### Aspartat-Aminotransferase (AST)

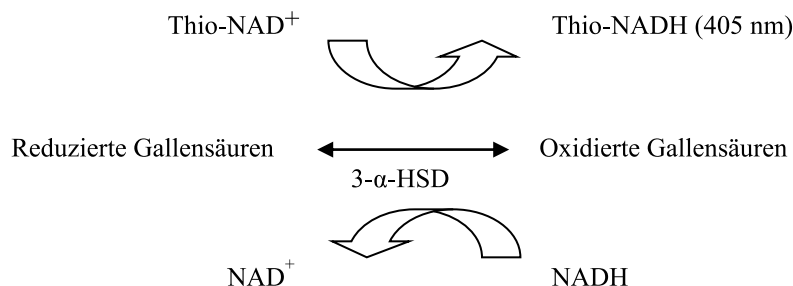
Die AST-Methode von Abaxis ist eine Abwandlung der IFCC-Referenzmethode.<sup>3,4</sup> Diese Methode katalysiert die Umsetzung von L-Aspartat und  $\alpha$ -Ketoglutarat in Oxalacetat und L-Glutamat. Oxalacetat wird in Malat umgewandelt, und NADH wird durch das Enzym Malat-Dehydrogenase (MDH) zu  $\text{NAD}^+$  oxidiert.



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

#### Gallensäuren (BA)

Bei Vorliegen des Thio-Derivats von Nicotinamid-adenin-dinucleotid (Thio- $\text{NAD}^+$ ) bewirkt das Enzym 3- $\alpha$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (3- $\alpha$ -HSD) eine reversible Oxidation von Gallensäuren zu oxidierten Gallensäuren (3- $\alpha$ -keto-Formen), wobei gleichzeitig Thio- $\text{NAD}^+$  in seine reduzierte Form (Thio- $\text{NADH}$ ) umgewandelt wird. Bei Vorliegen von überschüssigem NADH werden die oxidierten Gallensäuren in einem Reaktionszyklus wieder in ihre reduzierte Form umgewandelt. NADH wird in  $\text{NAD}^+$  umgewandelt. Beim Abaxis-System werden Thio- $\text{NAD}^+$ , NADH und 3- $\alpha$ -HSD in Form von trockenen Reagenzien-Beads bereitgestellt. Der Reaktionszyklus verstärkt die Gallensäuren-Konzentrationen der Probe. Es wird die Anstiegsgeschwindigkeit der Extinktion bei 405 nm bestimmt (Thio- $\text{NADH}$ ), die sich proportional zur Gallensäuren-Konzentration der Probe verhält. Die Geschwindigkeit wird bichromatisch bei 405 nm und 500 nm bestimmt.

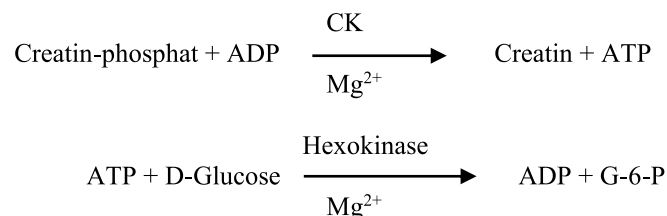


#### Creatin-Kinase (CK)

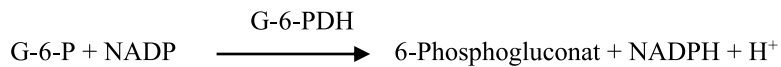
Creatin-Kinase katalysiert die reversible Phosphorylierung von Creatin durch Adenosin-triphosphat (ATP)<sup>7</sup>

Das von Abaxis angewandte Verfahren zur CK-Bestimmung ist eine Abwandlung der Methode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).<sup>8</sup> Wichtige Änderungen stellen Probenvolumenfraktion, Puffer und Temperatur dar. Zur Reaktivierung der CK wurde N-Acetylcystein (NAC) zugesetzt.<sup>9</sup> Magnesium dient als Co-Faktor für sowohl CK als auch Hexokinase. EDTA wurde als Stabilisator für NAC und zum Entfernen verschiedener CK-hemmender Kationen (wie bspw. Calcium und Eisen) zugesetzt. Außerdem wurden  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -Di-(adenosin-5')-pentaphosphat und Adenosin-monophosphat (AMP) zugesetzt, um Adenylat-Kinase zu hemmen, ein weiteres Skelettmuskulatur- und Erythrozyten-Enzym, das mit den zur CK-Bestimmung eingesetzten Substraten reagiert.

Creatin-Kinase katalysiert die Bildung von Creatin und Adenosin-triphosphat (ATP) aus Creatin-phosphat- $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -Di-(adenosin-5')-pentaphosphat (ADP) bei einem pH-Wert von 6,7. Mit Hexokinase als Katalysator reagiert ATP mit D-Glucose unter Bildung von ADP und D-Glucose-6-phosphat (G-6-P), das bei Vorliegen von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) mit Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) unter Bildung von G-6-P und NADPH reagiert.



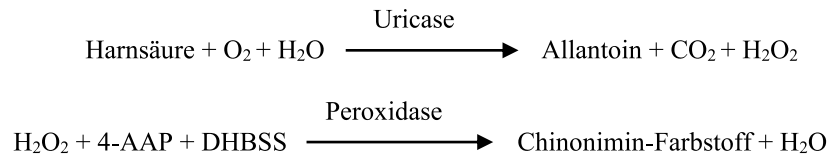




Die Bildung von NADPH wird als Extinktionsänderung bei 340 nm im Verhältnis zu 405 nm bestimmt. Diese Extinktionsänderung verhält sich direkt proportional zur Creatin-Kinase-Aktivität in der Probe.

### Harnsäure (UA)

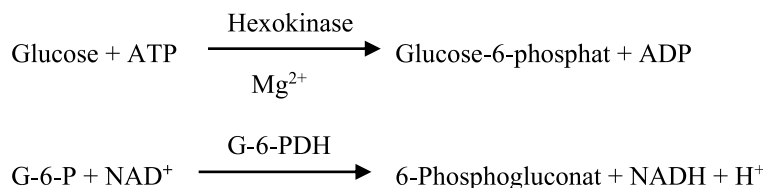
Die übliche klinische Methode für diesen Assay ist eine harnsäurespezifische enzymatische Uricase-Methode.<sup>24</sup> Die Uricase-Methode ist mit einer Trinder-Nachbehandlung gekoppelt.<sup>25</sup> Dabei fungiert Uricase als Katalysator für die Oxidation von Harnsäure zu Allantoin und Wasserstoffperoxid. Peroxidase katalysiert die Reaktion zwischen Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 4-Aminoantipyrin (4-AAP) und 3,5-Dichlor-2-hydroxy-benzolsulfonsäure (DHBSS) zu einem roten Chinonimin-Farbstoff. Natriumferrocyanid und Ascorbat-Oxidase werden dem Reaktionsgemisch zugesetzt, um mögliche Störeinflüsse durch Bilirubin bzw. Ascorbinsäure auf ein Mindestmaß zu beschränken.



Die in der Probe enthaltene Harnsäuremenge verhält sich direkt proportional zur Extinktion des Chinonimin-Farbstoffs. Die letztendliche Extinktion dieser Endpunktreaktion wird bichromatisch bei 515 nm und 600 nm bestimmt.

### Glucose (GLU)

Die ersten Bestimmungen des Glucose-Spiegels wurden mit Kupferreduktionsmethoden (bspw. nach Folin-Wu<sup>10</sup> und Somogyi-Nelson<sup>11, 12</sup>) durchgeführt. Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glucose-Oxidase. Bei dem in der Vogel/Reptilien-Reagenzdisk integrierten Glucose-Test handelt es sich um eine Abwandlung der Hexokinase-Methode, die als Basis für die Glucose-Referenzmethode vorgeschlagen wurde.<sup>13</sup> 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<sup>+</sup>) zu NADH.



### Gesamtcalcium (Ca<sup>++</sup>)

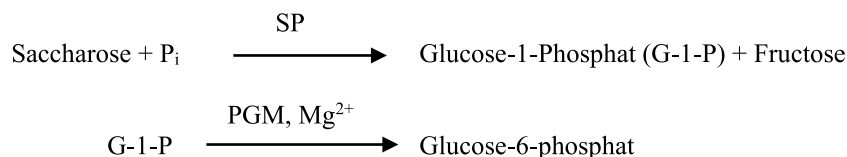
Das Calcium in der Patientenprobe verbindet sich mit Arsenazo-III unter Bildung eines Calcium-Farbstoffkomplexes.<sup>5,6</sup>

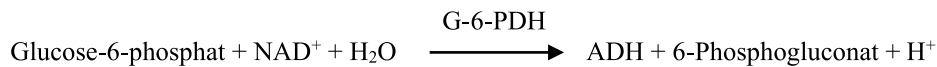


Die Endpunktreaktion wird bei 405 nm, 467 nm und 600 nm überwacht. Die Calciummenge in der Probe ist proportional zur Extinktion.

### Phosphor (PHOS)

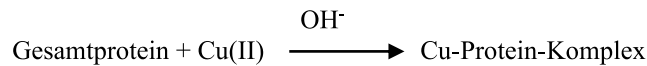
Die für das Abaxis-System geeignetste enzymatische Methode verwendet durch Phosphoglucomutase (PGM) und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) gekoppelte Saccharose-Phosphorylase (SP).<sup>14,15</sup> Das enzymatische System bildet für jedes in der Probe vorhandene Mol anorganischen Phosphors ein Mol NADH. Die Menge an gebildetem NADH wird als Endpunkt bei 340 nm gemessen.





### Gesamtprotein (TP)

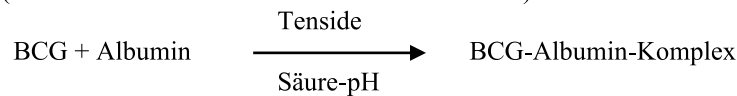
Bei der Biuret-Reaktion wird die Proteinlösung mit Kupfer(II)-Ionen in einem stark basischen Medium behandelt. Natriumkaliumtartrat und Kaliumiodid werden zugesetzt, um die Präzipitation von Kupferhydroxid bzw. die Eigenreduktion von Kupfer zu verhindern.<sup>22</sup> Die Cu(II)-Ionen reagieren mit Peptidbindungen 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. Beim Gesamtprotein-Test handelt es sich um eine Endpunktreaktion.

