

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

Marzo 2007
N. parte: 500-7134, Rev. E
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587, U.S.A.

1. Uso previsto

Il rotore reagente Terapia intensiva VetScan® Plus, in combinazione con l'analizzatore chimico VetScan, è destinato alla determinazione quantitativa *in vitro* per uso veterinario di alanino aminotransferasi, cloro, creatinina, glucosio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico in sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato o siero.

2. Sommario e spiegazione dei test

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

Alanino aminotransferasi	Malattie epatiche, incluse epatite virale e cirrosi, cardiopatie.
Cloro	Diarrea cronica, vomito cronico, malattia renale, malattia paratiroidea, alcalosi o acidosi respiratoria cronica, ipoadrenocorticismo, ipoadrenocorticismo e terapia con tiazidici
Creatinina	Malattie renali e monitoraggio della dialisi renale.
Glucosio	Disturbi del metabolismo dei carboidrati, compresi diabete mellito degli adulti e giovanile; ipoglicemia.
Potassio	Malattia renale glomerulare o tubolare, insufficienza adrenocorticale, chetoacidosi diabetica, eccesso di potassio per endovena, sepsi, panipopituitarismo, emolisi <i>in vitro</i> , iperaldosteronismo, denutrizione, iperinsulinismo, alcalosi metabolica e perdita gastrointestinale.
Sodio	Disidratazione, diabete insipido, perdita di liquidi gastrointestinali ipotonici, avvelenamento da sali, depressione selettiva della sete, perdite cutanee, ustioni, sudorazione, iperaldosteronismo, disturbi del SNC, iponatremia da diluizione, deplezione e psichica e sindrome da inappropriata secrezione di ADH
Anidride carbonica totale	Alcalosi e acidosi metabolica primaria e alcalosi e acidosi respiratoria primaria.
Azoto ureico	Malattie renali e metaboliche.

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

3. Principio della procedura

Alanino aminotransferasi (ALT)

L'alanino aminotransferasi (ALT) può essere misurata con tre metodi diversi, due dei quali – tecnica colorimetrica di accoppiamento della dinitrofenilidrazina^{1,2} e dosaggio enzimatico mediante fluorescenza – sono raramente usati.³ La tecnica più comunemente usata per determinare le concentrazioni di ALT nel siero è un metodo enzimatico basato sul lavoro di Wróblewski e LaDue.⁴ Una procedura Wróblewski e LaDue modificata è stata proposta come metodo raccomandato della International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).⁵

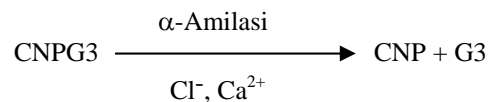
Il metodo sviluppato per l'uso sull'analizzatore VetScan è una modifica della procedura raccomandata dall'IFCC. In questa reazione, ALT catalizza il trasferimento di un amminogruppo da L-alanina ad α -chetoglutarato per formare L-glutammato e piruvato. La lattato deidrogenasi catalizza la conversione del piruvato in lattato. Al contempo, l' NADH viene ossidato in NAD^+ , come illustrato nello schema di reazione seguente.



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

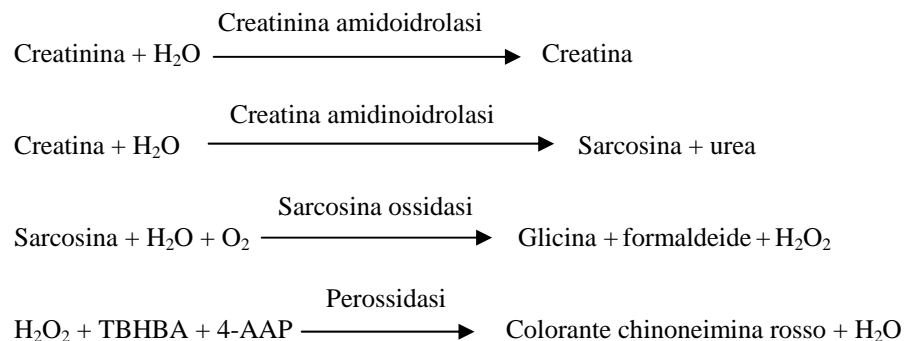
Cloro (Cl)