### Albumin (ALB)

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

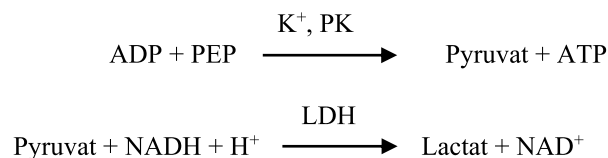


Gebundenes Albumin verhält sich proportional zur Albuminkonzentration in der Probe. Es handelt sich hierbei um eine Endpunktreaktion mit bichromatischer Bestimmung bei 630 nm und 405 nm.

### Kalium (K<sup>+</sup>)

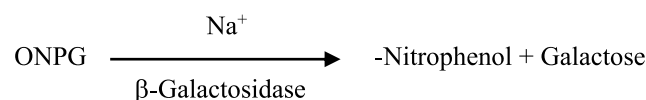
Es wurden spektralphotometrische Methoden entwickelt, die die Messung der Kaliumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen. Die enzymatische Methode von Abaxis beruht auf der Aktivierung von Pyruvat-Kinase (PK) durch Kalium und zeigt eine hervorragende Linearität und vernachlässigbare Anfälligkeit gegen endogene Substanzen.<sup>16, 17, 18</sup> Störungen durch Natrium- und Ammoniumionen werden durch Zugabe von Kryptofix bzw. Glutamat-Dehydrogenase minimiert.<sup>18</sup>

Bei der gekoppelten Enzymreaktion wird Phospho-enolpyruvat (PEP) durch PK zu Pyruvat dephosphoryliert. Lactatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Umwandlung von Pyruvat in Lactat. Damit einhergehend wird NADH zu NAD<sup>+</sup> oxidiert. Die Geschwindigkeit der Extinktionsänderung durch Umwandlung von NADH zu NAD<sup>+</sup> ist direkt proportional zur Kaliummenge in der Probe.



### Natrium (Na<sup>+</sup>)

Es wurden kolorimetrische und enzymatische Methoden entwickelt, welche die Bestimmung der Natrium-Konzentration an Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen.<sup>19, 20, 21</sup> Bei der von Abaxis verwendeten enzymatischen Reaktion wird β-Galactosidase durch das Natrium in der Probe aktiviert. Das aktivierte Enzym katalysiert die Umsetzung von o-Nitrophenyl-β-D-galactopyranosid (ONPG) zu o-Nitrophenol und Galactose



und die Extinktionsbestimmung stützt sich auf die Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 850 nm.

## 4. Funktionsprinzip

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

## 5. Beschreibung der Reagenzien

### Reagenzien

Jede VetScan-Vogel/Reptilien-Profil-Plus-Reagenzdisk enthält trockene testspezifische Reagenzien-Beads. Jede Reagenzdisk enthält ein trockenes Blindprobenreagenz (bestehend aus Puffer, Tensiden, Hilfsstoffen und Konservierungsmitteln) für die Berechnung der Konzentrationen an Albumin, Alanin-Aminotransferase, Calcium, Creatin-Kinase, Glucose, Kalium, Natrium und Harnstoffstickstoff. Die Disk enthält eine spezifische Blindprobe für die Berechnung der Gesamtprotein-Konzentrationen. Jede Reagenzdisk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

### Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für die *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.
- Reagenzien-Beads und Verdünnungsmittel enthalten Natriumazid, das mit Abflussleitungen aus Blei und Kupfer reagieren und hochexplosive Metallazide bilden kann. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommen die Reagenzien nicht mit Abflussleitungen aus Blei und Kupfer in Kontakt. Sollten die Reagenzien jedoch mit derartigen Abflussleitungen in Kontakt kommen, mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidansammlungen zu vermeiden.

### Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

Reagenzdisks sind ohne Erwärmen sofort aus dem Kühlschrank heraus verwendbar. 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 Diskbeutel aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Die Disks nach dem Verfallsdatum **nicht** mehr verwenden. Das Verfallsdatum ist auch in dem auf dem Barcode-Ring aufgedruckten Barcode enthalten. Bei Überschreitung des Verfallsdatums der Reagenzien erscheint auf der Anzeige des VetScan-Vollblut-Analysesystems eine Fehlermeldung.

### Anzeichen für instabile oder zerfallene Reagenzdisks (Fortsetzung)

- 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 Serumkontrolle. Die Probenkammer der Reagenzdisk kann eine Probenmenge von bis zu 120 µl aufnehmen.

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

- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor die Probe in die Reagenzdisk transferiert wird. Die Sammelröhrchen vor dem Probentransfer mehrmals vorsichtig überkopfdrehen. Das Sammelröhrchen **nicht** schütteln. Schütteln kann zu Hämolyse führen.
- Der Test muss innerhalb von 10 Minuten nach dem Probentransfer in die Reagenzdisk beginnen.
- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sind innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme zu analysieren. Sollte dies nicht möglich sein, die Probe trennen und in ein sauberes Teströhrchen transferieren.<sup>26</sup> 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.

#### **Bekannte Störsubstanzen**

- Das einzige zur Verwendung mit dem VetScan-Vollblut-Analysesystem empfohlene Antikoagulans ist Lithium-Heparin.
- 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.
- Creatin-Kinase wird sowohl durch helles Tageslicht als auch durch Erhöhen des Proben-pH-Werts auf Grund von Kohlendioxidverlusten inaktiviert. Daher sind die Proben in fest verschlossenen Röhrchen im Dunklen zu lagern.<sup>27</sup>
- Die Glucose-Spiegel werden durch die Zeitdauer seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie auch durch den entnommenen Probentyp beeinflusst. Zur genauen Interpretation der Glucose-Ergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung aufgenommen hat.<sup>28</sup>
- Die Zeitspanne seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten kann die Gallensäuren-Konzentrationen beeinflussen, jedoch können prä- und postprandiale Bestimmungen bei Vögeln auf Grund der schwankenden Speicherung und Einnahme von Kropfeinhalten problematisch sein.
- Der Kalium-Assay des VetScan-Systems ist ein gekoppelter Pyruvatkinase- (PK) / Laktatdehydrogenase- (LDH) Assay. Bei extremem Muskeltrauma oder stark erhöhten Creatinkinasewerten (CK) kann VetScan daher fälschlich erhöhte Kaliumwerte (K<sup>+</sup>) messen. In diesen Fällen sind unerwartet hohe Kaliumwerte mit einer anderen Methode zu bestätigen.

## **8. Verfahren**

### **Lieferumfang**

- Eine VetScan-Vogel/Reptilien-Profil-Plus-Reagenzdisk, Art.-Nr.: 500-1041 (ein Karton mit 12 Disks, Art.-Nr.: 500-0041-12)

### **Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören**

- VetScan-Vollblut-Analysesystem

### **Testparameter**

Für den Betrieb des VetScan-Systems sind Umgebungstemperaturen zwischen 15 und 32 °C (59–92 °F) erforderlich. Die Analysedauer für jede VetScan-Vogel/Reptilien-Profil-Plus-Reagenzdisk beträgt weniger als 14 Minuten. Das Analysesystem hält die Reagenzdisk während des Messintervalls auf einer Temperatur von 37 °C (98,6 °F).

### **Testverfahren**

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

### **Kalibrierung**

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

### **Qualitätskontrolle**

Zur Überprüfung der Genauigkeit des Analysesystems können am VetScan-Vollblut-Analysesystem in regelmäßigen Abständen Kontrollen analysiert werden. Abaxis empfiehlt die Analyse einer handelsüblichen Kontrolle auf Serumbasis. Die 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-Vollblut-Analysesystem berechnet und druckt die Analytkonzentrationen der Probe automatisch aus. Einzelheiten zu den Endpunkt- und Reaktionsgeschwindigkeitsberechnungen sind im Bedienungshandbuch für das VetScan-Vollblut-Analysesystem enthalten.

## 10. Verfahrensgrenzen

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

- **Ein den Assaybereich überschreitendes Ergebnis für einen bestimmten Test sollte mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden. Die Probe nicht verdünnen und erneut im VetScan-Vollblut-Analysesystem testen.**
- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von 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.
- Es wurden nicht alle Vogel-/Reptilien-Arten untersucht. Daher können unbekannte Matrixeffekte auftreten.
- Die Vogel/Reptilien-Profil-Plus-Reagenzdisk ist ausschließlich für Proben von Vögeln und Reptilien vorgesehen.

**Achtung:** Umfassende Prüfungen des VetScan-Systems 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<br>Gebräuchliche Einheiten | SI-Einheiten       |
|------------------|------------------------------------------------|--------------------|
| AST              | 5 – 2000 E/l                                   | 5 – 2000 E/l       |
| BA               | 35 – 200 µmol/l                                | 35 – 200 µmol/l    |
| CK               | 5 – 14000 E/l                                  | 5 – 14000 E/l      |
| UA               | 0,3 – 25,0 mg/dl                               | 18 – 1488 µmol/l   |
| GLU              | 10 – 700 mg/dl                                 | 0,6 – 38,9 mmol/l  |
| CA <sup>++</sup> | 4 – 16 mg/dl                                   | 1,0 – 4,0 mmol/l   |
| PHOS             | 0,2 – 20,0 mg/dl                               | 0,06 – 6,46 mmol/l |
| TP               | 2 – 14 g/dl                                    | 20 – 140 g/l       |
| ALB_BCG          | 1 – 6,5 g/dl                                   | 10 – 65 g/l        |
| GLOB*            | 0 – 13,0 g/dl                                  | 0 – 130 g/l        |
| K+               | 1,5 – 8,5 mmol/l                               | 1,5 – 8,5 mmol/l   |
| NA+              | 110 – 170 mmol/l                               | 110 – 170 mmol/l   |

\* Berechneter Wert

## 12. Literaturverzeichnis

1. Howe PE. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. *J Biol Chem* 1921;49: 93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-108.
3. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977;23: 887-99.
4. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24: 720-1.
5. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
6. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
7. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. *J Biol Chem* 1959;234: 3201-4.
8. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
9. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
10. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;38: 81-110.
11. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
12. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
13. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
14. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
15. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
16. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
17. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-7.
18. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:1528-31.
19. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
20. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-12.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-8.
22. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
23. 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.
24. Feichtmeir TV and Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25: 833-839.
25. Fossati P, et al. Use of 3,5-dichlor-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
27. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:804.
28. Overfield CV, et al. Glycolysis: A Re-Evaluation Of The Effect On Blood Glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.

29. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.

Pour usage vétérinaire seulement

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

Janvier 2023

Réf. : 51630600

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

## 1. Usage prévu

Le rotor de réactif Profil reptile aviaire VetScan® Plus utilisé avec l'analyseur de sang total VetScan utilise des réactifs secs et liquides pour fournir des déterminations quantitatives *in vitro* d'aspartate aminotransférase (AST), d'acides biliaires (BA), de créatine kinase (CK), d'acide uréique (UA), de glucose (GLU), de calcium total ( $CA^{++}$ ), de phosphore (PHOS), de protéine totale (TP), d'albumine (ALB), de globuline\* (GLOB), de potassium ( $K^+$ ), de sodium ( $Na^+$ ) dans du sang total hépariné, du sérum ou du plasma hépariné.<sup>1</sup>

\* Valeur calculée

## 2. Résumé et explication des tests

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

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

|                                         |                                                                                                                          |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aspartate aminotransférase (AST)</b> | Pathologie hépatique, lésions musculaires.                                                                               |
| <b>Acides biliaires (BA)</b>            | Pathologie hépatobiliaire, anomalie vasculaire portosystémique (AVPS), effet shunt extrahépatique.                       |
| <b>Créatine kinase (CK)</b>             | Lésions musculaires, utilisée conjointement avec l'AST pour différencier les lésions musculaires des lésions hépatiques. |
| <b>Acide uréique (UA)</b>               | Meilleur indicateur de santé rénale chez presque tous les oiseaux et reptiles.                                           |
| <b>Glucose (GLU)</b>                    | Pathologie hépatique grave, sepsis, anorexie, pathologie du pancréas.                                                    |
| <b>Phosphore (PHOS)</b>                 | Néphropathie et pathologie nutritionnelle, équilibre des fluides.                                                        |
| <b>Calcium (<math>CA^{++}</math>)</b>   | Production d'œufs, néphropathie et maladie osseuse                                                                       |
| <b>Protéine totale (TP)</b>             | Pathologie hépatique, gastro-intestinale et rénale, déshydratation.                                                      |
| <b>Albumine (ALB)</b>                   | Pathologie hépatique et néphropathie.                                                                                    |
| <b>Globuline (GLOB)</b>                 | La récupération de la globuline se calcule à partir de la TP et l'ALB. Déshydratation, stimulation antigénique.          |
| <b>Potassium (<math>K^+</math>)</b>     | Indicateur de lyse cellulaire et d'équilibre des fluides.                                                                |
| <b>Sodium (<math>Na^+</math>)</b>       | Indicateur d'équilibre des fluides et de déshydratation.                                                                 |

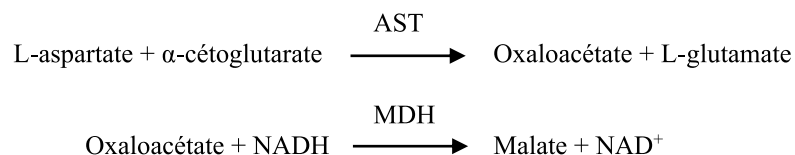


Comme c'est le cas pour toute procédure de test de diagnostic, toutes les autres procédures de test, y compris l'état clinique du patient, doivent être prises en considération avant d'établir un diagnostic définitif.

### 3. Principes de la procédure

#### Aspartate aminotransférase (AST)

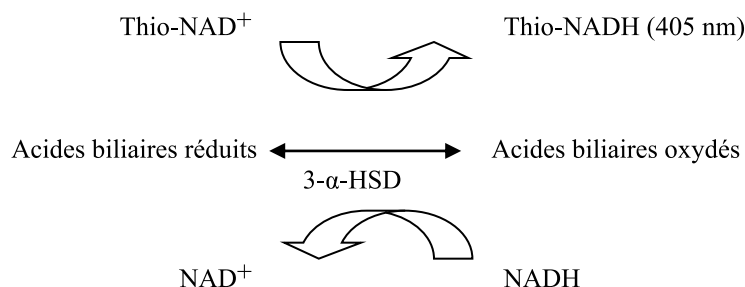
La méthode AST d'Abaxis s'inspire de la méthode de référence de la FICC.<sup>3,4</sup> Cette méthode catalyse la réaction de L-aspartate et  $\alpha$ -cétoglutarate en oxaloacétate et L-glutamate. L'oxaloacétate est converti en malate et le NADH est oxydé en  $\text{NAD}^+$  par le catalyste MDH.



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

#### Acides biliaires (BA)

En présence du thio-dérivé de la nicotinamide adénine dinucléotide (Thio- $\text{NAD}^+$ ), l'enzyme 3- $\alpha$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (3- $\alpha$ -HSD) réoxyde les acides biliaires en acides biliaires oxydés (formes 3- $\alpha$ -cétone) avec la conversion concomitante de la thio- $\text{NAD}^+$  à sa forme réduite (Thio-NADH). Dans une réaction en itération, les acides biliaires oxydés sont renvoyés à leur état réduit en présence d'un excès de NADH. Le NADH est converti en  $\text{NAD}^+$ . Dans le système Abaxis, ce sont des billes de réactif sec qui fournissent les Thio- $\text{NAD}^+$ , NADH et 3- $\alpha$ -HSD. La réaction en itération amplifie les niveaux d'acides biliaires de l'échantillon. Le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 nm (Thio-NADH) est mesuré et est proportionnel à la concentration d'acides biliaires dans l'échantillon. Le taux est mesuré bichromatiquement à 405 nm et 500 nm.

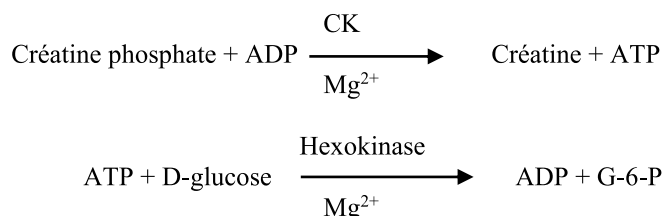


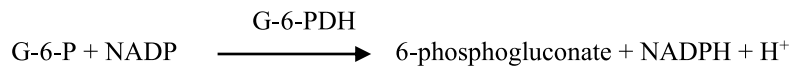
#### Créatine kinase (CK)

La créatine kinase catalyse la phosphorylation réversible de la créatine par l'adénosine triphosphate (ATP).<sup>7</sup>

La procédure de mesure de la CK utilisée par Abaxis s'inspire de celle de la FICC.<sup>8</sup> Les modifications clés sont la fraction de volume des échantillons, le tampon et la température. La N-acétyl cystéine (NAC) a été ajoutée pour redonner de l'activité à la CK.<sup>9</sup> Le magnésium est utilisé comme cofacteur pour la CK et l'hexokinase. L'EDTA a été ajouté pour stabiliser la NAC et pour le retrait de plusieurs cations, tels que le calcium et le fer, qui inhibent la CK.  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di (adénosine-5')pentaphosphate et adénosine monophosphate (AMP) ont également été ajoutés afin d'inhiber l'adenylate kinase, un autre enzyme érythrocyte et du muscle squelettique qui réagit avec les substrats utilisés pour mesurer la CK.

La créatine kinase catalyse la formation de créatine et adénosine triphosphate (ATP) de la créatine phosphate  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di (adénosine 5') pentaphosphate (ADP) à un pH de 6,7. Avec l'hexodine comme catalyste, l'ATP réagit avec le D-glucose afin de former de l'ADP et du D-glucose-6-phosphate (G-6-P), qui réagit au nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) afin de produire du G-6-P et du NADPH.

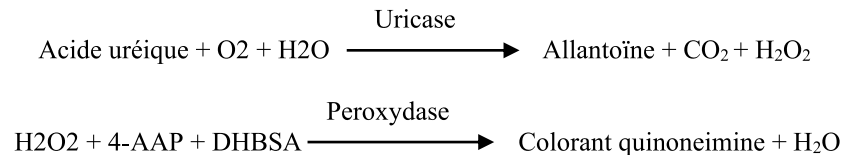




La formation de NADPH est mesurée en fonction de la différence d'absorbance à 340 nm par rapport à 405 nm. Cette différence d'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de la créatine kinase dans l'échantillon.

### Acide uréique (UA)

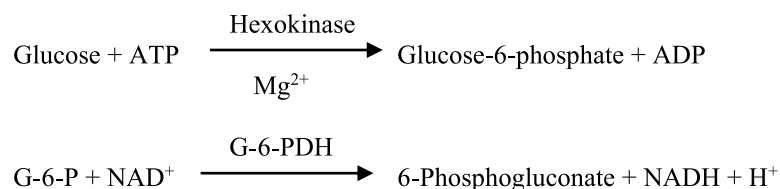
La technique chimique clinique standard pour ce dosage est un enzyme uricase spécifique à l'acide uréique.<sup>24</sup> La méthode de l'uricase est couplée via une finition selon Trinder.<sup>25</sup> Dans cette méthode, l'uricase catalyse l'oxydation de l'acide uréique en allantoiné et peroxyde d'hydrogène. La peroxydase catalyse la réaction parmi le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et l'acide 3,5-dichloro-2-hydroxy-benzène-sulfonique (DHBSA) en un colorant rouge quinoneimine. Du ferrocyanure de sodium et de l'ascorbate oxydase sont ajoutés au mélange de réaction pour minimiser l'interférence éventuelle de bilirubine et d'acide ascorbique.



La quantité d'acide uréique dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du colorant quinoneimine. L'absorbance finale de cette réaction en point final est mesurée bichromatiquement à 515 nm et à 600 nm.

### Glucose (GLU)

Les mesures de la concentration en glucose ont d'abord été effectuées en utilisant les méthodes de réduction du cuivre (telles que Folin-Wu<sup>10</sup> et Somogyi-Nelson<sup>11, 12</sup>). Le manque de spécificité des techniques de réduction du cuivre a conduit au développement de procédures quantitatives qui utilisent les enzymes hexokinase et glucose oxydase. Le test du glucose incorporé au rotor de réactif reptile aviaire est une version modifiée de la méthode hexokinase, qui a été proposée comme base de la méthode de référence au glucose.<sup>13</sup> 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<sup>+</sup>) en NADH.