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



Creatinina (CRE)

Il metodo Jaffe, originariamente introdotto nel 1886, è tuttora comunemente usato per determinare i livelli di creatinina nel sangue. L'attuale metodo di riferimento abbina l'uso di terra di Fuller (floridina) e la tecnica di Jaffe per incrementare la specificità della reazione.^{7,8} Sono stati messi a punto metodi enzimatici che risultano più specifici per la creatinina di quanto non lo siano le diverse varianti della tecnica di Jaffe.^{9,10,11} I metodi basati sull'enzima creatinina amidoidrolasi eliminano il problema dell'interferenza dello ione ammonio che si riscontra nelle tecniche che utilizzano creatinina iminoidrolasi.¹²

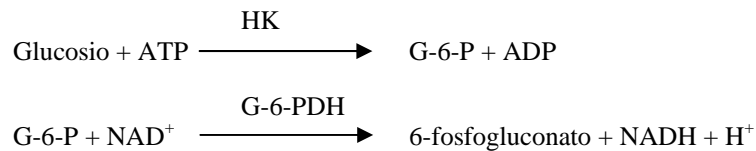


Per determinare la concentrazione di creatinina nel campione si utilizzano due cuvette. La creatina endogena viene misurata nella cuvetta in bianco, che viene sottratta dalla combinazione di creatina endogena e creatina formata dalle reazioni enzimatiche nella cuvetta del test. Una volta eliminata dai calcoli la creatina endogena, la concentrazione di creatinina è proporzionale all'intensità del colore rosso sviluppato. La reazione di endpoint è data dalla differenza di assorbanza tra 550 nm e 630 nm.

Glucosio (GLU)

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

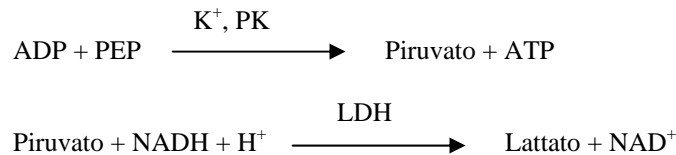
La reazione del glucosio con l'adenosina trifosfato (ATP), catalizzata dalla esochinasi (HK), produce glucosio-6-fosfato (G-6-P) e adenosina difosfato (ADP). La glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G-6-PDH) catalizza la reazione di G-6-P in 6-fosfogluconato e la riduzione del nicotinammide adenin dinucleotide (NAD^+) in NADH .



Potassio (K⁺)

Sono stati sviluppati metodi spettrofotometrici che consentono di misurare la concentrazione di potassio con i normali strumenti di chimica clinica. Il metodo enzimatico basato sull'attivazione della piruvato chinasi con il potassio presenta linearità eccellente e sensibilità trascurabile alle sostanze endogene.^{17, 18, 19} L'interferenza dagli ioni sodio e ammonio è rispettivamente minimizzata mediante aggiunta di Kryptofix e glutammino sintetasi.¹⁷

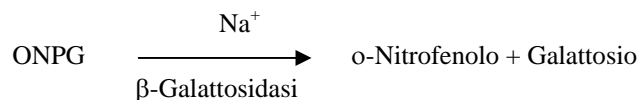
Nella reazione enzimatica accoppiata, la piruvato chinasi (PK) defosforila il fosfoenolpiruvato (PEP) formando piruvato. La lattato deidrogenasi (LDH) catalizza la trasformazione del piruvato in lattato. Al contempo, l'NADH viene ossidato in NAD⁺.



La velocità di cambiamento dell'assorbanza tra 340 nm e 405 nm è causata dalla trasformazione dell'NADH in NAD⁺ ed è direttamente proporzionale alla quantità di potassio presente nel campione.