### Calcium total (CA<sup>++</sup>)

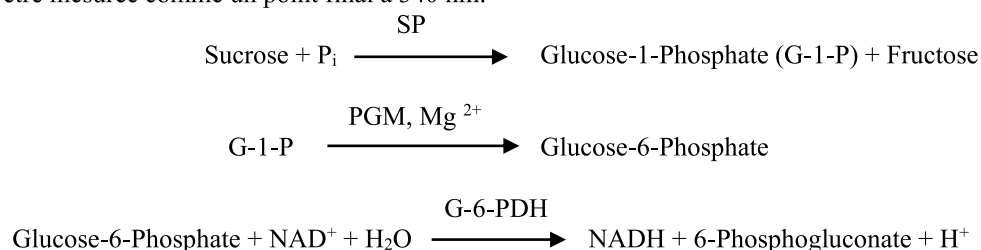
Le calcium dans l'échantillon du patient se lie à l'arsénazo III afin de former un complexe de calcium et de colorant.<sup>5, 6</sup>



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

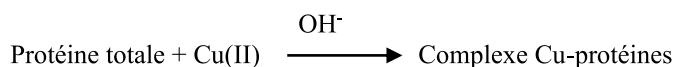
### Phosphore (PHOS)

La méthode enzymatique qui s'applique le mieux au système d'Abaxis utilise le saccharose phosphorylase (SP) couplé dans de la phosphoglucomutase (PGM) et de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH).<sup>14, 15</sup> En utilisant le système enzymatique pour chaque mole de phosphore inorganique présente dans l'échantillon, une mole de NADH est formée. La quantité de NADH formée peut être mesurée comme un point final à 340 nm.



### Protéine totale (TP)

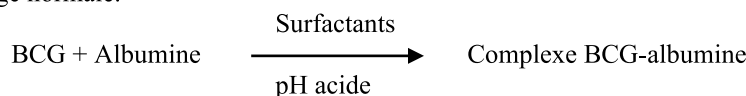
Dans la réaction au biuret, la solution de protéine est traitée avec des ions cupriques [Cu(II)] dans un milieu fortement alcalin. Le tartrate de sodium et de potassium et l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto-réduction du cuivre.<sup>22</sup> Les ions Cu (II) réagissent avec les chaînes peptidiques entre les atomes d'oxygène de carbonyle et d'azote amide afin de former un complexe Cu-protéine coloré.



La quantité de protéines totales présente dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du complexe Cu-protéines. La protéine totale est une réaction au point final

### Albumine (ALB)

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

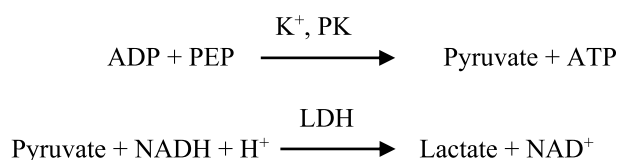


L'albumine liée est proportionnelle à la concentration d'albumine dans l'échantillon. Il s'agit d'une réaction au point final qui est mesurée bichromatiquement à 630 nm et 405 nm.

### Potassium (K<sup>+</sup>)

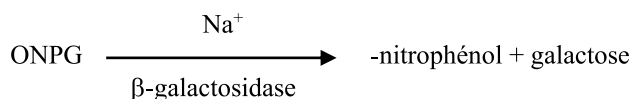
Des méthodes spectrophotométriques permettant de mesurer la concentration de potassium avec des instruments de chimie clinique standard ont été développées. La méthode enzymatique utilisée par Abaxis est fondée sur l'activation du pyruvate kinase (PK) avec le potassium et donne une excellente linéarité ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes.<sup>16, 17, 18</sup> L'interférence provenant du sodium et de l'ion ammonium est minimisée par l'ajout de Kryptofix et de glutamate déshydrogénase respectivement.<sup>18</sup>

Dans la réaction enzymatique couplée, le pyruvate kinase (PK) déphosphoryle le phosphoénolpyruvate (PEP) pour former du pyruvate. Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, le NADH est oxydé en NAD<sup>+</sup>. La cinétique de variation de l'absorbance causée par la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup> est directement proportionnelle à la quantité de potassium dans l'échantillon.



### Sodium (Na<sup>+</sup>)

Il existe des méthodes colorimétriques et enzymatiques qui permettent de mesurer la concentration de sodium à l'aide d'instruments de chimie clinique standard.<sup>19, 20, 21</sup> Dans la réaction enzymatique d'Abaxis, la β-galactosidase est activée par le sodium de l'échantillon. L'enzyme activée catalyse la réaction du o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside (ONPG) en o-nitrophénol et galactose.



La réaction au point final est mesurée comme étant la différence d'absorbance entre 550 nm et 850 nm.

## 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 reptile aviaire VetScan Plus contient des billes de réactifs spécifiques aux essais à sec. Chaque rotor de réactif comprend un réactif à blanc d'échantillon sec (constitué de tampon, surfactants, excipients et conservateurs) afin de calculer les concentrations en albumine, alanine aminotransférase, calcium, créatine kinase, glucose, potassium, sodium et azote uréique. Le rotor comprend un réactif à blanc d'échantillon dédié afin de calculer la concentration des niveaux de protéine totale. Chaque rotor de réactif contient également un diluant composé de surfactants et d'agents conservateurs.

### Avertissements et précautions

- Destiné aux diagnostics *in vitro*
- Le récipient de diluant dans le rotor de réactif s'ouvre automatiquement lorsque le tiroir de l'analyseur se ferme. Un rotor dont le récipient à diluant est ouvert ne peut pas être réutilisé. Vérifier que l'échantillon ou le témoin a bien été placé dans le rotor avant de fermer le tiroir.
- Les billes de réactif peuvent contenir des acides ou des substances caustiques. L'utilisateur n'entre pas en contact avec les billes de réactif lorsqu'il respecte les procédures recommandées. Au cas où les billes seraient manipulées (par exemple, lors du nettoyage, après avoir laissé tomber un rotor de réactif qui s'est cassé), éviter l'ingestion, tout contact avec la peau ou l'inhalation des billes de réactif.
- Les billes de réactif et le diluant 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 leurs sachets scellés à une température entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F). Ne pas exposer des rotors ouverts ou fermés à la lumière directe du soleil ou à des températures supérieures à 32° C (90° F). 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 sang entier VetScan si les réactifs sont périmés.

### Indications d'instabilité/de détérioration du rotor de réactif (Suite)

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

- L'échantillon prélevé dans une micropipette héparinée doit être distribué dans le rotor de réactif **immédiatement** après son prélèvement.
- N'utiliser que des tubes de prélèvement sous vide 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 ça n'est pas possible, séparer l'échantillon et le transférer dans un tube à essai propre.<sup>26</sup> Traiter l'échantillon de sérum ou de plasma séparé dans un délai de 5 heures après la centrifugation. Si cela n'est pas possible, réfrigérer l'échantillon dans un tube à essai muni d'un bouchon à une température comprise entre 2 °C et 8 °C (36 °F et 46 °F), pendant 48 heures au maximum. Un échantillon de plasma ou de sérum peut être conservé à -10° C (14° F) pendant 5 semaines au maximum dans un congélateur non doté d'un cycle de dégivrage automatique.

#### **Substances interférentes connues**

- L'héparine de lithium est l'unique anticoagulant dont l'utilisation est recommandée avec l'analyseur de sang entier VetScan.
- Les substances physiologiques interférentes (hémolyse, ictère et lipémie) peuvent entraîner des variations des concentrations telles que relevées dans certains analytes. Les indices des échantillons sont imprimés au bas de chaque fiche de résultats afin d'informer l'utilisateur des taux des substances interférentes présentes dans chaque échantillon. L'analyseur de sang total VetScan supprime tout résultat affecté par une interférence significative due à une hémolyse, une lipémie ou un ictère. Le symbole « HEM », « LIP » ou « ICT » respectivement sera imprimé sur la fiche de résultats à la place du résultat.
- La créatine kinase est activée à la fois par la lumière du jour et en augmentant le pH de l'échantillon en raison d'une perte de dioxyde de carbone. Les échantillons doivent donc être stockés à l'abri de la lumière dans des tubes bien fermés.<sup>27</sup>
- Les concentrations de glucose sont affectées par le temps écoulé depuis le dernier repas du patient et par le type d'échantillon prélevé sur ce patient. Pour obtenir une interprétation précise des résultats de glucose, les échantillons doivent être prélevés lorsque le patient est à jeun depuis au moins 12 heures.<sup>28</sup>
- Les concentrations d'acides biliaires peuvent être affectées par le temps écoulé depuis le dernier repas du patient. Il peut cependant s'avérer difficile de procéder à des mesures pré et postprandiales chez les oiseaux en raison de la variabilité du stockage et de l'ingestion du contenu de la poche ventrale.
- Le dosage du potassium dans le système VetScan est un dosage associant la pyruvate kinase (PK) et la lactate déshydrogénase (LDH). Par conséquent, en cas de traumatisme musculaire très étendu ou en présence d'un taux de créatinine kinase (CK) extrêmement élevé, le système VetScan peut recouvrer une valeur de potassium (K+) faussement élevée. En pareils cas, l'obtention d'un taux de potassium élevé de façon inattendue doit être confirmée par une autre méthode de dosage.

## **8. Procédure**

### **Matériel fourni**

- Un rotor de réactif Profil reptile aviaire VetScan Plus, réf. No : 500-1041 (Réf. d'une boîte de 12 rotors : 500-0041-12)

### **Matériel nécessaire mais non fourni**

- Analyseur chimique de sang entier VetScan

### **Paramètres de test**

Le système VetScan fonctionne à des températures ambiantes comprises entre 15° C et 32° C (59° F et 92° F). Le temps d'analyse pour chaque rotor de réactif Profil reptile aviaire VetScan Plus est inférieur à 14 minutes. L'analyseur maintient le rotor de réactif à une température de 37 °C (98,6 °F) pendant la durée de la mesure.

### **Procédure de test**

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

### **Étalonnage**

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

### **Contrôle qualité**

Des témoins peuvent être régulièrement analysés sur l'analyseur de sang entier VetScan afin de vérifier son exactitude. Abaxis recommande l'exécution d'un témoin à base de sérum disponible dans le commerce. 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 sang entier VetScan calcule et imprime automatiquement les concentrations des analytes dans l'échantillon. Les calculs des réactions à point final et de la cinétique sont expliqués en détail dans le manuel de l'utilisateur du système VetScan.

## 10. Limitations de la procédure

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

- **Si le résultat d'un test spécifique dépasse la plage de dosage, l'échantillon doit être analysé à l'aide d'une autre méthode de test approuvée ou il doit être envoyé à un laboratoire de référence. Ne pas diluer l'échantillon et le réanalyser dans l'analyseur de sang entier 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.
- Les espèces d'oiseaux/de reptiles n'ont pas toutes été étudiées. Par conséquent, des effets de matrice inconnus sont possibles.
- Le rotor de réactif Profil reptile aviaire Plus a été conçu pour des échantillons d'oiseaux et de reptiles uniquement.