Sodio (Na⁺)

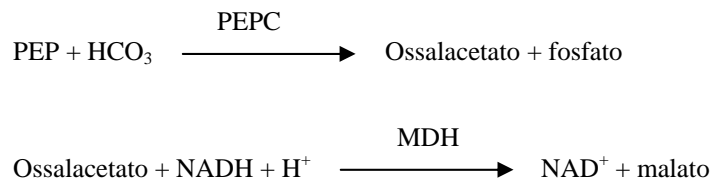
Sono stati sviluppati metodi colorimetrici ed enzimatici che consentono di misurare la concentrazione di sodio con i normali strumenti di chimica clinica.^{20, 21, 22} Nella reazione enzimatica Abaxis, la β-galattosidasi è attivata dal sodio nel campione. L'enzima attivato catalizza la reazione dell'o-nitrofenil--D-galattopiranoside (ONPG) in o-nitrofenolo e galattosio.



Anidride carbonica totale (tCO₂)

L'anidride carbonica totale nel siero o nel plasma è presente sotto forma di anidride carbonica disciolta, derivati carbaminici delle proteine, ioni bicarbonato e carbonato e acido carbonico. L'anidride carbonica totale può essere misurata mediante indicatore di pH, elettrodo a CO₂ e metodi enzimatici spettrofotometrici, tutti con risultati accurati e precisi.^{23, 24} Il metodo enzimatico è ideale per l'uso con un analizzatore chimico per analisi del sangue di routine, in quanto non comporta alcuna complessità.

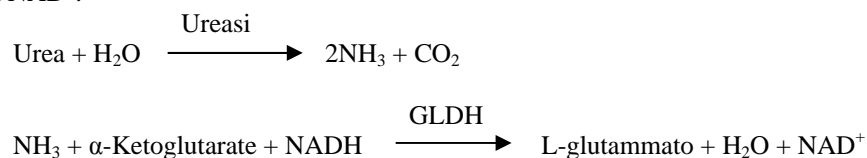
Nel metodo enzimatico, il campione viene innanzitutto alcalinizzato per convertire tutte le forme di anidride carbonica (CO₂) in bicarbonato (HCO₃⁻). Il fosfoenolpiruvato (PEP) e l'HCO₃⁻ reagiscono quindi formando ossalacetato e fosfato in presenza di fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC). La malato deidrogenasi (MDH) catalizza la reazione di ossalacetato e nicotinamide adenin dinucleotide ridotta (NADH) in NAD⁺ e malato. La velocità di variazione nell'assorbanza dovuta alla conversione dell'NADH in NAD⁺ è direttamente proporzionale alla quantità di tCO₂ nel campione.



Azoto ureico (BUN)

L'urea può essere misurata sia direttamente che indirettamente. La reazione al diacetil monoxime, unico metodo diretto per misurare l'urea, è ampiamente usata ma impiega reagenti pericolosi.²⁵ I metodi indiretti misurano l'ammoniaca formatasi dall'urea; l'uso dell'enzima ureasi ha aumentato la specificità di questi test.²⁶ L'ammoniaca si può quantificare con svariati metodi, tra i quali la nesslerizzazione (titolazione acida), la tecnica Berthelot^{27, 28} e le reazioni enzimatiche accoppiate.^{29, 30} Le procedure Berthelot catalizzate risultano tuttavia poco affidabili nella misurazione dell'ammoniaca.³¹ Le reazioni enzimatiche accoppiate, rapide e caratterizzate da un'elevata specificità per l'ammoniaca, sono comunemente usate. Una di tali reazioni è stata proposta come potenziale metodo di riferimento.³²

Nella reazione enzimatica accoppiata, l'ureasi idrolizza l'urea in ammoniaca e anidride carbonica. Alla combinazione di ammoniaca con α -chetoglutarato e nicotinamide adenin dinucleotide (NADH) ridotto, l'enzima glutammato deidrogenasi (GLDH) ossida NADH in NAD⁺.