**Attention :** Des tests étendus du système 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<br>Unités communes | Unités SI          |
|------------------|--------------------------------------|--------------------|
| AST              | 5 – 2000 U/L                         | 5 – 2000 U/L       |
| BA               | 35 – 200 µmol/L                      | 35 – 200 µmol/L    |
| CK               | 5 – 14000 U/L                        | 5 – 14000 U/L      |
| UA               | 0,3 – 25,0 mg/dL                     | 18 – 1488 µmol/L   |
| GLU              | 10 – 700 mg/dL                       | 0,6 – 38,9 mmol/L  |
| CA <sup>++</sup> | 4 – 16 mg/dL                         | 1,0 – 4,0 mmol/L   |
| PHOS             | 0,2 – 20,0 mg/dL                     | 0,06 – 6,46 mmol/L |
| TP               | 2 – 14 g/dL                          | 20 – 140 g/dL      |
| ALB_BCG          | 1 – 6,5 g/dL                         | 10 – 65 g/dL       |
| GLOB*            | 0 – 13,0 g/dL                        | 0 – 130 g/dL       |
| K <sup>+</sup>   | 1,5 – 8,5 mmol/L                     | 1,5 – 8,5 mmol/L   |
| NA <sup>+</sup>  | 110 – 170 mmol/L                     | 110 – 170 mmol/L   |

\* Valeur calculée

## 12. Bibliographie

1. Howe PE. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. *J Biol Chem* 1921;49: 93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-108.
3. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977;23: 887-99.
4. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24: 720-1.
5. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
6. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
7. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. *J Biol Chem* 1959;234: 3201-4.
8. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
9. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
10. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;38: 81-110.
11. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
12. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
13. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
14. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
15. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
16. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
17. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-7.
18. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:1528-31.
19. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
20. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-12.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-8.
22. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
23. 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.
24. Feichtmeir TV and Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25: 833-839.
25. Fossati P, et al. Use of 3,5-dichlor-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
27. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:804.
28. Overfield CV, et al. Glycolysis: A Re-Evaluation Of The Effect On Blood Glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.

29. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.



**Exclusivamente para uso veterinario**

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

**Enero 2023**

**PN: 51630600**

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

## 1. Indicaciones

El rotor reactivo de perfil de reptil/ave VetScan® Plus utilizado con el analizador de sangre entera VetScan utiliza reactivos secos y líquidos para proporcionar determinaciones cuantitativas *in vitro* de aspartato aminotransferasa (AST), ácidos biliares (BA), creatina quinasa (CK), ácido úrico (UA), glucosa (GLU), calcio total (CA<sup>++</sup>), fósforo (PHOS), proteína total (TP), albúmina (ALB), globulina\* (GLOB), potasio (K<sup>+</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>) en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero<sup>1</sup>.

\* Valor calculado

## 2. Resumen y explicación de las pruebas

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

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

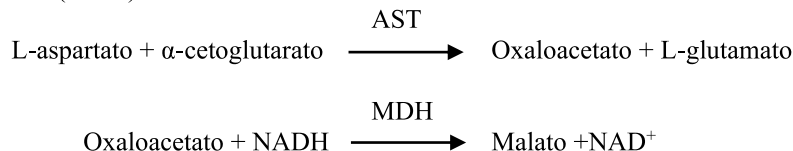
|                                         |                                                                                                        |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aspartato aminotransferasa (AST)</b> | Enfermedad del hígado, daño muscular.                                                                  |
| <b>Ácidos biliares (BA)</b>             | Enfermedad hepatobiliar; anomalía vascular portosistémica (PSVA); derivación extrahepática.            |
| <b>Creatina quinasa (CK)</b>            | Daño muscular, utilizado junto con AST para diferenciar entre daño del hígado y daño muscular.         |
| <b>Ácido úrico (AU)</b>                 | Es el mejor indicador de la salud renal en casi todos los pájaros y reptiles.                          |
| <b>Glucosa (GLU)</b>                    | Enfermedad grave del hígado; sepsis; anorexia; enfermedad pancreática.                                 |
| <b>Fósforo (PHOS)</b>                   | Enfermedad renal y nutricional; balance de fluidos.                                                    |
| <b>Calcio (CA<sup>++</sup>)</b>         | Producción de huevos; enfermedad ósea y renal.                                                         |
| <b>Proteína total (TP)</b>              | Enfermedades del hígado, gastrointestinales y del riñón; deshidratación.                               |
| <b>Albúmina (ALB)</b>                   | Enfermedades del hígado y del riñón.                                                                   |
| <b>Globulina (GLOB)</b>                 | La recuperación de globulina se calcula a partir de TP y ALB. Deshidratación; estimulación antigénica. |
| <b>Potasio (K<sup>+</sup>)</b>          | Indicador de lisis celular, y balance de fluidos.                                                      |
| <b>Sodio (NA<sup>+</sup>)</b>           | Indicador de balance de fluidos y deshidratación.                                                      |

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

#### Aspartato aminotransferasa (AST)

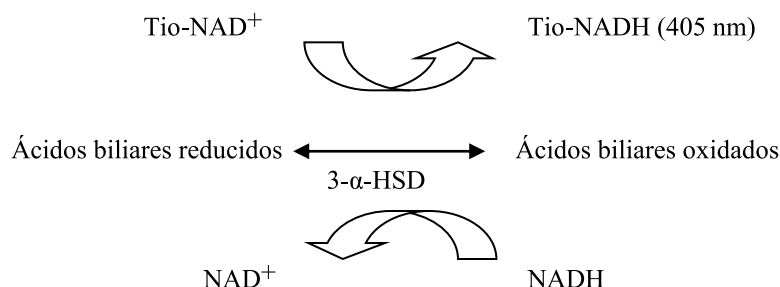
El método AST de Abaxis es una modificación del método de referencia de IFCC<sup>3,4</sup>. Este método cataliza la reacción de L-aspartato y  $\alpha$ -cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato se convierte en malato y NADH se oxida a  $\text{NAD}^+$  por la enzima malato deshidrogenasa (MDH).



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

#### Ácidos biliares (BA)

En presencia del tioderivado de la nicotinamida adenina dinucleótido (Tio-NAD<sup>+</sup>), la enzima 3- $\alpha$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3- $\alpha$ -HSD) oxida de manera reversible los ácidos biliares a ácidos biliares oxidados (formas 3- $\alpha$ -ceto) con la conversión concomitante del Tio-NAD<sup>+</sup> a su forma reducida (Tio-NADH). En una reacción cíclica, los ácidos biliares oxidados son devueltos a su estado reducido ante la presencia de un exceso de NADH. El NADH se convierte a  $\text{NAD}^+$ . En el sistema Abaxis, se suministran Tio-NAD<sup>+</sup>, NADH y 3- $\alpha$ -HSD como soportes sólidos reactivos secos. La reacción cíclica amplifica los niveles de ácidos biliares de la muestra. Se mide la tasa de aumento en la absorbancia a 405 nm (Tio-NADH), la cual es proporcional a la concentración de ácidos biliares en la muestra. La tasa se mide bicromáticamente a 405 nm y 500 nm.

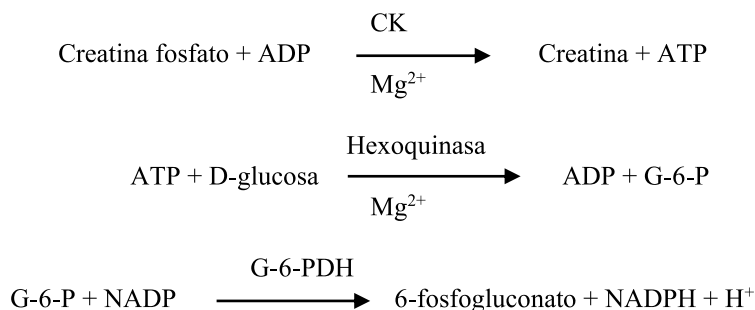


#### Creatina quinasa (CK)

La creatina quinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina por la adenosina trifosfato (ATP)<sup>7</sup>.

El procedimiento de medición de CK utilizado por Abaxis es una versión modificada del IFCC<sup>8</sup>. Las modificaciones clave son la fracción volumétrica de la muestra, amortiguador y temperatura. Se agregó n-acetilo cisteína (NAC) para reactivar la CK<sup>9</sup>. Se usó magnesio como cofactor para la CK y la hexoquinasa. Se agregó EDTA como estabilizador NAC y para la eliminación de varios cationes, como el calcio y el hierro, que inhiben a la CK. También se agregaron  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di (adenosina-5') pentafofato y adenosina monofosfato (AMP) para inhibir la adenilato quinasa, otra enzima de músculo esquelético y eritrocitos que reacciona con los sustratos utilizados para medir la CK.

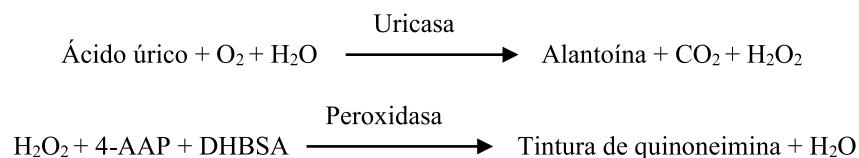
La creatina quinasa cataliza la formación de creatina y adenosina trifosfato (ATP) a partir de creatina fosfato  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di (adenosina 5') pentafofato (ADP) a pH 6,7. Con hexoquinasa como catalizador, ATP reacciona con D-glucosa para formar ADP y d-glucosa-6-fosfato (G-6-P), que reacciona con nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) para producir G-6-P y NADPH.



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

### Ácido úrico (AU)

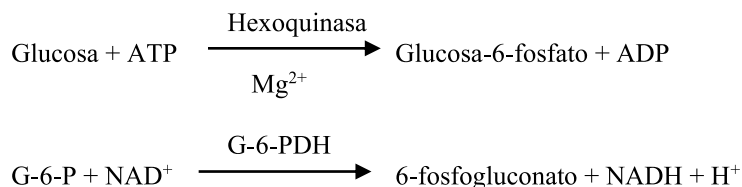
La técnica química clínica estándar para este ensayo es una uricasa enzimática específica al ácido úrico<sup>24</sup>. El método de la uricasa se acopla por medio de un acabado Trinder<sup>25</sup>. En este método, la uricasa cataliza la oxidación del ácido úrico a alantoína y a peróxido de hidrógeno. La peroxidasa cataliza la reacción entre el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), la 4-aminoantipirina (4-AAP) y el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzenesulfónico (DHBSA) en una coloración de rojo quinoneimina. Se agrega ferrocianuro sódico y ascorbato oxidasa a la mezcla de la reacción para minimizar la potencial interferencia de bilirrubina y ácido ascórbico.