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

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 Terapia intensiva VetScan Plus contiene microsfere secche di reagente specifico per il test (cfr. descrizione seguente). Ogni rotore comprende un reagente secco per campione bianco (costituito da tampone, tensioattivi, eccipienti e conservanti) da utilizzare per calcolare le concentrazioni di alanina aminotransferasi (ALT), cloro, glucosio, potassio, sodio, anidride carbonica totale e azoto ureico. Il rotore per la creatinina (CRE) include un campione bianco dedicato. Ciascun rotore 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.
- I rotori reagente usati contengono fluidi organici animali. Manipolare e smaltire i rotori usati in conformità a prassi di laboratorio riconosciute.⁴⁵ Per istruzioni sulla pulizia e rimozione di sostanze a rischio biologico inavvertitamente versate, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan.
- I rotori reagente sono in plastica e possono incrinarsi o scheggiarsi se lasciati cadere. **Non** utilizzare **mai** un rotore eventualmente caduto in quanto può diffondere materiale a rischio biologico all'interno dell'analizzatore.
- 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.
- I campioni con alte concentrazioni di amilasi possono fornire letture del cloro falsamente elevate.
- 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.

Istruzioni per la manipolazione del reagente

Allorché prelevati dal frigorifero, i rotori reagente possono essere utilizzati direttamente, senza essere riscaldati. Non lasciare i rotori sigillati nei sacchetti di foglio d'alluminio a temperatura ambiente per oltre 48 ore prima dell'uso. Aprire il sacchetto sigillato di foglio d'alluminio, estrarre il rotore e utilizzarlo seguendo le istruzioni fornite nel manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan. **Gettare il rotore se non lo si utilizza entro 20 minuti dall'apertura del sacchetto.**

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). I rotori reagente possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. La data di scadenza è codificata anche nel codice a barre stampato sull'apposito anello. In caso di reagenti scaduti, sul display dell'analizzatore chimico VetScan viene visualizzato un messaggio di errore.

Indicazioni di instabilità/deterioramento del rotore reagente

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 dell'analizzatore chimico VetScan.

7. Raccolta e preparazione dei campioni

Le tecniche di raccolta dei campioni sono descritte nella sezione "Raccolta dei campioni" del manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan.

- La quantità minima del campione è di ~100 µL di sangue intero eparinizzato, plasma eparinizzato, siero o materiale di controllo. La camera del campione su rotore reagente può contenere fino a 120 µL di campione.
- I campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura devono essere omogenei prima di essere trasferiti nel rotore reagente. Capovolgere delicatamente la provetta di prelievo alcune volte prima di trasferire il campione. Non agitare la provetta di prelievo in quanto ciò potrebbe provocare emolisi.
- L'emolisi può dare luogo a risultati erroneamente elevati nei dosaggi del potassio. Tale problema potrebbe non essere rilevato durante l'analisi di sangue intero (il rilascio di potassio anche solo dallo 0,5% degli eritrociti può determinare un aumento del livello di potassio nel siero di 0,5 mmol/L). Inoltre, anche campioni non emolizzati non tempestivamente trattati potrebbero presentare livelli di potassio aumentati a causa di perdita intracellulare di potassio.³⁴
- Analizzare i campioni di sangue intero prelevati mediante venipuntura entro 60 minuti dalla raccolta.³⁵ 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, i campioni si devono prelevare da pazienti a digiuno da almeno 12 ore. La concentrazione di glucosio diminuisce di circa 5-12 mg/dL in 1 ora in campioni non centrifugati conservati a temperatura ambiente.³⁶
- La refrigerazione di campioni di sangue intero può causare variazioni significative nelle concentrazioni di **creatinina** e **glucosio**.³⁷ Il campione può essere diviso in plasma o siero e conservato in provette con tappo a 2-8 °C (36-46 °F) qualora non fosse possibile sottoporlo a test entro 60 minuti.
- 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).
- Iniziare il test entro 10 minuti dal trasferimento del campione nel rotore reagente.
- I campioni con concentrazioni di amilasi >4000 U/L possono fornire letture del cloro falsamente elevate.
- La concentrazione di anidride carbonica totale viene determinata con la massima accuratezza se si effettua l'analisi subito dopo l'apertura della provetta e quanto prima possibile dopo il prelievo e il trattamento del sangue nella provetta non aperta. L'aria ambiente contiene una quantità di anidride carbonica decisamente inferiore rispetto al plasma e il conseguente rilascio di anidride carbonica disciolta in forma gassosa dal campione nell'aria farà diminuire il valore dell'anidride carbonica fino a 6 mmol/L nell'arco di un'ora.³⁸

8. Procedura

Materiali forniti

- Un rotore reagente Terapia intensiva VetScan Plus, numero parte: 500-1042 (una confezione di 12 rotori, numero parte: 500-0042-12)

Materiali necessari ma non forniti

- Analizzatore chimico VetScan

Parametri del test

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

Calibrazione

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

Controllo di qualità

L'analisi di controlli consente di verificare le prestazioni dell'analizzatore chimico VetScan.

Per le procedure dettagliate di esecuzione, registrazione, interpretazione e rappresentazione grafica dei risultati, vedere il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan.

9. Risultati

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

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

10. Limiti della procedura

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

- L'unico anticoagulante **raccomandato per l'uso** con l'analizzatore chimico VetScan è la **litio eparina**. Abaxis ha condotto studi che dimostrano come EDTA, fluoruro, ossalato e qualsiasi anticoagulante contenente ioni ammonio interferiscano con almeno una delle sostanze chimiche contenute nel rotore reagente Terapia intensiva VetScan Plus.
- I campioni con ematocriti superiori al 62% del volume dei globuli rossi concentrati possono dare luogo a risultati imprecisi. I campioni con ematocriti elevati possono essere refertati come emolizzati. Questi campioni possono essere centrifugati per ottenere il plasma, quindi rianalizzati in un nuovo rotore reagente.
- **I campioni che per un particolare test fornissero risultati superiori al range dell'analisi 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 chimico VetScan.**

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

Interferenza

Diverse sostanze sono state testate come interferenti con gli analiti. Sono stati preparati pool di siero umano e ciascun potenziale agente interferente è stato testato a una concentrazione basata sui livelli di test riportati in NCCLS EP7-P.³⁹

Effetti di sostanze endogene

- Gli agenti interferenti fisiologici (emolisi, ittero e lipemia) causano alterazioni nelle concentrazioni di alcuni analiti. Gli indici del campione sono stampati nella parte inferiore di ogni scheda dei risultati per informare l'operatore dei livelli di agenti interferenti presenti in ciascun campione. Il sistema chimico VetScan elimina gli eventuali risultati falsati da un'interferenza > 10% dovuta a emolisi, lipemia e ittero. In tal caso, sulla scheda dei risultati anziché i risultati verrà rispettivamente stampata la dicitura "HEM" (emolisi), "LIP" (lipemia) o "ICT" (ittero).
- Livelli di amilasi molto elevati (>9.000 U/L) hanno un effetto significativo (ossia un aumento superiore al 10%) sul risultato del cloro. La concentrazione di amilasi non viene valutata dal sistema VetScan per ogni campione.
- 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.

11. Valori attesi

I seguenti range di riferimento sono forniti a titolo puramente indicativo. I range di riferimento più attendibili sono quelli stabiliti per la propria popolazione di pazienti. Questi risultati devono essere interpretati in associazione al quadro clinico del paziente. I livelli di potassio e proteine totali determinati nel plasma possono differire dai range di seguito forniti.

Tabella 1: Intervalli di riferimento VetScan

Analita	Cani	Gatti	Equini
Alanino aminotransferasi (ALT)	10 – 118 U/L	20 – 100 U/L	5 – 20 U/L
Cloruro (CL ⁻)	106 – 120 mmol/L	112 – 126 mmol/L*	92 – 104 mmol/L
Creatinina (CRE)	0,3 – 1,4 mg/dL (27 – 124 µmol/L)	0,3 – 2,1 mg/dL (27 – 186 µmol/L)	0,6 – 2,2 mg/dL (53 – 194 µmol/L)
Glucosio (GLU)	60 – 110 mg/dL (3,3 – 6,1 mmol/L)	70 – 150 mg/dL (3,9 – 8,3 mmol/L)	65 – 110 mg/dL (3,6 – 6,1 mmol/L)
Potassio (K ⁺)	3,7 – 5,8 mmol/L	3,7 – 5,8 mmol/L	2,5 – 5,2 mmol/L
Sodio (Na ⁺)	138 – 160 mmol/L	142 – 164 mmol/L	126 – 146 mmol/L
Anidride carbonica totale (tCO ₂)	12 – 27 mmol/L	15 – 24 mmol/L	20 – 33 mmol/L
Azoto ureico (BUN)	7 – 25 mg/dL (2,0 – 9,0 mmol/urea/L)	10 – 30 mg/dL (4,0 – 11,0 mmol/urea/L)	7 – 25 mg/dL (2,0 – 9,0 mmol/urea/L)