La cantidad de ácido úrico en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia de la coloración de quinoneimina. La absorbancia final de esta reacción de punto final se mide bicromáticamente a 515 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<sup>10</sup> y Somogyi-Nelson<sup>11, 12</sup>). 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 incorporada en el rotor reactivo de perfil de reptil/ave es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa<sup>13</sup>. 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<sup>+</sup>) a NADH.



### Calcio total (CA<sup>++</sup>)

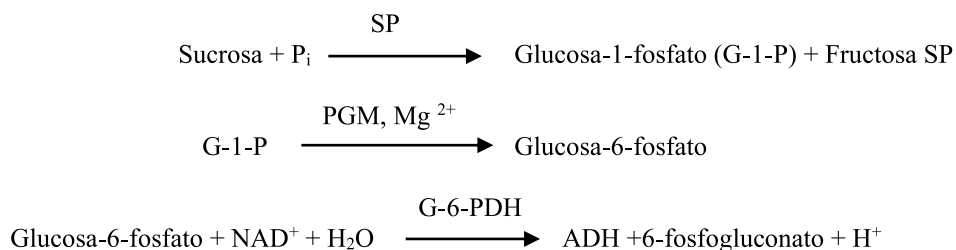
El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio<sup>5, 6</sup>.



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

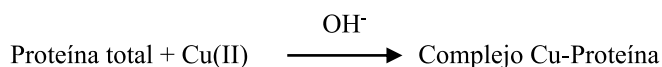
### Fósforo (PHOS)

El método enzimático más válido para el sistema Abaxis utiliza sacarosa fosforilasa (SP) acoplada a través de la fosfoglucomutasa (PGM) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH).<sup>14, 15</sup> Mediante el sistema enzimático, por cada mol de fósforo inorgánico presente en la muestra, se forma un mol de NADH. La cantidad de NADH formado se mide como un criterio de valoración a 340 nm.



### Proteína total (TP)

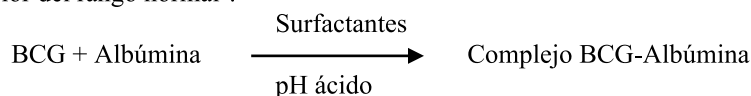
En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartato sódico de potasio e ioduro de potasio para impedir la precipitación del hidróxido de cobre y la auto-reducción del cobre, respectivamente<sup>22</sup>. Los iones 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 la proteína total es una reacción de punto final.

### Albúmina (ALB)

Los métodos usados con mayor frecuencia para la determinación de la albúmina son las técnicas de unión a colorantes. El verde de bromocresol (BCG) es el más común de los métodos de unión al colorante, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, en especial en el extremo inferior del rango normal<sup>2</sup>.

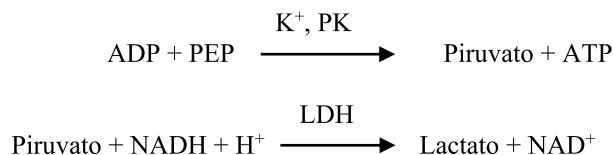


La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción final que se mide bicromáticamente a 630 nm y 405 nm.

### Potasio (K<sup>+</sup>)

Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. El método enzimático Abaxis se basa en la activación de la piruvato quinasa (PK) con potasio, y muestra una linealidad excelente y una susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas<sup>16, 17, 18</sup>. La interferencia de los iones sodio y amoníaco se reduce al mínimo al añadir Kryptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente<sup>18</sup>.

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la PK desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactatodeshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD<sup>+</sup>. La velocidad de cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD<sup>+</sup> es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.



### Sodio (Na<sup>+</sup>)

Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración de sodio mediante instrumentación química clínica estándar<sup>19, 20, 21</sup>. En la reacción enzimática de Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio presente en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.



y la absorbancia se miden como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

## 4. Principios de la operación

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

## 5. Descripción de los reactivos

### Reactivos

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

### Advertencias y precauciones

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

### Instrucciones para la manipulación de los reactivos

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

### Almacenamiento

Almacene 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 de sangre entera VetScan.

### Indicaciones de inestabilidad o deterioro del rotor reactivo, continuación

- 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 del sistema 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 suero de control. La cámara de muestra del rotor reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

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

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al rotor reactivo. Invierta cuidadosamente los tubos para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. **No** agite el tubo de recolección. La agitación puede causar hemólisis.
- La prueba debe comenzarse en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al rotor reactivo.
- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en los 60 minutos de la recolección; si esto no es posible, separe la muestra y transfírela a un tubo de ensayo limpio<sup>26</sup>. 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.

#### **Sustancias conocidas como interferencias**

- El único anticoagulante recomendado para uso con el analizador de sangre entera VetScan es heparina de litio.
- Los interferentes físicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) pueden causar cambios en las concentraciones informadas de algunos analitos. Los índices de la muestra son impresos en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra. El analizador de sangre entera VetScan suprime cualquier resultado que se vea afectado por una interferencia significativa por hemólisis, lipemia o ictericia. “HEM”, “LIP” o “ICT” se imprime en la tarjeta de resultado en vez del resultado.
- La creatina quinasa es inactivada tanto por la luz diurna brillante como por el aumento del pH de la muestra debido a una pérdida de dióxido de carbono. Por esta razón, las muestras deben almacenarse a oscuras en tubos herméticamente cerrados<sup>27</sup>.
- Las concentraciones de glucosa se ven afectadas por el plazo transcurrido entre el momento en el que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida del paciente. Para interpretar con precisión los resultados de la glucosa, se deben obtener las muestras de un paciente que haya estado en ayunas durante un mínimo de 12 horas<sup>28</sup>.
- Las concentraciones de ácidos biliares pueden verse afectadas por el tiempo transcurrido desde que ha comido el paciente; sin embargo, las mediciones pre- y post-prandiales en los pájaros pueden representar un desafío, debido a la variabilidad en el almacenamiento e ingestión del contenido de los cultivos.
- La prueba de potasio del sistema VetScan es un ensayo de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH) acoplados. Por tanto, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el VetScan puede recuperar un valor de potasio (K+) falsamente elevado. En casos como éste, los valores de recuperación de potasio inesperadamente altos deben confirmarse con otra metodología.

## **8. Procedimiento**

### **Materiales suministrados**

- Un rotor reactivo de perfil de reptil/ave VetScan Plus PN: 500 -1041 (una caja de 12 rotores, PN: 500-0041-12)

### **Materiales necesarios pero no suministrados**

- Analizador químico de sangre entera VetScan

### **Parámetros de prueba**

El sistema VetScan opera a temperaturas ambientes entre 15° C y 32° C (59-92° F). El tiempo de análisis para cada rotor reactivo de perfil de reptil/ave VetScan Plus es de menos de 14 minutos. El analizador mantiene el rotor reactivo a una temperatura de 37° C (98,6° F) durante el intervalo de medición.

### **Procedimiento de prueba**

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

### **Calibrado**

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

### **Control de calidad**

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

## 9. Resultados

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

## 10. Limitaciones del procedimiento

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

- **Si un resultado para una prueba particular supera los valores del análisis, la muestra deberá analizarse por otro método de prueba homologada o enviarse a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador de sangre entera VetScan.**
- Las muestras con hematocritos que excedan del 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.
- No se han estudiado todas las especies de aves y reptiles. Por esta razón, es posible que existan efectos desconocidos de matriz.
- El rotor reactivo de perfil de reptil/ave VetScan Plus ha sido diseñado únicamente para muestras de pájaros y reptiles.

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

## 11. Características de eficacia

### Linealidad

La química para cada analito es lineal a lo largo del intervalo dinámico enumerado a continuación cuando el sistema VetScan se opera de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del sistema VetScan). 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        |
| AST              | 5 – 2000 U/l         | 5 – 2000 U/l       |
| BA               | 35 – 200 µmol/l      | 35 – 200 µmol/l    |
| CK               | 5 – 14000 U/l        | 5 – 14000 U/l      |
| UA               | 0,3 – 25,0 mg/dl     | 18 – 1488 µmol/l   |
| GLU              | 10 – 700 mg/dl       | 0,6 – 38,9 mmol/l  |
| CA <sup>++</sup> | 4 – 16 mg/dl         | 1,0 – 4,0 mmol/l   |
| PHOS             | 0,2 – 20,0 mg/dl     | 0,06 – 6,46 mmol/l |
| TP               | 2 – 14 g/dl          | 20 – 140 g/l       |
| ALB_BCG          | 1 – 6,5 g/dl         | 10 – 65 g/l        |
| GLOB*            | 0 – 13,0 g/dl        | 0 – 130 g/l        |
| K <sup>+</sup>   | 1,5 – 8,5 mmol/l     | 1,5 – 8,5 mmol/l   |
| NA <sup>+</sup>  | 110 – 170 mmol/l     | 110 – 170 mmol/l   |

\* Valor calculado

## 12. Bibliografia

1. Howe PE. The used of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of protein in blood. *J Biol Chem* 1921;49: 93-107.
2. Webster D, AHC Bignell, EC Atwood. An assessment on the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974;53:101-108.
3. Bergmeyer, HU, GN Bowers Jr, et al. Provisional recommendations on IFCC methods of catalytic concentrations of enzymes, Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977;23: 887-99.
4. Bergmeyer, HU, M Horder, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24: 720-1.
5. Kessler G, M Wolfman. An Automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964;10: 686-703.
6. Michaylova V, P Ilkova. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53: 194-8.
7. Tanzer MI, Gilvarg C. Creatine and Creatine Kinase Measurement. *J Biol Chem* 1959;234: 3201-4.
8. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. *Clin Chim Acta*, IFCC Sections: 1979; 98:163-74.
9. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
10. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;38: 81-110.
11. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
12. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
13. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
14. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination *Anal Biochem* 1967;19:300-14.
15. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
16. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
17. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-7.
18. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:1528-31.
19. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
20. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-12.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-8.
22. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
23. 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.
24. Feichtmeir TV and Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25: 833-839.
25. Fossati P, et al. Use of 3,5-dichlor-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
27. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:804.
28. Overfield CV, et al. Glycolysis: A Re-Evaluation Of The Effect On Blood Glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.



29. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.

**Esclusivamente per uso veterinario**

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

**Gennaio 2023**

**N. parte: 51630600**

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

## 1. Uso previsto

Il rotore reagente Profilo rettilo/volatili VetScan® Plus usato con l'analizzatore di sangue intero VetScan impiega reagenti secchi e liquidi per fornire determinazioni quantitative *in vitro* di aspartato aminotransferasi (AST), acidi biliari (BA), creatina chinasi (CK), acido urico (UA), glucosio (GLU), calcio totale ( $CA^{++}$ ), fosforo (PHOS), proteine totali (TP), albumina (ALB), globulina\* (GLOB), potassio ( $K^{+}$ ) e sodio ( $Na^{+}$ ) in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.<sup>1</sup>

\* Valore calcolato

## 2. Sommario e spiegazione dei test

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

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

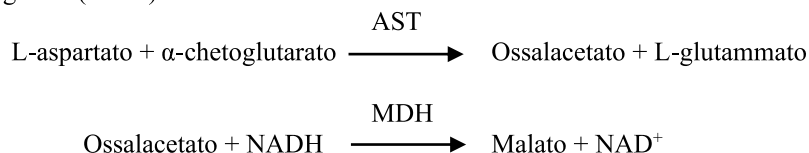
|                                         |                                                                                                  |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Aspartato aminotransferasi (AST)</b> | Malattia epatica, danno muscolare.                                                               |
| <b>Acidi biliari (BA)</b>               | Malattia epatobiliare; anomalia vascolare portosistemica (PSVA); shunt extraepatico.             |
| <b>Creatina chinasi (CK)</b>            | Danno muscolare, usato in combinazione con AST per differenziare tra danno muscolare ed epatico. |
| <b>Acido urico (UA)</b>                 | Miglior indicatore della salute renale in quasi tutti i volatili e i rettili.                    |
| <b>Glucosio (GLU)</b>                   | Malattia epatica grave; sepsi; anoressia; malattia pancreatica.                                  |
| <b>Fosforo (PHOS)</b>                   | Malattia renale e nutrizionale; bilancio idroelettrolitico.                                      |
| <b>Calcio (<math>CA^{++}</math>)</b>    | Produzione di uova; malattia ossea e renale.                                                     |
| <b>Proteine totali (TP)</b>             | Malattia epatica, gastrointestinale e renale; disidratazione.                                    |
| <b>Albumina (ALB)</b>                   | Malattia epatica e renale.                                                                       |
| <b>Globulina (GLOB)</b>                 | Il recupero globulinico si calcola da TP e ALB. Disidratazione; stimolazione antigenica.         |
| <b>Potassio (<math>K^{+}</math>)</b>    | Indicatore di lisi cellulare bilancio idroelettrolitico.                                         |
| <b>Sodio (<math>Na^{+}</math>)</b>      | Indicatore di bilancio idroelettrolitico e disidratazione.                                       |

**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

#### Aspartato aminotransferasi (AST)

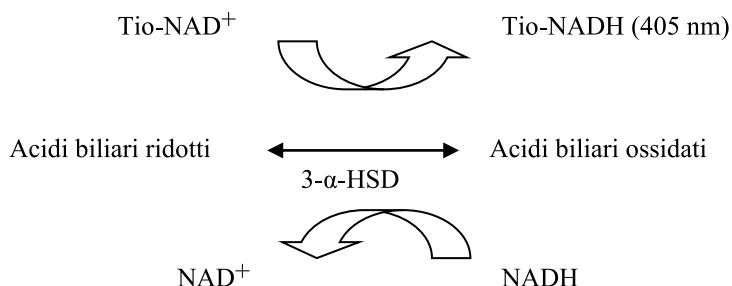
Il metodo Abaxis AST è una modificazione del metodo di riferimento IFCC.<sup>3,4</sup> Questo metodo catalizza la reazione di L-aspartato e  $\alpha$ -chetoglutarato in ossalacetato ed L-glutammato. L'ossalacetato è convertito in malato e l' $\text{NADH}$  viene ossidato in  $\text{NAD}^+$  dall'enzima malato deidrogenasi (MDH).



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

#### Acidi biliari (BA)

In presenza del tio-derivato del nicotinammide adenin dinucleotide (tio- $\text{NAD}^+$ ), l'enzima 3- $\alpha$ -idrossisteroide deidrogenasi (3- $\alpha$ -HSD) ossida in modo reversibile gli acidi biliari in acidi biliari ossidati (forme 3- $\alpha$ -cheto) con concomitante conversione di tio- $\text{NAD}^+$  nella rispettiva forma ridotta (tio- $\text{NADH}$ ). In una reazione ciclica, gli acidi biliari ossidati sono riportati allo stato ridotto in presenza di  $\text{NADH}$  in eccesso. L' $\text{NADH}$  viene convertito in  $\text{NAD}^+$ . Nel sistema Abaxis, tio- $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADH}$  e 3- $\alpha$ -HSD sono forniti come microsfele secche di reagente. La reazione ciclica amplifica i livelli di acidi biliari dal campione. La velocità di aumento nell'assorbanza a 405 nm (tio- $\text{NADH}$ ) viene misurata ed è proporzionale alla concentrazione di acidi biliari nel campione. La velocità viene misurata bicromaticamente a 405 e 500 nm.

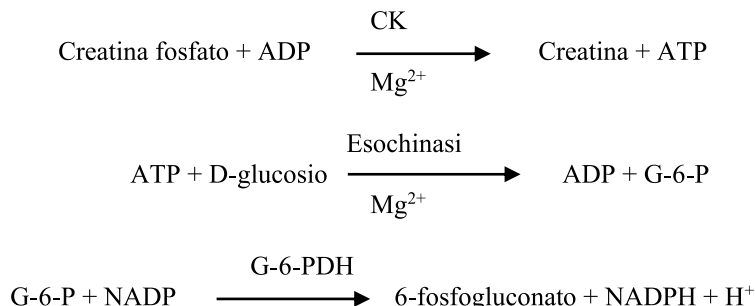


#### Creatina chinasi (CK)

La creatina chinasi catalizza la fosforilazione reversibile della creatina da parte dell'adenosina trifosfato (ATP).<sup>7</sup>

La procedura di misurazione della CK adottata da Abaxis è una variante dell'IFCC. Le modificazioni chiave sono frazione di volume del campione, tampone e temperatura. È stata aggiunta N-acetil cisteina (NAC) per riattivare CK.<sup>9</sup> Il magnesio è usato come cofattore sia per CK che per esochinasi. È stato aggiunto EDTA come stabilizzatore per NAC e per la rimozione di vari cationi, quali calcio e ferro, che inibiscono CK. Sono stati inoltre aggiunti  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di (adenosina-5')pentaosfato e adenosina monofosfato (AMP) per inibire l'adenilato chinasi, un altro enzima eritrocitario e muscoloscheletrico che reagisce con i substrati usati per misurare CK.

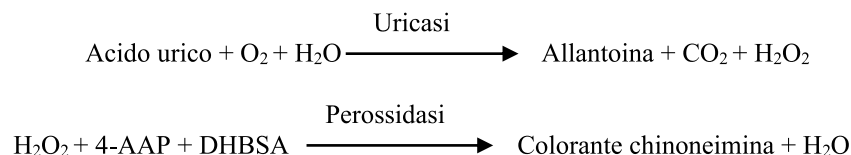
La creatina chinasi catalizza la formazione di creatina e adenosina trifosfato (ATP) da creatina fosfato  $\text{P}^1$ ,  $\text{P}^5$ -di (adenosina 5')pentaosfato (ADP) a pH 6,7. Con esochinasi come catalizzatore, l'ATP reagisce con il D-glucosio formando ADP e D-glucosio-6-fosfato (G-6-P), che a sua volta reagisce con nicotinammide adenin dinucleotide fosfato (NADP) in presenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) per produrre G-6-P e NADPH.



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

### Acido urico (UA)

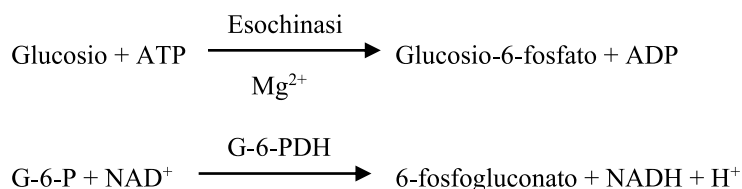
La tecnica di chimica clinica standard per questo dosaggio utilizza l'enzima uricasi specifico per l'acido urico.<sup>24</sup> Il metodo dell'uricasi si abbina a un reagente Trinder.<sup>25</sup> In questo metodo, l'uricasi catalizza l'ossidazione dell'acido urico in allantoina e perossido di idrogeno. La perossidasi catalizza la reazione tra perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 4-aminotantipirina (4-AAP) e acido 3,5-dicloro-2-idrossibenzenzolfonico (DHBSA) in chinoneimina colorante rosso. Il ferrocianuro di sodio e l'ascorbato ossidasi vengono aggiunti alla miscela di reazione per ridurre al minimo la possibile interferenza della bilirubina e dell'acido ascorbico.



La quantità di acido urico nel campione è direttamente proporzionale all'assorbanza del colorante chinoneimina. L'assorbanza finale di questa reazione di endpoint viene misurata bicompativamente a 515 nm e 600 nm.

### Glucosio (GLU)

Le prime misurazioni della concentrazione di glucosio furono effettuate con metodi basati sulla riduzione del rame (ad esempio Folin-Wu<sup>10</sup> e Somogyi-Nelson<sup>11,12</sup>). 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 incorporato nel rotore reagente rettili/volatili è una variante del metodo dell'esochinasi proposto come base del metodo di riferimento per il glucosio.<sup>13</sup> 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<sup>+</sup>) in NADH.