*L'intervallo di riferimento per i gatti si riferisce solo ad animali adulti; i gatti di età inferiore a 6 mesi hanno livelli di cloro inferiori.

12. Caratteristiche prestazionali

Linearità

La determinazione chimica per ciascun analita è lineare per il range dinamico sottoelencato se l'analizzatore chimico VetScan è utilizzato seguendo la procedura raccomandata (cfr. il manuale d'uso dell'analizzatore chimico VetScan).

Tabella 2: Range dinamici VetScan

Analita	Unità comuni	Unità SI
Alanino aminotransferasi	5 – 2000 U/L	5 – 2000 U/L
Cloro	80 – 135 mmol/L	80 – 135 mmol/L
Creatinina	0,2 – 20 mg/dL	18 – 1768 µmol/L
Glucosio	10 – 700 mg/dL	0,56 – 38,9 mmol/L
Potassio	1,5 – 8,5 mmol/L	1,5 – 8,5 mmol/L
Sodio	110 – 170 mmol/L	110 – 170 mmol/L
Anidride carbonica totale	5 – 40 mmol/L	5 – 40 mmol/L
Azoto ureico	2 – 180 mg/dL	0,7 – 64,3 mmol/urea/L

Sensibilità (limiti di rilevazione)

I limiti inferiori del range refertabile (dinamico) per ciascun analita sono i seguenti: alanino aminotransferasi 5 U/L; cloro 80 mmol/L; creatinina 0,2 mg/dL (18 µmol/L); glucosio 10 mg/dL (0,56 mmol/L) potassio 1,5 mmol/L; sodio 110 mmol/L; anidride carbonica totale 5 mmol/L e azoto ureico 2,0 mg/dL (0,7 mmol urea/L).

Precisione

Studi di precisione sono stati effettuati seguendo le linee guida NCCLS (CLSI) EP5-A⁴⁰ con modifiche basate su NCCLS (CLSI) EP18-P⁴¹ per i dispositivi a utilizzo unitario. I risultati di precisione intra-sessione e totale sono stati determinati utilizzando due livelli di materiali di controllo reperibili in commercio. Per gli studi sono stati usati più strumenti e due lotti di rotori reagente. I test di calcio, creatinina, glucosio, sodio e azoto ureico sono stati eseguiti in un sito; quelli di potassio e anidride carbonica totale sono stati condotti in due siti nell'arco di 20 giorni; i test del cloro sono stati effettuati in due siti in un periodo di cinque giorni.

I risultati degli studi sulla precisione sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3: Precisione

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Alanino aminotransferasi (U/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		21	21
SD		2,76	2,79
%CV		13,4	13,5
<u>Controllo 2</u>			
Media		52	52
SD		2,7	3,25
%CV		5,2	6,2
Cloro (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 160		
Media		97,8	97,8
SD		1,63	1,74
%CV		1,7	1,7
<u>Controllo 2</u>			
Media		113,6	113,6
SD		1,97	2,22
%CV		1,7	2,0
Creatinina (mg/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		1,1	1,1
SD		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		5,2	5,2
SD		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
Glucosio (mg/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		66	66
SD		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
<u>Controllo 2</u>			
Media		278	278
SD		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4

Tabella 3: Precisione (cont.)

Analita	Dimensioni del campione	Intra-sessione	Totale
Potassio (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		6,7	6,7
SD		0,26	0,26
%CV		3,9	3,9
<u>Controllo 2</u>			
Media		4,3	4,3
SD		0,22	0,22
%CV		5,1	5,1
Sodio (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		148	148
SD		5,1	5,1
%CV		3,4	3,4
<u>Controllo 2</u>			
Media		118	118
SD		3,2	3,2
%CV		2,7	2,7
Anidride carbonica totale (mmol/L)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		19	19
SD		1,39	1,39
%CV		7,3	7,3
<u>Controllo 2</u>			
Media		9	9
SD		0,60	0,60
%CV		6,8	6,8
Azoto ureico (mg/dL)			
<u>Controllo 1</u>	N = 80		
Media		19	19
SD		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
<u>Controllo 2</u>			
Media		65	65
SD		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8

Correlazione

Campioni di siero e sangue intero eparinizzato sono stati raccolti ed analizzati con l'analizzatore chimico VetScan e metodi comparativi. I campioni di sangue intero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico VetScan nei siti operativi, mentre quelli di siero sono stati analizzati con l'analizzatore chimico VetScan e con metodi comparativi. In alcuni casi, sono stati usati campioni supplementati alti e bassi per coprire il range dinamico. Sono stati scelti campioni rispondenti ai valori di distribuzione indicati nelle linee guida NCCLS EP9-A2.⁴² La Tabella 4 riporta i dati di correlazione rappresentativi.

Tabella 4: Correlazione tra l'analizzatore chimico VetScan e metodi comparativi

		Coefficiente di correlazione	Pendenza	Intercetta	N	Range campione
Alanino aminotransferasi (U/L)	Cani	1,00	0,95	0	22-180	10 – 1549
	Gatti	0,98	0,92	0	21-55	27 – 99
	Equini	0,97	0,94	6	7-101	11 – 30
Cloro (mmol/L)	Cani	0,935	0,875	15	38	78 – 132
	Gatti	0,979	0,882	12	20	86 – 123
	Equini	NA	NA	NA	NA	NA
Creatinina (mg/dL)	Cani	0,99	1,00	0,0	22-180	0,6 – 10,6
	Gatti	1,00	1,01	-0,1	21-55	0,3– 13,6
	Equini	0,95	1,00	-0,4	7-101	0,3 – 6,2
Glucosio (mg/dL)	Cani	0,96	1,01	-6	22-180	28 – 348
	Gatti	1,00	0,97	3	21-55	52 – 607
	Equini	0,97	0,94	16	7-101	36 – 353
Potassio (mmol/L)	Cani	0,96	0,92	0,4	22-180	3,2 – 6,9
	Gatti	0,91	0,92	0,5	21-55	2,7– 5,3
	Equini	0,84	0,97	0,1	7-101	1,8 – 4,6
Sodio (mmol/L)	Cani	0,89	0,97	4,8	22-180	118 – 183
	Gatti	0,86	1,08	-12,2	21-55	122 – 166
	Equini	0,86	1,00	-0,01	7-101	110 – 166
Anidride carbonica totale (mmol/L)	Cani	0,81	0,86	3,5	22-180	6 – 23
	Gatti	0,93	0,90	2,4	21-55	7 – 31
	Equini	0,97	0,93	2,1	7-101	9 – 39
Azoto ureico (mg/dL)	Cani	1,00	0,98	-2	22-180	4 – 117
	Gatti	1,00	1,07	-5	21-55	14 – 165
	Equini	1,00	0,95	-1	7-101	3 – 64

13. Bibliografia

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 521-534.
6. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
7. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8: 582-587.
8. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
9. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975; 21: 1422-1426.
10. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. 1982; 28: 114-117.
11. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. 1983; 29: 1494-1496.
12. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994: 1513-1575.
13. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
14. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
15. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
16. Kaplan LA. Glucose. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.

17. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
18. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 846-847.
19. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. *Clin Chem* 1994; 40: 1528-1531.
20. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
21. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
22. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
23. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
24. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In: *Clinical chemistry theory, analysis and correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
25. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
26. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
27. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
28. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.
29. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensch*, 1965; 43: 174-175.
30. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
31. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
32. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. *Clin Chem*, 1980; 26: 816-826.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
34. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
36. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
37. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
38. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
40. 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.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.