### Calcio totale (CA<sup>++</sup>)

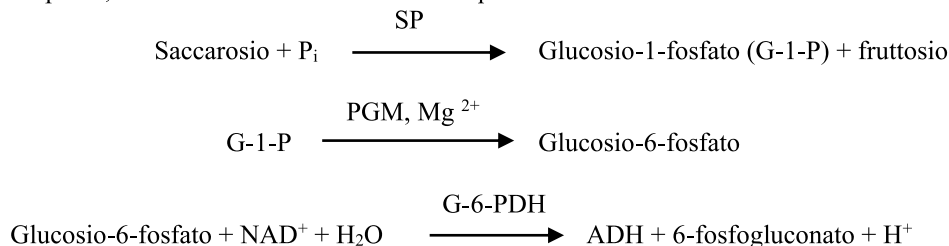
Il calcio presente nel campione prelevato dal paziente si lega con l'arsenazo III formando un complesso calcio-colorante.<sup>5,6</sup>



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

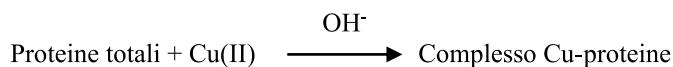
### Fosforo (PHOS)

Il metodo enzimatico più adatto per il sistema Abaxis utilizza saccarosio fosforilasi (SP) in combinazione con fosfoglucomutasi (PGM) e glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH).<sup>14, 15</sup> Applicando il sistema enzimatico a ciascuna mole di fosforo inorganico presente nel campione, si forma una mole di NADH. La quantità di NADH formata si misura come endpoint a 340 nm.



### Proteine totali (TP)

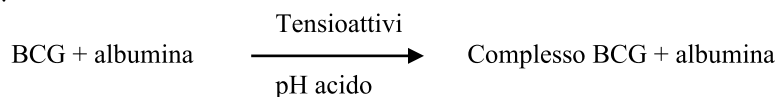
Nella reazione del biureto, la soluzione proteica è trattata con ioni rame [Cu(II)] in un terreno fortemente alcalino. Vengono aggiunti tartrato di sodio e potassio e ioduro di potassio per impedire rispettivamente la precipitazione di idrossido di rame (II) e l'autoriduzione del rame.<sup>22</sup> Gli 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.

#### Albumina (ALB)

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

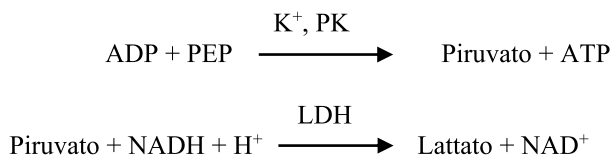


L'albumina legata è proporzionale alla concentrazione di albumina nel campione. Questa è una reazione di endpoint che viene misurata bicompativamente a 630 nm e 405 nm.

#### Potassio (K<sup>+</sup>)

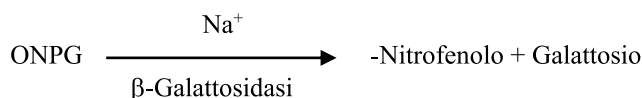
Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico Abaxis si basa sull'attivazione della piruvato chinasi (PK) con il potassio e presenta linearità eccellente e sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.<sup>16, 17, 18</sup> L'interferenza degli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e di glutammato deidrogenasi.<sup>18</sup>

Nella reazione enzimatica accoppiata, PK defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l'<sup>1</sup>NADH viene ossidato in NAD<sup>+</sup>. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell'<sup>1</sup>NADH in NAD<sup>+</sup> è direttamente proporzionale alla quantità di potassio nel campione.



#### Sodio (Na<sup>+</sup>)

Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.<sup>19, 20, 21</sup> Nella reazione enzimatica Abaxis, la β-galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione di o-nitrofenil-β-D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



e l'assorbanza è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 850 nm.

#### 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 rettili/volatili VetScan Plus contiene microsfere secche di reagente specifico per il test. Ogni rotore reagente comprende un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) utilizzato per calcolare le concentrazioni di albumina, alanina aminotransferasi, calcio, creatina chinasi, glucosio, potassio, sodio e azoto ureico. Il rotore comprende un campione bianco dedicato per calcolare la concentrazione dei livelli di proteine totali. Ciascun rotore reagente contiene anche un diluente composto da tensioattivi e conservanti.

## Avvertenze e precauzioni

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

## Istruzioni per la manipolazione del reagente

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

## Conservazione

Conservare i rotori reagente nei sacchetti sigillati a 2-8 °C (36-46 °F). Non esporre i rotori, aperti o ancora sigillati, a luce solare diretta o temperature superiori a 32 °C (90°F). 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 di sangue intero VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.

## Indicazioni di instabilità o deterioramento del rotore reagente – (cont.)

- 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 del sistema 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 di siero. La camera del campione su rotore reagente può contenere fino a 120 µL di campione.

- Il campione raccolto in una micropipetta eparinizzata deve essere dispensato nel rotore reagente **subito** dopo la raccolta.
- Per campioni di sangue intero o di plasma, utilizzare solo provette per prelievo sottovuoto con litio eparina (tappo verde). Per campioni di siero, utilizzare provette per prelievo sottovuoto senza additivi (tappo rosso) o provette per separazione del siero (tappo rosso o rosso/nero).
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente le provette di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. **Non** agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta; qualora ciò non fosse possibile, separare il campione e trasferirlo in una provetta pulita.<sup>26</sup> Analizzare il campione di siero o plasma separato entro 5 ore dalla centrifugazione. Qualora ciò non fosse possibile, refrigerare il campione in una provetta tappata a 2-8 °C (36-46 °F) per non più di 48 ore. Un campione di plasma o siero può essere conservato a -10 °C (14 °F) per un massimo di 5 settimane in un congelatore privo di ciclo di autoscongelo.

### Sostanze interferenti conosciute

- L'unico anticoagulante raccomandato per l'uso con l'analizzatore di sangue intero VetScan è la litio eparina.
- Gli interferenti fisici (emolisi, ittero e lipemia) possono causare variazioni nelle concentrazioni refertate di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. L'analizzatore di sangue intero VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza significativa dovuta a emolisi, lipemia o ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- La creatina chinasi viene inattivata sia da luce solare intensa che dall'aumento del pH del campione a causa di perdita di anidride carbonica. Conservare pertanto i campioni al buio in provette accuratamente tappate.<sup>27</sup>
- 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.<sup>28</sup>
- Le concentrazioni di acidi biliari possono essere influenzate dall'intervallo di tempo trascorso dall'ultimo pasto del paziente; le misurazioni pre e postprandiali nei volatili possono essere complesse a causa della variabilità in termini di conservazione e ingestione di mangime.
- Il dosaggio del potassio nel sistema VetScan è un test combinato di piruvato chinasi (PK) / lattato deidrogenasi (LDH). In caso di trauma muscolare estremo o livelli molto elevati di creatina chinasi (CK), il sistema VetScan può pertanto recuperare un valore di potassio (K+) falsamente elevato. In tal caso, il recupero di un livello inteso di potassio elevato deve essere confermato utilizzando una metodologia diversa.

## 8. Procedura

### Materiali forniti

- Un rotore reagente Profilo rettili/volatili VetScan Plus, numero parte: 500-1041 (una confezione di 12 rotori, numero parte: 500-0041-12)

### Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico di sangue intero VetScan

### Parametri del test

Il sistema VetScan funziona a temperature ambiente comprese tra 15 °C e 32 °C (59-92 °F). Il tempo di analisi per ogni rotore reagente Profilo rettili/volatili VetScan Plus è inferiore a 14 minuti. Durante l'intervallo di misurazione, l'analizzatore mantiene il rotore reagente a una temperatura di 37 °C (98,6 °F).

### Procedura del test

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

### Calibrazione

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

### Controllo di qualità

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

## 9. Risultati

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

## 10. Limiti della procedura

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

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

- I campioni con ematocriti superiori al 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.
- Non sono state studiate tutte le specie di volatili/rettili e pertanto sono possibili effetti matrice sconosciuti.
- Il rotore reagente Profilo rettili/volatili Plus è stato concepito unicamente per campioni di volatili e rettili.

**Avvertenza:** Test su larga scala di 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 del sistema 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           |
| AST              | 5 – 2000 U/L     | 5 – 2000 U/L       |
| BA               | 35 – 200 µmol/L  | 35 – 200 µmol/L    |
| CK               | 5 – 14000 U/L    | 5 – 14000 U/L      |
| UA               | 0,3 – 25,0 mg/dL | 18 – 1488 µmol/L   |
| GLU              | 10 – 700 mg/dL   | 0,6 – 38,9 mmol/L  |
| CA <sup>++</sup> | 4 – 16 mg/dL     | 1,0 – 4,0 mmol/L   |
| PHOS             | 0,2 – 20,0 mg/dL | 0,06 – 6,46 mmol/L |
| TP               | 2 – 14 g/dL      | 20 – 140 g/L       |
| ALB, BCG         | 1 – 6,5 g/dL     | 10 – 65 g/L        |
| GLOB*            | 0 – 13,0 g/dL    | 0 – 130 g/L        |
| K <sup>+</sup>   | 1,5 – 8,5 mmol/L | 1,5 – 8,5 mmol/L   |
| NA <sup>+</sup>  | 110 – 170 mmol/L | 110 – 170 mmol/L   |

\* Valore calcolato

## 12. Bibliografia

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



9. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. *Scand J. Clin Lab Invest* 1976;36: 711-23.
10. Folin O, and Wu H. A System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;38: 81-110.
11. Somogyi M. A reagent for the copper-idiometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem* 1937;117: 771-776.
12. Nelson N. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol* 1944;153: 375-380.
13. Kaplan LA. Glucose. In: LA Kaplan and AJ Pesce, eds., *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2<sup>nd</sup> ed St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1989;850-856.
14. Schulz DW, et al. An Enzymic Method for the Measurement of Inorganic Phosphate Determination Anal *Biochem* 1967;19:300-14.
15. Tedokon, M Suzuki, et al. Enzymatic Assay of Inorganic Phosphate with Use of Sucrose Phosphorylase and Phosphoglucomutase. *Clin Chem* 1992;38:512-5.
16. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989;35:817-20.
17. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:846-7.
18. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994;40:1528-31.
19. Helgersen RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989;111:6339-50.
20. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988;34:1709-12.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988;34:2295-8.
22. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946;16: 40-49.
23. 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.
24. Feichtmeir TV and Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25: 833-839.
25. Fossati P, et al. Use of 3,5-dichlor-2-hydroxy-benzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-231.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for Handling and Processing of Blood Specimens; tentative standard. NCCLS document H18-T. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
27. Moss DW, Henderson AR. Enzymes. In: CA Burtis and ER Ashwood, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994:804.
28. Overfield CV, et al. Glycolysis: A Re-Evaluation Of The Effect On Blood Glucose. *Clin Chim Acta* 1972;39:35-40.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.